



## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

สบู่ไพลประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียด้วยนวัตกรรม

การขนส่งสารที่ยืดการปลดปล่อย

Phlai (*Zingiber montanum*) soap with high effectiveness for antioxidant and antibacterial by the innovation in sustained-release drug-delivery

คณะผู้วิจัยหลัก

ปรีชาติ เทพทอง ศรชัย อินทะไชย และ สุกาญจนา กำลังมาก

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้

ประเภททุนพัฒนาแผนงานริเริ่มสำคัญ (Flagship) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565

มหาวิทยาลัยทักษิณ

2566

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

สบู่ไพลประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียด้วยนวัตกรรม

การขนส่งสารที่ยืดการปลดปล่อย

Phlai (*Zingiber montanum*) soap with high effectiveness for antioxidant and antibacterial by the innovation in sustained-release drug-delivery

คณะผู้วิจัยหลัก

ปรีชาติ เทพทอง ศรชัย อินทะไชย และ สุกาญจนา กำลังมาก

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้

ประเภททุนพัฒนาแผนงานริเริ่มสำคัญ (Flagship) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565

มหาวิทยาลัยทักษิณ

2566



## คำรับรองคุณภาพ

รายงานชุดโครงการวิจัย เรื่อง **สบู่ไหลประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียด้วยนวัตกรรม**  
**การขนส่งสารที่ยึดการปลดปล่อย**

ผู้รับผิดชอบ                      ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรชัย อินทะไชย

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยทักษิณ ขอรับรองว่ารายงานวิจัยฉบับนี้ได้ผ่านการ  
ประเมินจากผู้ทรงคุณวุฒิเรียบร้อยแล้ว และผลการประเมินคุณภาพงานวิจัยอยู่ระดับ **ดี**

(รองศาสตราจารย์ ดร.สมักร แก้วสุกแสง)

รองอธิการบดีฝ่ายวิจัยและนวัตกรรม

รักษาการแทนผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา

วันที่ 10 มีนาคม 2566

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยการสนับสนุนเงินทุนวิจัยจากกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ประเภททุนพัฒนาแผนงานริเริ่มสำคัญ (Flagship) ประจำปี 2565 จึงขอขอบพระคุณ ไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบคุณคณะบุคลากรที่เกี่ยวข้อง ทั้งคณะวิทยาศาสตร์ และคณะวิทยาศาสตร์สุขภาพและการกีฬามหาวิทยาลัยทักษิณ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ อุปกรณ์ในการปฏิบัติงานด้านการวิจัย ตลอดจนคำแนะนำและการสนับสนุนด้านอื่น ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการปฏิบัติงานวิจัยในโครงการนี้ด้วยดีตลอดมา

และสุดท้ายขอขอบคุณนิสิตและท่านที่เกี่ยวข้องที่ช่วยงานวิจัย ตลอดจนขอขอบพระคุณคณาจารย์และคุณครูทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และประสบการณ์ เป็นผลให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

คณะผู้วิจัย

2566

## รายละเอียดส่วนเนื้อหา

---

### ชื่อชุดโครงวิจัย

(ภาษาไทย)

สบู่โฟลประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียด้วยนวัตกรรมการขนส่งสารที่ยืดการปลดปล่อย

(ภาษาอังกฤษ)

Phlai (*Zingiber montanum*) soap with high effectiveness for antioxidant and antibacterial by the innovation in sustained-release drug-delivery

### ชื่อโครงการวิจัยย่อย

โครงการวิจัยย่อยที่ 1 การสกัดสารต้านออกซิเดชันและต้านแบคทีเรียจากโฟลเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 การเพิ่มประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของโฟลและการต้านแบคทีเรียด้วย ZnAl-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์

โครงการวิจัยย่อยที่ 3 การพัฒนาตำรับสบู่โฟลซึ่งคละลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ ที่มีประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรีย

### คณะวิจัย

หัวหน้าชุดโครงการวิจัย: นายศรชัย อินทะไชย

หน่วยงานสังกัด: คณะวิทยาศาสตร์ เบอร์ติดต่อ: 0850072412 อีเมลล์: sonchai.i@tsu.ac.th

#### โครงการย่อยที่ 1

##### 1. ดร.ปริชาติ เทพทอง

หน่วยงานสังกัด: คณะวิทยาศาสตร์ เบอร์ติดต่อ: 0866864300 อีเมลล์: tsu\_parichat@hotmail.com

##### 2. นายศรชัย อินทะไชย

หน่วยงานสังกัด: คณะวิทยาศาสตร์ เบอร์ติดต่อ: 0850072412 อีเมลล์: sonchai.i@tsu.ac.th

#### โครงการย่อยที่ 2

##### 1. นายศรชัย อินทะไชย

หน่วยงานสังกัด: คณะวิทยาศาสตร์ เบอร์ติดต่อ: 0850072412 อีเมลล์: sonchai.i@tsu.ac.th

##### 2. นางสาวนิธิมา เคารพพวงค์

หน่วยงานสังกัด: สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เบอร์ติดต่อ: 0809963461  
อีเมลล์: nithima@kku.ac.th

#### โครงการย่อยที่ 3

##### 1. นางสาวสุกาญจนา กำลังมาก

หน่วยงานสังกัด: คณะวิทยาการสุขภาพและการกีฬา เบอร์ติดต่อ: 0878846635

อีเมลล์: [ksukanjana@tsu.ac.th](mailto:ksukanjana@tsu.ac.th)

##### 2. นางสาวนิตา นัยเต็น

หน่วยงานสังกัด: คณะวิทยาการสุขภาพและการกีฬา เบอร์ติดต่อ: 0897352595

อีเมลล์: nnuiden@gmail.com

## บทสรุปผู้บริหาร

### ชื่อชุดโครงวิจัย

(ภาษาไทย)	สบู่ไพลประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียด้วยนวัตกรรมการขนส่งสารที่ยืดการปลดปล่อย
(ภาษาอังกฤษ)	Phlai ( <i>Zingiber montanum</i> ) soap with high effectiveness for antioxidant and antibacterial by the innovation in sustained-release drug-delivery

### งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

- ได้รับงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 งบประมาณที่ได้รับ 350,000.00 บาท
- ระยะเวลาทำวิจัย ตั้งแต่ 1 ธันวาคม 2565 ถึง 31 พฤษภาคม 2566

### บทนำ

การแข่งขันด้านเศรษฐกิจระหว่างประเทศส่วนใหญ่ยังเน้นคุณภาพ ความปลอดภัย และราคา ซึ่งจำเป็นต้องใช้กระบวนการทางวิทยาศาสตร์หรือนวัตกรรมเพื่อเข้ามาแก้ปัญหาหรือส่งเสริมในการแข่งขันในตลาดเพื่อเพิ่มมูลค่าภายใต้การพัฒนาแข่งขัน แต่ละประเทศยังต้องเผชิญกับการเปลี่ยนแปลงพลวัตในสิ่งแวดล้อมโลกและประเทศตลอดเวลา และการเหลื่อมล้ำด้านระบบสาธารณสุข จุดแข็งของไทยอย่างหนึ่งคือการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากภูมิปัญญา และสมุนไพรไทยที่มีเอกลักษณ์ โดยจะเห็นได้จากการก่อตั้งวิสาหกิจชุมชนจำนวนมาก หนึ่งในนั้น คือ ชุมชนเขาปู่เขาย่า (อ.ศรีบรรพต จ.พัทลุง) ที่เน้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์หรือตำรับจากสมุนไพรในชุมชน ไพล (Phlai) (ชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Zingiber montanum*) เป็นอีกสมุนไพรที่ปลูกกันทั่วไปในชุมชน โดยส่วนใหญ่จะนำมาใช้เพื่อการรักษาตามภูมิปัญญาหรือวิถีชาวบ้านตามคำบอกของปู่ตายาย แต่เมื่อพิจารณาสารเคมีสำคัญในส่วนเหง้าไพลพบว่าเป็นกลุ่มฟลาโวนอยด์และเทอร์พีนที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และมีน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย และยังมีกลิ่นเฉพาะ โดยปัจจุบันก็ได้มีการนำเป็นส่วนผสมในสบู่หรือผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่าง ๆ แต่อย่างไรก็ตาม สารสำคัญเหล่านี้ไม่ค่อยเสถียรที่อุณหภูมิสูง และเกิดออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศได้ง่าย ซึ่งจะทำให้ลดประสิทธิภาพลงอย่างรวดเร็ว เมื่อนำมาเป็นเป็นส่วนสำคัญในสบู่ก่อนอาจจะเกิดการสลายระหว่างการขึ้นรูปและเกิดออกซิเดชันระหว่างการทำความสะอาดร่างกาย ดังนั้น เพื่อเป็นการพัฒนาต้นแบบสบู่ก่อนด้วยนวัตกรรม งานวิจัยนี้จะพัฒนาต้นแบบสบู่ก่อนสมุนไพรไพลด้วยนวัตกรรมการขนส่งสารที่ยืดการปลดปล่อยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรีย เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความจำเป็นต้องใช้ในทุก ๆ วัน

โครงการวิจัยนี้เป็นการวิจัย (1) เพื่อพัฒนาวิธีการสกัดสารสำคัญในสมุนไพรไพลที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรีย โดยเน้นกรรมวิธีทางเคมีที่ง่ายและได้ร้อยละผลผลิตสูง (2) เพื่อเพิ่มความเสถียรให้สารสำคัญ และยืดการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และเพิ่มการต้านแบคทีเรีย ด้วยระบบขนส่งยาด้วยซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ และนำมาเผาที่อุณหภูมิ 300, 500 และ 700 °C คอมโพสิตนาโนซิงค์ออกไซด์ และ (3) พัฒนาต้นแบบสบู่ก่อนจากสมุนไพรไพลด้วยนวัตกรรมควบคุมและยืดการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และเพิ่มการต้านแบคทีเรีย ทั้งนี้ สบู่ไพลยังมีเมื่อนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ช่วยเพิ่มการต้านแบคทีเรีย การสครับ และป้องกันแสงยูวี งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรในท้องถิ่น (ชุมชนเขาปู่เขาย่า อ.ศรีบรรพต จ.พัทลุง) เพื่อส่งเสริมเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ในวิสาหกิจชุมชน และเพื่อสร้างนวัตกรรมผู้ประกอบการ โครงการวิจัยมีความสอดคล้องกับยุทธศาสตร์มหาวิทยาลัยทักษิณ (ประเด็นที่ 3) ที่เน้นนวัตกรรมผู้ประกอบการ โดยงานวิจัยนี้มีเป้าประสงค์เพื่อสร้างนวัตกรรมผู้ประกอบการเพื่อเพิ่มขีดความสามารถการแข่งขันระดับประเทศ ในประเด็นการวิจัยวิจัยและพัฒนาต่อยอดภูมิปัญญาสมุนไพรพื้นถิ่น (ขมิ้นชัน ไพล พลู หมาก) ให้มีมูลค่าสูง ภายในปี 2564 – 2568 โดยกรอบใหญ่ของงานวิจัยมีความสอดคล้องกับยุทธศาสตร์การอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม พ.ศ. 2563 – 2570และนับเป็นหนึ่งในงานวิจัยที่เป็นไปตามพันธกิจ 2. วิจัยเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีและนวัตกรรมที่ตอบ

โจทย์การพัฒนาเศรษฐกิจ สังคม สิ่งแวดล้อม และการเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันของประเทศ และ 3. บริการวิชาการและถ่ายทอดความรู้ เทคโนโลยี และนวัตกรรม เพื่อการพัฒนาเชิงพื้นที่ เพื่อมุ่งสู่การเป็น มหาวิทยาลัยนวัตกรรมสังคมระดับแนวหน้าของประเทศ ภายในปี 2567 ตามวิสัยทัศน์มหาวิทยาลัยทักษิณ ในบริบท “นวัตกรรมสังคม (Social Innovation) ที่ประยุกต์ใช้แนวคิดใหม่และเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการพัฒนาคุณภาพชีวิต เศรษฐกิจ สังคม สิ่งแวดล้อม และการเป็นผู้ประกอบการ” โครงการวิจัยนี้จะเกิดผลผลิตที่เป็นองค์ความรู้ 3 เรื่อง คือ (1) “กรรมวิธีการสกัดสารต้านออกซิเดชันจากไพลและการศึกษาการต้านออกซิเดชันและการต้านแบคทีเรีย” (2) “กระบวนการควบคุมการออกฤทธิ์และเพิ่มประสิทธิภาพสำคัญในไพล และการเพิ่มประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียด้วยตัวขนส่ง ZnO@ZnAl-LDH” และ (3) “สับนวัตกรรมการไพลด้วยระบบควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญ ที่ยึดประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระและการต้านแบคทีเรีย” โดยผลกระทบของโครงการวิจัยนี้คาดว่าจะทำให้ (1) เพิ่มมูลค่าสมุนไพรไพลในชุมชน โดยการพัฒนาเป็นสับนวัตกรรมการไพล และ (2) สมาชิกในวิสาหกิจสามารถเพิ่มงานและเพิ่มรายได้ และ/หรือ มีโอกาสและช่องทางการพัฒนาต่อยอดจากสมุนไพรในชุมชน

### วัตถุประสงค์

1. เพื่อได้กรรมวิธีที่ง่ายและมีประสิทธิภาพในการสกัดสารสำคัญจากไพล
2. เพื่อเพิ่มการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากไพล และการต้านแบคทีเรียด้วย ZnO@ZnAl-LDH
3. เพื่อได้สับนวัตกรรมการไพลที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรีย

### สรุปผลการทดลอง

โครงการวิจัยนี้ได้ศึกษา สับไพลประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียด้วยนวัตกรรมการขนส่งสารที่ยึดการปลดปล่อย (Phlai (*Zingiber montanum*) soap with high effectiveness for antioxidant and antibacterial by the innovation in sustained-release drug-delivery) ซึ่งสรุปผลการทดลองตามโครงการวิจัยย่อย ดังนี้

#### โครงการวิจัยย่อยที่ 1 การสกัดสารต้านออกซิเดชันและต้านแบคทีเรียจากไพลเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

การสกัดสารจากไพลแห้ง น้ำหนัก 100 กรัม โดยวิธีการสกัดแบบหมัก (2 ครั้ง) ด้วยตัวทำละลาย 7 ชนิด พบว่าการสกัดไพลด้วย 50% ethanol (PE) ให้ปริมาณสารสกัดหายามากที่สุด เท่ากับ 5.78 กรัม คิดเป็นร้อยละผลผลิต เท่ากับ 5.78 รongลงมาคือ ไพลที่สกัดด้วย methanol (PM) และ ไพลที่สกัดด้วย dichloromethane (PD) โดยมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 5.36 และ 3.98 ตามลำดับ

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากไพลโดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent ผลการวิเคราะห์พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมจากไพลที่สกัดด้วย methanol (PM) มีปริมาณฟีนอลิกมากที่สุดเท่ากับ  $71.45 \pm 1.45$  mg GAE/g extract รองลงมาคือไพลที่สกัดด้วย ethanol (PE) และ ไพลที่สกัดด้วย acetone (PA) โดยมีปริมาณฟีนอลิก  $62.22 \pm 0.30$  และ  $57.53 \pm 2.92$  mg GAE/g extract ตามลำดับ

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากไพล ในด้านสมบัตการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธี DPPH และ FRAP assay พบว่าไพลที่สกัดด้วย methanol (PM) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุด รองลงมาคือไพลที่สกัดด้วย ethanol (PE) และ ไพลที่สกัดด้วย acetone (PA) โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $36.89 \pm 2.53$ ,  $38.89 \pm 0.27$  และ  $40.63 \pm 11.23$   $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ การทดสอบด้วยวิธี FRAP assay พบว่าไพลที่สกัดด้วย ethanol (PE) และ methanol (PM) มีค่า FRAP value ค่อนข้างสูง ซึ่งเท่ากับ  $78.65 \pm 4.73$  และ  $76.09 \pm 4.57$  mg AAE/g extract ตามลำดับ นั่นคือสารสกัดเอทานอล (PE) มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันใกล้เคียงกับสารสกัดเมทานอล (PM) จึงเลือกสารสกัดเอทานอล (PE) ไปศึกษาองค์ประกอบทางเคมี

การนำสารสกัดไพลด้วย ethanol มาวิเคราะห์สารองค์ประกอบด้วยเทคนิค GC-MS พบว่า ไม่สามารถวิเคราะห์โครงสร้างของสารหลัก 3 อันดับแรก แต่สามารถวิเคราะห์สารองค์ประกอบที่มีปริมาณน้อยรองลงไปอีก 3 ชนิด คือ (E)-4-(3,4-Dimethoxyphenyl)but-3-en-1-yl acetate ร้อยละ 14.49 สาร 1,4-Bis(methoxy)-triquinacene ร้อยละ 2.39 และ 1,4-Dimethoxy-2-methyl-5-(prop-1-en-2-yl) benzene ร้อยละ 2.00 ซึ่งสารเหล่านี้ มีอะตอมไฮโดรเจนในโครงสร้างที่สามารถหลุดไฮโดรเจนเรดิคัลออกได้ง่าย

การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (แกรมบวก) และ *E. coli* และ *P. aeruginosa* (แกรมลบ) ของสารสกัดจากไพล พบว่าสารสกัดไพลแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้งสามชนิดได้ในระดับค่อนข้างต่ำ โดยสารสกัด ethanol แสดงฤทธิ์ได้ดีที่สุด มีค่าวงใสของการยับยั้งในช่วง 10.50-12.00 มิลลิเมตร ทั้งนี้อาจเนื่องจากการทำแห้งด้วยวิธี freeze dry น่าจะมีส่วนทำให้สารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย เช่น สารประเภท terpenoids เกิดการสลายตัวหรือระเหยออกไป ทำให้สารที่ยังคงเหลือในสารสกัดเป็นสารประเภทที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้น้อย

## โครงการวิจัยย่อยที่ 2 การเพิ่มประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของไพลและการต้านแบคทีเรียด้วย ZnAl-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์

การพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค XRD และ SEM สามารถยืนยันการเกิด ZnAl-LDH ที่ประกอบด้วยอนุภาค ZnO และ ZnAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub> บนผิวภายนอก ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างและสมบัติทางเคมีหลังจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 300 °C (cZnAl-LDH300), 500 °C (cZnAl-LDH500) และ 700 °C (cZnAl-LDH700) สำหรับวัสดุคอมโพสิตระหว่างสารสกัดไพล (*Zingiber montanum* (Koenig) Link ex Dietr.) และวัสดุไฮดรอกไซด์ (ZnAl-LDH, cZnAl-LDH300, cZnAl-LDH500 หรือ cZnAl-LDH700) สามารถเตรียมได้ด้วยวิธีของแข็ง-ของแข็ง ซึ่งยืนยันอันตรกิริยาและการมีสารสกัดไพลเป็นองค์ประกอบด้วยเทคนิค FT-IR, EDX/การกระจายธาตุองค์ประกอบ คัลยซ์ตาและ UV-VIS โดยพบว่า เอกลักษณ์ทางความร้อนและแสงของสารสกัดไพลสามารถปรับปรุงได้โดยการผสมกับวัสดุไฮดรอกไซด์เนื่องจากอันตรกิริยาระหว่างวัสดุไฮดรอกไซด์และเกสท์ และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นทีละน้อยจนถึงเวลา 720 นาที ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลการปลดปล่อยสารสกัดไพลจากวัสดุไฮดรอกไซด์ ดังนี้ ZnAl-LDH < cZnAl-LDH300 < cZnAl-LDH500 < cZnAl-LDH700 ในขณะที่การยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* เพิ่มขึ้นโดยสารผลิตภัณฑ์ต้านแบคทีเรีย ดังนี้ สารสกัดไพล < ZnO < ZnAl-LDH < cZnAl-LDH300 < cZnAl-LDH500 < cZnAl-LDH700 < วัสดุคอมโพสิต ในงานวิจัยนี้ให้กระบวนการที่มีคุณค่าและเป็นทางเลือกหนึ่งในการพิจารณาการปรับปรุงสมบัติทางชีวภาพและเคมีของไพลและสารสกัดสมุนไพรอื่น ๆ โดยใช้วัสดุเลเยอร์อนินทรีย์ได้หลากหลาย เนื่องจากอันตรกิริยาระหว่างไฮดรอกไซด์-เกสท์ และ/หรือ เกสท์-เกสท์

## โครงการวิจัยย่อยที่ 3 การพัฒนาตำรับสบู่ไพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ ที่มีประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรีย

จากการพัฒนาตำรับสบู่ไพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ จำนวน 9 สูตร พบว่าทุกสูตรมีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีตามเกณฑ์กำหนด มอก. และสูตร S-PZ9 เป็นสูตรที่ดีที่สุด นำมาทดสอบการปลดปล่อยสารสำคัญพบว่า PZ ซึ่งเป็นสารสกัดไพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ และ S-PZ ซึ่งเป็นสบู่ไพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ สามารถปลดปล่อยสารสำคัญในช่วง 1 และ 5 นาที ไม่แตกต่างจากสารสกัดไพล (PE PE50 PE70) ตำรับ S-PZ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีค่าปริมาณรวมฟีนอลิกเท่ากับ 60.04±2.42 mg GAE/g extract) ตำรับ S-PZ มีฤทธิ์ยับยั้งตั้งแต่ 5 นาที ที่ตัวอย่างสัมผัสเชื้อ และสามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermis* ตำรับ S-PZ PZ และ PE50 ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ นอกจากนี้พบว่าตำรับสบู่ไพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์เมื่อทดสอบในสภาวะเร่งมีการเปลี่ยนแปลงกลิ่นเล็กน้อย ในขณะที่เดียวกันเมื่อทดสอบระยะยาว 4 เดือน พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง





## รายงานการวิจัย

การสกัดสารต้านออกซิเดชันและต้านแบคทีเรียจากไพล  
เพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

ภายใต้ชุดโครงการวิจัยเรื่อง  
สบู่ไพลประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียด้วยนวัตกรรม  
การขนส่งสารที่ยึดการปลดปล่อย

ดร.ปริชาติ เทพทอง

รศ.ดร.ศรชัย อินทะไชย

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565

มหาวิทยาลัยทักษิณ

2566

รายงานการวิจัย

การสกัดสารต้านออกซิเดชันและต้านแบคทีเรียจากไพล  
เพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

ภายใต้ชุดโครงการวิจัยเรื่อง  
สบู่ไพลประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียด้วยนวัตกรรม  
การขนส่งสารที่ยึดการปลดปล่อย

ดร.ปริชาติ เทพทอง  
รศ.ดร.ศรชัย อินทะไชย  
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้  
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565  
มหาวิทยาลัยทักษิณ

2566



## คำรับรองคุณภาพ

รายงานโครงการย่อยที่ 1 เรื่อง การสกัดสารต้านออกซิเดชันและต้านแบคทีเรียจากไพลเพื่อใช้ใน  
ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

ผู้วิจัย อาจารย์ ดร.ปรีชาติ เทพทอง

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยทักษิณ ขอรับรองว่ารายงานวิจัยฉบับนี้ได้ผ่าน  
การประเมินจากผู้ทรงคุณวุฒิเรียบร้อยแล้ว และผลการประเมินคุณภาพงานวิจัยอยู่ระดับ ดี

(รองศาสตราจารย์ ดร.สมักร แก้วสุกแสง)

รองอธิการบดีฝ่ายวิจัยและนวัตกรรม

รักษาการแทนผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา

วันที่ 10 มีนาคม 2566

## บทคัดย่อ

หัวข้อวิจัย	การสกัดสารต้านออกซิเดชันและต้านแบคทีเรียจากไพลเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง
ผู้ดำเนินการวิจัย	ปรีชาดี เทพทอง ศรชัย อินทะไชย
หน่วยงาน	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ
ปี พ.ศ.	2566

การศึกษาผลของตัวทำละลาย (เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน เอทานอล เมทานอล 50% เอทานอล และ 75% เอทานอล) ต่อปริมาณฟีนอลิกฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของเหง้าไพลจากจังหวัดพัทลุง ประเทศไทย โดยวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกด้วยรีเอเจนต์ Folin-ciocalteu ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธีการดักจับกับอนุมูลอิสระ DPPH และวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กเฟอริก (FRAP assay) และทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดเมทานอลมีปริมาณฟีนอลิกมากที่สุด ( $71.45 \pm 1.45$  มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อสารสกัด 1 กรัม) และสารสกัดเอทานอล ( $62.22 \pm 0.30$  มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อสารสกัด 1 กรัม) มีปริมาณฟีนอลิกน้อยกว่าเมทานอลเล็กน้อย ผลการวิเคราะห์สอดคล้องกับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธีดักจับกับอนุมูลอิสระ ( $IC_{50}$   $36.89 \pm 2.53$  และ  $38.89 \pm 0.27$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ในขณะที่สารสกัดเอทานอลมีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กเฟอริกสูงกว่าสารสกัดเมทานอลเล็กน้อยด้วยค่า FRAP value เท่ากับ  $78.65 \pm 4.73$  และ  $76.09 \pm 4.57$  มิลลิกรัมสมมูลกรดแอสคอร์บิกต่อสารสกัด 1 กรัมตามลำดับ สารสกัดทุกชนิดแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในระดับค่อนข้างต่ำด้วยค่า MIC มากกว่า 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสารสกัดเอทานอลแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด มีค่าวงใสอยู่ในช่วง 10.50-12.00 มิลลิเมตร จากผลการศึกษาพบว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารจากไพลเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

คำสำคัญ ไพล สารสกัด ต้านออกซิเดชัน ต้านแบคทีเรีย

## Abstract

<b>Research Title</b>	The extraction of antioxidant and antibacterial compounds from the rhizome of phlai ( <i>Zingiber montanum</i> ) for use in cosmetic products
<b>Researcher</b>	Parichat Thepthong Sornchai Intachai
<b>Organization</b>	Faculty of Science, Thaksin University
<b>Year</b>	2023

---

The effect of extracting solvents (hexane, dichloromethane, acetone, ethanol, methanol, 50% ethanol, and 75% ethanol) on the phenolic content, antioxidant, and antibacterial activities of the rhizomes of *Zingiber montanum* (Phlai) from Phattalung province, Thailand, was studied. The total phenolic content (TPC) was determined using Folin-ciocalteu reagent while antioxidant activity was determined using 2, 2-diphenyl-1-picryl hydrazine (DPPH) free radical scavenging assay and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay. The antibacterial activity of all extracts was tested against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Methanol extract showed the highest phenolic content ( $71.45 \pm 1.45$  mg GAE/g extract) and ethanol extract ( $62.22 \pm 0.30$  mg GAE/g extract) recorded slightly less than that of methanol. The results correspond to the antioxidant activity by DPPH ( $IC_{50}$   $36.89 \pm 2.53$  and  $38.89 \pm 0.27$   $\mu$ g/mL, respectively) assay. Whereas ethanol extract showed a slightly higher ferric-reducing antioxidant power than methanol extract with FRAP values of  $78.65 \pm 4.73$  and  $76.09 \pm 4.57$  mg AAE/g extract, respectively. All extracts showed poor activity against three tested bacteria strains with MIC values of more than 200  $\mu$ g/mL. Ethanol extract showed the highest antibacterial activity with a clear zone ranging from 10.50-12.00 mm. The result indicated that ethanol is a suitable solvent for the extraction of Phlai for application in cosmetic products.

**Keywords** *Zingiber montanum*, extract, antioxidation, antibacterial

### กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ ทำการประเมินศักยภาพในการต้านออกซิเดชันและต้านแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบของสารสกัดหยาบไพลจากชุมชนเขาปู่ อ.ศรีบรรพต จ.พัทลุง ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ชนิดต่างๆ เพื่อเป็นข้อมูลในการเลือกชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ใน กระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยได้รับงบประมาณอุดหนุนการวิจัยโครงการวิจัยเงิน รายได้ มหาวิทยาลัยทักษิณ กองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ประเภททุนพัฒนาแผนงานริเริ่มสำคัญ (Flagship) มหาวิทยาลัยทักษิณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 ซึ่งข้อมูลการทดสอบฤทธิ์ทาง ชีวภาพที่ได้จากการทำวิจัย ทำให้ทราบว่าเหง้าไพลจากชุมชนเขาปู่ มีสารออกฤทธิ์ที่มีสมบัติที่ เหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยเฉพาะเครื่องสำอางที่ช่วยในการชะลอ วัย แต่สารสกัดมีสมบัติต้านแบคทีเรียที่ทดสอบไม่ได้นัก

ผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ช่วยอำนวยความสะดวก เรื่องสถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์ อันเป็นประโยชน์ในการทำวิจัย และขอขอบคุณทุกท่านที่มี ส่วนช่วยเหลือ หรือให้คำปรึกษาในการทำวิจัยที่ได้กล่าวถึง ณ ที่นี้ รวมทั้งบุคคลที่ผู้วิจัยได้อ้างอิง ผลงานทางวิชาการดังปรากฏในบรรณานุกรม

ปรีชาดี เทพทอง

ศรชัย อินทะไชย

2566

## สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1    บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตการวิจัย	2
สมมติฐานการวิจัย	3
คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2    แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
ไฟล	4
การสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวด์ร่วมในการสกัด	5
การทำแห้งด้วยวิธี freeze dry	6
เทคนิค Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)	6
สารประกอบฟีนอลิก	8
อนุมูลอิสระ	9
สารต้านออกซิเดชัน	10
เชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องสำอาง	11
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12
กรอบแนวคิดในการวิจัย	16
บทที่ 3    วิธีดำเนินการวิจัย	18
การเตรียมตัวอย่างพืช	18
การเตรียมสารสกัด	18
การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม	18

## สารบัญเรื่อง (ต่อ)

	หน้า
การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน	19
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay	19
การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธี FRAP assay	19
การวิเคราะห์สารองค์ประกอบด้วยเทคนิค GC-MS	20
การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยวิธี Agar well diffusion	21
บทที่ 4 ผลการวิจัย	22
การเตรียมสารสกัด	22
ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดไพล	23
ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน	24
ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay	24
ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธี FRAP assay	26
ผลการวิเคราะห์สารองค์ประกอบในสารสกัดไพล	28
ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย	31
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	33
สรุปผลการวิจัย	33
ข้อเสนอแนะ	34
บรรณานุกรม	35
บรรณานุกรมภาษาไทย	35
บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ	35
ภาคผนวก	38
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์สารองค์ประกอบในสารสกัดไพล	39
ภาคผนวก ข การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดไพล	42
อนุสิทธิบัตร	46



## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	น้ำหนัก ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดไพล	22
4.2	ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดไพล	23
4.3	ค่า IC <sub>50</sub> (µg/mL) ของสารสกัดไพลและสารมาตรฐาน ascorbic acid จากวิธี DPPH assay	25
4.4	ค่า FRAP value (mg AAE/g extract) ของสารสกัดไพลจากวิธี FRAP assay	27
4.5	องค์ประกอบทางเคมีทั้งหมดของสารสกัดเอทานอลไพลที่ทราบชื่อ	29
4.6	องค์ประกอบหลัก 3 อันดับของสารสกัดเอทานอลไพลที่ทราบชื่อ	29
4.7	ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก <i>S. aureus</i> ของสารสกัดไพล	31
4.8	ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ <i>E. coli</i> และ <i>P. aeruginosa</i> ของสารสกัดไพล	32
ก-1	จำนวนสารองค์ประกอบทั้งหมดในสารสกัดไพลจากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS	38
ข-1	ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกของสารสกัดไพล	41
ข-2	ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบของสารสกัดไพล	41

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ต้นไพลและเหง้าไพล	4
2.2	เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี	8
2.3	ตัวอย่างโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก	9
2.4	โครงสร้างสารที่พบในสารสกัดไพลขั้วต่ำ	13
2.5	โครงสร้างสารที่พบในสารสกัดไพลขั้วสูง	13
4.1	ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดไพลด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	24
4.2	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดไพลด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	26
4.3	ความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กเพอริกของสารสกัดไพลด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	27
4.4	โครมาโทแกรมของสารสกัดเอทานอลไพลจากเครื่อง GC-MS	28
ก-1	โครมาโทแกรมของ (E)-4-(3,4-Dimethoxyphenyl)but-3-en-1-yl acetate	39
ก-2	โครมาโทแกรมของ Triquinacene, 1,4-Bis(methoxy)-	40
ก-3	โครมาโทแกรมของ 1,4-Dimethoxy-2-methyl-5-(prop-1-en-2-yl) benzene	40
ข-1	ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก <i>Staphylococcus aureus</i> ของสารสกัดไพล	42
ข-2	ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ <i>Escherichia coli</i> ของสารสกัดไพล	43
ข-3	ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ของสารสกัดไพล	44

## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความเป็นมาและความสำคัญ

เครื่องสำอางเป็นสิ่งที่อยู่เคียงข้างมนุษย์มาเป็นเวลายาวนาน โดยเฉพาะเครื่องสำอางในกลุ่มทั่วไปที่ใช้ทำความสะอาดผิว เช่น ยาสระผมที่ไม่มีสารขจัดรังแค โฟมล้างหน้า และ สบู่ เป็นต้น โดยสบู่เป็นผลิตภัณฑ์ที่จำเป็นต้องใช้กันทุกครัวเรือน ทุกเพศ ทุกวัย และทุกวัน ทำให้ปัจจุบันมีการผลิตและจำหน่ายสบู่ค่อนข้างมาก โดยสบู่ที่มีส่วนผสมของสมุนไพรจะได้รับความสนใจเป็นพิเศษ ซึ่งปัจจุบันผู้บริโภคไม่ได้เน้นเฉพาะการทำความสะอาดเพื่อชะล้างคราบเหงื่อหรือแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพเท่านั้น แต่ยังให้ความสำคัญค่อนข้างมากกับผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนช่วยลดผิวหมองคล้ำ ลดเลือนริ้วรอย ชะลอวัย และบำรุงผิวด้วย ประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพค่อนข้างมาก จึงมีสมุนไพรในท้องถิ่นมากมายหลายชนิดที่สามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมในสบู่ มีการบันทึกเกี่ยวกับอุปกรณ์การอาบน้ำของคนไทยในสมัยสมเด็จพระนารายณ์มหาราชว่า “มักจะเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่ช่วยในการทำมาสะอาด เช่น ดินสอพอง ใบบวบ มะกรูด ลูกประคำดีควาย และ ไพล”

ไพล เป็นพืชล้มลุกในวงศ์ขิง มีเหง้าอยู่ใต้ดิน ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Zingiber montanum* เป็นหนึ่งในสุดยอดพืชสมุนไพรกลุ่ม Champion products ที่มีศักยภาพในการพัฒนาต่อยอดภายใต้แผนแม่บทแห่งชาติว่าด้วยการพัฒนาสมุนไพรไทย ฉบับที่ 1 ปี 2560-2564 ไพลเป็นพืชที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน โดยส่วนเหง้า มีรสเผ็ดร้อน ใช้ปรุงอาหารและใช้เป็นยา สรรพคุณแก้ปวดท้องอืด ท้องขึ้น ขับลม แก้อาเจียน แก้โรคนิ่ว แก้หืด ตำพอกแก้ฟกช้ำและดูดพิษแผลอักเสบได้ดี นอกจากนี้ ไพลยังมีสรรพคุณทางเภสัชวิทยาที่หลากหลายมาก เช่นฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านรา ต้านอนุมูลอิสระ ต้านฮีสตามีนหรือแก้แพ้ และฤทธิ์คลายกล้ามเนื้อ เป็นต้น

จากการสืบค้นพบว่าสารสกัดเอทานอลของไพล สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ มีหลายรายงานการวิจัยที่บ่งชี้ว่าสารสกัดจากไพลมีสมบัติต้านออกซิเดชัน (Jitoe et al., 1992; Vankar et al., 2006) โดยในปี 2008 Leelapornpisid และคณะ ได้รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากไพลแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพหลายประการรวมทั้งฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และในปี 1994 มีรายงานว่าสาร cassumunins A, B และ C ที่แยกได้จากไพลแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบได้ดีกว่า curcumin (Masuda and Jitoe, 1994) การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดเอทานอลไพลจากภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย พบว่าไพลจากต่างแหล่งเพาะปลูกจะมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งร้อยละของสารต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 57.63-80.88 โดยไพลจากภาคเหนือมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด (Bua-in and Paisooksantivatana, 2009)

ไพลเป็นพืชที่มีทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย โดยไพลจากพื้นที่ราบสูงมีฤทธิ์ทางชีวภาพค่อนข้างดี ซึ่งในจังหวัดพัทลุงบริเวณ ต.เขาปู่เขาย่า อ.ศรีบรรพต มีกลุ่มวิสาหกิจชุมชนที่มีความเข้มแข็ง มีการแปรรูปสมุนไพรหลากหลายชนิด รวมทั้งการแปรรูปไพล ซึ่งได้มีการนำไพลมาทำลูกประคบและน้ำมันนวดซึ่งการแปรรูปยังไม่หลากหลายมากนัก ประกอบกับเมื่อพิจารณาถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดไพลบ่งชี้ว่าสารสำคัญในไพลสามารถช่วยแก้ปัญหาด้านผิวได้ เช่น ลดการเกิดสิว ช่วยบำรุงผิวให้แข็งแรง ให้ความชุ่มชื้นกับผิว ลดริ้วรอย ลดอาการแพ้ทางผิวหนัง ต้านไวรัส และช่วยให้ผิวขาวกระจ่างใสขึ้น นั่นคือไพลมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นส่วนผสมในสบู่ แต่เนื่องจากไพลต่างท้องถิ่นที่จะมีสารออกฤทธิ์ในปริมาณที่แตกต่างกัน ผู้วิจัยสนใจที่จะนำไพลจากชุมชนเขาปู่เขาย่า ซึ่งเป็นพื้นที่ที่ประชากรในชุมชนสนใจการแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าสมุนไพร อีกทั้งมีวัตถุดิบในชุมชน มาสร้างเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบชนิดใหม่ให้กับชุมชน โดยจะนำไพลในชุมชนมาศึกษาวิธีการสกัดเพื่อให้ได้สารต้านออกซิเดชันในปริมาณมาก พร้อมทั้งศึกษาสารองค์ประกอบในสารสกัด และวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมเพื่อเป็นข้อมูลในการควบคุมคุณภาพของสารสกัดที่จะนำมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ของแต่ละรอบการผลิต และศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัด เพื่อประเมินชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปใช้เป็นส่วนผสมในสบู่สูตรสมุนไพรต่อไป

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านออกซิเดชันและต้านแบคทีเรียจากไพลในท้องถิ่น
2. เพื่อวิเคราะห์สารองค์ประกอบในสารสกัดที่ออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ดี
3. เพื่อเตรียมสารสกัดไพลที่มีศักยภาพในการนำไปต่อยอดเพื่อผลิตสบู่สูตรต้นแบบ

### ขอบเขตการวิจัย

1. เลือกศึกษาตัวอย่างเหง้าไพลจากชุมชนเขาปู่เขาย่า อ.ศรีบรรพต จ.พัทลุง
2. เตรียมสารสกัดไพลด้วยตัวทำละลายหลายชนิด และใช้คลื่นอัลตราซาวด์ร่วมในการสกัด
3. วิเคราะห์ชนิดของสารองค์ประกอบหลักในสารสกัดไพลที่ออกฤทธิ์ดีที่สุดด้วยเทคนิค GC-MS
4. วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด ด้วย Folin-Ciocalteu reagent
5. ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัด ด้วยวิธี DPPH assay และ FRAP assay
6. ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัด ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa*

## สมมติฐานการวิจัย

การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมจะทำให้ได้สารสกัดที่มีทั้งสมบัติด้านออกซิเดชันและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในระดับที่ดี ซึ่งจะมีศักยภาพในการนำไปพัฒนาเพื่อใช้เป็นส่วนผสมในสบู่สูตรธรรมชาติ

## คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย

สารสกัด (extract) เป็นสารสกัดเบื้องต้นจากพืชหรือสมุนไพรที่ยังไม่ถึงขั้นบริสุทธิ์ มีสารองค์ประกอบผสมกันอยู่หลายชนิด กรรมวิธีการสกัดไม่ยุ่งยาก ซับซ้อน สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยตรง หรือนำไปผ่านกรรมวิธีผลิตก่อนจะนำไปใช้ประโยชน์

การใช้คลื่นอัลตราซาวด์ร่วมในการสกัด (ultrasound-assisted extraction) คือการสกัดสารด้วยตัวทำละลาย และนำไปใส่ในอ่างของเครื่องอัลตราโซนิกตามความถี่และเวลาที่กำหนด

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สารสกัดจากโพลที่มีศักยภาพในการต้านออกซิเดชันและต้านแบคทีเรีย สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์สบู่สูตรธรรมชาติ
2. ทราบสารสำคัญที่เป็นสารหลักในสารสกัดโพลที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดีที่สุด
3. สามารถสร้างองค์ความรู้เพื่อถ่ายทอดสู่ชุมชน ถึงกระบวนการนำสารออกฤทธิ์จากโพลมาใช้ให้เกิดประโยชน์ เพิ่มมูลค่าของโพล และเพิ่มรายได้ให้กับชุมชน

## บทที่ 2

### แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### ไพล

ไพล เป็นพืชล้มลุกในวงศ์ขิง (ZINGIBERACEAE) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Zingiber montanum* (J.Koenig) Link ex A.Dietr. มีชื่อพ้องวิทยาศาสตร์ *Zingiber cassumunar* Roxb., ชื่อสามัญ Phlai หรือ Cassumunar ginger ชื่อท้องถิ่นอื่น ๆ เช่น ปูขมิ้น มั่นสะล่าง (ฉาน-แม่ฮ่องสอน), ว่านไฟ ไพล เหลือง (ภาคกลาง), ปูเลย ปูลอย (ภาคเหนือ), ว่านปอบ (ภาคอีสาน) เป็นต้น มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเอเชีย แอฟริกาตะวันออก อินเดีย อินโดนีเซีย มาเลเซีย และไทย

ต้นไพล เป็นไม้ล้มลุก มีความสูงประมาณ 0.7-1.5 เมตร มีเหง้าอยู่ใต้ดิน เปลือกมีสีน้ำตาลแกมเหลือง เนื้อด้านในมีสีเหลืองถึงสีเหลืองแกมเขียว ทางเหนือหรือลำต้นเทียมขึ้นเป็นกอ โดยจะประกอบไปด้วยกาบหรือโคนใบหุ้มซ้อนกันอยู่ เหง้าไพลสดฉ่ำน้ำ รสฝาด เย็น ร้อนซ่า มีกลิ่นเฉพาะ ส่วนเหง้าไพลแก่สดและแห้งจะมีรสเผ็ดเล็กน้อย ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการใช้เมล็ด แง่ง หรือเหง้า แต่โดยทั่วไปแล้วจะใช้ส่วนของเหง้าเป็นท่อนพันธุ์ในการเพาะปลูก ใบไพล ลักษณะของใบเป็นรูปขอบขนานแกมรูปหอก ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงสลับ กว้างประมาณ 3.5-5.5 เซนติเมตรและยาวประมาณ 18-35 เซนติเมตร ดอกไพล ออกดอกเป็นช่อ แทงจากเหง้าใต้ดิน กลีบดอกมีสีนวล มีใบประดับสีม่วง ผลไพล ลักษณะของผลเป็นผลแห้งรูปกลม



ภาพที่ 2.1 ต้นไพลและเหง้าไพล (<https://medthai.com/>)

#### สรรพคุณของไพล

ต้นไพล : แก้อาการท้องเสีย แก้จุกเสียด

ใบ : แก้ไข้ แก้อาการคลื่นไส้ อาเจียน แก้อาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อหรือปวดตามร่างกาย

ดอกไพล : ขับโลหิตและกระจายเลือดเสีย กระจายเลือดที่เป็นลิ่มเป็นก้อน

ราก : แก้เลือดกำเดาไหล

เหง้าไพล : แก้อาการปวดฟัน ช่วยรักษาอาการเคล็ดขัดยอก ฟกช้ำบวม ข้อเท้าแพลง ช่วยลดอาการอักเสบ แก้ปวด เส้นตึง เมื่อยขบ คลายกล้ามเนื้อเรียบ ช่วยลดการบีบตัวของมดลูกและลำไส้ รวมไปถึงกระเพาะอาหาร ช่วยรักษาโรคเหน็บชา

: แก้อาเจียน อาการอาเจียนเป็นโลหิต ช่วยรักษาโรคที่บังเกิดแต่โลหิตออกทางปาก และจมูก แก้อาการท้องอืดท้องเฟ้อ แก่ท้องขึ้น ท้องเดิน ช่วยขับลมในลำไส้ แก้อาการท้องผูก ช่วยสมานแผลในลำไส้ แก่ลำไส้อักเสบ

: ช่วยขับระดูของสตรี ขับเลือดร้ายทั้งหลาย และแก้มูกติดระดูขาว ทำให้ประจำเดือนมาเป็นปกติ นำมาใช้ต้มกับน้ำอาบหลังคลอดของสตรี

: ช่วยรักษาโรคผิวหนัง ช่วยรักษาฝี ช่วยคุดูหนอง ช่วยแก้ผดผื่นคัน ทาเคลือบแผล เพื่อป้องกันอาการติดเชื้อได้ มีฤทธิ์ในการช่วยต้านเชื้อรา เชื้อจุลินทรีย์ และเชื้อแบคทีเรีย

: เป็นส่วนผสมในยาแก้หอบหืด มีฤทธิ์ช่วยต้านฮีสตามีนในผู้ป่วยเด็กที่เป็นโรคหอบหืด โดยสามารถช่วยลดขนาดของตุ่มนูนจากการฉีดน้ำยาฮีสตามีนเข้าใต้ผิวหนังได้อย่างมีนัยสำคัญ ยังช่วยลดอาการหอบในผู้ป่วย และช่วยให้ปอดทำงานได้ดีขึ้น

เหง้าสด : แก้ปวดท้อง ท้องเสีย บิดเป็นมูกเลือด เป็นยาสมานแผล เป็นสมุนไพรขับพิษ ทำให้ผิวหนังผุดผ่อง ปกป้องผิวจากอนุมูลอิสระ ลดเลือนริ้วรอย จุดด่างดำ และไม่ทำให้เกิดสิว ทำเป็นสมุนไพรทาหน้า และพอกหน้า จะช่วยทำให้ผิวหนังนุ่มนวล น้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ช่วยลดอาการอักเสบ

### การสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราซาวด์ร่วมในการสกัด

การสกัด (extraction) เป็นกระบวนการแยกสารออกจากสารผสมหรือพืชตัวอย่างโดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชในงานวิจัยนี้ คือการสกัดสารด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasound-assisted extraction) ร่วมกับตัวทำละลายอินทรีย์หรือน้ำ โดยเครื่องมือจะปล่อยคลื่นเสียงความถี่สูงผ่านตัวพา (ตัวทำละลายอินทรีย์หรือน้ำ) กระบวนการนี้จะทำให้เกิดฟองก๊าซซึ่งเกิดการหดตัวและขยายตัวเป็นวัฏจักร เมื่อฟองก๊าซขยายตัวจะดึงสารที่อยู่ภายในพืชตัวอย่างออกมาละลายในตัวทำละลายและในขณะที่ฟองก๊าซแตกออกจะเกิดความดันและความร้อนอย่างมากในบริเวณนั้น ส่งผลทำให้เนื้อเยื่อของพืชตัวอย่างฉีกขาดและด้วยอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้สารสำคัญที่ต้องการสกัดละลายออกมาในตัวทำละลายได้ดีขึ้น การสกัดด้วยวิธีนี้จะมีประสิทธิภาพดีหรือไม่ขึ้นกับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ความถี่ของคลื่นเสียง (ถ้าใช้ความถี่สูงจะใช้เวลาสั้นในการสกัด) ความเข้มของคลื่นเสียง (คลื่นแสงความเข้มสูงจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพทำให้สกัดสารได้ปริมาณมาก) ความดันไอของตัวทำละลาย (ตัวทำละลายที่มีความดันไอสูงสามารถสกัดได้ดีกว่า) และอุณหภูมิ (การสกัดได้ดีที่อุณหภูมิสูง) (ดวงกมล และคณะ 2557)

## การทำแห้งด้วยวิธี freeze dry

Freeze dry หมายถึงการทำให้แห้งด้วยการแช่เยือกแข็ง โดยทำให้น้ำที่อยู่ในเซลล์ซึ่งเป็นของเหลวเปลี่ยนสถานะเป็นของแข็งที่เป็นผลึกน้ำแข็งเล็ก ๆ ก่อน จากนั้นจะทำการลดความดันสภาพแวดล้อมให้ต่ำกว่าบรรยากาศปกติ เพื่อให้ผลึกน้ำแข็งสามารถระเหิด (sublimation) กลายเป็นไอ โดยภายใต้อุณหภูมิเท่ากับหรือต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส จะทำให้น้ำแข็งเกิดการระเหิดที่ความดัน 4.7 มิลลิเมตรปรอทหรือต่ำกว่า ขั้นตอนการทำ freeze dry มี 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การแช่เยือกแข็ง (freezing) เป็นกระบวนการลดอุณหภูมิของสารสกัดให้ต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง (freezing point) อย่างรวดเร็ว เพื่อทำให้น้ำที่อยู่ในเซลล์เกิดเป็นผลึกน้ำแข็งขนาดเล็ก (ice crystal) ซึ่งการแช่เยือกแข็งที่นิยมกันเป็นแบบใช้ลมเย็น (air blast freezing) และการแช่เยือกแข็งแบบไครโอเจนิก (cryogenic freezing)

ขั้นตอนที่ 2 การทำแห้งขั้นปฐมภูมิ (primary drying) ซึ่งเป็นการลดปริมาณน้ำ (dehydration) ด้วยการระเหิดผลึกน้ำแข็งในเซลล์ให้กลายเป็นไอน้ำด้วยการลดความดันบรรยากาศโดยรอบให้ต่ำลงในระดับของสุญญากาศ (Vacuum) โดยการระเหิดของผลึกน้ำแข็งจะเกิดได้อย่างสมบูรณ์ต้องใช้ความดันต่ำกว่า 132 Pa และ 132 mPa ตามลำดับ

สำหรับการระเหิดของชั้นน้ำแข็ง (ice layer) จะเริ่มขึ้นที่บริเวณผิวหน้าของผลิตภัณฑ์ที่สัมผัสอากาศก่อน ทำให้บริเวณผิวน้ำกลายเป็นชั้นแห้ง (dry layer) จากนั้นชั้นน้ำแข็งที่อยู่ภายในผลิตภัณฑ์จะระเหิดผ่านชั้นแห้งไปสู่ผิวหน้าของสารตามลำดับ โดยระยะเวลาการระเหิดนั้นขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่าง และโครงสร้างของสารแต่ละชนิด

ขั้นตอนที่ 3 การทำแห้งขั้นทุติยภูมิ (secondary drying) หลังจากผลึกน้ำแข็งระเหิดออกไปหมดแล้วในขั้นปฐมภูมิ แต่ก็ยังมีความชื้นคงเหลืออยู่ซึ่งจำเป็นต้องทำให้แห้งด้วยการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น เพื่อดึงเอาความชื้นที่ตกค้างอยู่ออกไปให้เหลืออยู่ในระดับที่ปลอดภัยกับการเก็บรักษา (<https://www.harn.co.th/articles/getting-to-know-freeze-dry/>)

## เทคนิค Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

### เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

เป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้ในการวิเคราะห์เพื่อหาชนิดและปริมาณของสารที่สนใจในตัวอย่างได้ โดยลักษณะของสารหรือตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้ได้ จะต้องมีความสมบัติในการระเหยกลายเป็นไอได้ง่าย เพราะเทคนิคนี้เป็นเทคนิคที่ใช้ในการ แยกสารผสมออกจากกันในสถานะแก๊ส โดยอาศัยความแตกต่างกันของคุณสมบัติในการละลายและความสามารถในการดูดซับของสารแต่ละชนิดบนเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) และเฟสอยู่กับที่ (Stationary phase)



### หลักการทำงานของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

เมื่อสารผสมถูกนำเข้าสู่ส่วนฉีดสาร สารผสมจะเกิดการระเหยกลายเป็นไอและถูกพาเข้าสู่คอลัมน์ด้วยแก๊สพา ซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ สารผสมแต่ละชนิดจะถูกแยกออกจากกันโดยอาศัยคุณสมบัติในการละลายและความสามารถในการดูดซับในคอลัมน์ ซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสอยู่กับที่ หลังจากนั้นสารที่ถูกพาออกจากคอลัมน์ตามลำดับเวลาจะถูกตรวจวัดด้วยตัวตรวจวัดที่เหมาะสมเพื่อบันทึก เวลา (Retention Time) และขนาดสัญญาณ (Signal) ของสารแต่ละชนิดออกมาในรูปแบบโครมาโทแกรม (Chromatogram)

### การวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

การบันทึกผลของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีจะบันทึกในรูปแบบของ โครมาโทแกรม ซึ่งประกอบด้วยเวลาและขนาดสัญญาณ เรียกขนาดสัญญาณที่พบ ณ เวลาช่วงหนึ่งๆว่า พีก (Peak)

- การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

โดยใช้เวลาที่สารถูกชะออกจากคอลัมน์สู่ตัวตรวจวัด (Retention Time, RT) เทียบกับเวลาของสารมาตรฐานเพื่อระบุชนิดของสาร

- การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

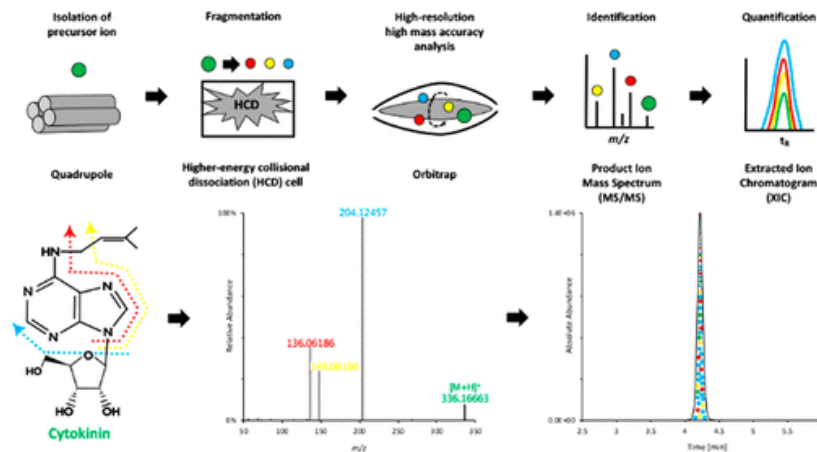
โดยขนาดสัญญาณ (พื้นที่ใต้พีก (Peak area) หรือ ความสูงของพีก (Peak height) ของสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ มาสร้างความสัมพันธ์เชิงเส้นเพื่อหาความเข้มข้นของสารในตัวอย่าง

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีจำเป็นต้องใช้สารมาตรฐานมาเปรียบเทียบกับเวลา (Retention Time) ในการระบุชนิดของสาร หรือการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ หากไม่มีสารมาตรฐานก็จะไม่สามารถทำการวิเคราะห์ได้ ดังนั้นการเลือกใช้ตัวตรวจวัดชนิด แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Mass Spectrometer) จึงได้รับความนิยมมากยิ่งขึ้นเนื่องจากไม่จำเป็นต้องมีสารมาตรฐานในขั้นแรกของการเริ่มวิเคราะห์เนื่องจากมีฐานข้อมูลของสารให้สามารถเปรียบเทียบได้

### เทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี

เป็นเทคนิคที่ใช้ในการวัด มวลต่อประจุ ( $m/z$ ) ของสารประกอบ บันทึกในรูปแบบ สเปกตรัม (Spectrum) ซึ่งเทคนิคแมสสเปกโตรเมตรีที่ใช้งานร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีสามารถใช้สเปกตรัมของสารประกอบที่วิเคราะห์ได้มาเปรียบเทียบกับความเหมือน (Match) กับสเปกตรัมที่มีอยู่ใน

ฐานข้อมูลเพื่อทำนายชนิดและความน่าจะเป็นของสารได้ จึงทำให้สามารถวิเคราะห์เชิงคุณภาพได้โดยไม่ต้องใช้สารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ



ภาพที่ 2.2 เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี

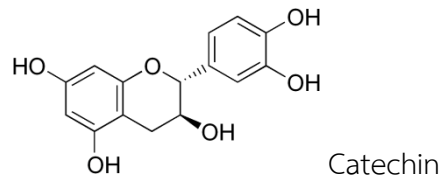
(<https://www.scispec.co.th/learning/index.php/blog/chromatography/gas-chromatography-mass-spectrometry-gc-ms>)

การต่อ GC เข้ากับ MS เป็นการนำข้อดีของเครื่องมือทั้งสองชนิดมาเสริมกัน โดยแก๊สโครมาโทกราฟีจะทำหน้าที่ในการแยกสาร ส่วนสเปกโตรมิเตอร์ชนิดมวลจะทำหน้าที่ในการหาปริมาณและพิสูจน์เอกลักษณ์ขององค์ประกอบในสารผสม ซึ่งสารที่ออกจาก GC มีสถานะเป็นแก๊ส ซึ่งเหมาะต่อการวิเคราะห์ด้วยสเปกโตรสโกปีชนิดมวล ปัจจุบันมีการสามารถใช้กับสารประกอบที่ไม่ทนความร้อนหรือมีปริมาณน้อย ๆ ได้ดี โดยการเพิ่ม Head space เข้าไปยังหัวฉีดของโครมาโทกราฟีชนิดแก๊ส

สารที่จะวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS มักมีมวลโมเลกุลไม่เกิน 700 amu เพื่อที่จะได้ระเหยได้ ซึ่งทำให้การวิเคราะห์ยังมีข้อจำกัด

### สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก (phenolics) เป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติก และมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) อย่างน้อย 1 หมู่ เกาะอยู่บนวงแหวนอะโรมาติกนั้น ตัวอย่างโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก เช่น Catechin ดังแสดงในภาพที่ 2.3 รวมไปถึงอนุพันธ์ของสารประกอบฟีนอลซึ่งมีการแทนที่ด้วยหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ เช่น ฟลาโวนอยด์ ลิกนิน และกรดซินนามิก เป็นต้น



ภาพที่ 2.3 ตัวอย่างโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีหลายชนิด ซึ่งมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก กลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน สารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่สุดที่พบในพืช บางสารมีน้ำตาล เช่น กลูโคส แรมโนส เกาะบนโครงสร้างเรียกว่าสารประกอบไกลโคไซด์ นอกจากนี้พบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกัน หรือจะเป็นสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ และเทอร์ปีนอยด์ เป็นต้น

### อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radical) เป็นสารหรือโมเลกุลซึ่งมีอิเล็กตรอนที่ขาดคู่อยู่ในวงรอบของอะตอมทำให้สารหรือโมเลกุลเหล่านี้มีโครงสร้างที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี ดังนั้นจึงไปดึงอิเล็กตรอนจากสารอื่นเพื่อให้อิเล็กตรอนเข้าคู่กันเกิดเป็นโครงสร้างที่มีความเสถียรจึงเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ขึ้นต่อเนื่อง อนุมูลอิสระในร่างกายของมนุษย์แบ่งเป็น 2 แบบ คือ

1) อนุมูลอิสระที่เกิดในร่างกายจากกระบวนการเผาผลาญอาหารหรือกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นนั้นสามารถรวมตัวกับไขมันชนิดความหนาแน่นต่ำ LDL (Low density lipoproteins) ได้ดี และยังสามารถรวมตัวกับสารบางชนิดในร่างกายก่อให้เกิดสารพิษที่ทำลายเนื้อเยื่อ หรืออาจไปเปลี่ยนแปลงข้อมูลทางพันธุกรรมของดีเอ็นเอ ทำให้เซลล์ปกติเปลี่ยนสภาพไปเป็นเซลล์มะเร็ง

2) อนุมูลอิสระที่มาจากปัจจัยภายนอกในร่างกาย เช่น การได้รับเชื้อไวรัส เชื้อแบคทีเรีย การได้รับหรือสัมผัสรังสีอัลตราไวโอเลต รังสีเอกซ์ รังสีแกมมา การอยู่ท่ามกลางมลภาวะควันทะไธร์ แก๊สจากท่อไอเสียรถยนต์ เขม่าจากเครื่องยนต์ ฝุ่น และการประกอบหรือปรุงอาหาร เช่น การปิ้งย่าง เนื้อสัตว์ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่มีอุณหภูมิสูงๆ กลับมาใช้ซ้ำ

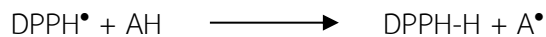
### สารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชัน (antioxidants) คือ สารประกอบที่สามารถป้องกันหรือชะลอกระบวนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ซึ่งกระบวนการออกซิเดชันที่เกิดในร่างกาย เช่น การย่อยสลายโปรตีนและไขมันจากอาหารที่กินเข้าไป มลพิษทางอากาศ คาร์บอนหรือ รังสียูวี ล้วนทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายซึ่งสร้างความเสียหายต่อร่างกายได้ สารที่มีสมบัติต้านออกซิเดชันในธรรมชาติ มักจะเป็นสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) เช่น สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นต้น ซึ่งสารกลุ่มนี้จะยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ หยุดการเกิดใหม่ของอนุมูลอิสระ และช่วยซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระไปทำลายเซลล์ต่างๆ ในร่างกาย

งานวิจัยนี้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน 2 วิธี คือ วิธี DPPH และ FRAP assay

#### 1) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) เป็นสารประกอบที่มีอนุมูลอิสระอยู่ในโครงสร้างแต่มีเสถียรภาพ เมื่อละลายในเอทานอลจะเป็นสารละลายสีม่วง ดูดกลืนพลังงานแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 517 nm เมื่ออนุมูลอิสระ DPPH<sup>•</sup> ถูกรีดิวซ์โดยสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีคุณสมบัติเป็น hydrogen donor จะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลืองของ DPPH-H ซึ่งการสูญเสียอิเล็กตรอนดังกล่าวจะทำให้อนุมูลอิสระ DPPH<sup>•</sup> สามารถดูดกลืนพลังงานแสงได้น้อยลง ดังปฏิกิริยาในสมการ



ถ้าสารตัวอย่างมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้สูง ความเข้มของสารละลายสีม่วงจะลดลง การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ก็ลดลงด้วย นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหา % radical scavenging จากสมการดังนี้

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

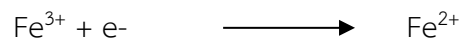
เมื่อ  $A_{\text{sample}}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่ผสมกับ DPPH<sup>•</sup>

$A_{\text{control}}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH<sup>•</sup> ที่ผสมกับตัวทำละลาย

นำค่า % radical scavenging ที่ได้มาคำนวณหาค่า IC<sub>50</sub> (50% Inhibitory concentration) หมายถึง ความเข้มข้นของสารที่ทดสอบที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระของ DPPH ได้ 50% โดยใช้ ascorbic acid หรือ butylated hydroxytoluene (BHT) หรือ butylated hydroxyanisole (BHA) เป็นสารมาตรฐาน

## 2) การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP assay

FRAP assay เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ โดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์ โดยศึกษาปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของ potassium ferricyanide ( $\text{Fe}^{3+}$ ) ไปเป็น potassium ferrocyanide ( $\text{Fe}^{2+}$ ) ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับ ferric chloride ( $\text{FeCl}_3$ ) จะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ferric-ferrous complex ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 700 nm



โดยรายงานในรูปของค่า FRAP value ซึ่งหมายถึง ความสามารถในการรีดิวซ์  $\text{Fe}^{3+}$  ไปเป็น  $\text{Fe}^{2+}$  ของสารตัวอย่าง นั่นคือถ้าสารใดมีค่า FRAP value สูงก็จะสามารถรีดิวซ์สูง (Bhalodia et al., 2011)

## เชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องสำอาง

ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เมื่อมีการพัฒนาเครื่องสำอางออกมาหนึ่งสูตร จะต้องมีการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องสำอางในการต้านแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง และ ประสิทธิภาพของสารกันเสียในสูตรดังกล่าว ว่าสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนในระหว่างการเปิดใช้เครื่องสำอางได้ เพื่อให้ผู้บริโภคมีความปลอดภัย อนึ่ง ในปี พ.ศ. 2559 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย ซึ่งมีข้อกำหนดเกี่ยวกับเชื้อจุลินทรีย์ โดยหนึ่งในประเด็นหลักคือ เครื่องสำอางต้องไม่ตรวจพบเชื้อก่อโรค ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* และ *Clostridium* spp. (เฉพาะเครื่องสำอางผสมสมุนไพร) แบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง (กัญยา หวานณรงค์ 2560) ที่ทำการทดสอบฤทธิ์ในงานวิจัยมี 3 ชนิด คือ

1. *Staphylococcus aureus* เป็น pyogenic gram-positive cocci ที่อยู่กันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น สามารถอยู่อาศัยในคนโดยยังไม่ทำให้เกิดโรค พบว่าร้อยละ 30 และ 50 ของผู้ใหญ่และเด็กที่แข็งแรงมีเชื้อ *S. aureus* อยู่ในร่างกาย โดยอาศัยอยู่ในช่องจมูกด้านหน้า และอาจพบได้บริเวณรักแร้ ขาหนีบ รอบอวัยวะเพศหญิง และรอบรูทวาร การที่เชื้อสามารถอาศัยในคนโดยไม่ก่อโรคและบางครั้งอาจปนเปื้อนที่ผิวหนังโดยเฉพาะที่มือ เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เชื้อมีชีวิตรอดอยู่ และแพร่ระบาดโดยเฉพาะ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* โรคติดเชื้อ *S. aureus* ที่พบบ่อยนั้นมักเกิดที่ผิวหนัง มักเป็นการอักเสบบริเวณรอบรูขุมขน มีทั้งที่อักเสบไม่มาก และการอักเสบนั้นลุกลามมากขึ้นกลายเป็นหนองที่ผิวหนังและเนื้อเยื่อไขมันใต้ผิวหนัง ซึ่งมักพบบ่อยตรงบริเวณผิวหนังที่อับชื้น เช่น ใบหน้า รักแร้ ขาหนีบ ไต๋ราวนม เป็นต้น (Que, 2010)

2. *Escherichia coli* เป็นอีกเชื้อหนึ่งที่พบได้บ่อยในโรงพยาบาล เป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น (normal flora) ที่พบได้ในลำไส้ของคนและสัตว์เลื้อยคลาน โดยปกติจะไม่ทำอันตรายหรือก่อโรคร้ายแรง เมื่ออยู่ในลำไส้จะช่วยย่อยอาหารที่เรารับประทานเข้าไป แต่หากเชื้อ *E. coli* ลุกล้ำเข้าสู่ระบบต่างๆ ของร่างกายก็จะทำให้เกิดโรคติดเชื้อรุนแรง เช่น โรคติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ และการติดเชื้อในกระแสเลือด เป็นต้น และมีเชื้อ *E. coli* บางสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงได้ (มณฑล เลิศวรปรีชา และ คณะ 2554)

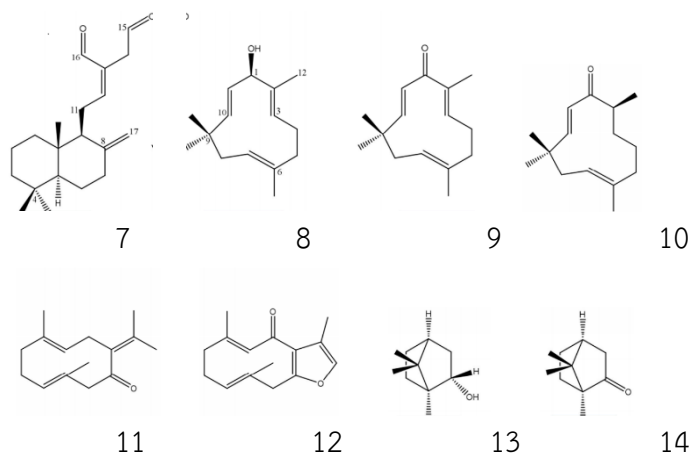
3. *Pseudomonas aeruginosa* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีแคปซูลหุ้มรูปร่างบาซิลลัสชนิดหนึ่งที่สามารถก่อโรคในพืช สัตว์ และมนุษย์ โตได้ดีบนพื้นผิวเปียกแฉะ แบคทีเรียชนิดนี้ถือเป็นสปิชีส์ที่มีความสำคัญทางคลินิก และเป็นเชื้อโรคที่ทนทานต่อยาหลายชนิด *P. Aeruginosa* เป็นเชื้อโรคฉวยโอกาสจะมีการติดเชื้อกับผู้ที่ภูมิคุ้มกันต่ำหรือป่วยมากๆ หรือผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาล บางครั้งจึงเรียกโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *P. aeruginosa* ว่าโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล จากผู้ป่วยโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลจำนวน 2000 คนต่อปี จะมีจำนวน 10 % ที่มีสาเหตุมาจาก *P. aeruginosa* ซึ่ง *P. aeruginosa* เป็นสาเหตุอันดับสองในการทำให้เกิดโรคปอดบวมในโรงพยาบาล และเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ในการก่อให้เกิดโรคปอดบวมในห้อง ICU โรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* สามารถแพร่กระจายภายในโรงพยาบาลโดยบุคลากร อุปกรณ์การแพทย์ ผิวหนัง น้ำยาฆ่าเชื้อ และอาหาร โรคติดเชื้อนี้เป็นปัญหาที่รุนแรงมากในโรงพยาบาลเนื่องจาก ผู้ป่วยซึ่งมีอาการหนักอยู่แล้วจะเสียชีวิตเนื่องจากโรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* และ *Pseudomonas* ตื้อต่อยาปฏิชีวนะมาก ทำให้ยากต่อการรักษา

### งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

องค์ประกอบทางเคมีของไพลมีหลากหลายกลุ่ม เช่น curcumin ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม curcuminoids สาร cassumunar A, B และ C ซึ่งเป็นสารประกอบในกลุ่ม complex curcuminoids ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการอักเสบได้ดีกว่า curcumin (Masuda and Jitoe, 1994) นอกจากนี้ยังพบสารในกลุ่ม monoterpenoids, sesquiterpenoids, curcuminoid, naphthoquinone, phenylbutenoid และ cyclohexene เป็นต้น (Kaewchoothong, 2009)

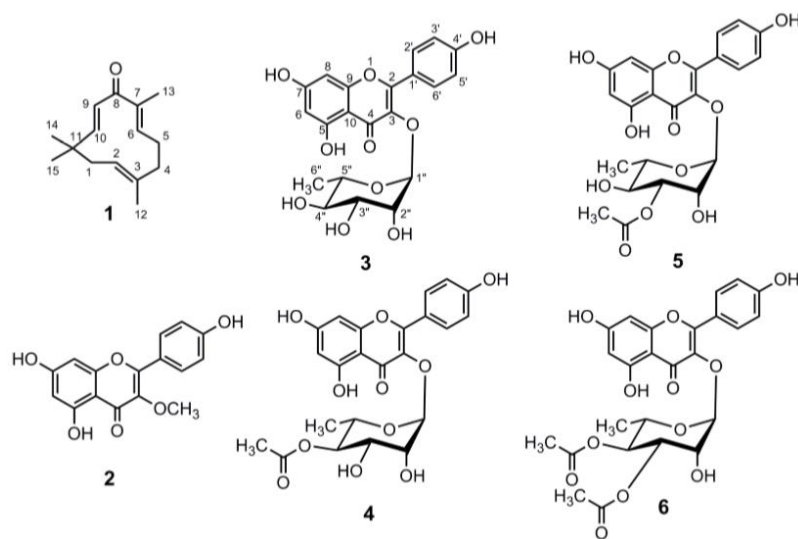
#### 1. สารองค์ประกอบในสารสกัดไพล

การสกัดจากเหง้าไพลแห้งโดยใช้เฮกเซนและคลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย ได้สารที่มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียดีกว่าสารสกัดเมทานอลซึ่งมีขี้ผึ้งสูงกว่า โดยเมื่อนำสารสกัดเฮกเซนมาแยกเป็นสารบริสุทธิ์ได้สารกลุ่มเทอร์พีนจำนวน 8 สาร คือ (*E*)-8(17),12-labdadiene-15,16-dial (7), zerumbol (8), zerumbone (9), buddledone A (10), furanodienone (11), germacrone (12), borneol (13), และ camphor (14) (Siddique et al., 2019) ดังภาพที่ 2.4



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างสารที่พบในสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์

เหง้าโพลีแซ็กคาไรด์ถูกนำมาสกัดด้วย 95% เอทานอล และ 50% เอทานอล เมื่อนำสารสกัดที่ได้มาละลายน้ำและสกัดแบ่งส่วนด้วยเฮกเซน พบว่า ในส่วนขั้วสูงแยกได้สารฟีนอลิกกลุ่มฟลาโวนอยด์ จำนวน 5 สาร ดังแสดงในภาพที่ 2.5 kaempferol 3-O-methyl ether (2), kaempferol 3-O- $\alpha$ -rhamnopyranoside (3), kaempferol 3-O- $\alpha$ -(4''-O-acetyl) rhamnopyranoside (4), kaempferol 3-O- $\alpha$ -(3''-O-acetyl) rhamnopyranoside (5) และ kaempferol 3-O- $\alpha$ -(3'',4''-di-O-acetyl)rhamnopyranoside (6) ในส่วนขั้วต่ำได้สารกลุ่ม sesquiterpenoid จำนวน 1 สาร คือ zerumbone (1) (Hassan et al., 2009)



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างสารที่พบในสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์

เหง้าโพลสด นำมาสกัดด้วยอะซิโตน และนำไปละลายน้ำและสกัดด้วยเฮกเซน นำส่วนที่ละลายในน้ำมาสกัดต่อด้วยเอทิลอะซิเตท และนำชั้นเอทิลอะซิเตทมาทำปฏิกิริยาดังวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี ได้สารบริสุทธิ์ cassumunins A, B และ C ซึ่งเมื่อนำสารทั้ง 3 สาร มาทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ด้านการอักเสบ พบว่าแสดงฤทธิ์ได้ดีกว่า โดยสารทั้ง 3 สาร ที่ปริมาณ 2.7  $\mu\text{mol}$  แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเกิดขึ้นของ linoleic acid hydroperoxide ซึ่งวิเคราะห์โดยวิธี thiocyanate ซึ่งสาร cassumunin A แสดงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ดีที่สุด รองลงมาคือ cassumunin C, cassumunin B, และ curcumin ตามลำดับ (Masuda and Jitoe 1994)

## 2. สารองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยโพล

องค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยโพลเป็นสารกลุ่ม terpenoid มีรายงานการศึกษาขององค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยโพลค่อนข้างมาก เช่น ในปี 2017 Verma และคณะ ได้ศึกษาสารองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าโพล ซึ่งเมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย GC-MS พบว่ามีสารองค์ประกอบจำนวน 49 ชนิด ซึ่งเป็นสารกลุ่ม monoterpene 32.6-43.5% กลุ่ม phenylbutanoids (27.5-41.2%) กลุ่ม oxygenated monoterpenes (11.4-34.1%) ซึ่งมีสารองค์ประกอบหลักคือ sabinene (13.5-38.0%), (*E*)-1-(3',4'-dimethoxyphenyl)buta-1,3-diene (DMPBD) (20.6-35.3%), terpinen-4-ol (9.0-31.3%),  $\gamma$ -terpinene (1.1-4.8%) และ  $\beta$ -phellandrene (1.0-4.4%) น้ำมันหอมระเหยถูกนำไปทดสอบสมบัติต้านแบคทีเรีย 8 สายพันธุ์ และเชื้อรา 2 สายพันธุ์ ซึ่งน้ำมันหอมระเหยแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ในระดับต่ำถึงระดับดี ด้วยค่า MIC ในช่วง 125-500  $\mu\text{g/mL}$  และ ต้านเชื้อราในระดับปานกลาง 250  $\mu\text{g/mL}$  (Verma et al., 2017)

และในปี 2019 Hassan และคณะ ได้ทำการรวบรวมข้อมูลสารองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยโพลไว้ ดังนี้ ปี 1997 Pongprayoon และคณะ ได้รายงานสารองค์ประกอบ คือ terpinen-4-ol, (*E*)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)butadiene และ  $\gamma$ -terpinene (Pongprayoon et al., 1997) ปี 2008 Bhuiyan และคณะ ได้รายงานพบสาร 1,4-bis (methoxy) triquinacene, (*Z*)-ocimene, terpinen-4-ol,  $\gamma$ -terpinene, และ  $\beta$ -phellandrene ซึ่งเป็นสารหลักที่พบในน้ำมันหอมระเหย ปี 2012 Al-Amin และคณะ ได้รายงานสารกลุ่ม sesquiterpenoid ที่มีชื่อว่า zerumbone ซึ่งมีศักยภาพในการต้านแผลเปื่อยได้ดี (Bhuiyan et al., 2008) และปี 1994 Masuda และคณะ ได้รายงานสารกลุ่ม complex curcuminoids จำนวน 3 สาร คือ cassumunins A, B, C และในปีเดียวกัน Jitoe และคณะ ได้รายงาน cassumunins A, B, C ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับดี

สำหรับการศึกษาน้ำมันหอมระเหยในประเทศไทยพบว่า มีสารองค์ประกอบ 15 ชนิด ซึ่งสารหลักคือ sabinene, terpinen-4-ol และ DMPBD ((*E*)-1-(3,4-dimethylphenyl)butadiene) ซึ่งสารองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากแต่ละภูมิภาคไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดเอทานอล โดยทดสอบกับอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าโพลจากต่างภูมิภาคแสดง



ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยสารสกัดโพลจากภาคเหนือแสดงฤทธิ์ได้ดีที่สุด (80.88%) รองลงมาคือภาคตะวันออก (76.47%), ภาคใต้ (72.51%), ภาคเหนือ (67.38%), ภาคตะวันตก (66.66%) และภาคกลาง (57.63%) (Bua-in and Paisooksantivatana, 2009)

น้ำมันหอมระเหยจากโพลยังมีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อรา *Aspergillus flavus* ซึ่งเป็นเชื้อราที่สร้างความเสียหายให้กับอาหาร สารที่พบในโพลและมีความสำคัญ คือ sabinene และ terpinen-4-ol โดยสารทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฆ่าเชื้อราโรคพืชได้ดี พบว่า terpinen-4-ol ที่ความเข้มข้น 2.5 % มีฤทธิ์ฆ่าเชื้ออสุจิของวัวใกล้เคียงกับยาสังเคราะห์ Delfen (ศศิธร วสุวัตติ, 2527) นอกจากนี้ terpinen-4-ol ยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบและการติดเชื้ออีกด้วย

เหง้าโพล มีการนำมาใช้เพื่อรักษาทั้งอาการท้องร่วงซึ่งมีสาเหตุจากแบคทีเรีย เชื้อรา หรือสารก่อภูมิแพ้ และอาการท้องผูก อาหารไม่ย่อย ท้องอืด ท้องเฟ้อ รวมทั้งใช้เป็นยาแก้ปวด มีรายงานทางเภสัชวิทยาพบว่าสามารถต้านจุลชีพ ต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ ใช้เป็นยาแก้แพ้ ยาลดอาการกล้ามเนื้อเรียบ ต้านเชื้อรา และมีฤทธิ์ฆ่าแมลง สารสกัดเหง้าโพลด้วยไดคลอโรมีเทนมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและลบได้ดี และมีฤทธิ์ลดการหลั่งของสารที่ทำให้เกิดอาการแพ้และอักเสบของเซลล์ผิวหนังในคน ตัวอย่างฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าโพลมีดังนี้

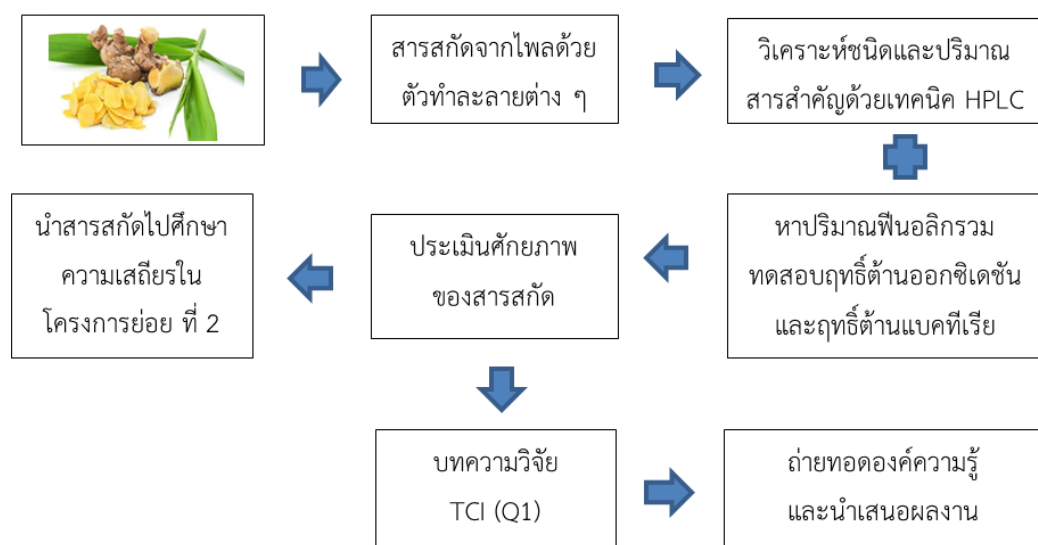
ในปี 2007 Manochai และคณะ ได้ทำการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยจากโพลอายุต่างๆ โดยวิเคราะห์จากโพลในแปลงปลูกของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ผลวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากโพลที่ต่างอายุกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยโพลที่มีอายุ 22 เดือน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด (79.19%) ในขณะที่โพลอายุ 16 เดือน จะให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุด (13.02 mL/kg) เมื่อวิเคราะห์ข้อมูล GC-FID บ่งชี้ว่า มีสารหลัก 3 ชนิด คือ sabinene, terpinen-4-ol และ (*E*)-1-(3',4'-dimethylphenyl) butadiene (DMPBD) อย่างไรก็ตาม ไม่มีองค์ประกอบหลักใดที่มีความสัมพันธ์กับอายุของเหง้าโพล (Manochai et al., 2007)

ในปี 2019 Aunjum และคณะ ได้รายงานการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากโพลในประเทศบังคลาเทศ โดยนำโพลมาสกัดด้วยเอทานอล และนำสารสกัดไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กเฟอริก (FRAP assay) พบว่าสารสกัดจากโพลแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ด้วยค่า  $IC_{50}$  114.32  $\mu$ g/ml และมีค่า FRAP value 33.27  $\mu$ M Fe(II)/100  $\mu$ g dw มีปริมาณฟีนอลิก 79.43 mg GAE/g ปริมาณฟลาโวนอยด์ 268.33 mg QE/g การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก 4 สายพันธุ์ *B. megaterium*, *S. aureus*, *Micrococcus* spp., และ *S. epidermidis* แบคทีเรียแกรมลบ 10 สายพันธุ์ คือ *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *S. paratyphi*, *V. cholera*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *Proteus*

spp., *Mycobacterium* spp., และ *Campylobacter* spp. โดยการวัดขนาดวงใสของการยับยั้ง ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากไพล แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้อย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเข้มข้น 200 mg/ml มีขนาดวงใสในช่วง 11.67-16.00 mm โดยสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *Micrococcus* spp. ด้วยขนาดวงใสของการยับยั้ง  $13.67 \pm 0.577$  mm และ  $14.33 \pm 0.763$  mm ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน erythromycin มีขนาดวงใสของการยับยั้งเท่ากับ  $15.33 \pm 0.577$  mm และ  $15.67 \pm 0.577$  mm ตามลำดับ การวิเคราะห์ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดไพลในการยับยั้งเชื้อ *B. megaterium*, *Micrococcus* spp., *E. coli* และ *S. paratyphi* พบว่ามีค่า MIC 50, 200, 200, 200  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ จากข้อมูลบ่งชี้ว่า สารสกัดไพลสามารถนำไปใช้ประโยชน์การผลิตยาหรืออาหารเสริมสุขภาพได้ (Aunjum, et al., 2020)

อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (nano ZnO) เป็นสารกึ่งตัวนำที่มีสมบัติพิเศษมากมาย ไม่มีความเป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์ นิยมนำมาใช้ในด้านเวชสำอางและผลิตภัณฑ์กันแดด เนื่องจากอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันรังสียูวีเอและยูวีบี และต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ดี ระวังกลิ่นอันไม่พึงประสงค์ การทำงานของสารอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ คือการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราจนทำให้เซลล์ของเชื้อตายลง การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์สามารถทำได้โดยการใช้วัสดุ LDH ในการช่วยกระจายตัวของอนุภาคของซิงค์ออกไซด์บนพื้นผิว การนำสารสกัดไพลลงในอนุภาคนาโนดังกล่าวจะช่วยคงประสิทธิภาพของสารสกัดให้คงอยู่ยาวนานขึ้น (สุทธิรักษ์ ไพโรจน์, 2565)

### กรอบแนวคิดในการวิจัย



งานวิจัยนี้ ต้องการที่จะศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารที่มีสมบัติด้านออกซิเดชันในไฟล เพื่อนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทสบู่ โดยทำการศึกษาสมบัติด้านแบคทีเรียควบคู่ไปด้วย พร้อมกับนำสารสกัดที่มีฤทธิ์ที่ดี ไปวิเคราะห์สารองค์ประกอบหลักด้วยเทคนิค GC-MS โดยจะให้ความสำคัญในการเลือกชนิดตัวทำละลายจากผลการต้านออกซิเดชันเป็นหลัก และเมื่อเลือกสารสกัดที่เหมาะสมได้แล้ว จะส่งต่อสารสกัดที่ได้เข้าสู่กระบวนการหุ้มด้วยอนุภาคซิงค์อะลูมิเนียมเลเยอร์ดับเบิ้ลออกไซด์ เพื่อเพิ่มศักยภาพในการต้านออกซิเดชันและด้านแบคทีเรีย ซึ่งจะส่งต่อไปยังขั้นตอนการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์สบู่

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

##### การเตรียมพืชตัวอย่าง

นำเหง้าไพล อายุ 6 ปี จากอำเภอศรีบรรพต จังหวัดพัทลุง มาล้างทำความสะอาด วางให้แห้ง และนำมาปอกเปลือก จากนั้นหั่นไพลเป็นชิ้นบาง ๆ และอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนมีน้ำหนักคงที่ นำไพลแห้งที่ได้มาบดให้เป็นชิ้นขนาดเล็กด้วยเครื่องบดไฟฟ้า และนำไปร่อนเพื่อให้ได้ผงไพลที่มีขนาดพื้นที่ผิวใกล้เคียงกัน เก็บใส่ถุงพลาสติกเพื่อรอการนำไปสกัด

##### การเตรียมสารสกัด

- นำผงไพลมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 7 ชนิด คือ hexane, dichloromethane, acetone, ethanol, 75% ethanol, methanol และ 50% ethanol โดยวิธีการหมัก (maceration) อัตราส่วนของพืชตัวอย่างต่อตัวทำละลายคือ 1:3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง โดยเขย่าเป็นครั้งคราว และนำไปสกัดต่อโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ร่วมด้วย ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ที่ความถี่ 45 กิโลเฮิร์ตซ์

- นำสารละลายมากรองแบบธรรมดา และระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน (rotary evaporator) และนำกากไพลมาสกัดซ้ำด้วยตัวทำละลายชนิดเดิมและวิธีการเดิมอีก 1 ครั้ง นำสารละลายที่สกัดได้ครั้งที่สองไปกรองแบบธรรมดา และนำไปรวมกับสารสกัดที่ได้จากครั้งที่ 1 และระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน (rotary evaporator)

- ทำสารสกัดให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dryer บันทึกน้ำหนัก และคำนวณร้อยละของสารสกัด และเก็บสารในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

##### การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม (ดัดแปลงตามวิธีของ Vichit and Saewan, 2015)

- เตรียมสารสกัดความเข้มข้น 10.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใน DMSO และนำสารตัวอย่างมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร โดยใช้ DMSO เป็น blank

- วิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมโดยนำสารละลายที่เตรียมไว้ปริมาตร 200 ไมโครลิตร มาเติมสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและวางไว้ 5 นาที จากนั้นเติม 20% sodium carbonate ปริมาตร 800 ไมโครลิตร ผสมเข้าด้วยกัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 90 นาที

- นำสารผสมที่เตรียมได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำซ้ำ 3 ชุดการทดลอง และคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมของแต่ละสารสกัดในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก (GAE) ต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม (เทียบจากกราฟของกรดแกลลิก ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06 และ 0.07 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

### การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

1. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay (ดัดแปลงตามวิธีของ Vichit and Saewan, 2015)

- เตรียมสารสกัดจากโพลที่ความเข้มข้น 0.1-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเอทานอล และนำสารตัวอย่างวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอลเป็น blank

- วัดค่าดูดกลืนแสงของ control โดยใช้สารละลายผสม

ระหว่าง 0.1 mM DPPH ปริมาตร 1800 ไมโครลิตร กับ เอทานอล 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน วางไว้ในที่มืด 30 นาทีเป็น ( $A_{\text{control}}$ ) วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมระหว่าง 0.1 mM DPPH ปริมาตร 1800 ไมโครลิตร กับสารตัวอย่าง 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน วางในที่มืด 30 นาที ( $A_{\text{sample}}$ ) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer โดยใช้สารละลาย ascorbic acid เป็นสารมาตรฐาน ทำซ้ำ 3 ชุดการทดลอง และคำนวณหาร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% Radical scavenging) จากสูตร

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

นำค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระที่ได้มาเขียนกราฟเทียบกับความเข้มข้นโดยแกน X เป็นความเข้มข้นของสารที่ทดสอบแกน Y เป็นค่า % Radical scavenging และใช้สมการเส้นตรงในการหาค่า  $IC_{50}$  และใช้ค่า  $IC_{50}$  บอกความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธี FRAP assay (ดัดแปลงตามวิธีของ Bhalodia et al., 2011)

- สร้างกราฟมาตรฐาน ascorbic acid โดยใช้ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในเอทานอล

- เตรียมสารสกัดจากโพลที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในเอทานอล และนำสารละลายตัวอย่างไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอลเป็น blank

- เตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยผสมสารละลาย 300 mM acetate buffer pH 3.6 กับสารละลาย 20 mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  และสารละลาย 10 mM TPTZ ใน 40 mM HCl ในอัตราส่วน 10:1:1 (เตรียม FRAP reagent ใหม่ทุกครั้งก่อนการวิเคราะห์)
- นำสารละลาย FRAP 1800 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายตัวอย่าง 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำสารผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer
- เตรียม Control โดยนำสารละลาย FRAP ปริมาตร 1800 ไมโครลิตร ผสมกับ เอทานอล ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ทำซ้ำ 3 ชุดการทดลอง คำนวณประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ ascorbic acid

### การวิเคราะห์สารองค์ประกอบด้วยเทคนิค GC-MS

นำสารสกัดที่ออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดีที่สุด ไปวิเคราะห์สารองค์ประกอบหลัก ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี รุ่น Agilent 19091S-433UI โดยต่อกับ Mass selective detector รุ่น 5975C ที่สามารถปรับอุณหภูมิในช่วง -60 ถึง 350 องศาเซลเซียส โดยใช้สภาวะของเครื่องมือในการทดลองเป็นดังนี้

ในส่วนของแก๊สโครมาโทกราฟี นำสารสกัดไหลปริมาณ 1 มิลลิลิตร ฉีดเข้าไปในคอลัมน์ แคปิลลารี HP-5ms (5% phenyl methyl polysiloxane 30 เมตร x 250 ไมโครเมตร x 0.25 ไมโครเมตร) ที่มีอุณหภูมิของอินเจคเตอร์ 250 องศาเซลเซียส โดยใช้อุณหภูมิคอลัมน์เริ่มต้นที่ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที และเพิ่มขึ้นเป็น 280 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสต่อนาที โดยมีแก๊สฮีเลียมเป็นตัวพา ซึ่งอัตราการไหลของแก๊ส 3.0 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้เวลาในการระดม 49 นาที ซึ่งสารองค์ประกอบหลักสามารถพิจารณาได้จากการเปรียบเทียบพื้นที่ใต้กราฟกับพื้นที่ทั้งหมด

ในส่วนของแมสสเปกโตรเมตรี ใช้อุณหภูมิ 230 องศาเซลเซียส ในการทำให้เกิดไอออน ซึ่งสเปกตรัมที่ได้เกิดจากการเสียอิเล็กตรอนที่ 70 eV และสารองค์ประกอบแต่ละชนิดจะวิเคราะห์ด้วย FID ตั้งแต่ 50-1000 amu (atomic mass units) ใช้เวลารวมในการวิเคราะห์ 650 นาที และวิเคราะห์ชนิดของสารองค์ประกอบจากการเปรียบเทียบสัญญาณของสารตัวอย่างกับสารที่ทราบชื่อในฐานข้อมูล NIST MS 1.4 โดยจะรายงานชื่อ น้ำหนักโมเลกุล และโครงสร้าง

## การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย โดยวิธี Agar well diffusion

### 1. แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

แบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ (1) *Staphylococcus aureus* (2) *Escherichia coli* และ (3) *Pseudomonas aeruginosa* นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง Nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อที่เจริญบนอาหารแข็ง NA มาปรับความเข้มข้นให้เท่ากับ  $0.5 \text{ McFarland}$  ( $1.5 \times 10^8 \text{ CFU/ml}$ ) ด้วย 0.85% โซเดียมคลอไรด์

### 2. ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของโพลีสกัด

นำเชื้อในข้อ 1 มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งสารสกัดโพลี ด้วยวิธี agar well diffusion โดยนำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ทดสอบที่ปรับความเข้มข้นให้เท่ากับ  $0.5 \text{ McFarland}$  ( $1.5 \times 10^8 \text{ CFU/ml}$ ) ด้วย 0.85% โซเดียมคลอไรด์แล้วมาทำการ swab 3 ระบาย ให้ทั่วบนอาหารแข็ง Mueller Hinton agar (MHA) ด้วยไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ (cotton swab) จากนั้นเจาะหลุมด้วย cork borer เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เติมสารสกัดโพลีที่ทำการเจือจางความเข้มข้นไว้แล้ว ปริมาตรหลุมละ 60 ไมโครลิตร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (inhibition zone) ในหน่วยมิลลิเมตร บันทึกผลและวิเคราะห์ผลการทดลองโดยทำการทดสอบซ้ำ 2 ครั้ง โดยใช้ยาปฏิชีวนะ Ampicillin (สำหรับ *S. aureus*) และ Ciprofloxacin (สำหรับ *E. coli* และ *P. aeruginosa*) เป็นชุดควบคุมที่ให้ผลบวก และใช้ 95% ethanol เป็นชุดควบคุมที่ให้ผลลบ

### 3. สารสกัดที่ใช้ทดสอบ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร

- P1 คือ โพลีสกัด hexane
- P2 คือ โพลีสกัด dichloromethane
- P3 คือ โพลีสกัด acetone
- P4 คือ โพลีสกัด ethanol
- P5 คือ โพลีสกัด 75% ethanol
- P6 คือ โพลีสกัด methanol
- P7 คือ โพลีสกัด 50% ethanol

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### การเตรียมสารสกัด

การเตรียมสารสกัดจากโพล โดยการนำผงโพลน้ำหนักประมาณ 100 กรัม มาสกัดด้วยวิธีการหมัก (maceration) กับตัวทำละลาย 7 ชนิด คือ hexane, dichloromethane, acetone, ethanol, 75% ethanol, methanol และ 50% ethanol ปริมาตร 300 มิลลิลิตร โดยวางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง เขย่าเป็นครั้งคราว และนำไปสกัดต่อโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ร่วมในการสกัด เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำสารละลายมากรอง และระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน (rotary evaporator) โดยสกัดซ้ำ 2 ครั้ง และทำสารสกัดให้แห้งด้วยการ freeze dry ได้สารสกัดจำนวน 7 ชนิด คือ สารสกัด hexane (PH), สารสกัด dichloromethane (PD), สารสกัด acetone (PA), สารสกัด ethanol (PE), สารสกัด 75% ethanol (PE75), สารสกัด methanol (PM) และ สารสกัด 50% ethanol (PE50) บันทึกน้ำหนัก ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพ ของสารสกัดที่ได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 น้ำหนัก ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดโพล

สารสกัด	สารสกัดก่อน freeze dry	สารสกัดหลัง freeze dry	ร้อยละ ผลผลิต	ลักษณะทางกายภาพ
PH	14.5 g	2.30 g	2.3	ของเหลวสีเหลืองส้ม
PD	11.5 g	3.98 g	3.98	ของเหลวชนิดสีน้ำตาลแดง
PA	25.0 g	3.73 g	3.73	ของเหลวชนิดสีน้ำตาลเข้ม
PE	18.0 g	3.72 g	3.72	ของเหลวชนิดสีน้ำตาลเข้ม
PE75	80.0 g	2.15 g	2.15	ของเหลวชนิดสีแดงเข้ม
PM	26.5 g	5.37 g	5.37	ของเหลวชนิดสีน้ำตาลแดงเข้ม
PE50	93.0 g	5.78 g	5.78	ของแข็งสีเหลืองเข้ม

ผลการสกัดพบว่าการสกัดโพลด้วย 50% ethanol (PE50) ให้สารสกัดหยาบที่มีน้ำหนักมากที่สุด เท่ากับ 5.78 กรัม คิดเป็นร้อยละผลผลิต เท่ากับ 5.78 รองลงมาคือ โพลที่สกัดด้วย methanol (PM) และ โพลที่สกัดด้วย dichloromethane (PD) โดยมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 5.37 และ 3.98



ตามลำดับ นั่นคือ สารองค์ประกอบในโพลส่วนใหญ่จะเป็นสารที่มีสภาพขั้วค่อนข้างสูง สารจึงละลายออกมาได้มากกว่าในตัวทำละลายที่มีขั้วสูง

#### ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดโพล

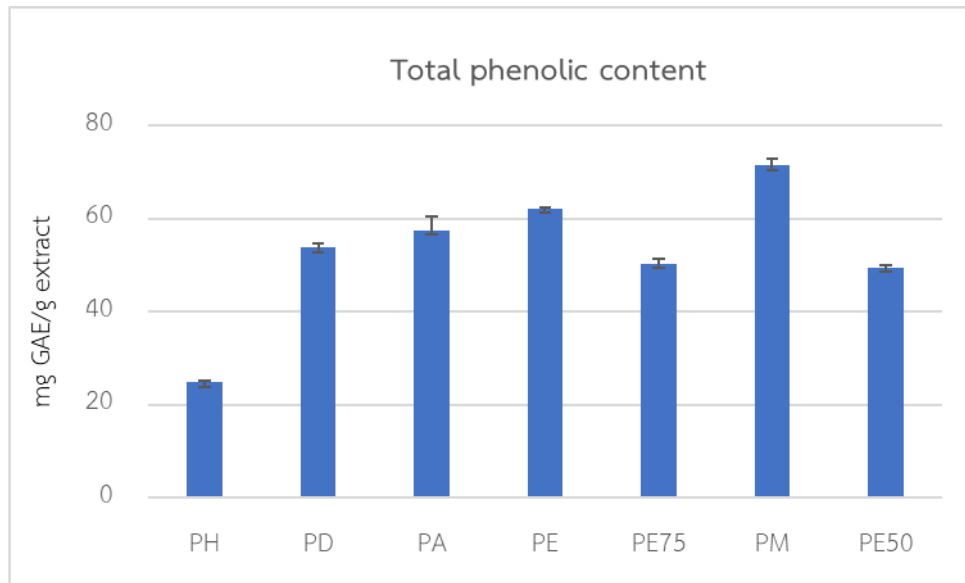
สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีสมบัติต้านออกซิเดชันที่ดี โดยความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจะขึ้นอยู่กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในสารสกัดนั้น ๆ

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดโพล ทำโดยการนำตัวอย่างสารสกัดมาผสมกับ Folin-Ciocalteu reagent และคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ซึ่งสมการของกราฟจากการทดลอง คือ  $y = 11.441x + 0.0146$  ( $R^2 = 0.9885$ ) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ผสมกับรีเอเจนต์ (y) แทนลงในสมการ และรายงานค่าในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักแห้งของสารสกัด 1 กรัม (mg GAE/g extract) ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และ ภาพที่ 4.1

ตารางที่ 4.2 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดโพล

สารสกัด	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mg GAE/g extract)
PH	$24.83 \pm 0.31$
PD	$53.74 \pm 0.84$
PA	$57.53 \pm 2.92$
PE	$62.22 \pm 0.30$
PE75	$50.30 \pm 0.91$
PM	$71.45 \pm 1.45$
PE50	$49.52 \pm 0.32$

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมจากสารสกัดโพลพบว่าโพลที่สกัดด้วย methanol (PM) มีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุด เท่ากับ  $71.45 \pm 1.45$  mg GAE/g extract รองลงมาคือโพลที่สกัดด้วย ethanol (PE) และ โพลที่สกัดด้วย acetone (PA) โดยมีปริมาณฟีนอลิก  $62.22 \pm 0.30$  และ  $57.53 \pm 2.92$  mg GAE/g extract ตามลำดับ



ภาพที่ 4.1 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดโพลด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

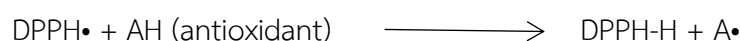
ซึ่งผลการวิเคราะห์ที่ได้ สรุปได้ว่า methanol และ ethanol เหมาะสำหรับการนำมาทำเป็นตัวทำละลายในการสกัดสารกลุ่มฟีนอลิก เนื่องจากมีสภาพขั้วสูงจึงสามารถสกัดแยกสารประกอบประเภทฟีนอลิกซึ่งมีสภาพขั้วค่อนข้างสูงออกมาได้ในปริมาณมาก

#### ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยวิธี DPPH และ FRAP assay ของสารสกัดหยาบจากโพลให้ผลดังต่อไปนี้

##### 1. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธี DPPH assay

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ด้วย DPPH radical scavenging assay เป็นการทดสอบโดยใช้อนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วง สามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (สารที่ให้อิเล็กตรอน) จะเปลี่ยนโครงสร้างเป็น DPPH-H ทำให้สีม่วงจางลงจนอาจเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (ดังสมการ)



สีของสารละลาย DPPH ที่จางลง จะสอดคล้องกับปริมาณ DPPH ที่ลดลง การวัดค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ที่เหลือจากปฏิกิริยาทำให้สามารถประเมินการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้ โดยคำนวณจากการนำค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ลดลงจากการใส่สารตัวอย่าง

เทียบกับค่าการดูดกลืนแสงก่อนใส่สารตัวอย่าง โดยมีสูตรการคำนวณร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% Radical scavenging) ดังนี้

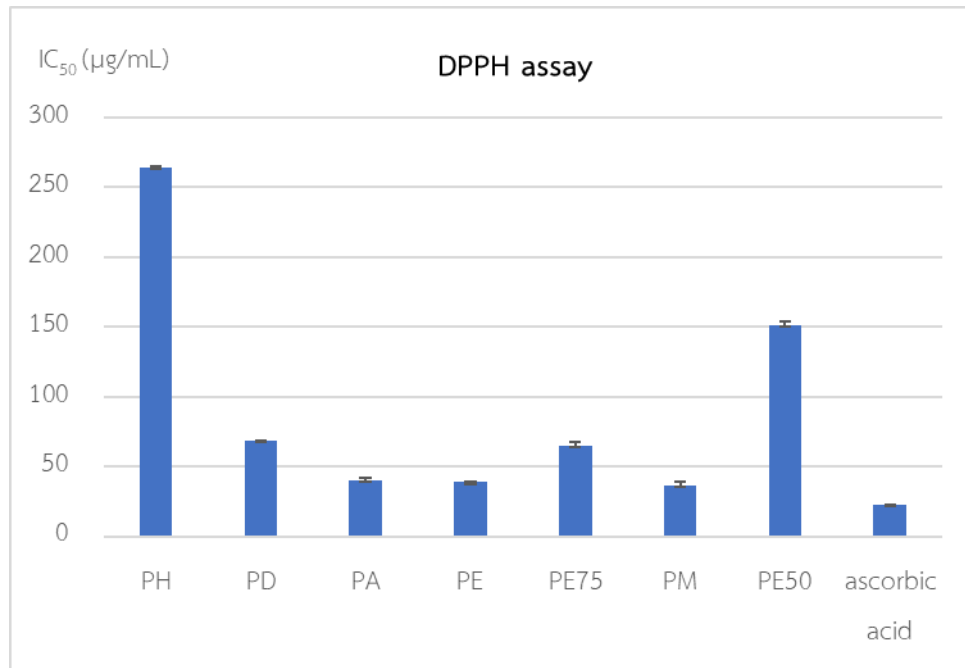
$$\% \text{ Radical scavenging} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{control}}) \times 100]$$

รายงานผลการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เป็นค่า  $IC_{50}$  (50% Inhibitory concentration) เปรียบเทียบประสิทธิภาพกับสารมาตรฐาน ascorbic acid ซึ่งแสดงผลการทดสอบในตารางที่ 4.3

**ตารางที่ 4.3** ค่า  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) ของสารสกัดโพลีและสารมาตรฐาน ascorbic acid จากวิธี DPPH assay

สารสกัด	ค่า $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
PH	$264.34 \pm 0.51$
PD	$68.36 \pm 0.15$
PA	$40.63 \pm 1.23$
PE	$38.89 \pm 0.27$
PE75	$64.7 \pm 3.23$
PM	$36.89 \pm 2.53$
PE50	$151.14 \pm 3.12$
ascorbic acid	$22.82 \pm 0.20$

ผลการทดลองพบว่าโพลีที่สกัดด้วย methanol (PM) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุด รองลงมาจะเป็นโพลีที่สกัดด้วย ethanol (PE) และ โพลีที่สกัดด้วย acetone (PA) โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $36.89 \pm 2.53$ ,  $38.89 \pm 0.27$  และ  $40.63 \pm 1.23 \mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ ซึ่งฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีความสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกรวม นั่นคือปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีมากในสารสกัด methanol (PM) ส่งผลให้การให้ไฮโดรเจนแรดดิคัลแก่ DPPH เกิดขึ้นได้มาก ทำให้ปริมาณ DPPH ลดลงมาก จัดว่าเป็นสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี ซึ่งสารสกัดเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีกว่าสารมาตรฐาน ascorbic acid ( $IC_{50} = 22.82 \pm 0.20 \mu\text{g/mL}$ ) น้อยกว่า 2 เท่า ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และ ภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดโพลีด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

## 2. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธี FRAP assay

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กเฟอริก (Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assay) ของสารสกัด โดยอาศัยหลักการของสารต้านออกซิเดชันสามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อน  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ (ดังสมการ)

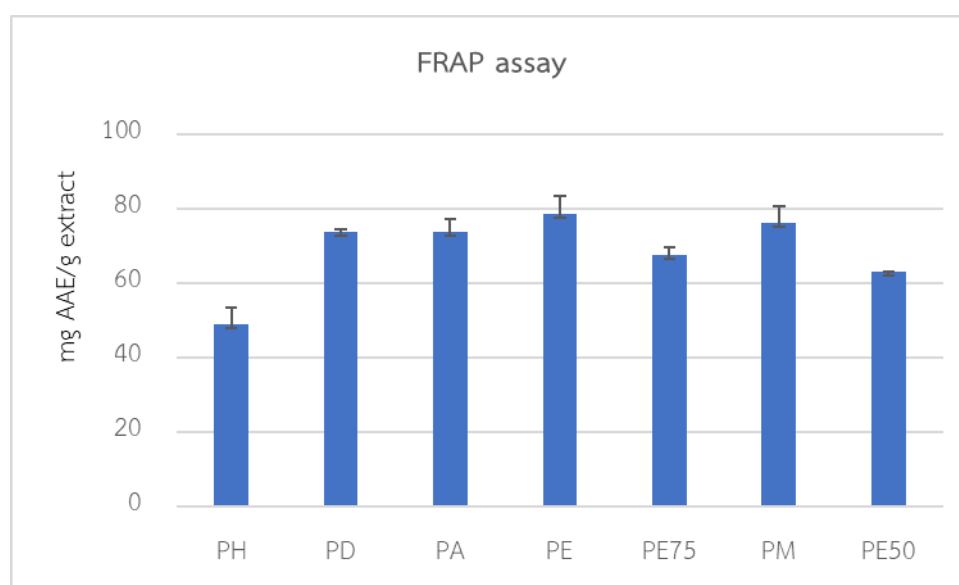


โดย  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ จะดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร และปริมาณของ  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ ที่เกิดขึ้นจะบ่งชี้ศักยภาพของสารตัวอย่างในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยรายงานเป็นค่า FRAP value ในหน่วย  $\text{mgAAE/g extract}$  ถ้าค่า FRAP value มีค่ามาก แสดงว่าสารสกัดมีความสามารถในการรีดิวซ์ได้ดี ก็จะเป็นสารที่มีสมบัติต้านออกซิเดชันที่ดี การทดสอบประสิทธิภาพในการรีดิวซ์เหล็กเฟอริกของสารสกัดโพลี ทำการศึกษาที่ความเข้มข้น  $0.5 \text{ mg/mL}$  เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ascorbic acid ซึ่งคำนวณค่า FRAP value จากสมการของกราฟ คือ  $y = 0.0254x - 0.0504$  ( $R^2 = 0.9935$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และ ภาพที่ 4.3

ตารางที่ 4.4 ค่า FRAP (mg AAE/g extract) ของสารสกัดโพลจากวิธี FRAP assay

สารสกัด	FRAP value (mg AAE/g extract)
PH	48.85 $\pm$ 4.57
PD	73.57 $\pm$ 0.78
PA	73.81 $\pm$ 3.23
PE	78.65 $\pm$ 4.73
PE75	67.51 $\pm$ 1.89
PM	76.09 $\pm$ 4.57
PE50	62.87 $\pm$ 0.11

ผลการวิเคราะห์พบว่าโพลที่สกัดด้วย ethanol (PE) และโพลที่สกัดด้วย methanol (PM) มีค่า FRAP value ค่อนข้างสูง ซึ่งเท่ากับ  $78.65 \pm 4.73$  และ  $76.09 \pm 4.57$  mg AAE/g extract ตามลำดับ นั่นคือสาร PE และ PM มีฤทธิ์ในการรีดิวซ์เหล็กเฟอริกมากที่สุด ซึ่งแตกต่างกับวิธี DPPH assay เล็กน้อย แต่ค่าที่ได้ถือว่าไม่แตกต่างกันมากนัก นั่นคือ โพลที่สกัดด้วย ethanol (PE) และโพลที่สกัดด้วย methanol (PM) มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในระดับดี

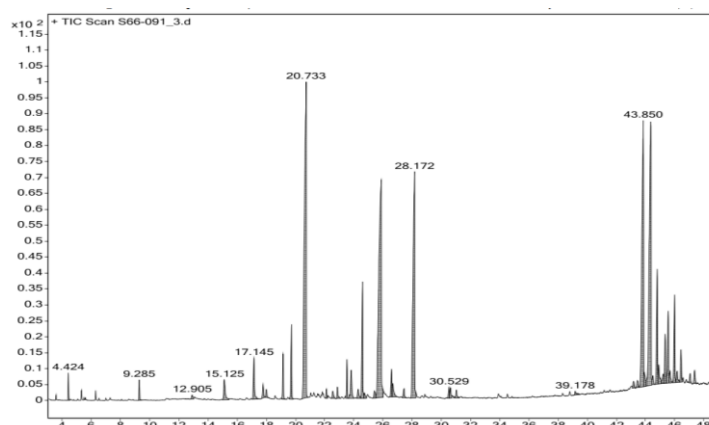


ภาพที่ 4.3 ความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กเฟอริกของสารสกัดโพลด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้ง 2 วิธี พบว่าให้ผลการทดลองที่ใกล้เคียงกัน นั่นคือ ไขมันที่สกัดด้วย methanol (PM) และ ethanol (PE) แสดงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าไขมันที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่นๆ ซึ่งน่าจะเป็นปัจจัยจากชนิดของสารองค์ประกอบที่ถูกสกัดออกมาด้วยตัวทำละลายที่ขั้วแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากไขมันมีความผันแปรตรงกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก นั่นคือสารสกัดจากไขมันที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมาก จะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมาก ส่วนสารสกัดจากไขมันที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมน้อย จะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันน้อย ทั้งนี้สารสกัดไขมันจาก ethanol และ methanol มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันที่ใกล้เคียงกันมาก ซึ่งหากคำนึงถึงความปลอดภัยและการนำไปใช้ประโยชน์แล้ว ethanol เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางมากที่สุด เพราะมีความเป็นพิษน้อยกว่า

### ผลการวิเคราะห์สารองค์ประกอบในสารสกัดไขมัน

การวิเคราะห์สารองค์ประกอบของสารสกัดเอทานอลไขมัน ด้วยเทคนิค GC-MS พบสารองค์ประกอบทั้งหมดจำนวน 43 สาร ซึ่งเป็นสารที่สามารถวิเคราะห์ชื่อได้ จำนวน 11 สาร ดังข้อมูลในตารางที่ 4.5 ซึ่งสารองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรกที่ทราบชื่อ ประกอบด้วย (*E*)-4-(3,4-Dimethoxyphenyl)but-3-en-1-yl acetate, ร้อยละ 14.49 Triquinacene, 1,4-Bis(methoxy)- ร้อยละ 2.39 และ 1,4-Dimethoxy-2-methyl-5-(prop-1-en-2-yl) benzene ร้อยละ 2.00 ดังตารางที่ 4.6 ซึ่งลักษณะโครมาโทแกรมของสารสกัดเอทานอลไขมันจากเครื่อง GC-MS ดังภาพที่ 4.4

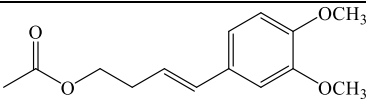
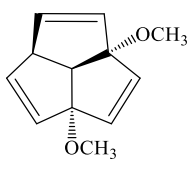
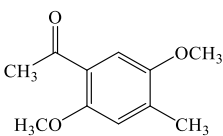


ภาพที่ 4.4 โครมาโทแกรมของสารสกัดเอทานอลไขมันจากเครื่อง GC-MS

ตารางที่ 4.5 องค์ประกอบทางเคมีทั้งหมดของสารสกัดเอทานอลโพลที่ทราบชื่อ

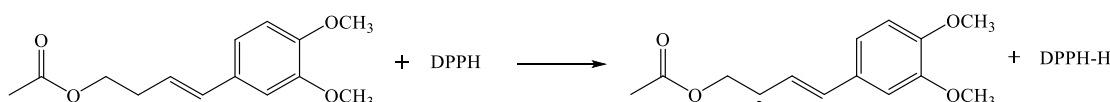
สารที่	RT	m/z	ชื่อสาร	พื้นที่ใต้กราฟ
1	4.424	93.08	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-	2154153
2	9.285	71.07	Terpinen-4-ol	2092668
3	12.905	150.10	4-Hydroxy-2-methylacetophenone	1227769
4	15.125	151.10	Vanillin	4289343
5	17.145	166.09	Benzaldehyde, 3,4-dimethoxy-	6349239
8	19.148	159.11	Triquinacene, 1,4-bis(methoxy)-	5231015
9	19.720	192.12	1,4-Dimethoxy-2-methyl-5-(prop-1-en-2-yl)benzene	8430051
10	20.733	159.11	Triquinacene, 1,4-bis(methoxy)-	1010725...
12	22.560	196.09	Benzaldehyde 2,4,5-trimethoxy-	1060672
15	23.817	192.12	2-Propenal, 3-(3,4-dimethoxyphenyl)-	4969946
25	28.172	159.11	(E)-4-(3,4-Dimethoxyphenyl)but-3-en-1-yl acetate	61056809

ตารางที่ 4.6 องค์ประกอบหลัก 3 อันดับของสารสกัดเอทานอลโพลที่ทราบชื่อ

อันดับที่	ชื่อสาร	สูตรโครงสร้างทางเคมี
1	(E)-4-(3,4-Dimethoxyphenyl)but-3-en-1-yl acetate	
2	Triquinacene, 1,4-Bis(methoxy)-	
3	1,4-Dimethoxy-2-methyl-5-(prop-1-en-2-yl)benzene	

จากโครงสร้างของสารองค์ประกอบหลัก 3 อันดับที่สามารถอ่านชื่อได้ ยังไม่ใช่สารองค์ประกอบหลัก 3 อันดับที่มีมากที่สุดในสารสกัดโพล ทำให้การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของฤทธิ์ต้าน

ออกซิเดชันกับโครงสร้างของสารองค์ประกอบหลักยังสรุปความสัมพันธ์ได้ค่อนข้างยาก ซึ่งสารที่สามารถทราบชื่อนั้นจะต้องเป็นสารที่สามารถระเหยกลายเป็นไอ และมีข้อมูลตรงกับในฐานข้อมูลของเครื่อง แต่เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของสารองค์ประกอบ 3 อันดับ ที่ทราบชื่อพบว่า (*E*)-4-(3,4-Dimethoxyphenyl)but-3-en-1-yl acetate มีอะตอมไฮโดรเจนที่ตำแหน่งอัลไลลิก (allylic position)



ซึ่งอะตอมไฮโดรเจนที่ตำแหน่งนี้สามารถหลุดให้ไฮโดรเจนแรดิคัลได้ง่าย เนื่องจากโครงสร้างที่เหลือหลังจากหลุดอะตอมไฮโดรเจนเป็นโครงสร้างที่มีเสถียรภาพ โดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นสามารถเกิดการเรโซแนนซ์หรือเคลื่อนที่ผ่านพันธะคู่ไปยังวงแหวนเบนซีนได้ ทำให้สารดังกล่าวมีสมบัติต้านออกซิเดชันที่ดี จากข้อมูลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS สามารถอ่านค่าได้ทั้งการวิเคราะห์ในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ซึ่งการวิเคราะห์ในเชิงปริมาณทำได้เพียงการคำนวณร้อยละสารที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดโดยคร่าวๆ เท่านั้น ซึ่งผลที่ได้นี้แตกต่างจากงานวิจัยของกันดา นิ้มทัศนศิริ และคณะ ที่ทำการวิเคราะห์สารองค์ประกอบในโพลสด และพบสารที่ระเหยได้จำนวน 20 ชนิด โดยมี  $\beta$ -phellandrene และ Terpinen-4-ol เป็นสารหลัก

ซึ่งจากการวิเคราะห์สารสกัดขั้วสูงด้วยเทคนิค GC-MS สารมีทั้งหมด 43 สาร แต่สามารถทราบชื่อเพียง 11 สาร สรุปได้ว่า เทคนิคดังกล่าวไม่เหมาะกับการวิเคราะห์สารองค์ประกอบที่ขั้วสูง



### ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดโพล ทำการศึกษาแบคทีเรีย จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ทดสอบเทียบกับสารมาตรฐาน ampicillin และ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ทดสอบเทียบกับสารมาตรฐาน ciprofloxacin ผลการทดสอบพบว่า สารสกัด ethanol และ methanol ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ในระดับดีกลับแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ในระดับต่ำ โดยสารสกัดโพลทุกชนิดที่นำมาทดสอบไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* ของสารสกัดโพล

สารสกัด	บริเวณยับยั้ง Inhibition zone (มิลลิเมตร)
PH	-
PD	-
PA	-
PE	-
PE75	-
PM	-
PE50	-
ampicillin	34.0
ethanol	-

ในขณะที่การทดสอบกับแบคทีเรียแกรมลบพบว่า สารสกัดส่วนใหญ่ (ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ก็ยังคงไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเติบโตของ *E. coli* และ *P. aeruginosa* มีเพียงสารสกัด ethanol และ 75% ethanol เท่านั้นที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งได้เล็กน้อย โดยขนาดวงใสการยับยั้ง *E. coli* ของสารสกัด ethanol และ 75% ethanol เท่ากับ 10.5 และ 12.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ และ ขนาดวงใสการยับยั้ง *P. aeruginosa* ของสารสกัด ethanol และ 75% ethanol เท่ากับ 12.0 และ 11.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.8 ซึ่งใกล้เคียงจากข้อมูลที่มีรายงานโดยวรรณิ สมบัติโต และคณะ เมื่อปี 2559 ซึ่งใช้ ethanol ในการสกัดและทำแห้งโดยวิธี freeze dry เช่นกัน ขนาดวงใสการยับยั้ง *E. coli* และ *P. aeruginosa* เท่ากับ  $8.4 \pm 0.6$  และ  $7.5 \pm 0.4$  มิลลิเมตร ตามลำดับ (วรรณิ และคณะ 2559)

ตารางที่ 4.8ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ของสารสกัดโพล

สารสกัด	บริเวณยับยั้ง Inhibition zone (มิลลิเมตร)	
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
PH	-	-
PD	-	-
PA	-	-
PE	10.5	12.0
PE75	12.0	11.0
PM	-	-
PE50	-	-
ciprofloxacin	35.0	34.0
ethanol	-	-

สารสกัดโพลความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในระดับค่อนข้างต่ำ แตกต่างจากงานวิจัยอื่นบ้าง ทั้งนี้ น่าจะเป็นเพราะใช้พืชตัวอย่างที่ต่างพื้นที่เพาะปลูก และอาจมีอายุของพืชตัวอย่างที่ต่างต่างกัน ซึ่งล้วนเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ นอกจากนี้ ความเป็นไปได้ที่การทำแห้งด้วยวิธี freeze dry น่าจะมีส่วนทำให้สารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย เช่น สารประเภท terpenoids ซึ่งมีขี้ตัวต่ำ เกิดการสลายตัวหรือระเหยออกไป ทำให้สารที่ยังคงเหลือในสารสกัดจึงเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในระดับดีแต่ต้านแบคทีเรียได้น้อย

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

#### สรุปผลการวิจัย

##### การสกัดสารจากไหล

การสกัดสารจากไหล น้ำหนัก 100 กรัม โดยวิธีการสกัดแบบหมัก (2 ครั้ง) ด้วยตัวทำละลาย 7 ชนิด พบว่าการสกัดไหลด้วย 50% ethanol ให้ปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด เท่ากับ 5.78 กรัม คิดเป็นร้อยละผลผลิต เท่ากับ 5.78 รองลงมาคือ ไพลที่สกัดด้วย methanol (PM) และ ไพลที่สกัดด้วย dichloromethane (PD) โดยมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 5.36 และ 3.98 ตามลำดับ

##### การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากไหล

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากไหลโดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent ผลการวิเคราะห์พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมจากไหลที่สกัดด้วย methanol (PM) มีปริมาณฟีนอลิกมากที่สุดเท่ากับ  $71.45 \pm 1.45$  mg GAE/g extract รองลงมาคือไหลที่สกัดด้วย ethanol (PE) และ ไพลที่สกัดด้วย acetone (PA) โดยมีปริมาณฟีนอลิก  $62.22 \pm 0.30$  และ  $57.53 \pm 2.92$  mg GAE/g extract ตามลำดับ

##### การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

การศึกษากิจกรรมทางชีวภาพของสารสกัดจากไหล ในด้านสมบัตการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธี DPPH และ FRAP assay พบว่าไหลที่สกัดด้วย methanol (PM) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุด รองลงมาคือไหลที่สกัดด้วย ethanol (PE) และ ไพลที่สกัดด้วย acetone (PA) โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $36.89 \pm 2.53$ ,  $38.89 \pm 0.27$  และ  $40.63 \pm 11.23$   $\mu$ g/mL ตามลำดับ ซึ่งไม่สอดคล้องกับการทดสอบด้วยวิธี FRAP assay พบว่าไหลที่สกัดด้วย ethanol (PE) และ methanol (PM) มีค่า FRAP value ค่อนข้างสูง ซึ่งเท่ากับ  $78.65 \pm 4.73$  และ  $76.09 \pm 4.57$  mg AAE/g extract ตามลำดับ นั่นคือสารสกัด PE มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันใกล้เคียงกับสารสกัด PM จึงเลือก PE ไปศึกษาองค์ประกอบทางเคมี

##### การวิเคราะห์สารองค์ประกอบ

การนำสารสกัดไหลด้วย ethanol มาวิเคราะห์สารองค์ประกอบด้วยเทคนิค GC-MS พบว่าไม่สามารถวิเคราะห์โครงสร้างของสารหลัก 3 อันดับแรก แต่สามารถวิเคราะห์สารองค์ประกอบที่มี

ปริมาณน้อยรองลงไปอีก 3 ชนิด คือ (E)-4-(3,4-Dimethoxyphenyl)but-3-en-1-yl acetate ร้อยละ 14.49 Triquinacene, 1,4-Bis(methoxy)- ร้อยละ 2.39 และ 1,4-Dimethoxy-2-methyl-5-(prop-1-en-2-yl) benzene ร้อยละ 2.00 ซึ่งสารเหล่านี้ มีอะตอมไฮโดรเจนในโครงสร้างที่สามารถหลุดไฮโดรเจนเรดิคัลออกได้ง่าย

### การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (แกรมบวก) และ *E. coli* และ *P. aeruginosa* (แกรมลบ) ของสารสกัดจากไพล พบว่า สารสกัดไพลความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้งสามชนิดได้ในระดับค่อนข้างต่ำ อาจเนื่องจากการทำแห้งด้วยวิธี freeze dry น่าจะมีส่วนทำให้สารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย เช่น สารประเภท terpenoids เกิดการสลายตัวหรือระเหยออกไป ทำให้สารที่ยังคงเหลือในสารสกัดเป็นสารประเภทที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้น้อย

### ข้อเสนอแนะ

1. ในงานวิจัยครั้งนี้ใช้วิธีการสกัดโดยผ่านกระบวนการ freeze dry สารสกัดที่ได้มีปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง ในงานวิจัยครั้งต่อไปอาจจะใช้วิธีการสกัดโดยไม่ผ่านกระบวนการ freeze dry แล้วนำสารสกัดมาเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน
2. เนื่องจากไพลมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง อาจจะทดสอบฤทธิ์อื่นๆร่วมด้วย เช่น ฤทธิ์ต้านการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส และ เอนไซม์คอลลาจิเนส
3. ในขั้นตอนการสกัดสารด้วยเครื่อง ultrasonic cleaner ควรเฝ้าดูไม่ให้อุณหภูมิสูงจนเกินไป เพราะอาจจะทำให้ตัวทำละลายระเหยออกไปได้

## บรรณานุกรม

### บรรณานุกรมภาษาไทย

- กันยา หว่านณรงค์. (2560). เชื้อจุลินทรีย์กับเครื่องสำอาง. *วารสารเพื่อการวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม*, 24 (4), 2-3.
- ดวงกมล เรือนงาม (2557). การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง*, 23 (2), 120-139.
- วรรณิ สมบัติโต, ศุภชัย สมบัติโต, ลือชัย บุตุคูป. (2559). ผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ไพลและน้ำมันไพลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*, 36 (1), 53-60.
- มณฑล เลิศวรปรีชา และ ชัยสิทธิ์ นิยะสม. (2554). Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) พยาธิกำเนิดและระบาดวิทยา. *วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ*, 14 (2), 109-117.
- ศศิธร วสุวัตติ. (2527). การศึกษาผลทางเภสัชวิทยาของน้ำมันไพล *Zingiber cassumunar*, Roxb. *การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ครั้งที่ 10*. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 218-219.
- (สุทธิรักษ์ ไพโรจน์. (2565). การเตรียมอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์สำหรับการรักษาโรคมะเร็ง. *Journal of Engineering Technology Access*, 2 (1), 22-34.

### บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ

- Aunjum, A., Biswas, R., Nurunnabi, T. R., Rahman, S. M. M., Billah, M. M., Islam, M. E., Islam, K. M. D. (2020). Antioxidant and antibacterial activity of three herbs belonging to *Zingiber* genus of Bangladesh. *Adv Tradit. Med.*, 20, 343-350.
- Bhuiyan, M. N. I., Chowdhury, J. U., Begum, J. (2008). Volatile constituents of essential oils isolated from leaf and rhizome of *Zingiber cassumunar* Roxb. *Bangladesh J. Pharmacol.*, 3(2), 69-73.
- Bhalodia, N.R., Nariya, P.B., Acharya, R.N., Shukla, V.J. (2011). Evaluation of *in vitro* antioxidant activity of flowers of *Cassia fistula* Linn. *Int.J. PharmTech Res.*, 3(1), 589-599.
- Bua-in, S., Paisooksantivatana, Y. (2009). Essential oil and antioxidant activity of Cassumunar ginger (Zingiberaceae: *Zingiber montanum* (Koenig) Link ex Dietr.) collected from various parts of Thailand. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*, 43, 467-475.

- Hassan, M.M., Adhikari-Devkota, A., Imai, T., Devkota, H.P. (2009). Zerumbone and Kaempferol Derivatives from the Rhizomes of *Zingiber montanum* (J.Koenig) LinkexA. Dietr. from Bangladesh. *Separations*, 6, 31-38.
- Jitoe, A., Masuda, T., Tengah, I.G.P., Dewa, N., Suprpta, I.W., Gara, T., Nakatanit, N. (1992). Antioxidant activity of tropical ginger extracts and analysis of the contained curcuminoids. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1337-1340.
- Kaewchoothong A. (2009). Preparation and quality control of *Zingiber cassumunar* extract with high-yielded anti-inflammatory active compounds. Thesis Master Degree of Science. Prince of Songkhla University, 2009.
- Leelapornpisid, P., Chansakaow, S., Chaiyasut, C., Wongwattananukul, N. (2008). Antioxidant activity of some volatile oils and absolutes from Thai aromatic plants. *Acta Hort.*, 786, 61-65.
- Manochai, B., Paisooksantivatana, Y., Kim, M.J. Hong, J.H. (2007). Antioxidant activity and total volatile oil content of Cassumunar ginger (*Zingiber montanum* Roxb.) at various rhizome ages. *Food Sci. Biotechnol.*, 16(2), 290-293.
- Masuda, T., Jitoe. A. (1994). Antioxidative and anti-inflammatory compounds from tropicalGinger: Isolation, structure determination and activities of cassumunins A, B and C, new complex curcuminoids from *Zingiber cassumunar*. *J.Agric. Food Chem.*, 42(9), 1850-1856.
- Pongprayoon, U., Soontornsaratune, P., Jarikasem, S., Sematong, T., Wasuwat, S., Claeson, P. (1997). Topical antiinflammatory activity of the major lipophilic constituents of the rhizome of *Zingiber cassumunar*. Part I: The essential oil. *Phytomedicine*, 3, 319-322.
- Que Y, Moreillon P. (2010). *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Inc., 2543-2578.
- Siddique, H., Pendry, B., Rahman, M. M. (2019). Terpenes from *Zingiber montanum* and their screening against multi- drug resistant and methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 24(3), 385-394.

- Vankar, P.S., Tiwari, V., Singh, L.W., Ningombam, S. (2006). Antioxidant properties of some exclusive species of Zingiberaceae family of Manipur. *E. J. Environ. Agric. Food Chem.*, 5(2), 1318-1322.
- Verma, R. S., Joshi, N., Padalia, R. C., Singh, V. R., Goswami, P., Verma, S. K., Darokar, M. P., Chauhan, A., Kandwal, M. K. (2017). Chemical composition and antibacterial, antifungal, allelopathic and acetylcholinesterase inhibitory activities of cassumunar-ginger. *J. Sci. Food Agric.*, 98(1), 321–327.
- Vichit, W., Saewan, N. (2015). Antioxidant activities and cytotoxicity of Thai pigmented rice. *Int. J. Pharm. Pharm Sci.*, 7(7), 329-334.

ภาคผนวก



## ภาคผนวก ก การวิเคราะห์สารองค์ประกอบในสารสกัดไพล

ตาราง ก-1 จำนวนสารองค์ประกอบทั้งหมดในสารสกัดไพลจากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS

Compound List

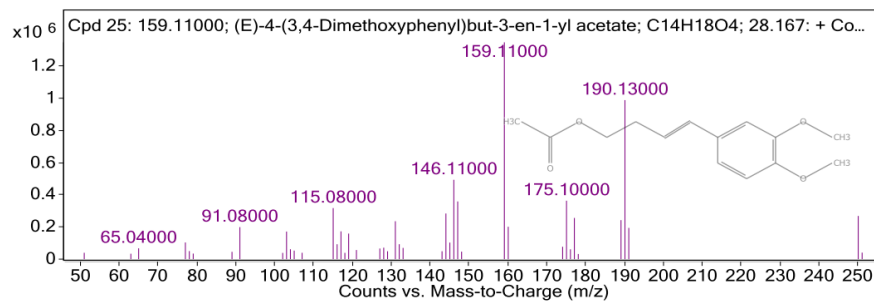
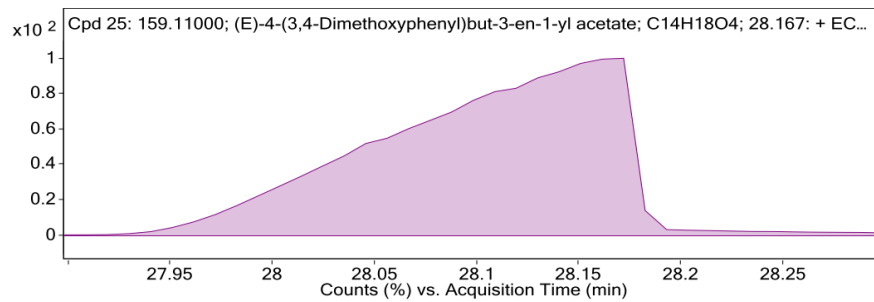
Cpd	Name	Formula	Sc	Ma	m/z	RT	Height	Area
1	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-	C10H16	93.58	136.1...	93.08	4.427	321124	2154153
2	Terpinen-4-ol	C10H18O	88.87	154.1...	71.07	9.289	137233	2092668
3	4-Hydroxy-2-methylacetophenone	C9H10O2	85.64	150.0...	150.1	12.908	46004	1227769
4	Vanillin	C8H8O3	83.77	152.0...	151.1	15.119	222737	4289343
5	Benzaldehyde, 3,4-dimethoxy-	C9H10O3	89.01	166.0...	166.09	17.15	414680	6349239
6					151.1	17.776	151602	2088455
7					69.05	17.999	34569	1381508
8	Triquinacene, 1,4-bis(methoxy)-	C12H14O2	81.24	190.0...	159.11	19.148	212087	5231015
9	1,4-Dimethoxy-2-methyl-5-(prop-1-en-2-yl)benzene	C12H16O2	80.26	192.1...	192.12	19.72	554971	8430051
10	Triquinacene, 1,4-bis(methoxy)-	C12H14O2	84.81	190.0...	159.11	20.73	1428736	1010725...
11					175.1	22.119	41725	1104296
12	Benzaldehyde, 2,4,5-trimethoxy-	C10H12O4	81.53	196.0...	196.09	22.56	56348	1060672
13					189.12	22.874	63708	1319443
14					222.14	23.528	311220	4096701
15	2-Propenal, 3-(3,4-dimethoxyphenyl)-	C11H12O3	86.76	192.0...	192.12	23.817	187363	4969946
16					177.12	24.295	79999	1605009
17					189.12	24.594	677336	15795889
18					191.12	25.421	29796	1296850
19					178.12	25.858	291664	7221277
20					177.12	25.873	2090519	76804319
21					153.09	25.889	135907	1546849
22					167.08	26.583	174098	5275328
23					159.11	26.675	32697	1361190
24					73.04	27.442	33876	1467861
25	(E)-4-(3,4-Dimethoxyphenyl)but-3-en-1-yl acetate	C14H18O4	85.49	250.1...	159.11	28.167	1347340	61056809
26					67.05	30.527	34539	1437295
27					55.01	30.623	20551	1299933
28					285.13	43.176	54557	1084688
29					382.22	43.451	34135	1225513
30					190.13	43.847	2463722	61608336
31					190.13	44.361	2582694	69430949
32					190.13	44.502	100073	1265312
33					220.14	44.798	1225458	15590170
34					165.07	44.908	259838	1378634
35					220.14	45.348	545960	6453807
36					220.14	45.553	784766	9019143
37					376.18	45.678	64012	1084511
38					220.14	45.989	953886	10927488
39					165.07	46.165	70438	1357908
40					220.14	46.426	410547	3898915
41					412.2	46.571	8930	1654315
42					220.14	47.056	135116	1462055
43					414.41	47.36	29575	1716877

## Qualitative Analysis Report

Data Filename	S66-091_3.D	Sample Name	S66-091-plai
Sample Type		Position	1
Instrument Name	GCMS	User Name	
Acq Method	plai261065.M	Acquired Time	10/26/2022 1:16:55 PM
IRM Calibration Status	Not Applicable	DA Method	default.m
Comment			
Expected Barcode		Sample Amount	
Dual Inj Vol	1	TuneName	ATUNE.U
TunePath	D:\MassHunter\GCMS\4\5977	TuneDateStamp	2022-10-26T10:29:03+07:00
MSFirmwareVersion	6.00.34	OperatorName	
RunCompletedFlag	True	Acquisition SW Version	MassHunter GC/MS Acquisition B.07.05.2479 23-Aug-2016 Copyright © 1989-2016 Agilent Technologies, Inc.

โครมาโทแกรมของสารองค์ประกอบ 3 อันดับ ที่ทราบชื่อในสารสกัดไหล

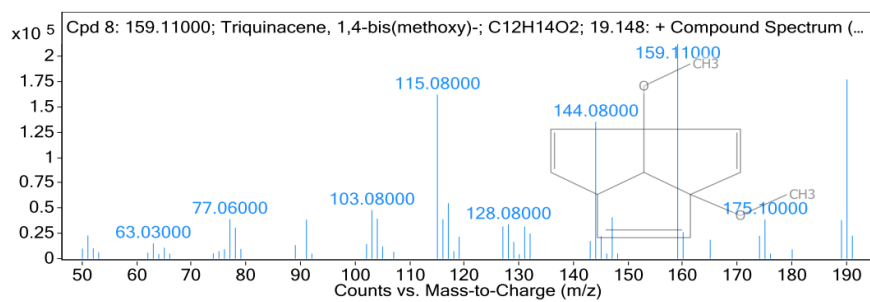
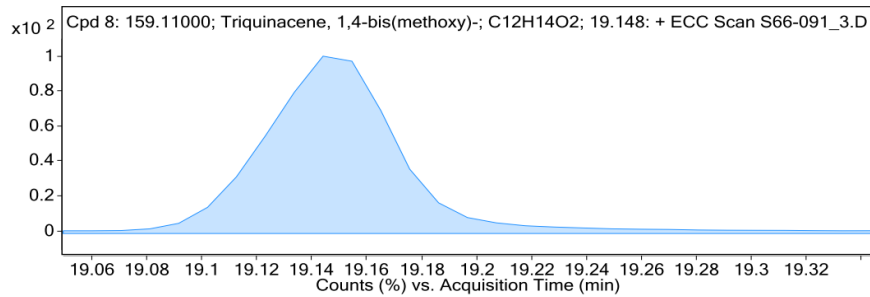
อันดับที่ 1 (*E*)-4-(3,4-Dimethoxyphenyl)but-3-en-1-yl acetate



Peak List	
m/z	Abund
115.08	317160.28
144.08	283605.72
146.11	493083.84
147.11	358447.97
159.11	1347340
175.1	363019.91
177.12	255971.81
189.12	242344.3
190.13	988157.38
250.14	268342.66

ภาพที่ ก-1 โครมาโทแกรมของ (*E*)-4-(3,4-Dimethoxyphenyl)but-3-en-1-yl acetate

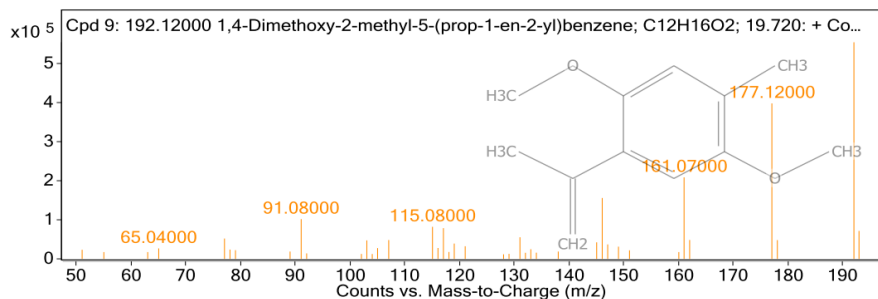
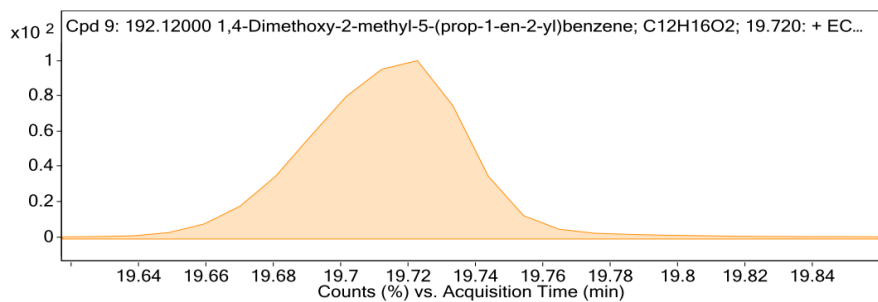
### อันดับที่ 2 Triquinacene, 1,4-Bis(methoxy)-



Peak List	
m/z	Abund
77.06	39058.71
103.08	48041.89
104.07	39572.85
115.08	162128.16
116.09	39019.19
117.08	54826.61
144.08	135202.22
147.11	40816.98
159.11	212086.78
190.13	177029.28

ภาพที่ ก-2 โครมาโทแกรมของ Triquinacene, 1,4-Bis(methoxy)-

### อันดับที่ 3 1,4-Dimethoxy-2-methyl-5-(prop-1-en-2-yl) benzene



Peak List	
m/z	Abund
77.06	52000.16
91.08	101823.21
115.08	82098.46
117.08	78664.27
131.07	55375.93
146.11	155986.75
161.07	208878.72
177.12	398348.91
192.12	554970.94
193.05	71636.02

ภาพที่ ก-3 โครมาโทแกรมของ 1,4-Dimethoxy-2-methyl-5-(prop-1-en-2-yl) benzene

ภาคผนวก ข การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดไพล

สารสกัดความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

P1 = ไพลสกัด Hexane

P2 = ไพลสกัด Dichloromethane

P3 = ไพลสกัด Acetone

P4 = ไพลแห้งสกัด Ethanol

P5 = ไพลสกัด 75% Ethanol

P6 = ไพลสกัด Methanol

P7 = ไพลสกัด 50% Ethanol

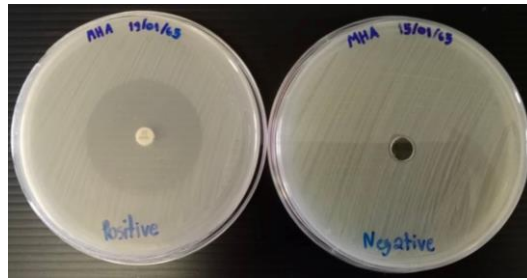
P8 = ไพลสดสกัด Ethanol

ตารางที่ ข-1 ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกของสารสกัดไพล

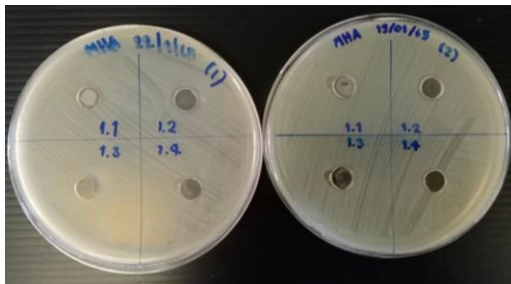
แบคทีเรียสายพันธุ์ทดสอบ	บริเวณยับยั้ง Inhibition zone (มิลลิเมตร)									
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	Amp	EtOH
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-

ตารางที่ ข-2 ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบของสารสกัดไพล

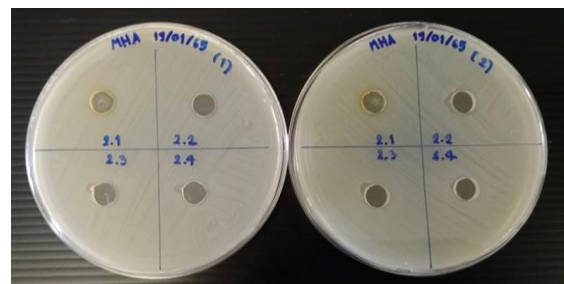
แบคทีเรียสายพันธุ์ทดสอบ	บริเวณยับยั้ง Inhibition zone (มิลลิเมตร)									
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	CIP	EtOH
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	11	-	-	-	+	-



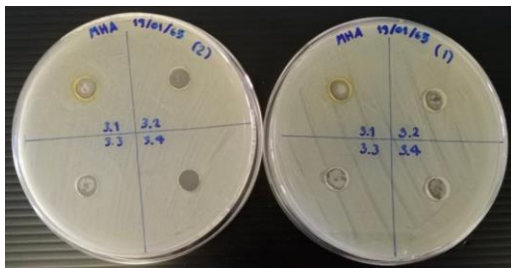
(a) ชุดควบคุมที่แสดงผลบวก (ซ้าย) แสดงผลลบ (ขวา)



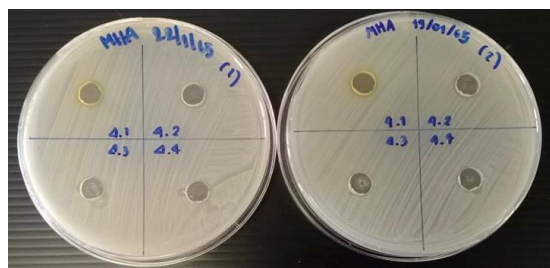
(b) ไพลสกัด Hexane



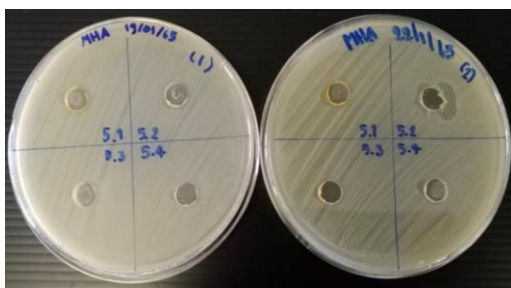
(c) ไพลสกัด Dichloromethane



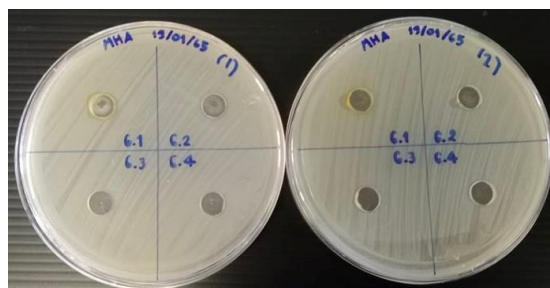
(d) ไพลสกัด Acetone



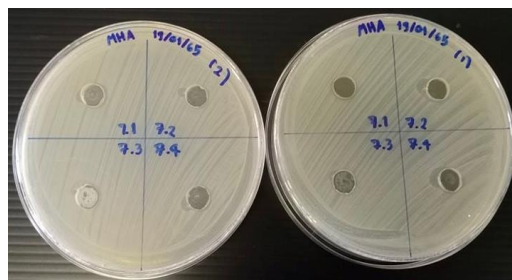
(e) ไพลสกัด Ethanol



(f) ไพลสกัด 75% Ethanol

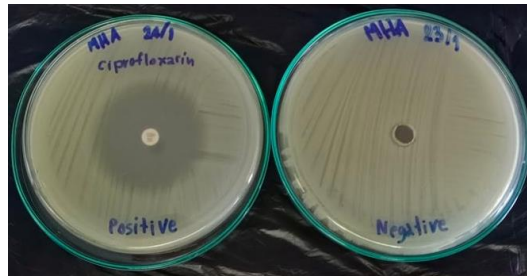


(g) ไพลสกัด Methanol

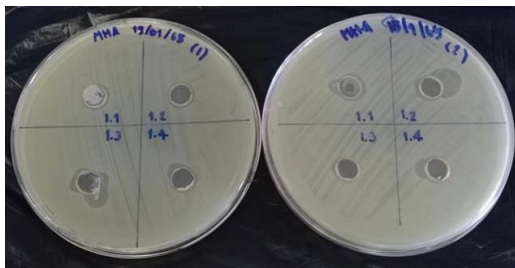


(h) ไพลสกัด 50% Ethanol

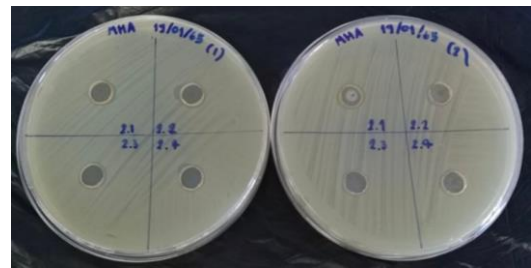
ภาพที่ ข-1ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดไพล



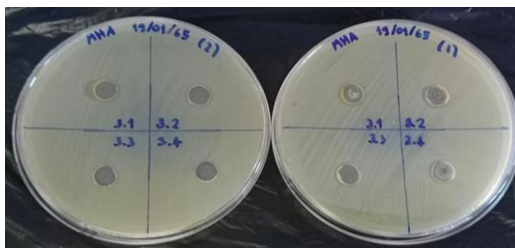
(a) ชุดควบคุมที่แสดงผลบวก (ซ้าย) แสดงผลลบ (ขวา)



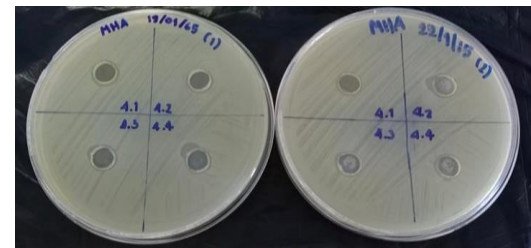
(b) ไพลสกัด Hexane



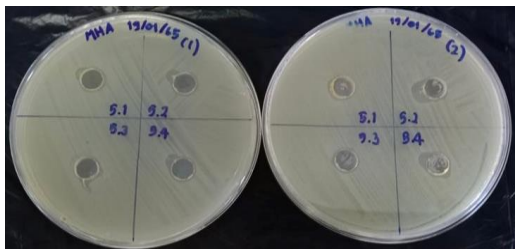
(c) ไพลสกัด Dichloromethane



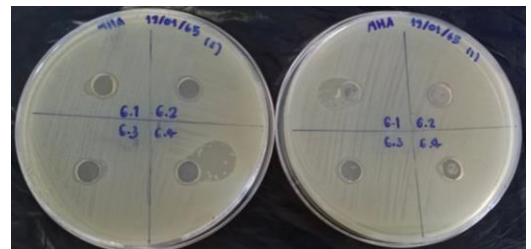
(d) ไพลสกัด Acetone



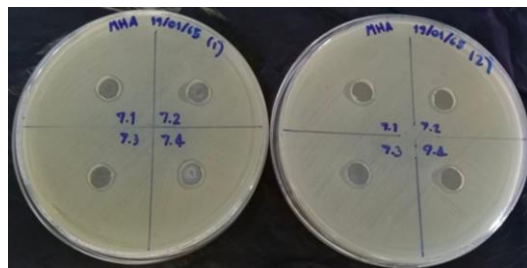
(e) ไพลสกัด Ethanol



(f) ไพลสกัด 75% Ethanol



(g) ไพลสกัด Methanol



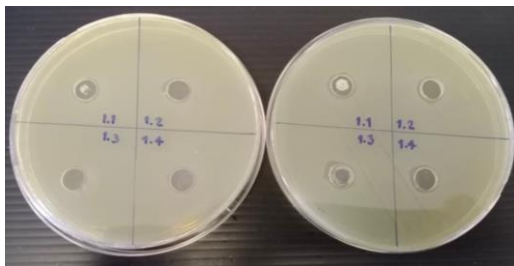
(h) ไพลสกัด 50% Ethanol

ภาพที่ ข-2ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ *Escherichia coli* ของสารสกัดไพล

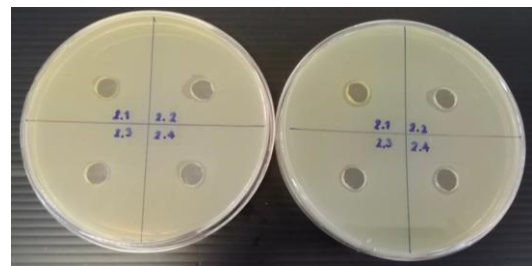




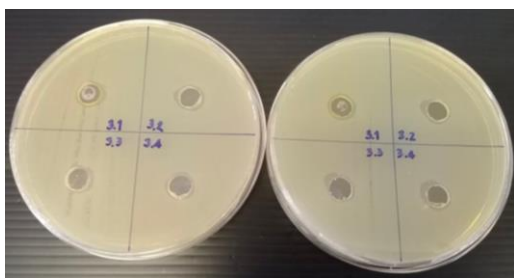
(a) ชุดควบคุมที่แสดงผลบวก (ซ้าย) แสดงผลลบ (ขวา)



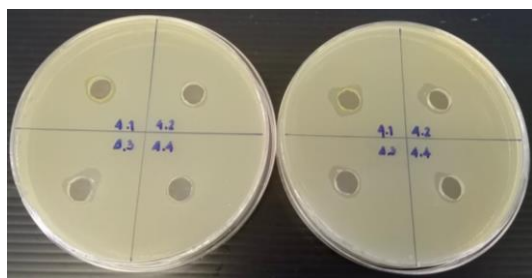
(b) โพลสกัด Hexane



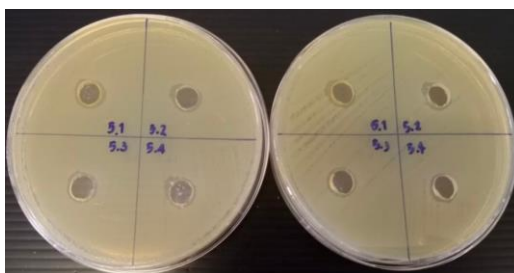
(c) โพลสกัด Dichloromethane



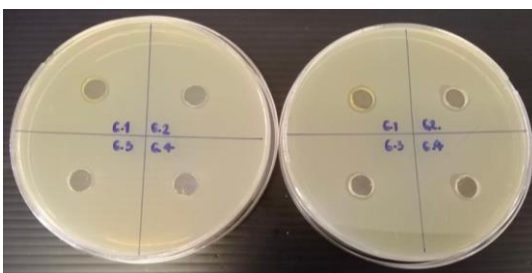
(d) โพลสกัด Acetone



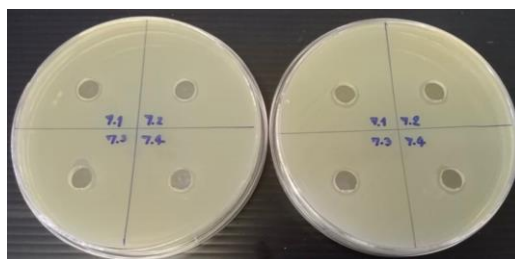
(e) โพลสกัด Ethanol



(f) โพลสกัด 75% Ethanol



(g) โพลสกัด Methanol



(h) โพลสกัด 50% Ethanol

ภาพที่ ข-3 ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารสกัดโพล

อนุสิทธิบัตร





## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพิ่มประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของไพลและการต้านแบคทีเรียด้วย  
ZnAl-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์

Enhanced effectiveness for antioxidation of Phlai (*Zingiber montanum*) and  
antibacterial by ZnAl-layered double oxide

ภายใต้ชุดโครงการวิจัยเรื่อง  
สบูไพลประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียด้วยนวัตกรรม  
การขนส่งสารที่ยึดการปลดปล่อย

**รศ.ดร.ศรัชัย อินทะไชย**

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

**รศ.ดร.นิธิมา เคารพพงศ์**

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565

มหาวิทยาลัยทักษิณ

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพิ่มประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของไพลและการต้านแบคทีเรียด้วย  
ZnAl-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์

Enhanced effectiveness for antioxidation of Phlai (*Zingiber montanum*) and  
antibacterial by ZnAl-layered double oxide

ภายใต้ชุดโครงการวิจัยเรื่อง  
สบูไพลประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียด้วยนวัตกรรม  
การขนส่งสารที่ยึดการปลดปล่อย

รศ.ดร.ศรชัย อินทะไชย  
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

รศ.ดร.นิธิมา เคารพพงศ์  
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้  
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565  
มหาวิทยาลัยทักษิณ



## คำรับรองคุณภาพ

รายงานโครงการย่อยที่ 2 เรื่อง การเพิ่มประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของไหลและการต้านแบคทีเรีย  
ด้วย ZnAl-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์

ผู้วิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรชัย อินทะไชย

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยทักษิณ ขอรับรองว่ารายงานวิจัยฉบับนี้ได้ผ่านการ  
ประเมินจากผู้ทรงคุณวุฒิเรียบร้อยแล้ว และผลการประเมินคุณภาพงานวิจัยอยู่ระดับ ดี

(รองศาสตราจารย์ ดร.สมัคร แก้วสุกแสง)

รองอธิการบดีฝ่ายวิจัยและนวัตกรรม

รักษาการแทนผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา

วันที่ 10 มีนาคม 2566

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาบทบาทของ ZnAl-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ (ZnAl-LDH) และ ZnAl-LDH ที่ถูกเผา (cZnAl-LDH) ที่เป็นวัสดุไฮสตร ต่อประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดโพลีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และต้านเชื้อแบคทีเรีย การเตรียม ZnAl-LDH ใช้วิธีการตกตะกอนร่วมของ Zn(II) และ Al(III) กับสารละลายแอมโมเนีย และให้ความร้อนที่ 80 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การเปลี่ยนแปลงเฟสโครงสร้างของ ZnAl-LDH เกิดผ่านการเผาที่ 300, 500 และ 700 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง สำหรับ ZnAl-LDH และตัวอย่างที่ถูกเผา (cZnAl-LDH300, cZnAl-LDH500 และ cZnAl-LDH700) ได้นำมาคอมโพสิตกับสารสกัดโพลีด้วยปฏิกิริยาทางกลที่อัตราส่วน 5:1 โดยน้ำหนัก แล้วนำสารตัวอย่างและคอมโพสิตทั้งหมดมาพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค XRD, FT-IR, SEM, elemental mapping, zeta potential, TG-DTA/DTG และ UV-VIS และศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* จากรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์และภาพถ่าย SEM ของสารตัวอย่างที่ถูกเผาบอกว่ามีอนุภาค ZnO และ/หรือ ZnAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub> บนพื้นผิว LDH ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 100 – 200 นาโนเมตร เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ทั้งหมดไปศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสง พบว่า สามารถดูดกลืนแสงยูวีและวิสิเบิลได้อย่างมีประสิทธิภาพเนื่องจากเอกลักษณ์เชิงแสงของวัสดุไฮสตรและโพลี ตามลำดับ ทั้งนี้ ข้อมูลชนิดธาตุองค์ประกอบที่พบคือ Zn, Al, C และ O และมีค่าประจุพื้นผิวที่เป็นบวกลดลงเมื่อเทียบกับค่าประจุพื้นผิวจากวัสดุไฮสตร สามารถยืนยันการมีสารสกัดโพลีในวัสดุคอมโพสิต ซึ่งเกิดอันตรกิริยาทางเคมี โดย ZnAl-LDH และ cZnAl-LDH แสดงประสิทธิภาพการกักเก็บและเพิ่มความเสถียรภาพสารสกัดโพลีสูงสุด และเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดโพลีบริสุทธิ์ เนื่องจากอันตรกิริยาระหว่างไฮสตร-โพลี และ โพลี-โพลี

## Abstract

This work is aimed to optimize the functionalities of ZnAl-layered double hydroxide (ZnAl-LDH) and the calcined ZnAl-LDH (cZnAl-LDH) as the host material on the encapsulation efficiency of Phlai extract, and antioxidant and antibacterial activities. The preparation of ZnAl-LDH was carried out by co-precipitation of Zn(II) and Al(III) with an ammonia solution, and heat-treated at 80 °C for 24 h. The change in structural phase of ZnAl-LDH was conducted by calcining at 300, 500 and 700 °C for 3 h. The as-prepared ZnAl-LDH and the calcined samples (cZnAl-LDH300, cZnAl-LDH500 and cZnAl-LDH700) were composited with Phlai extract by mechanical reaction at the weight ratio of 5:1. All samples and composites were characterized by XRD, FT-IR, SEM, elemental mapping, zeta potential, TG-DTA/DTG and UV-VIS, in addition to, their capacities were evaluated on the DPPH radical antioxidation and antibacterial (*Staphylococcus aureus*). The XRD patterns and SEM images of the calcined samples showed the fabrication of ZnO and/or ZnAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub> particles decorated on LDH surface with average diameter size of 100 – 200 nm. All products could strongly absorb UV and visible light due to the optical characteristic of the host material and Phlai extract, respectively. Furthermore, the appearance of Zn, Al, C and O and the reduction of positively charged surface relative to the host material could confirm the presence of Phlai extract in the composite with the chemical interaction. The host materials of ZnAl-LDH and cZnAl-LDH exhibited the efficient encapsulation of Phlai extract, and improved the optical performance, DPPH radical antioxidation and antibacterial of *Staphylococcus aureus* in comparison with pure Phlai exclude due to the host-guest and guest-guest interactions.

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยการสนับสนุนเงินทุนวิจัยจากกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ประเภททุนพัฒนาแผนงานริเริ่มสำคัญ (Flagship) ประจำปี พ.ศ. 2565 จึงขอขอบพระคุณ ไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบคุณคณะบุคลากรที่เกี่ยวข้อง ทั้งสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ และมหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ อุปกรณ์ในการปฏิบัติงานด้านการวิจัย ตลอดจนคำแนะนำและการสนับสนุนด้านอื่น ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการปฏิบัติงานวิจัยในโครงการนี้ ด้วยดีตลอดมา

และสุดท้ายขอขอบคุณนิสิตและท่านที่เกี่ยวข้องที่ช่วยงานวิจัย ตลอดจนขอขอบพระคุณคณาจารย์และคุณครูทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และประสบการณ์ เป็นผลให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

คณะผู้วิจัย

2566

## สารบัญ

	หน้า
คำรับรองคุณภาพ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
ประกาศคุณภาพการ	ฉ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูปภาพ	ฅ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	
ความเป็นมาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตการวิจัย	2
คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
กรอบแนวคิดในการวิจัย	8
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
สารเคมี	10
การทดลอง	10
การพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างและองค์ประกอบของสารผลิตภัณฑ์	12
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย	
การพิสูจน์เอกลักษณ์	13
การศึกษาความเสถียร	22
การศึกษาสมบัติทางชีวภาพ	25
บทที่ 5 อภิปรายผลสรุปและข้อเสนอแนะ	30
บรรณานุกรม	31
ภาคผนวก	35

## สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 2.1	ตัวยา ชนิดของเลเยอร์อินทรีย์ และชนิดของยา	5
ตารางที่ 4.1	การต้านแบคทีเรีย <i>S. aureus</i> ของสารสกัดไพล วัสดุไฮสค์ วัสดุคอมโพสิต และ ZnO	29



## สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1	9
รูปที่ 4.1	13
รูปที่ 4.2	15
รูปที่ 4.3	16
รูปที่ 4.4	17
รูปที่ 4.5	18
รูปที่ 4.6	18
รูปที่ 4.7	20
รูปที่ 4.8	21
รูปที่ 4.9	22

## สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.10	23
เส้นโค้ง DTG ของ (a) ZnO, (b) cZnAl-LDH500, (c) cZnAl-LDH700, (d) cZnAl-LDH300, (e) ZnAl-LDH, (f) Phlai@cZnAl-LDH700, (g) Phlai@cZnAl-LDH500, (h) Phlai@cZnAl-LDH300 และ (i) Phlai@ZnAl-LDH	
รูปที่ 4.11	24
ยูวี-วิสิเบิล สเปกตรัมของ (a) Phlai extract ethanoic solution และ (b) Phlai extract ethanoic solution หลังจากถูกเก็บเป็นเวลา 30 วัน	
รูปที่ 4.12	25
การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของ 0.1 mg of Phlai extract, Phlai@ZnAl-LDH, Phlai@cZnAl-LDH300, Phlai@cZnAl-LDH500, Phlai@cZnAl-LDH700 และ ascorbic acid	
รูปที่ 4.13	26
การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของ 1.0 mg of Phlai extract, Phlai@ZnAl-LDH, Phlai@cZnAl-LDH300, Phlai@cZnAl-LDH500 และ Phlai@cZnAl-LDH700	
รูปที่ 4.14	
การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของ 10 mg of Phlai extract, Phlai@ZnAl-LDH, Phlai@cZnAl-LDH300, Phlai@cZnAl-LDH500, Phlai@cZnAl-LDH700, ZnAl-LDH, cZnAl-LDH300, cZnAl-LDH500, cZnAl-LDH700 และ ZnO	
รูปที่ 4.15	28
ข้อมูลการปลดปล่อยของ Phlai extract, Phlai@ZnAl-LDH, Phlai@cZnAl-LDH300, Phlai@cZnAl-LDH500 และ Phlai@cZnAl-LDH700 ใน the ethanoic phosphate buffer (pH ~ 7.4)	

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

$\lambda$	ความยาวคลื่น (wavelength)
$E_g$	พลังงานระหว่างแถบพลังงาน (band gap energy)
$d_{001}$	ระยะห่างระหว่างระนาบ (001) (basal spacing of (001))
$d_{003}$	ระยะห่างระหว่างระนาบ (003) (basal spacing of (003))
Å	อังสตรอม (Angstrom)
nm	นาโนเมตร (nanometer)
µm	ไมโครเมตร (micrometer)
CEC	ความจุในการแลกเปลี่ยนไอออนบวก (cation exchange capacity)
AEC	ความจุในการแลกเปลี่ยนไอออนลบ (anion exchange capacity)
XRD	การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction)
FT-IR	ฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Fourier transforms infrared spectroscopy)
SEM	กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope)
UV-VIS	ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy)



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ปัญหาสุขภาพเป็นเรื่องที่เกิดขึ้นกับทุกคนและคนที่เรารัก จึงเป็นเรื่องที่ได้รับความสนใจอย่างมาก ไม่ว่าจะเป็นเรื่องการดูแลตนเองเกี่ยวกับอาหาร ยา/อาหารเสริม/เครื่องสำอาง การออกกำลังกาย เป็นต้น โพลเป็นสมุนไพรท้องถิ่นที่ปลูกได้ในภาคใต้ โดยเฉพาะชุมชนเขาปู่เขาย่า (อ.ศรีบรรพต จ.พัทลุง) ที่มีความสำคัญกับสรรพคุณยาตัวนี้โดยการตั้งวิสาหกิจชุมชนเพื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ร่วมกับสมุนไพรตัวอื่น ๆ สรรพคุณทางเภสัชวิทยาของเหง้า เช่น มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและราและอนุมูลอิสระ ใช้ระงับปวด รักษาแผลเรื้อรัง เป็นต้น เมื่อพิจารณาถึงความสำคัญจากสารสกัดของเหง้าโพลนั้นพบว่ามีสารสำคัญที่ช่วยแก้ปัญหาด้านผิว เช่น ลดการเกิดสิว ให้ความชุ่มชื้นกับผิว ลดริ้วรอย และอื่น ๆ ดังนั้น การดูแลเรื่องสุขภาพก็เป็นเรื่องที่ควรคำนึง และการส่งเสริมให้ทุกคนมีสุขภาพดีเป็นเรื่องที่ต้องให้ความสำคัญเป็นอันดับต้น ๆ แม้ว่าสารสำคัญในโพลจะมีสรรพคุณที่ดีมากมาย แต่โครงสร้างเป็นสารอินทรีย์ที่ไม่เสถียรซึ่งเกิดการออกซิเดชันกับออกซิเจนในบรรยากาศได้ง่ายจึงทำให้การออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลง ปัญหาดังกล่าวเป็นเรื่องสำคัญที่ต้องมีการแก้ไข โดยเฉพาะเรื่องสรรพคุณด้านผิวหรือเครื่องสำอาง เพราะส่วนใหญ่ต้องการประสิทธิภาพตลอด 8 ชั่วโมง กับช่วงเวลาการทำงาน ที่เป็นสาเหตุหลักของการเกิดอนุมูลอิสระจากความเครียด และสภาวะการกระตุ้นจากแสงแดด ปัญหานี้เป็นหัวข้อที่ต้องริเริ่มพัฒนาแก้ไขของสมุนไพรโดยเฉพาะฤทธิ์การต้านออกซิเดชันและแบคทีเรียเพื่อนำมาทำผลิตภัณฑ์ การแก้ปัญหาโดยอ้อม คือ การเติมสารลดแรงตึงผิวซึ่งเพียงแค่นี้ไปห่อหุ้มสารสำคัญโดยไม่มีการควบคุมการปลดปล่อย และขึ้นรูปเป็นของแข็ง เช่น สบู่ก้อน แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อมีการใช้งานแล้วครั้งหนึ่ง ส่วนผิวหน้าของสบู่ก็สามารถเกิดออกซิเดชันได้ ซึ่งไม่สามารถเพิ่มความเสถียรหรือยืดการออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ตลอดการใช้ผลิตภัณฑ์นั้น ๆ ดังนั้น การนำเทคโนโลยีหรือนวัตกรรมที่ควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญ เพิ่มความเสถียร และสมบัติการต้านแบคทีเรียมาแก้ปัญหาจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจ โดยสอดคล้องกับยุทธศาสตร์มหาวิทยาลัยทักษิณในประเด็นริเริ่มสำคัญ (Flagship) “วิจัยและพัฒนาต่อยอดภูมิปัญญาสมุนไพรพื้นถิ่น (โพล) ให้มีมูลค่าสูง” เพื่อสร้างนวัตกรรมผู้ประกอบการเพื่อเพิ่มขีดความสามารถการแข่งขันระดับประเทศ

นอกจากนี้ การพัฒนานวัตกรรมด้านสุขภาพใหม่ ๆ ต้องเน้นราคาไม่แพงเพื่อให้ทุกคนสามารถเข้าถึงได้ และมีคุณประโยชน์หลากหลาย งานวิจัยนี้จะพัฒนานวัตกรรมการปลดปล่อยสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดในโพลด้วยวัสดุขนส่งยา (carrier) อนุภาคเลเยอร์-นาโนซิงค์ออกไซด์ (layered-nano zinc oxide particle) ที่เป็นมิตรต่อผิว ป้องกันแสงยูวี ต้านแบคทีเรีย และช่วยการขัดผิวด้วยลักษณะเม็ดของแข็งเล็ก ๆ และวัสดุนาโนคอมโพสิตซิงค์ออกไซด์ (ZnAl-LDH, cZnAl-LDH) เป็นส่วนผสมในสบู่เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการรักษาและเพิ่มผิวสัมผัสในการขัดเซลล์ผิว และอยู่ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจฯ ฉบับที่ 12 หัวข้อ ยุทธศาสตร์ที่ 8 พัฒนาวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี วิจัยและนวัตกรรม งานวิจัยนี้เป็นการนำวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไปเสริมสร้างศักยภาพด้านการพัฒนาสบู่จากวัสดุนาโนเพื่อสุขภาพ เพื่อนำไปพัฒนานวัตกรรมและทรัพย์สินทางปัญญาของ

ประเทศผู้ชุมชน ก่อให้เกิดประโยชน์จากต้นน้ำถึงปลายน้ำ เนื่องจากโครงสร้างของตัวขนส่งสารออกฤทธิ์เป็น แผ่นนาโนที่มีประจุพื้นผิวเป็นบวก (หมู่ฟังก์ชันออกไซด์) ซึ่งจะเกิดอันตรกิริยากับสารอินทรีย์ได้ดีเนื่องจากการ เกิดพันธะไฮโดรเจนและดึงดูดต่างขั้วและช่วยในการจับเซลล์ผิว มีความเสถียรสูงเป็นผงสีขาวออกเหลืองซึ่ง ไม่ทำปฏิกิริยากับสมุนไพรและไม่ทำให้เปลี่ยนสี และพื้นที่ผิวมากซึ่งสามารถห่อหุ้มสารสำคัญได้ปริมาณมาก นอกจากนี้ยังสังเคราะห์ได้ง่ายและราคาถูก จึงเหมาะในการนำมาเพิ่มความเสถียรโครงสร้างสารสำคัญในโพลี ควบคลุมการปลดปล่อย เพิ่มสมบัติการต้านแบคทีเรีย การฆ่าเชื้อ การป้องกันแสง เป็นต้น เพื่อพัฒนาเป็นต้นแบบ ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่าง ๆ เช่น สบู่ เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความจำเป็นต้องใช้ในทุก ๆ วัน

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อได้วัสดุนาโนคอมโพสิต ZnAl-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ ที่ประกอบด้วยอนุภาคนาโนซึ่งค่ออกไซด์ และเชิงค่อะลูมิเนียมออกไซด์
2. เพื่อได้กรรมวิธีที่สามารถเพิ่มความเสถียรกับสารสำคัญในสารสกัดโพลี โดยเพิ่มสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและการต้านแบคทีเรีย

## 1.3 ขอบเขตการวิจัย

1. เตรียม cZnAl-LDH เป็นตัวขนส่งยาด้วยการเคลือบชั้น ZnAl-LDH (ซึ่งเตรียมด้วยวิธีการตกตะกอนร่วม) ที่อุณหภูมิ 300, 500 และ 700 °C
2. เพิ่มความเสถียรสารสกัดจากสมุนไพรโพลี (โครงการวิจัยย่อยที่ 1) ด้วยปฏิกิริยาของแข็ง-ของแข็งกับ ZnAl-LDH, cZnAl-LDH300, cZnAl-LDH500 และ cZnAl-LDH700
3. ศึกษาความเสถียรและประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH assay ด้วย ZnAl-LDH, cZnAl-LDH300, cZnAl-LDH500 และ cZnAl-LDH700 สารสกัดจากโพลี และสารคอมโพสิต ในช่วงเวลาต่าง ๆ
4. ศึกษาความเสถียรและประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรีย *S. aureus* ด้วย ZnAl-LDH, cZnAl-LDH300, cZnAl-LDH500 และ cZnAl-LDH700, ZnO สารสกัดจากโพลี และสารคอมโพสิต

#### 1.4 คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย

สารสกัด (extract) เป็นสารสกัดเบื้องต้นจากพืชหรือสมุนไพรที่ยังไม่ถึงขั้นบริสุทธิ์ มีสารองค์ประกอบผสมกันอยู่หลายชนิด กรรมวิธีการสกัดไม่ยุ่งยาก ซับซ้อน สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยตรง หรือนำไปผ่านกรรมวิธีผลิตก่อนจะนำไปใช้ประโยชน์

วัสดุโฮสต์ (host material) คือ สารที่มีโครงสร้างขนาดใหญ่ มีความเสถียรสูง และอื่น ๆ เช่น ZnAl-LDH, cZnAl-LDH300, cZnAl-LDH500 และ cZnAl-LDH700 ที่ใช้ห่อหุ้มสารสกัดไฟล ซึ่งจะกระจายอนุภาคอยู่ปกคลุมโมเลกุลของสารสกัดไฟล

สารสำคัญ คือ สารหลักในทั้งหมดของสารสกัดไฟลที่ออกฤทธิ์ชีวภาพ โดยไม่พิจารณาสูตรเคมี หรือสารบริสุทธิ์ และอาจมีมากกว่า 1 ชนิด

#### 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ ZnAl-LDH, cZnAl-LDH300, cZnAl-LDH500 และ cZnAl-LDH700 ที่สามารถเพิ่มความเสถียรให้กับสารสกัดจากสมุนไพรไฟล และเผยแพร่เชิงวิชาการในวารสารระดับชาติ TC11 หรือ นานาชาติ Scopus

หรือ

2. เพื่อได้กรรมวิธีเพิ่มความเสถียรโครงสร้างสารสำคัญในไฟล เพิ่มสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและการต้านแบคทีเรียด้วย ZnAl-LDH, cZnAl-LDH300, cZnAl-LDH500 และ ZnAl-LDH700 และเผยแพร่เชิงวิชาการในวารสารระดับชาติ TC11 หรือ นานาชาติ Scopus และอนุสิทธิบัตร

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โรคต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับร่างกาย เชื่อว่าสาเหตุหนึ่งเกิดจากสิ่งที่เรานำเข้าสู่อวัยวะ ซึ่งนักวิจัยกล่าวว่าส่วนหนึ่งเกิดจากกลไกจากการเกิดออกซิเดชันและส่งผลให้เกิดอนุมูลอิสระตามมา ทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันของเซลล์ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของโรคต่าง ๆ เช่น ภูมิแพ้ มะเร็ง ภาวะเสื่อมชรา เบาหวาน และอื่น ๆ เพราะอนุมูลอิสระเป็นสปีชีส์ที่ไม่เสถียรและมีความว่องไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับอะตอมหรือโมเลกุลอื่น ๆ ได้ง่าย ซึ่งก่อให้เกิดพยาธิสภาพในการเกิดโรค โดยส่วนใหญ่อนุมูลอิสระจะพบในร่างกาย และของเสียที่ขับออกนอกเซลล์และกระบวนทางเคมีที่เซลล์ผิว หรือได้รับเชื้อหรืออนุมูลอิสระจากภายนอกแล้วดับอยู่บนเซลล์ผิว โดยส่วนใหญ่จะได้รับปัจจัยกระตุ้นเมื่อร่างกายได้รับบาดเจ็บหรือสารเคมีหรือสารพิษ แสง และมีความเครียดทางจิต [1] ในแต่วัน เราคงหลีกเลี่ยงการสัมผัสเชื้อโรค เช่น แบคทีเรีย รา และ/หรือไวรัส ได้ยาก นั่นคือโอกาสที่ร่างกาย โดยเฉพาะผิวที่เป็นด่านแรกในการป้องกัน หรือเป็นที่อยู่ของโรคนั้นสูง ทั้งนี้ขึ้นกับการใช้ชีวิตของแต่ละคน เมื่อพิจารณาเชื้อโรคหรือสิ่งสกปรกที่อยู่บนร่างกายจากการเกิดสิว เหงื่อ อากาณคัน/แสบ/ร้อน เป็นต้น เราจะทำความสะอาดหรือป้องกันด้วยสบู่ โดยเฉพาะสบู่ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านแบคทีเรีย หรือทำให้ผิวชุ่มชื้น ขาว เป็นต้น ดังนั้น สบู่จึงเป็นผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดที่จำเป็น โดยเฉพาะปัจจุบันมีการผลิตผลิตภัณฑ์สบู่ต้านอนุมูลอิสระและต้านแบคทีเรียจากสมุนไพร เช่น ขิง ไพล มังคุด ตะไคร้ มะขาม เป็นต้น แต่ปัญหาหนึ่งที่ต้องมีการวิจัยพัฒนาคือการเพิ่มความเสถียรให้กับสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพราะสารกลุ่มนี้ เช่น วิตามินซี (กรดแอสคอร์บิก) มีความคงทนต่อแสง ออกซิเจน และความร้อนต่ำมาก ทำให้ประสิทธิภาพลดลงอย่างรวดเร็ว และมีปัญหาต่อการทำผลิตภัณฑ์ที่ต้องผ่านอุณหภูมิสูง [2,3] นอกจากนี้ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจะต่ำมาก โดยส่วนใหญ่จะเติมซิงค์ออกไซด์ (ZnO) หรือไททาเนียม(IV)ออกไซด์ (TiO<sub>2</sub>) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพลงไป [4]

ไพล (*Zingiber montanum* (Koenig) Link ex Dietr.) เป็นสมุนไพรที่ปลูกกันทั่วไปในชุมชนเขาปู่เขาเย่า (อ.ศรีบรรพต จ.พัทลุง) โดยส่วนเหง้าไพลพบว่าเป็นกลุ่มฟลาโวนอยด์และเทอร์พีนที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และน้ำมันหอมระเหยที่ต้านแบคทีเรียได้บ้าง และยังมีกลิ่นเฉพาะ ซึ่งได้มีการนำเป็นส่วนผสมในสบู่หรือผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่าง ๆ แต่อย่างไรก็ตาม สารสำคัญเหล่านี้ไม่ค่อยเสถียรที่อุณหภูมิสูง และเกิดออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศได้ซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพลดลงอย่างรวดเร็ว [5] เมื่อนำมาเป็นเป็นส่วนสำคัญในสบู่ก่อนอาจจะสลายระหว่างการขึ้นรูปและเกิดออกซิเดชันระหว่างการทำความสะอาดร่างกาย ดังนั้น เพื่อเป็นการพัฒนาต้นแบบสบู่ก่อนด้วยนวัตกรรม งานวิจัยนี้จะเพิ่มประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียในสารสกัดไพลด้วยนวัตกรรมการขนส่งสารที่ยืดการปลดปล่อย

ปัจจุบัน กระบวนการจัดการทางด้านการแพทย์ได้ให้ความสำคัญอย่างมากกับนาโนเทคโนโลยีเพื่อนำมาใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันและรักษาอาการหรือโรคต่าง ๆ เช่น การควบคุมการปลดปล่อยยา โดยบรรจุยาในวัสดุขนส่ง (carrier) และ/หรือ วัสดุห่อหุ้ม (encapsulator) ชนิดต่าง ๆ เพื่อให้ยาแพร่



ออกมาในครั้งละปริมาณน้อย ๆ ซึ่งจะยืดระยะเวลาในการควบคุมหรือรักษาโรคได้นานขึ้นโดยไม่ต้องรับประทานยาใหม่และสามารถนำส่งยาไปสู่เป้าหมายได้อย่างมีประสิทธิภาพ กระบวนการดังกล่าวยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในด้านเครื่องสำอาง เช่น สบู่ ครีมกันแดด ครีมลดริ้วรอย สารปรับสีผิวและสารบำรุงผิว และการกักเก็บน้ำหอมในวัสดุนาโนเมตรเพื่อให้มีกลิ่นหอมยาวนาน วัสดุเลเยอร์อนินทรีย์ เช่น สเมคไทต์ เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ (layered double hydroxide, LDH) เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ (layered double oxide, LDO) ได้มีการนำมาใช้เป็นวัสดุขนส่งและห่อหุ้มยา ดังแสดงใน **ตารางที่ 2.1** เพื่อป้องกันการสลายโมเลกุลของยาในระหว่างการขนส่งไปยังบริเวณเป้าหมายจากการทำปฏิกิริยาของสารเคมีที่อยู่ในร่างกายสิ่งมีชีวิต และยังสามารถควบคุมการโตของอนุภาคได้ เพิ่มความเสถียรและประสิทธิภาพในการรักษาอาการหรือโรค วัสดุเลเยอร์อนินทรีย์มีพื้นที่ผิวมาก กระจายตัวได้ดีในน้ำ ว่องไวต่อการดูดซับไอออน มีเสถียรภาพหรือเฉื่อยต่อสารเคมีสูง และมีความเป็นพิษต่ำมาก โดยสามารถเพิ่มการละลายของยาในน้ำได้ดีขึ้น ลดผลข้างเคียงของยาตอบสนองการปลดปล่อยยาต่อปัจจัยธรรมชาติในร่างกาย เช่น ความเป็นกรด-เบส (ค่า pH) และสามารถขนส่งยาสู่อวัยวะเป้าหมายได้อย่างมีประสิทธิภาพ

**ตารางที่ 2.1** ตัวยา ชนิดของเลเยอร์อนินทรีย์ และชนิดของยา [6]

ตัวยา	วัสดุเลเยอร์อนินทรีย์	ประโยชน์
Oxytetracycline	Chitosan-Mt	ยาปฏิชีวนะ และยาด้านเชื้อแบคทีเรีย
Tetracycline	Laponite	
Metronidazole	Mt	
Cefradine	Mt	
Amoxicillin	Halloysite	ยาด้านมะเร็ง
Gentamicin	Halloysite	
Chlorhexidine acetate	Mt, kaolinite, vermiculite	
Ciprofloxacin	Mt, laponite, kaolinite	
Cardanol	Halloysite	
5-Fluorouracil	Mt, aminopropyl grated Mt	
Tamoxifen	Polycaprolactam-Mt	
Irinotecan	Alginate-Mt	
Cardanol	Halloysite	
Itraconazole	Mt, laponite	ยาด้านเชื้อรา
Griseofulvin	Mt	
Propranolol hydrochloride	Mt, organo-Mt	ยาด้านความดันโลหิตสูง
Nifedipine	Mt	
Atenolol	Mt	

ตัวยา	วัสดุเลเยอร์อนินทรีย์	ประโยชน์
Carvedilol	Mt	
Flurbiprofen	Aminopropyl grafted Mt	ยาด้านการอักเสบ
Ibuprofen	Polypropylene amine-Mt	หรือภูมิแพ้
5-Aminosalicylic acid	Chitosan-Mt	
Glutathione	Mt	ยาด้านอนุมูลอิสระ
Resveratrol	Halloysite	

วัสดุเลเยอร์อนินทรีย์ที่มีพื้นผิวประจุบวก เช่น เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ (layered double hydroxide, LDH) ซึ่งได้รับความนิยมในการเป็นวัสดุขนส่งยาที่มีประจุลบ งานวิจัยนี้จะพัฒนา ZnAl-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ (ZnAl-LDO) จากการแคลซิเนชัน ZnAl-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ (ZnAl-LDH) เป็นวัสดุขนส่งยาเพื่อควบคุมการปลดปล่อยยาให้ออกมาในปริมาณน้อย ๆ ได้ เพื่อเพิ่มเสถียรภาพของสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดโพล โดยนำมาเป็นองค์ประกอบหลักในการผลิตสบู่มุนไพร ZnAl-LDO ประกอบด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO) ในที่นี้จะเขียนย่อเป็น cZnAl-LDH โดยที่ Zn เป็นธาตุที่มีความจำเป็นต่อร่างกาย จึงเป็นตัวขนส่งยาที่เป็นมิตรต่อเซลล์ อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (nano ZnO) เป็นสารกึ่งตัวนำที่มีสมบัติพิเศษต่าง ๆ มากมาย ไม่มีความเป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์ นิยมนำมาใช้ในด้านเวชสำอางและผลิตภัณฑ์กันแดด เนื่องจากอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันรังสียูวีเอ (UVA) และยูวีบี (UVB) และต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ดี ระงับกลิ่นอันไม่พึงประสงค์ การทำงานของสารอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ คือการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราจนทำให้เซลล์ของเชื้อตายลง การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์สามารถทำได้โดยการใช้วัสดุ LDH ในการช่วยกระจายตัวของอนุภาคของซิงค์ออกไซด์บนพื้นผิว

เมื่อศึกษาการนำวัสดุเลเยอร์อนินทรีย์มาเป็นตัวขนส่งสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพฤทธิ์ชีวภาพได้ดีขึ้นจากการควบคุมการปลดปล่อย กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid, FA) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพชนิดหนึ่ง ที่ช่วยป้องกันการทำลายผิวจากแสง UVB และ เป็นสารต้านมะเร็ง ที่นักวิจัยของคัง และคณะ ได้เตรียมวัสดุไฮบริดของกรดเฟอร์ูลิกในเลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ (LDH) แล้วทำการศึกษาการปลดปล่อยยาในระบบน้ำที่ปราศจากไอออนและระบบเกลือ พบว่า วัสดุไฮบริดของกรดเฟอร์ูลิก ถูกปลดปล่อยออกมาอย่างช้า ๆ และมีปริมาณกรดเฟอร์ูลิกในระบบน้ำที่ปราศจากไอออนสูงกว่าสารอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ นั่นคือ เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ช่วยป้องกันการสลายตัวและเพิ่มครึ่งชีวิตของกรดเฟอร์ูลิก และจะถูกปลดปล่อยออกมามากขึ้นในระบบเกลือ เนื่องจากเกิดการแทนที่ของแอน (Cl<sup>-</sup>) ไอออน และมีกลไกกลศาสตร์การปล่อยยาแบบ Elovich and power function [7]

โดยส่วนใหญ่ สารต้านอนุมูลอิสระมีช่วงครึ่งชีวิตสั้นและถูกไฮโดรไลซิสได้ง่าย ตัวอย่างเช่น กลูตาไธโอน ซึ่งเมื่อได้รับเข้าสู่ร่างกายด้วยการรับประทาน โมเลกุลของยาจะถูกไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์หรือสารเคมีในร่างกายไปเป็นกรดอะมิโนอิสระ ซึ่งจะทำให้คุณสมบัติของตัวยาลดลง ที่นักวิจัยแบก และคณะ ได้เตรียม

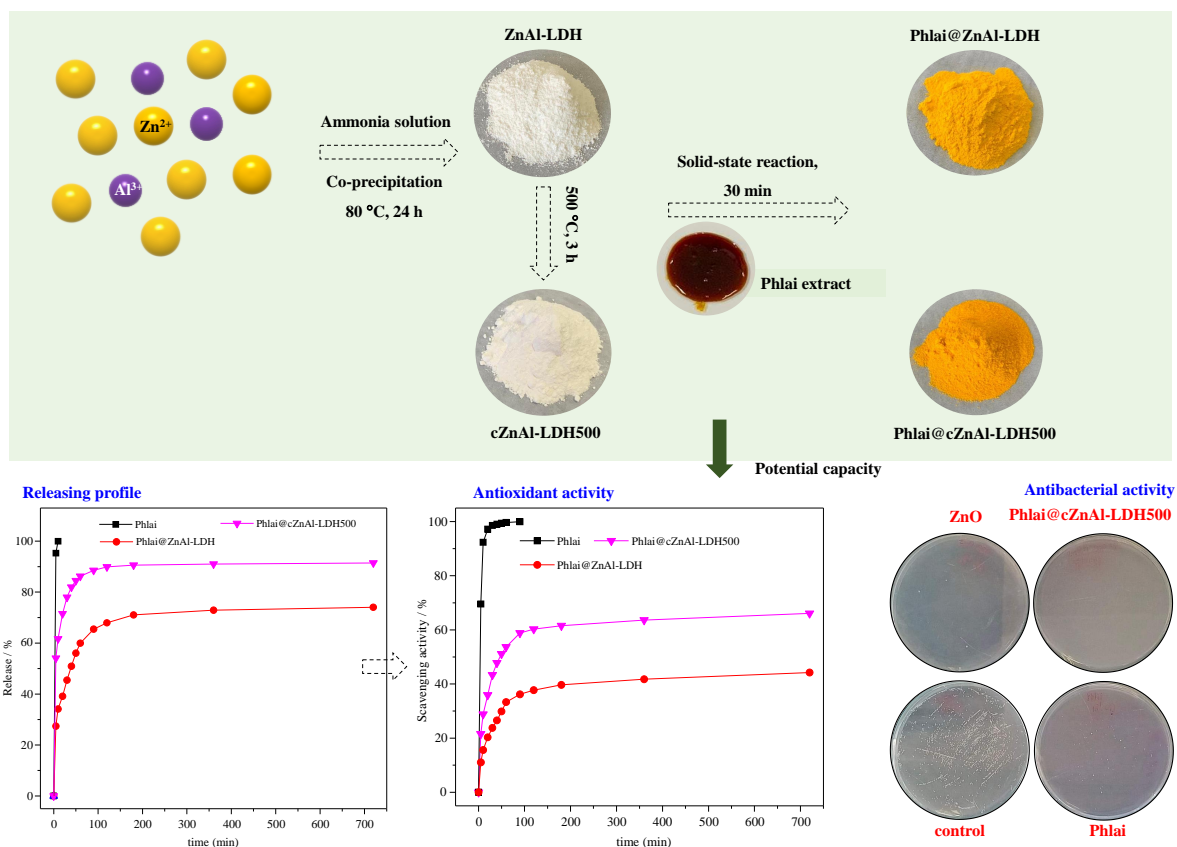
กลูตาไธโอนในมอนต์มอริลโลไนต์แล้วเคลือบด้วยพอลิไวนิลอะซิเตตไดเอทิลอะมิโนอะซิเตต (polyvinylacetal diethylamino-acetate) พบว่า ผลิตภัณฑ์มีการต้านอนุมูลอิสระ ABTs ในระบบพลาสมาของหนูทดลอง สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แล้วศึกษาเภสัชจลนศาสตร์การสลายตัวของผลิตภัณฑ์ในระบบลำเลียงของหนู พบว่า มีปริมาณความเข้มข้นของกลูตาไธโอนเพิ่มขึ้น 2.9 เท่า หลังจากที่ถูกกินแล้วเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับกลูตาไธโอนอิสระ เพราะว่ามอนต์มอริลโลไนต์และพอลิเมอร์ช่วยป้องกันการทำปฏิกิริยาของกลูตาไธโอนกับเอนไซม์และสารเคมีที่มีความเป็นกรดสูงในร่างกาย นอกจากนี้ ได้ทำการศึกษาก่อนส่งผลิตภัณฑ์กลูตาไธโอนไปยังอวัยวะต่างในร่างกายของหนูทดลอง พบว่า ปริมาณกลูตาไธโอนของผลิตภัณฑ์ที่ปลดปล่อยออกมา มีความเข้มข้นสูงกว่าสารอิสระอย่างมีนัยสำคัญมากหลังจากที่ถูกกินแล้วเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นั้นแสดงว่า มอนต์มอริลโลไนต์และพอลิเมอร์ยังช่วยในการขนส่งยาไปยังอวัยวะเป้าหมายได้อย่างมีประสิทธิภาพ [8]

สารต้านอนุมูลอิสระ 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxy-phenyl)-propionic acid ได้นำมาศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยการแทรกเข้าไปในเลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ พบว่า วัสดุเลเยอร์อนินทรีย์สามารถช่วยเพิ่มเสถียรภาพทางความร้อนให้กับสารต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้อย่างมีประสิทธิภาพ หลังจากทำปฏิกิริยากันในที่มืด ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที [9] คาร์โนซีน (carnosine) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยชะลอวัยและด้านความชรา คีโนความอ่อนเยาว์ และกรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารต้านออกซิเดชันในอาหาร ได้มีการนำมาศึกษาการปลดปล่อยยาในห่อปฏิบัติการ (pH = 7.4 ในระบบ phosphate buffered saline) โดยใช้เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์เป็นวัสดุขนส่งและห่อหุ้ม พบว่า สารต้านออกซิเดชันทั้งสองชนิดค่อย ๆ ถูกปล่อยออกมาอย่างช้า ๆ ซึ่งเป็นการแพร่ออกมาจากนาโนสเปซสองแบบ คือ การแพร่ที่พื้นผิว และการแพร่ระหว่างการแทนที่ของอนุภาคในนาโนสเปซ ทั้งนี้ คาร์โนซีนและกรดแกลลิกในเลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ยังทำหน้าที่ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้อย่างมีประสิทธิภาพ [10] ปัจจุบัน ระบบขนส่งยา เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ (LDH) ยังสามารถช่วยลดผลข้างเคียงของยา เช่น ยาต้านมะเร็ง และยาที่มีผลเคียงต่อเซลล์ปกติด้วย [11] และยังออกแบบตัวขนส่งยาให้จำเพาะต่อเซลล์ผิดปกติด้วย เช่น ค่า pH ของเซลล์มะเร็ง [12] นอกจากนี้ LDH บางชนิดยังมีสมบัติแม่เหล็กซึ่งสามารถนำยาไปสู่เซลล์เป้าหมายได้รวดเร็วและมีประสิทธิภาพด้วยการขับเคลื่อนด้วยแรงทางแม่เหล็กจากสนามแม่เหล็กภายนอก และหยุดหรือปล่อยยาได้ตามต้องการได้ [13]

จากผลการวิจัยดังกล่าว วัสดุเลเยอร์อนินทรีย์ เช่น LDH และ LDO เป็นวัสดุขนส่งยาที่มีประสิทธิภาพสูง เช่น การห่อหุ้มสารต้านออกซิเดชันเพื่อขนส่งไปยังอวัยวะเป้าหมายและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระอย่างมีประสิทธิภาพ ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ เมื่อศึกษาทางวิจัย และอนาลิติกัล และสังเคราะห์ พบว่า ยังไม่มีการศึกษาองค์ประกอบของสปีดด้วย สารสกัดจากโพลีและ cZnAl-LDH และกระบวนการเพิ่มความเสถียรและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียด้วยนวัตกรรมการขนส่งยาด้วย cZnAl-LDH จากประโยชน์ของสารที่มีอยู่ในโพลีนำไปสู่กระบวนการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น สบู่ งานวิจัยนี้จะนำสารสกัดสำคัญจากโพลีมาบรรจุใน ZnAl-LDO ที่คอมโพสิตด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (cZnAl-LDH) เพื่อใช้เป็นสารผสมในสบู่ที่มีสรรพคุณในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและอนุมูลอิสระ ป้องกันแสงยูวี ทำให้ผิวขาว

## 2.2 กรอบแนวคิดในการวิจัย

สารสกัดจากไพลมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและอนุมูลอิสระที่ดี แต่มีความเสถียรต่ำเนื่องจากส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์ที่มีความว่องไวต่อการเกิดออกซิเดชันและทำปฏิกิริยาในสภาวะที่มีแสงได้ จึงเป็นโจทย์วิจัยที่ต้องพัฒนากรรมวิธีที่เพิ่มความเสถียรให้กับสารสกัดสมุนไพรเพื่อสามารถขึ้นรูปผลิตภัณฑ์และยืดอายุการใช้งาน รวมทั้งเพิ่มประสิทธิภาพฤทธิ์ทางชีวภาพ ระบบขนส่งยาโดยใช้ตัวขนส่งอินทรีย์ที่มีความเสถียรสูง เป็นมิตรต่อเซลล์ และ/หรือ มีสมบัติร่วม (synergistic effect) เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย งานวิจัยนี้จะพัฒนาวัสดุนาโนคอมโพสิต cZnAl-LDH (ประกอบด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO)) เป็นตัวขนส่งสารสกัดจากไพล (ที่เตรียมจากโครงการวิจัยย่อยที่ 1) เพื่อช่วยเพิ่มความเสถียรให้กับโครงสร้างสารสำคัญในไพล โดยกลไกควบคุมการปลดปล่อยเพื่อเพิ่มฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ร่วมกับการต้านแบคทีเรียด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (nano ZnO) แล้วยังเพิ่มพื้นผิวสัมผัสในการขัดเซลล์ผิวและป้องกันแสงยูวี ดังรูปที่ 2.1 เพื่อให้ได้สบู่อที่มีประสิทธิภาพสำหรับกำจัดแบคทีเรียและอนุมูลอิสระตลอดจนเนื้อสบู่อทั้งหมด เนื่องจาก cZnAl-LDH มีความปลอดภัยกับเซลล์ โดยเฉพาะเซลล์ผิว เพราะอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์มีประสิทธิภาพการดูดกลืนแสงยูวีได้ดีและนิยมนำมาเป็นองค์ประกอบหลักในครีมกันแดด ดังนั้น การนำตัวขนส่ง cZnAl-LDH มาห่อหุ้มสารสกัดจากไพลโดยอาศัยแรงดึงดูดทางเคมี เพื่อ (1) ควบคุมการปลดปล่อยสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (น้ำมันหอมระเหย) และอนุมูลอิสระ ที่ละปริมาณน้อย ๆ และเพิ่มความเสถียรจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน และ (2) เพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดแบคทีเรียและอนุมูลอิสระสูงขึ้น ด้วย nano ZnO และ (3) เนื้อผงสีขาวเหลืองอ่อนละเอียดยของวัสดุนาโนคอมโพสิตช่วยเพิ่มผิวสัมผัสระหว่างการขัดถูให้มีประสิทธิภาพในการทำมาความสะอาดผิวมากขึ้น



รูปที่ 2.1 กลไกการเพิ่มความเสถียรและควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญในสารสกัดไพลและการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรีย

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 สารเคมี

สารละลายแอมโมเนียเข้มข้น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ซิงค์ซัลเฟต ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) อะลูมิเนียม(III)ซัลเฟต ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ ) เอทานอล อะซิโตน อนุมูลอิสระ DPPH

#### 3.2 การทดลอง

##### ZnAl-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ (ZnAl-LDH)

การเตรียม ZnAl-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ (ZnAl-LDH) เริ่มด้วยละลาย  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  จำนวน 120.0 มิลลิโมล และ  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$  จำนวน 40.0 มิลลิโมล ในอัตราส่วนโมล  $\text{Zn}:\text{Al} = 3:1$  ด้วยน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร แล้วปรับ pH ด้วยการเติมสารละลายแอมโมเนียเข้มข้นทีละหยด ภายใต้การคนสารละลายด้วยแท่งแม่เหล็ก จนได้ pH ของสารละลาย เท่ากับ 9.5 จากนั้นทำการบ่มสารละลายที่อุณหภูมิเท่ากับ 80 องศาเซลเซียส ในตู้อบสาร เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นล้างตะกอนด้วยเอทานอล จำนวน 1 ครั้ง อบสารให้แห้ง แล้วนำผงตะกอนที่ได้มาล้างด้วยน้ำกลั่นที่ปรับ pH = 9 จำนวน 2 ครั้ง ล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนจนสารละลายมี pH เป็นกลาง และล้างด้วยเอทานอลอีกสามครั้งเพื่อล้างสารอินทรีย์ที่ไม่ทำปฏิกิริยาออก นำตะกอนที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักตะกอนที่ได้ แล้วบดตะกอนให้ละเอียด

##### การเตรียมอนุภาคนาโนคอมโพสิต cZnAl-LDH และ ซิงค์ออกไซด์ (ZnO)

นำผง ZnAl-LDH จำนวน 15 กรัม ไปแคลซิเนชัน (calcination) ที่อุณหภูมิ 300, 500 และ 700 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักตะกอนที่ได้ แล้วบดเป็นผงให้ละเอียด โดยระบุชื่อย่อ cZnAl-LDH300, cZnAl-LDH500 และ cZnAl-LDH700 เป็น ตามค่าอุณหภูมิที่เผา

##### การเตรียมสารคอมโพสิตระหว่าง cZnAl-LDH และสารสกัดไพล

นำผง ZnAl-LDH และ cZnAl-LDH จำนวน 15 กรัม ผสมกับสารสกัดไพลในน้ำ (extract) จำนวน 3 กรัม ในโถรงบดสาร โดยใช้อะซิโตนเป็นสารผสม ภายใต้การบดอย่างต่อเนื่อง ประมาณครึ่งชั่วโมง จากนั้นเก็บสารผลิตภัณฑ์ไว้ในที่มืด ล้างโถรงและที่บดเซรามิกด้วยเอทานอลเพื่อนำสารละลายที่มีสารสกัดที่เหลือไปวิเคราะห์ปริมาณด้วย UV-VIS สเปกโตรโฟโตมิเตอร์

##### การศึกษาการควบคุมการปลดปล่อยสารสกัดไพล

ชั่งวัสดุคอมโพสิต จำนวน 0.1, 1.0 และ 10 มิลลิกรัม แล้วค่อย ๆ เทลงในบีกเกอร์บรรจุสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต pH 7.4 ปรับปริมาณเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยเอทานอล ภายใต้อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 120, 180, 360 และ 720 นาที เพื่อให้เกิดการกระจายตัวในระบบ เมื่อครบเวลาที่กำหนดให้ดูดสารละลาย 3 มิลลิลิตร เพื่อหาปริมาณสารสกัดที่ปลดปล่อยออกมาจากวัสดุโฮสต์ (ZnAl-LDH, cZnAl-LDH) โดยใช้สเปกโตรสโคปี โดยความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยสารสกัดจะเปรียบเทียบกับสารสกัดอิสระ ภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน

### การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay

การต้านอนุมูลอิสระจะทำการทดลองคล้ายกับกระบวนการปลดปล่อย แต่แค่ปลดปล่อยในระบบที่มีอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในเอทานอล โดยมี ascorbic acid เป็นสารเปรียบเทียบมาตรฐาน และวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง UV-VIS สเปกโตรโฟโตมิเตอร์

ทั้งนี้สามารถคำนวณหาร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ จากสูตร

$$\% \text{ radical scavenging} = [(C_{\text{initial}} - C_{\text{final}})/C_{\text{initial}}] \times 100$$

### การศึกษาประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรีย

1. ทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียโดยใช้วิธี Plate count agar: PCA

แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ (ใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ คือ *Staphylococcus aureus*)

นำมาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง Nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อที่เจริญบนอาหารแข็ง NA มาปรับความขุ่นให้เท่ากับ 0.5 Mcfarland ( $1.5 \times 10^8$  CFU/mL) ด้วย 0.85% โซเดียมคลอไรด์

- 1.2 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งต่อแบคทีเรียของสารสกัด

เตรียมตัวอย่างในการทดสอบ

นำเชื้อแบคทีเรียทดสอบในข้อ 1.1 ที่ปรับความขุ่นให้เท่ากับ 0.5 Mcfarland ( $1.5 \times 10^8$  CFU/mL) ด้วย 0.85% โซเดียมคลอไรด์แล้วนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว NB (Nutrient broth) โดยเติมเชื้อแบคทีเรีย (inoculum) เชื้อ 5% ลงในอาหาร NB ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ทั้งหมด 11 flask โดยให้

Flask 1 มีเฉพาะ อาหารเลี้ยงเชื้อ NB + *S. aureus* (control)

Flask 2 อาหารเลี้ยงเชื้อ NB + *S. aureus* + Phlai

Flask 3 อาหารเลี้ยงเชื้อ NB + *S. aureus* + ZnO

Flask 4 อาหารเลี้ยงเชื้อ NB + *S. aureus* + ZnAl-LDH

Flask 5 อาหารเลี้ยงเชื้อ NB + *S. aureus* + cZnAlLDH300

Flask 6 อาหารเลี้ยงเชื้อ NB + *S. aureus* + cZnAlLDH500

Flask 7 อาหารเลี้ยงเชื้อ NB + *S. aureus* + cZnAlLDH700

Flask 8 อาหารเลี้ยงเชื้อ NB + *S. aureus* + Phlai@ZnAlLDH

Flask 9 อาหารเลี้ยงเชื้อ NB + *S. aureus* + Phlai@cZnAlLDH300

Flask 10 อาหารเลี้ยงเชื้อ NB + *S. aureus* + Phlai@cZnAlLDH500

Flask 11 อาหารเลี้ยงเชื้อ NB + *S. aureus* + Phlai@cZnAlLDH700

นำไปเพาะเลี้ยง (incubate) บนเครื่องเขย่า (shaker) ที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วรอบ 120 rpm 18 – 24 ชั่วโมง

### ทดสอบด้วยวิธี Plate Count Agar: PCA

นำตัวอย่างจากข้อ 1.2.1 มาทำ serial dilution ใน 0.85% NaCl ให้ได้ความเข้มข้นที่  $10^{-1}$  –  $10^{-5}$  แล้วใช้ปิเปตดูดตัวอย่างจากความเข้มข้น undiluted,  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$  ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารแข็ง PCA ทำการ spread plate แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 18 – 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาตรวจผลโดยการนับโคโลนีที่เจริญบนอาหาร คำนวณในหน่วย CFU/mL

### 3.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างและองค์ประกอบของสารผลิตภัณฑ์

วัสดุนาโนคอมโพสิตที่เตรียมได้จะนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยหลายเทคนิค ความเป็นผลึก โครงสร้างของผลึกและการเกิดเฟสของสารผลิตภัณฑ์จะศึกษาด้วยเทคนิค powder X-ray diffraction (XRD) หมู่ฟังก์ชันนัล (functional group) ของสารผลิตภัณฑ์จะศึกษาด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) ลักษณะทางพื้นผิวจะศึกษาด้วยภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ชนิดธาตุที่เป็นองค์ประกอบจะศึกษาด้วย EDX และ elemental mapping ความเสถียรเชิงความร้อนจะศึกษาด้วยเทคนิค thermogravimetric/differential thermal analysis (TG-DTA/DTG) ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจะวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UV-Vis spectroscopy และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) และศักย์ซีตา (Zeta potential)

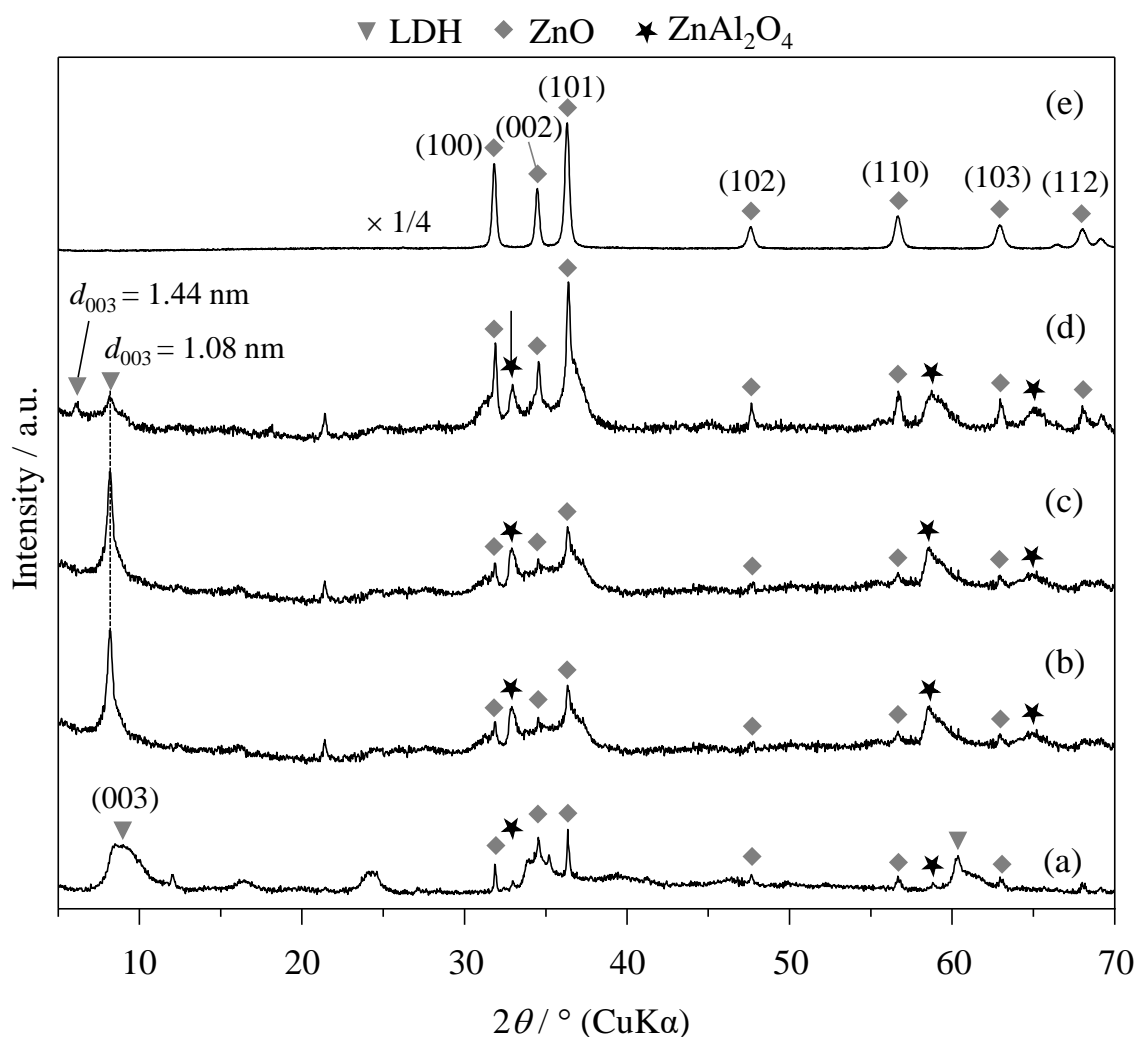


## บทที่ 4

### ผลการดำเนินงานวิจัย

#### 4.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์

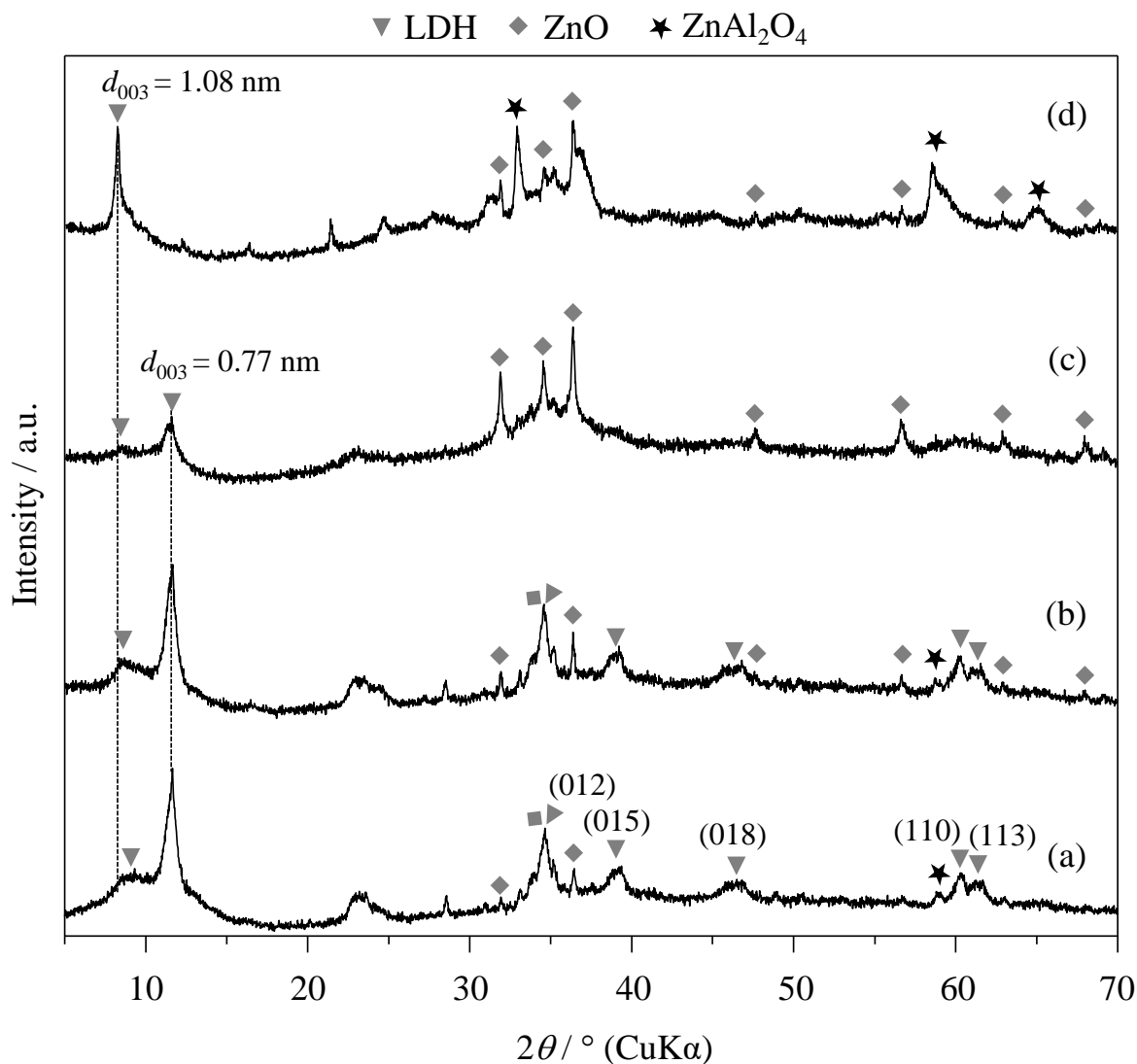
จากรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ ดังแสดงในรูปที่ 4.1 ของ ZnAl-LDH แสดงพีคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ ในช่วง  $2\theta$  ที่  $10.4 - 7.8^\circ$  ซึ่งสอดคล้องกับระยะการสะท้อนของ (003) ซึ่งสามารถยืนยันการเกิด ZnAl-LDH ที่มีลักษณะคล้ายโครงสร้างบรูไซต์ ตามรายงานก่อนหน้านี้ [15,17] ซึ่งอาจเป็นเพราะการเกิดสปีชีส์ประจุลบ ( $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) ที่จัดเรียงอย่างไม่เป็นระเบียบในช่องว่างนาโน [16,19] เมื่อพิจารณารูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของวัสดุโฮสต์ที่ถูกเผา การเปลี่ยนแปลงในรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์สังเกตได้จากพีคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (003) ที่เข้มข้น และ  $d_{003}$  ที่ขยายใหญ่ขึ้น สำหรับ cZnAl-LDH300 ( $d_{003} = 1.08$  nm, รูปที่ 4.1b) cZnAl-LDH500 ( $d_{003} = 1.08$  nm, รูปที่ 4.1c) และ cZnAl-LDH700 ( $d_{003} = 1.44$  และ  $1.08$  nm, รูปที่ 4.1d)



รูปที่ 4.1 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของ (a) ZnAl-LDH, (b) cZnAl-LDH300, (c) cZnAl-LDH500, (d) cZnAl-LDH700 และ (e) ZnO

เมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุโฮสต์ที่ไม่ได้เผา (ZnAl-LDH) อาจบ่งชี้ได้ว่า การให้ความร้อน ZnAl-LDH ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ และ/หรือ การสลายตัวของไอออนลบที่อยู่ระหว่างเลเยอร์ และการเกิดไอออนซัลเฟต ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) ที่มีขนาดใหญ่กว่า  $\text{CO}_3^{2-}$  ( $d_{003} = 1.08$  นาโนเมตร, JCPDS-44-0600) ในช่องว่างระหว่างเลเยอร์ของ ZnAl-LDH [16] นอกจากนี้ยังพบพีคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ที่  $2\theta = 31.85, 34.56, 36.35, 47.59, 56.68, 62.97$  และ  $68.04^\circ$  ซึ่งสอดคล้องกับระนาบ (100), (002), (101), (102), (110), (103) และ (112) ตามลำดับ เนื่องจากเอกลักษณ์การเลี้ยวเบนของ ZnO และยังสอดคล้องกับรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของ ZnO ที่เตรียมได้ (รูปที่ 4.1e) [21] และที่  $2\theta = 32.97, 58.76$  และ  $65.11^\circ$  เนื่องจาก ZnAl-oxide [19,20,31] นั้นแสดงว่า เกิดอนุภาค ZnO และ ZnAl-oxide บนผิวภายนอกของวัสดุโฮสต์ในปริมาณที่แตกต่างกันเนื่องจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างกัน โดยพิจารณาจากการเปลี่ยนแปลงของความเข้มของการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของ ZnO และ/หรือ ZnAl-ออกไซด์ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความแตกต่างของความถี่ของผลึก ขนาดอนุภาค หรือปริมาณที่เกิดขึ้น [20,31]

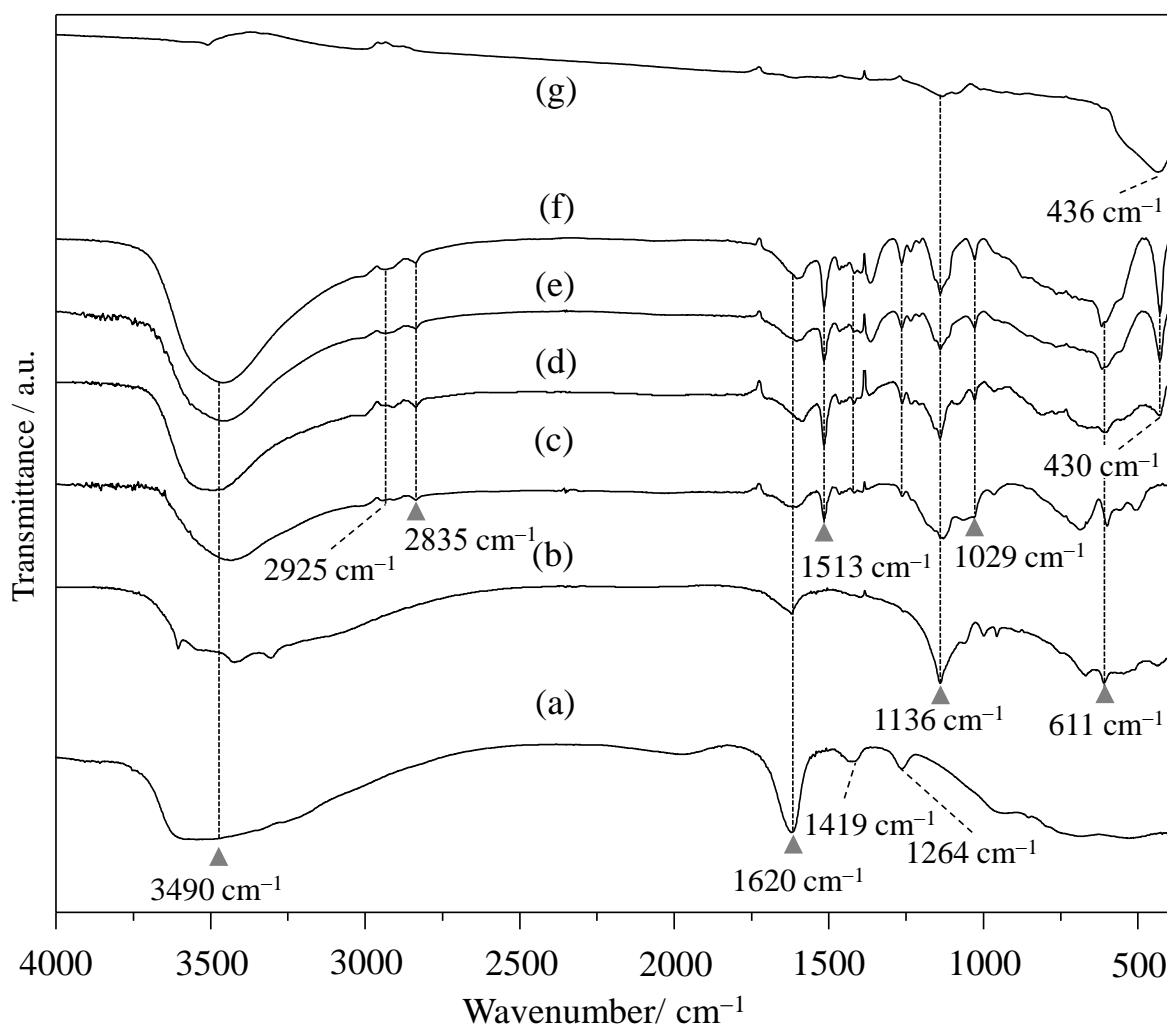
เมื่อผสมวัสดุโฮสต์กับสารสกัดไพล ดังรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (รูปที่ 4.2) ปรากฏว่ามี 2 ระนาบ (003) ปรากฏขึ้น โดยมี  $d_{003} = 1.08$  นาโนเมตร เนื่องจาก  $\text{SO}_4^{2-}$  ที่อยู่ระหว่างเลเยอร์ และ  $d_{003} = 0.77$  นาโนเมตร เนื่องจาก  $\text{CO}_3^{2-}$  ที่อยู่ระหว่างเลเยอร์ [18,20,21] ซึ่งอาจเกิดจากการจัดเรียงตัวใหม่ และ/หรือ การเกิดเซกริเกชัน [32] เมื่อพิจารณารูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของคอมโพสิต ในรูปที่ 4.2a – 4.2d พบว่า ความเข้มและตำแหน่งของพีคของระนาบ (003) มีการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงวัสดุโฮสต์ที่มีความแตกต่างกันโดยอาจส่งผลต่อการแลกเปลี่ยนไอออน การแทรก และ/หรือ การปลดปล่อยของไอออนลบระหว่างเลเยอร์ [1,2,4,31] อย่างไรก็ตาม เนื่องจาก  $\text{CO}_3^{2-}$  ซึ่งเป็นไบเดนเทตลิแกนด์ มีอันตรกิริยาอย่างรุนแรงต่อพื้นผิวประจุบวกของ LDH [4,8,14] โดยพบว่า รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของอนุภาค ZnO และ ZnAl-oxide ปรากฏบนรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของวัสดุคอมโพสิตด้วย แต่อย่างไรก็ตาม ไม่พบเอกลักษณ์การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์เนื่องจากสารสกัดไพลซึ่งอาจเป็นเพราะมีความเป็นผลึกต่ำมาก [5,7] เป็นที่ทราบกันว่า การมีอนุภาค ZnO และ ZnAl-oxide ในวัสดุอาจส่งเสริมการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้งานด้านสุขภาพ เช่น การต้านแบคทีเรีย การต้านอนุมูลอิสระ การป้องกันแสงยูวี ตัวกลางเชิงแสง และอื่น ๆ [21]



รูปที่ 4.2 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของ (a) Phlai@ZnAl-LDH, (b) Phlai@cZnAl-LDH300, (c) Phlai@cZnAl-LDH500 และ (d) Phlai@cZnAl-LDH700

เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ไปวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี ดังแสดงในรูปที่ 4.3 พบว่า ที่พลังงานต่ำกว่า  $1,000\text{ cm}^{-1}$  แสดงเอกลักษณ์ของ M—O—M และ/หรือ M—O ในตัวอย่างทั้งหมด (รูปที่ 4.3a – 4.3g) โดยที่ M (โลหะ) เป็นตัวแทนของ  $\text{Zn}^{2+}$  และ/หรือ  $\text{Al}^{3+}$  [8,9] และแบนด์การดูดกลืน FT-IR ของ ZnAl-LDH ปรากฏที่  $1264$  และ  $1419\text{ cm}^{-1}$  (รูปที่ 4.3a) ซึ่งสอดคล้องกับเอกลักษณ์การสั่นของหมู่ฟังก์ชันของไอออนลบในระหว่างเลเยอร์ ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) ที่มีสิ่งแวดล้อมต่างกัน [8,14,16,31] หลังจากการให้ความร้อน ZnAl-LDH ที่อุณหภูมิ  $500\text{ }^{\circ}\text{C}$  (รูปที่ 4.3b) ปรากฏแบนด์การดูดกลืน FT-IR ที่  $1136\text{ cm}^{-1}$  เนื่องจาก  $\text{SO}_4^{2-}$  [16] นอกจากนี้ สเปกตรัม FT-IR ของวัสดุคอมโพสิต (รูปที่ 4.3c – 4.3f) และ ZnO (รูปที่ 4.3g) แสดงโหมดการสั่นแบบยืดของซัลเฟต ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) [16] แต่สำหรับ Phlai@ZnAl-LDH (รูปที่ 4.3c), Phlai@cZnAl-LDH300 (รูปที่ 4.3d), Phlai@cZnAl-LDH500 (รูปที่ 4.3e) และ Phlai@cZnAl-

LDH700 (รูปที่ 4.3f) ยังปรากฏแบนด์การดูดกลืน FT-IR ของ  $\text{CO}_3^{2-}$  ที่  $1264$  และ  $1419\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งบ่งชี้ถึงการมีอยู่ของ  $\text{SO}_4^{2-}$  ( $d_{003} = 1.08\text{ nm}$ ) และ  $\text{CO}_3^{2-}$  ( $d_{003} = 0.77\text{ nm}$ ) ในช่องว่างนาโน สำหรับวัสดุคอมโพสิตได้แสดงเอกลักษณ์การสั่นอื่น ๆ เป็นของสารสีกัดไฟล ซึ่งอยู่ที่  $2835$  และ  $2925\text{ cm}^{-1}$  เนื่องจากการสั่นแบบยืดของ  $\text{CH}_2$  และในช่วงความยาวคลื่น  $1209 - 1513\text{ cm}^{-1}$  เนื่องจากวงแหวนอะโรมาติก [10,11,13] ซึ่งตีความได้ว่ามีสารสีกัดไฟลอยู่ในส่วนประกอบ ซึ่งสอดคล้องกับการอธิบายในส่วน FT-IR และ XRD



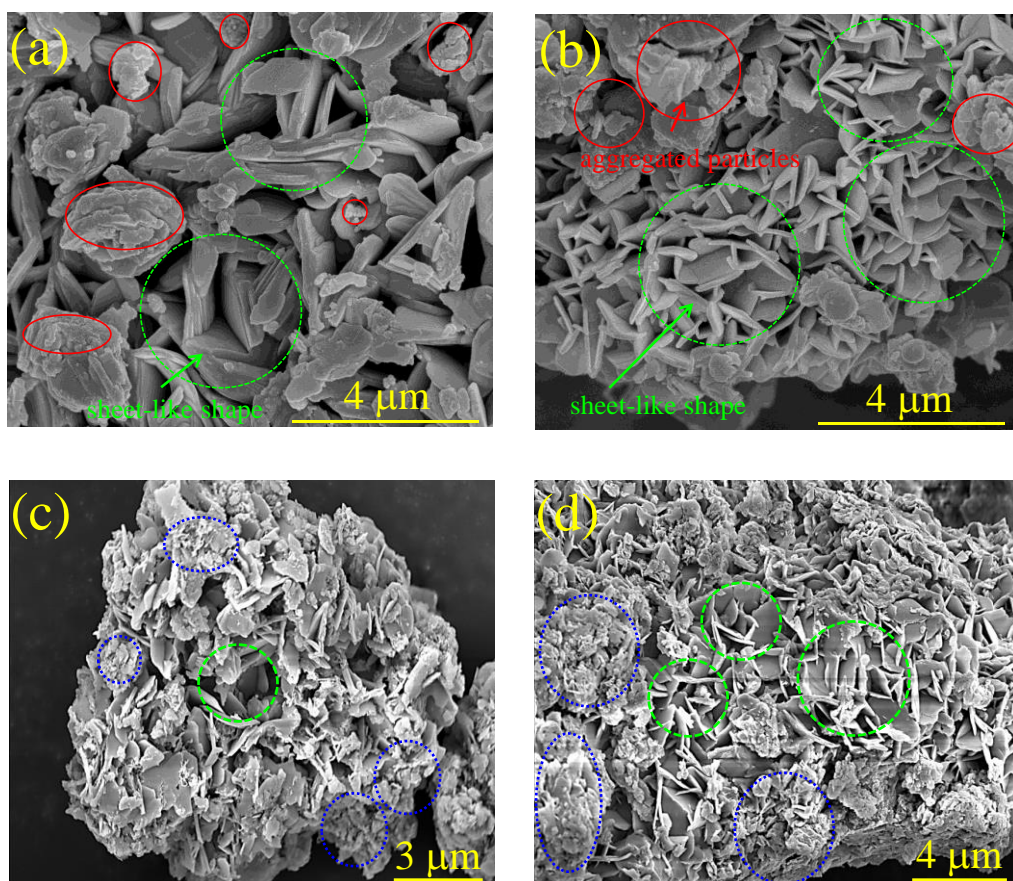
รูปที่ 4.3 FT-IR สเปกตรัม ของ (a) ZnAl-LDH, (b) cZnAl-LDH500, (c) Phlai@ZnAl-LDH, (d) Phlai@cZnAl-LDH300, (e) Phlai@cZnAl-LDH500, (f) Phlai@cZnAl-LDH700 และ (g) ZnO



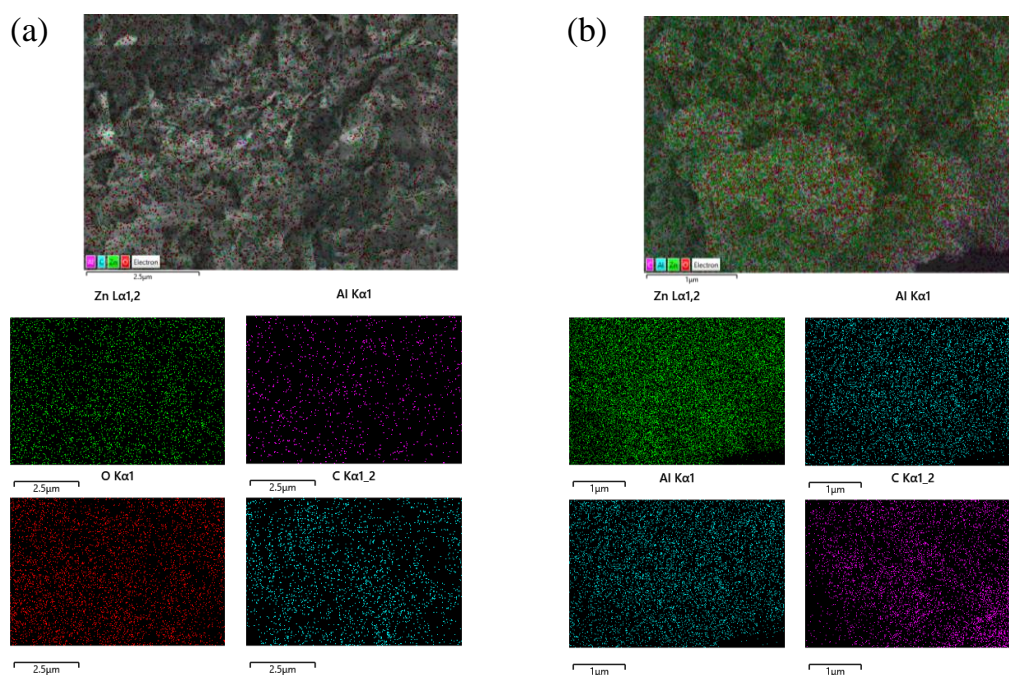
**รูปที่ 4.4** ผงสีของ (a) ZnAl-LDH, (b) cZnAl-LDH300, (c) cZnAl-LDH500, (d) cZnAl-LDH700, (e) ZnO, (f) Phlai@ZnAl-LDH, (g) Phlai@cZnAl-LDH300, (h) Phlai@cZnAl-LDH500, (i) Phlai@cZnAl-LDH700 และ (j) Phlai extract

ในการพิจารณาสีของสารผลิตภัณฑ์ ผงของ ZnAl-LDH (**รูปที่ 4.4a**) แสดงสีขาวอมเหลืองอ่อน ซึ่งเป็นผลมาจากเอกลักษณ์เชิงแสง ซึ่งสีเหลืองจะเข้มกว่าสำหรับผลิตภัณฑ์ cZnAl-LDH โดยการเพิ่มอุณหภูมิในการเผา (**รูปที่ 4.4b – 4.4d**) เมื่อเทียบกับผงสีเหลืองซีดของ ZnO บริสุทธิ์ (**รูปที่ 4.4e**) การเปลี่ยนแปลงของเฉดสีอาจเกิดจากการเกิดอนุภาค ZnO และ/หรือ ZnAl-oxide ที่มีปริมาณและขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการอธิบายในส่วน XRD ในขณะเดียวกัน ผงคอมโพสิตแสดงสีส้ม (**รูปที่ 4.4f – 4.4i**) ซึ่งเป็นการผสมระหว่างสีขาวอมเหลืองของ ZnAl-LDH หรือ cZnAl-LDH และสีส้มอมน้ำตาลของสารสกัดไพล (**รูปที่ 4.4j**) ซึ่งสามารถยืนยันการมีอยู่ของสารสกัดไพลในคอมโพสิตได้ และสอดคล้องกับข้อมูล FT-IR





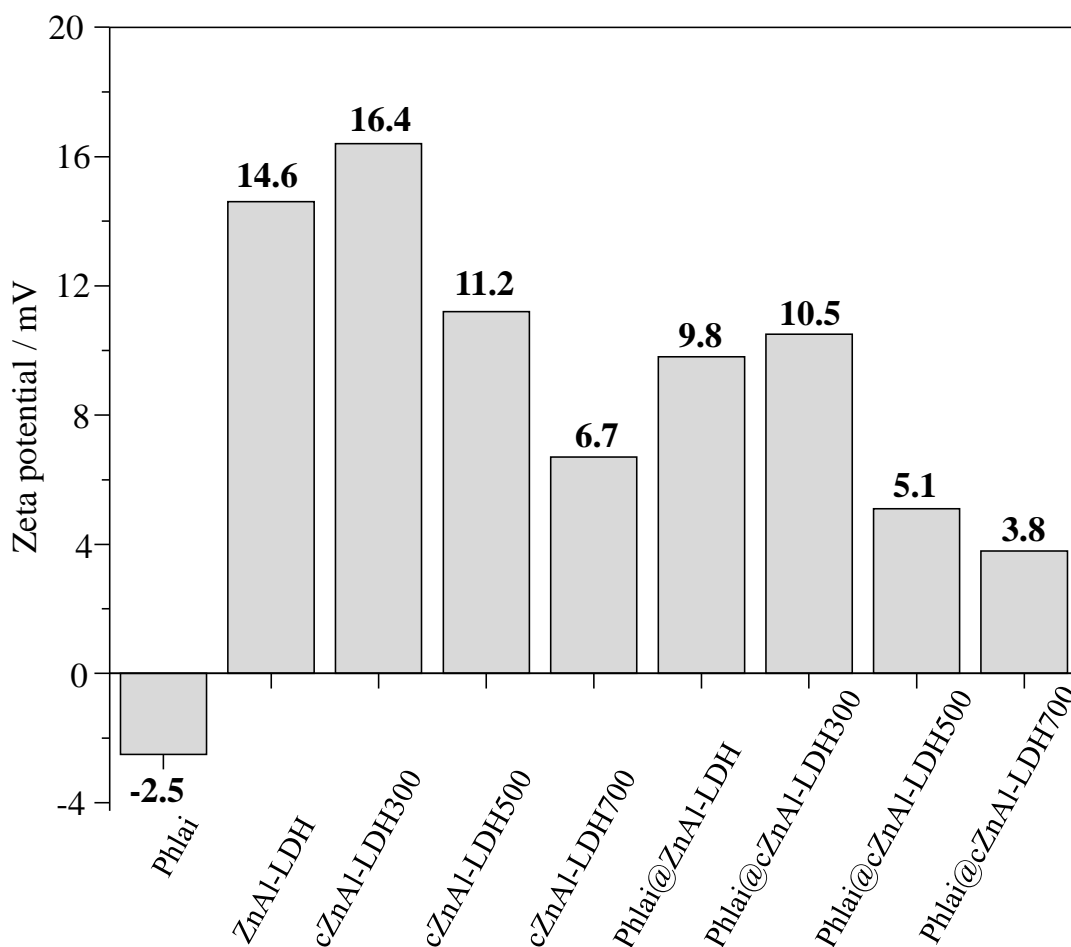
รูปที่ 4.5 SEM images of (a) ZnAl-LDH, (b) cZnAl-LDH500, (c) Phlai@ZnAl-LDH และ (d) Phlai@cZnAl-LDH500



รูปที่ 4.6 Elemental mapping images of (a) Phlai@ZnAl-LDH และ (b) Phlai@cZnAl-LDH500

เมื่อพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพื้นผิวของ ZnAl-LDH, cZnAl-LDH500, Phlai@ZnAl-LDH และ Phlai@ZnAl-LDH500 ดังแสดงในรูปที่ 4.5 จากภาพ SEM ของ ZnAl-LDH (รูปที่ 4.5a) พบอนุภาคที่มีลักษณะเป็นแผ่น ๆ (sheet) จำนวนมาก โดยได้วงกลมเส้นประสีเขียว ในขณะที่อนุภาคบางส่วนรวมตัวกันเป็นรูปร่างอัดแน่น [8,10,17,18] หลังจากการเผาที่อุณหภูมิ 500 °C เอกลักษณะรูปร่างที่เป็นแผ่นยังปรากฏ โดยแผ่นจำนวนมากได้วางเรียงแยกกัน (รูปที่ 4.5b) ซึ่งอาจเกิดจากแรงผลักระหว่างแผ่นที่มีประจุบวกแต่ละแผ่น [15,19,32] นอกจากนี้ ยังปรากฏอนุภาคเล็ก ๆ ที่ไม่มีรูปร่างชัดเจนบนแผ่น LDH (วงกลมสีแดง) ในภาพ SEM ของสารทั้งหมด ซึ่งอาจเกิดจากอนุภาค ZnO และ/หรือ ZnAl-ออกไซด์ [9,21] ที่อธิบายไว้ข้างต้นในส่วน XRD ในขณะที่เดียวกัน ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของวัสดุคอมโพสิต (รูปที่ 4.5c และ 4.5d) มีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างมาก เมื่อเทียบกับวัสดุโฮสต์ ซึ่งอาจเกิดจากอันตรกิริยาทางเคมีและปฏิกิริยาสถานะของแข็ง ซึ่งมีอนุภาครูปร่างไม่ชัดเจนหลายชนิด เนื่องจากสารสกัดไพลปกคลุมอยู่บนพื้นผิว (วงกลมสีม่วง)

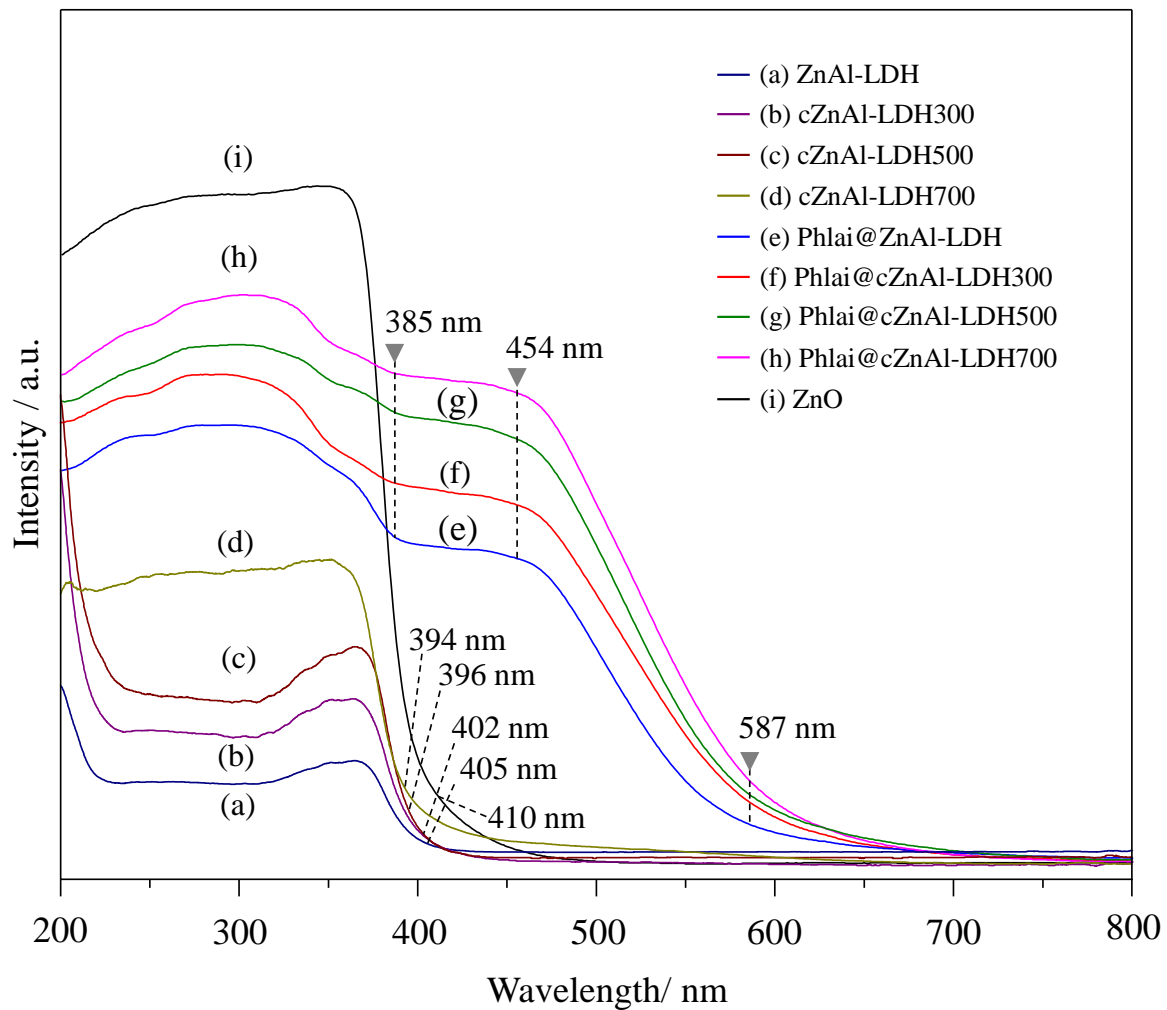
นอกจากนี้ ภาพถ่ายการกระจายของธาตุใน Phlai@ZnAl-LDH (รูปที่ 4.6a) และ Phlai@cZnAl-LDH500 (รูปที่ 4.6b) แสดงองค์ประกอบของ Zn, Al, C และ O ซึ่งบ่งชี้ถึงการมีอยู่ของสารสกัดไพลในวัสดุคอมโพสิต จากข้อมูลดังกล่าวได้รับการสนับสนุนเพิ่มเติมจาก EDX สเปกตรา (ไม่แสดง) ซึ่งแสดงปริมาณ C และ O ในคอมโพสิตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเนื่องจากมีสารสกัดจากไพล เมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุโฮสต์ และยังไม่พบองค์ประกอบ S ใน  $\text{SO}_4^{2-}$  อาจเนื่องจากมีปริมาณไอออนลบระหว่างเลเยอร์ต่ำมาก และการปกคลุมด้วยสารสกัดไพล



**รูปที่ 4.7** ศักย์ซีตาของ Phlai, ZnAl-LDH, cZnAl-LDH300, cZnAl-LDH500, cZnAl-LDH700, Phlai@ZnAl-LDH, Phlai@cZnAl-LDH300, Phlai@cZnAl-LDH500 และ Phlai@cZnAl-LDH700

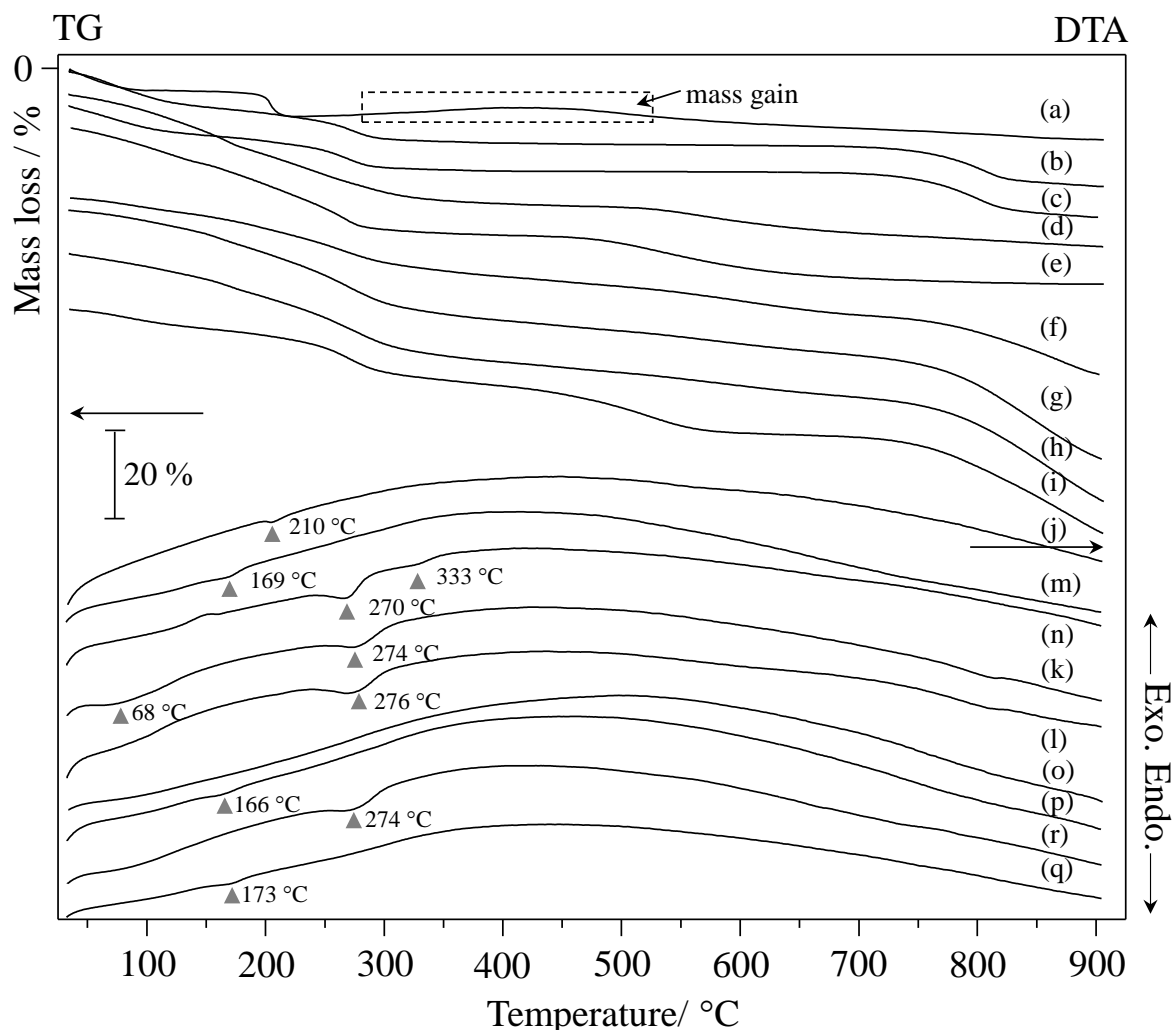
เพื่อยืนยันเพิ่มเติมเกี่ยวกับการคอมโพสิต ได้ศึกษาศักย์ซีตา (zeta potential) ของวัสดุคอมโพสิต เปรียบเทียบกับวัสดุไฮดรอกไซด์และสารสกัดไพล ดังแสดงใน**รูปที่ 4.7** พบว่าวัสดุไฮดรอกไซด์ทั้งหมดมีพื้นผิวที่มีประจุบวก ซึ่งเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจาก +11.6 mV (ZnAl-LDH) ถึง +16.4 mV (cZnAl-LDH300) เนื่องจากการกำจัดประจุลบระหว่างเลเยอร์บางส่วน และหรือ การแยกแผ่น LDH [1,17,25,26] จะเห็นว่า หลังจากเพิ่มอุณหภูมิการเผาให้สูงขึ้นเป็น 500 และ 700 °C พื้นผิวที่มีประจุบวกจะต่ำลงอันเป็นผลมาจากการปกคลุมของอนุภาค ZnO และ ZnAl-ออกไซด์ ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น และเมื่อผสมสาร ทำให้พื้นผิวที่มีประจุบวกของวัสดุไฮดรอกไซด์มีค่าลดลงซึ่งเกิดการปรับสมดุลด้วยพื้นผิวที่มีประจุลบของสารสกัดไพล (-2.5 mV) จากข้อมูลที่ได้สามารถยืนยันการเกิดปฏิกิริยาเคมีระหว่างสารสกัดไพลและวัสดุไฮดรอกไซด์ ZnAl-LDH หรือ cZnAl-LDH [5-7,14,17,18]





**รูปที่ 4.8** ยูวี-วิสิเบิล สเปกตร้าของ (a) ZnAl-LDH, (b) cZnAl-LDH300, (c) cZnAl-LDH500, (d) cZnAl-LDH700, (e) Phlai@ZnAl-LDH, (f) Phlai@cZnAl-LDH300, (g) Phlai@cZnAl-LDH500, (h) Phlai@cZnAl-LDH700 และ (i) ZnO

เมื่อพิจารณาสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ ZnAl-LDH (รูปที่ 4.8a), วัสดุโฮสต์ cZnAl-LDH (รูปที่ 4.8b – 4.8d) และ ZnO (รูปที่ 4.8i) ในช่วงความยาวคลื่น 200 - 450 นาโนเมตร พบว่า แสดงแบนด์การดูดกลืนแสง ที่ 200-319 นาโนเมตร ซึ่งเกิดจากการถ่ายเทประจุของออกไซด์ ( $O^{2-}$ ) ไปยัง  $Zn^{2+}$  หรือ  $Al^{3+}$  [26,31] และที่ 320-385 นาโนเมตร ซึ่งเกิดจากข้อบกพร่องต่าง ๆ เช่น ช่องว่าง (vacancy) และการแทนที่ (interfacial) [33] โดยที่ค่าเริ่มต้นการดูดกลืนแสงของวัสดุโฮสต์ปรากฏที่ความยาวคลื่น 394-405 นาโนเมตร ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะเอกลักษณ์ทางแสงของ ZnO (รูปที่ 4.8i) และเมื่อเทียบกับวัสดุโฮสต์ การดูดกลืนแสงของวัสดุคอมโพสิตยังเกิดขึ้นที่ 400-625 นาโนเมตร ซึ่งเป็นผลมาจากสารสีกัดไฟล ซึ่งแสดงการดูดกลืนแสงทั้งแสงยูวี (เนื่องจากวัสดุโฮสต์ ZnO,  $ZnAl_2O_4$ ) [31] และแสงวิสิเบิล (เนื่องจากสารสีกัดไฟล) ซึ่งเป็นการยืนยันเพิ่มเติมถึงการมีอยู่ของสารสีกัดไฟลในวัสดุคอมโพสิต

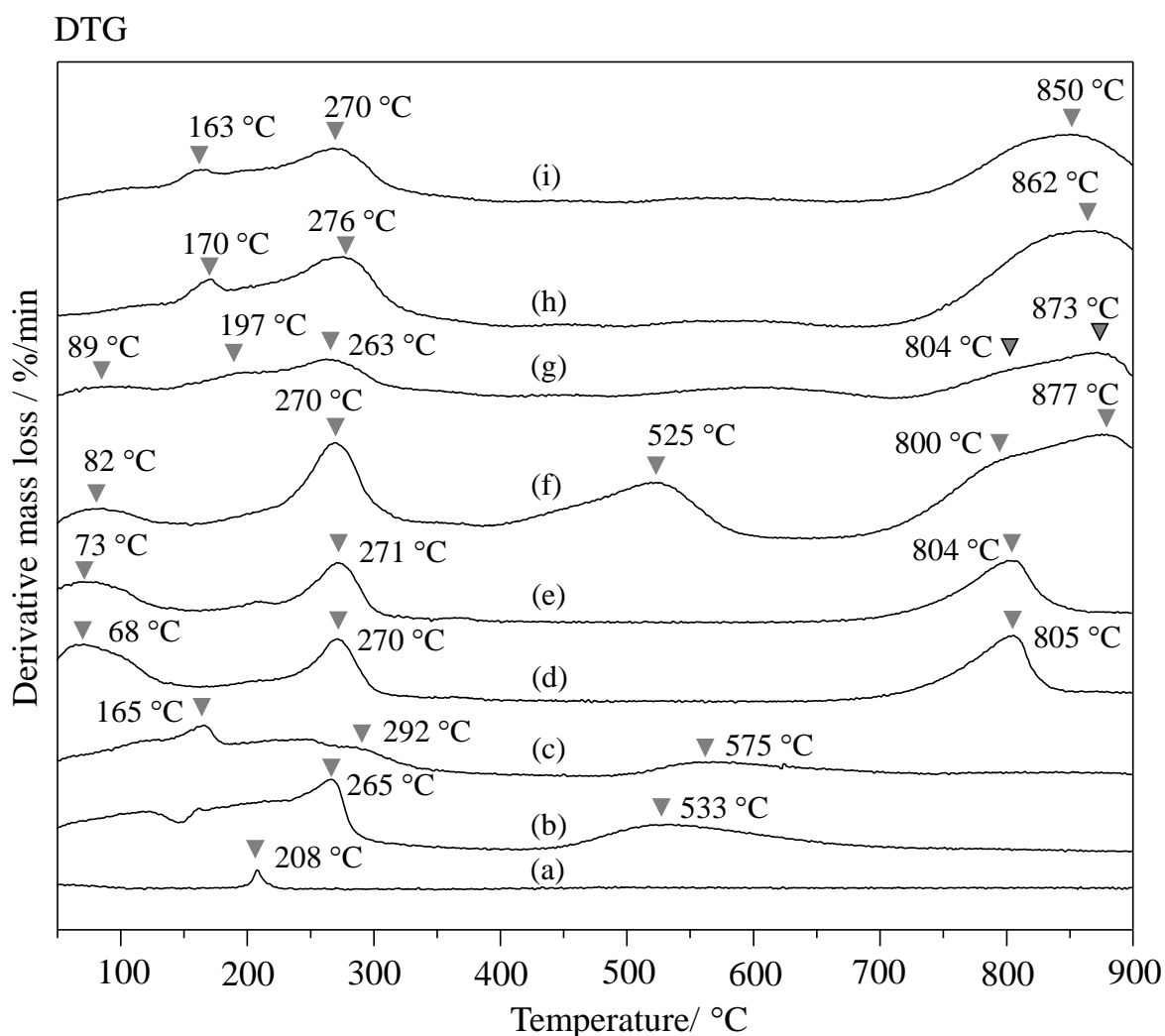


รูปที่ 4.9 เส้นโค้ง TG/DTA ของ (a, j) ZnO, (b, k) cZnAl-LDH500, (c, l) cZnAl-LDH700, (d, m) cZnAl-LDH300, (e, n) ZnAl-LDH, (f, o) Phlai@cZnAl-LDH700, (g, p) Phlai@cZnAl-LDH500, (h, q) Phlai@cZnAl-LDH300 และ (i, r) Phlai@ZnAl-LDH

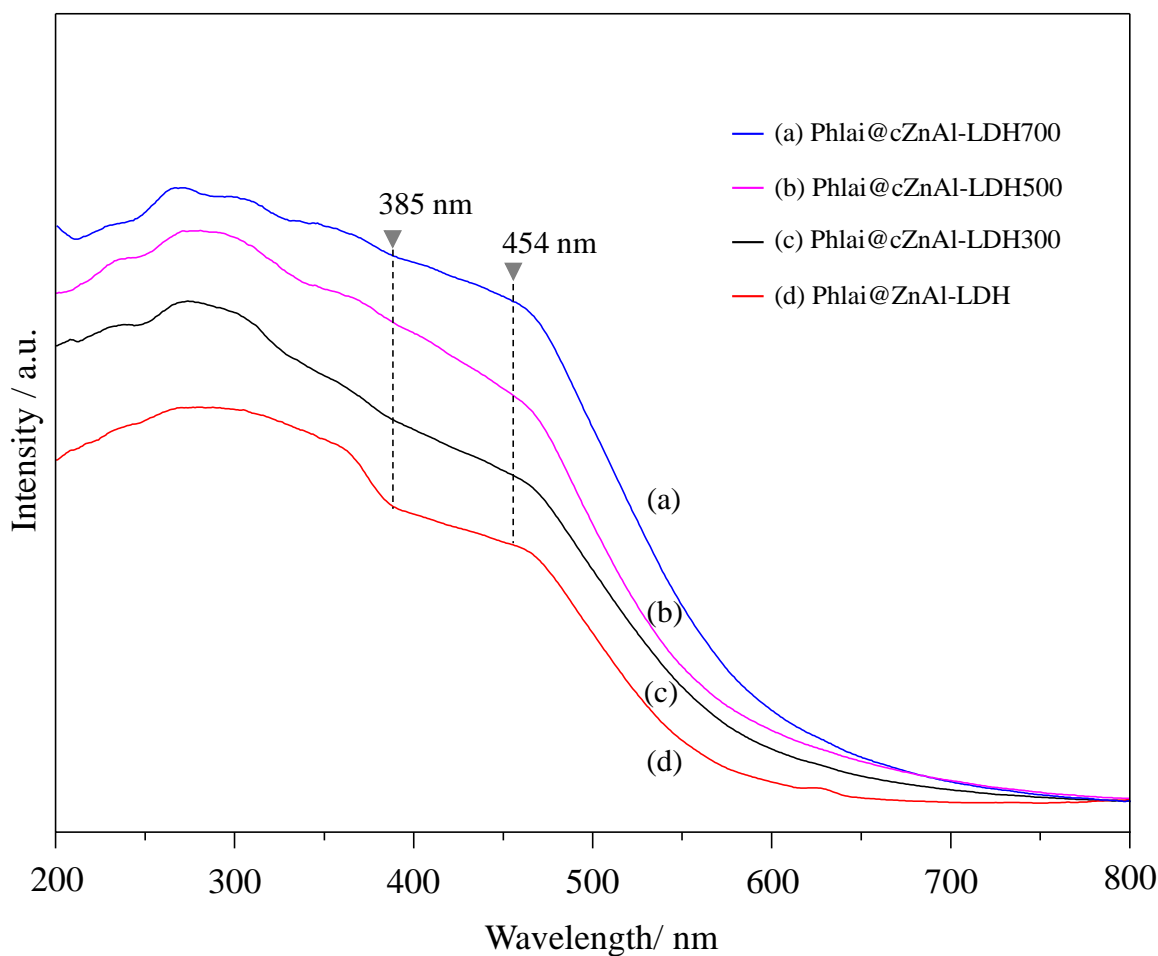
#### 4.2 การศึกษาความเสถียร

นอกจากนี้ สารตัวอย่างที่เตรียมได้ยังนำมาศึกษาความเสถียรทางความร้อน โดยความเสถียรทางความร้อนและเอกลักษณ์เฉพาะของวัสดุไฮดรอกไซด์และวัสดุคอมโพสิต รวมทั้ง ZnO นำมาวิเคราะห์ด้วยเส้นโค้ง TG-DTA (รูปที่ 4.9) และเส้นโค้ง DTG (รูปที่ 4.10) ในช่วงอุณหภูมิ 30 – 900 °C โดยพบว่า ขั้นตอนแรกของการสูญเสียมวลเกิดขึ้นตั้งแต่อุณหภูมิเริ่มต้นจนถึง 200 °C ซึ่งสัมพันธ์กับฟิสิกการดูดความร้อน (68 – 173 °C) เนื่องจากการระเหยของน้ำ และการสลายตัวของไอออนลบระหว่างเลเยอร์ และ/หรือ สปีชีส์อินทรีย์ [5]. ต่อมาในช่วงอุณหภูมิ 200 – 300 °C เกิดการสลายตัวอย่างต่อเนื่องของไอออนลบที่อยู่ระหว่างเลเยอร์และสารอินทรีย์ และการเกิดดีไฮดรอกซิเลชัน (dehydroxylation) ที่สอดคล้องกับฟิสิกการดูดความร้อนในช่วงอุณหภูมิ 210 – 276 °C [13] โดยเกิดปฏิกิริยาการกำจัดได้อย่างสมบูรณ์ด้วยความร้อนสูงถึง 835 °C ในขณะที่วัสดุคอมโพสิตแสดงขั้นตอนสุดท้ายของการสูญเสียมวลในช่วงอุณหภูมิ 850 – 877 °C เนื่องจากการสลายตัว

ของสารสกัดไพล [5] ในการเปรียบเทียบ ทั้งนี้ ยังพบว่า การเพิ่มมวลเกิดขึ้นสำหรับ ZnO (รูปที่ 4.9a) และการสูญเสียมวลของสารสกัด *Zingiber officinale* คือประมาณ 65% และ 23% ซึ่งเกิดขึ้นที่ 600 °C และ 800 °C ตามลำดับ [5] แต่พบว่า การสูญเสียมวลของสารคอมโพสิตเกิดขึ้นแค่ 33% ที่อุณหภูมิ 600 °C ซึ่งบ่งชี้ได้ว่า สารสกัดไพลบางชนิดได้รับการปกป้องโดยปฏิกิริยาระหว่างโฮสต์และเกสต์ [3] ดังนั้น วัสดุโฮสต์ ZnAl-LDH และ cZnAl-LDH จึงสามารถปรับปรุงเสถียรภาพทางความร้อนของสารสกัดไพลได้

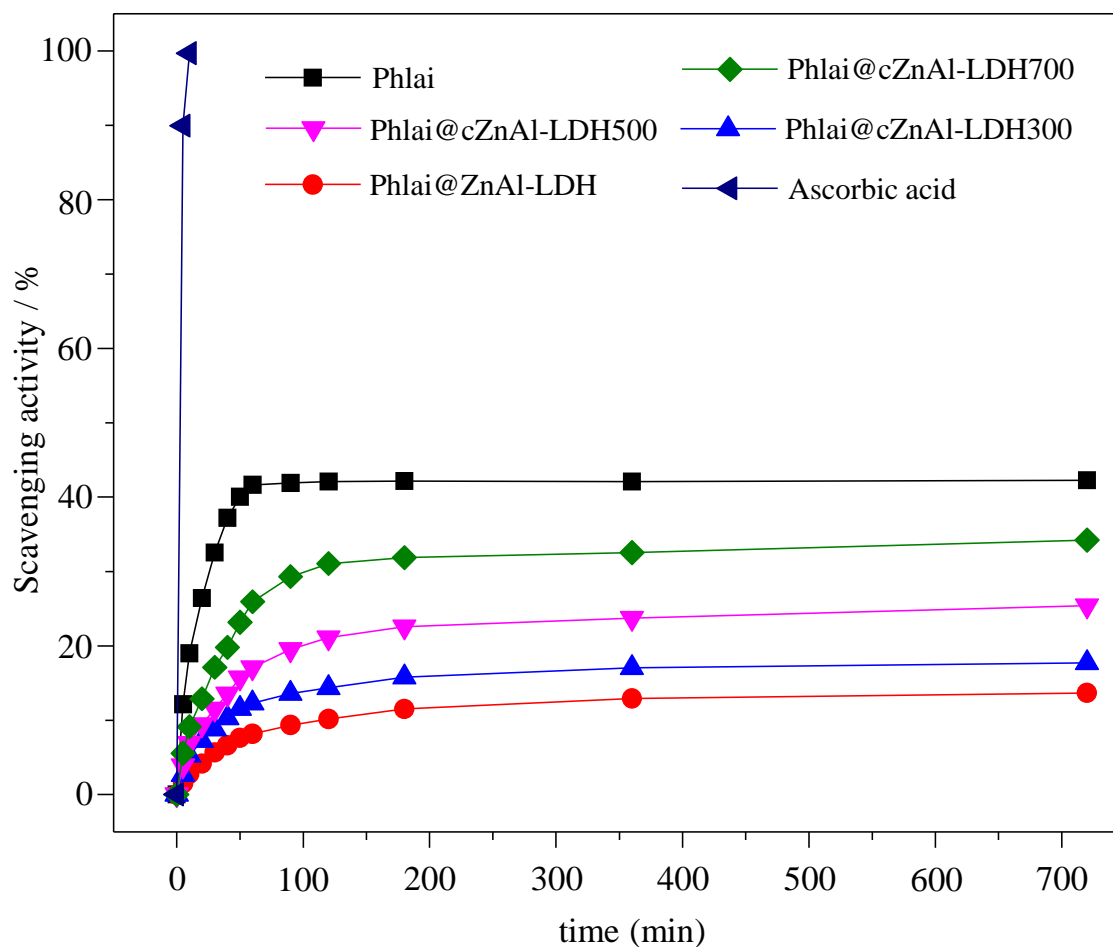


รูปที่ 4.10 เส้นโค้ง DTG ของ (a) ZnO, (b) cZnAl-LDH500, (c) cZnAl-LDH700, (d) cZnAl-LDH300, (e) ZnAl-LDH, (f) Phlai@cZnAl-LDH700, (g) Phlai@cZnAl-LDH500, (h) Phlai@cZnAl-LDH300 และ (i) Phlai@ZnAl-LDH



รูปที่ 4.11 ยูวี-วิสิเบิล สเปกตรัมของ ของ (a) Phlai extract ethanoic solution และ (b) Phlai extract ethanoic solution หลังจากถูกเก็บเป็นเวลา 30 วัน

หลังจากเก็บวัสดุคอมโพสิตเป็นเวลา 30 วัน ภายใต้สภาวะมาตรฐาน แล้วนำมาศึกษาสเปกตรัมการดูดกลืนแสงอีกครั้ง ดังแสดงในรูปที่ 4.11 จะเห็นว่า ความเข้มการดูดกลืนแสงและสเปกตรัมของวัสดุคอมโพสิตแทบจะไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับของสารที่เพิ่งเตรียมได้ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากสมบัติทางแสงที่มีประสิทธิภาพสูง [3] ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเกิดการปรับปรุงเอกลักษณ์ลักษณะทางแสงเมื่อเทียบกับการลดลงของค่าการดูดกลืนแสง ประมาณ 32% ของสารละลายสารสกัดไพลหลังจากเก็บไว้เป็นเวลา 30 วัน ทั้งนี้มีการอธิบายว่า วัสดุเลเยอร์ไฮสโตนินทรีย์สามารถปรับปรุงประสิทธิภาพเชิงแสงให้กับวัสดุเกสต์เป็นระยะเวลานาน [3,34] ด้วยเหตุนี้ อาจยืนยันว่าวัสดุไฮสโต ZnAl-LDH และ cZnAl-LDH สามารถช่วยเพิ่มความเสถียรเชิงแสงให้กับสารสกัดไพล

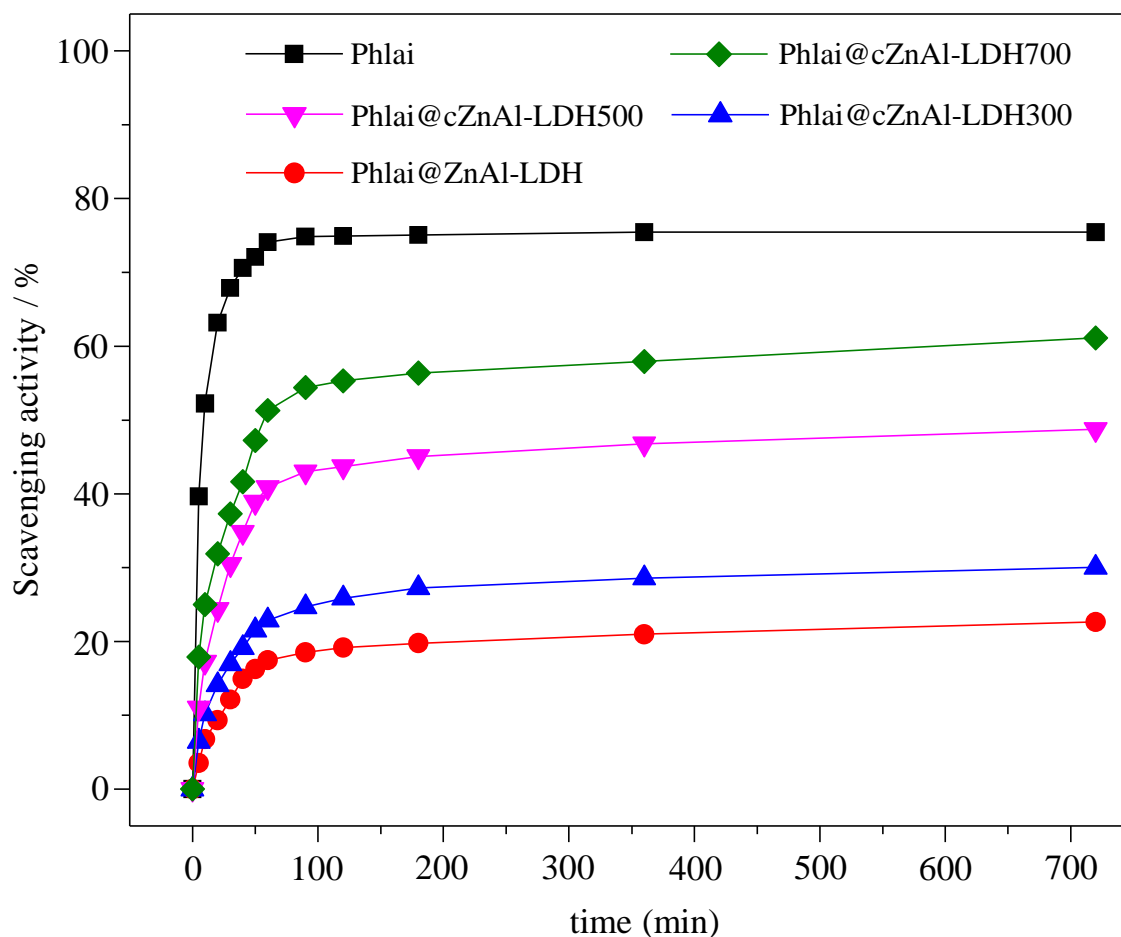


รูปที่ 4.12 การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของ 0.1 mg of Phlai extract, Phlai@ZnAl-LDH, Phlai@cZnAl-LDH300, Phlai@cZnAl-LDH500, Phlai@cZnAl-LDH700 และ ascorbic acid

#### 4.3 การศึกษาสมบัติทางชีวภาพ

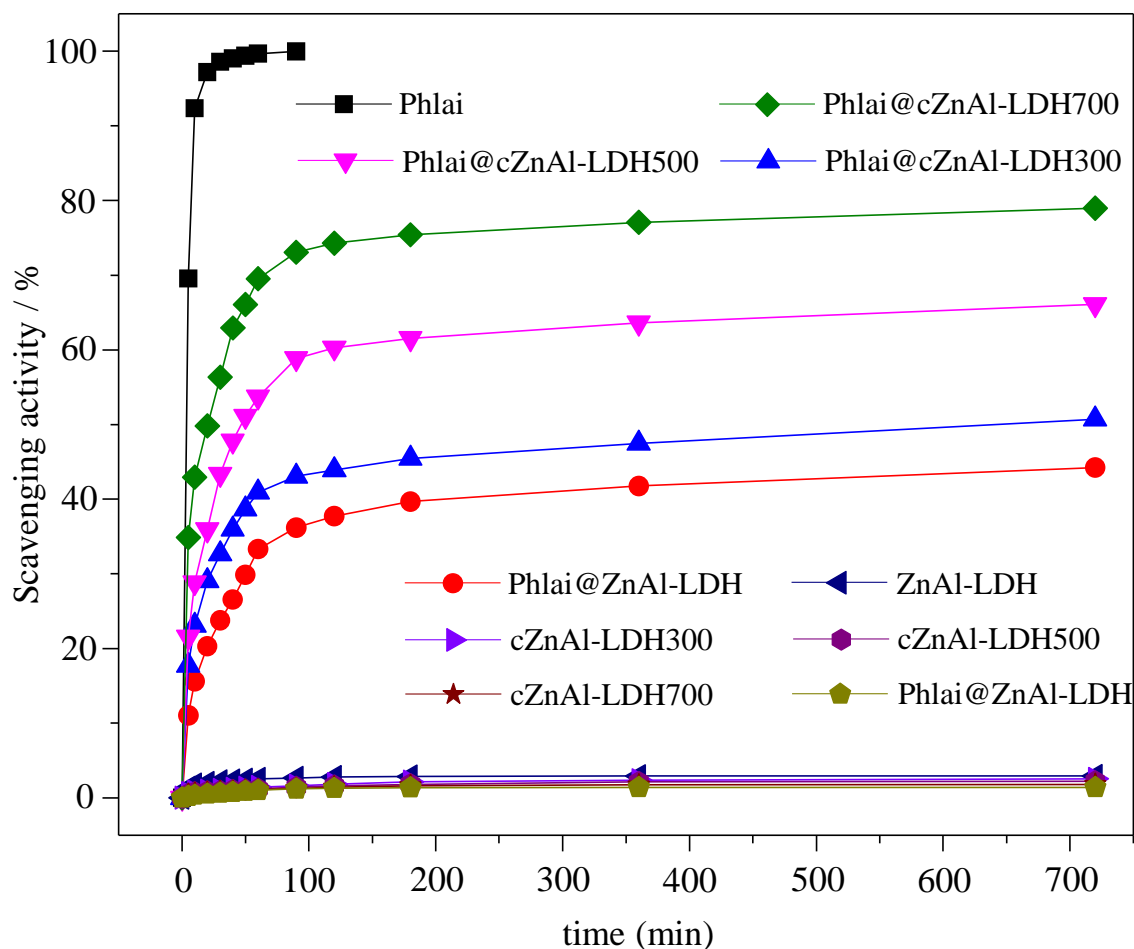
ประสิทธิภาพของสารสกัดไพล วัสดุไฮสตร ZnO และการเสริมฤทธิ์กัน (วัสดุคอมโพสิต) ได้ศึกษาด้วยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระของกรดแอสคอร์บิก ดังแสดงในรูป 4.12 – 4.14 พบว่า วัสดุไฮสตรทั้งหมด (ZnAl-LDH, cZnAl-LDH300, cZnAl-LDH500 และ cZnAl-LDH700) และ ZnO แสดงประสิทธิภาพต่ำมากในการกำจัดอนุมูล DPPH (1 - 3%) ในทางกลับกันพบว่า วัสดุคอมโพสิตมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับสารสกัดจากไพลและกรดแอสคอร์บิก เป็นผลให้ ZnAl-LDH, cZnAl-LDH และ ZnO เป็นส่วนรอง ในขณะที่สารสกัดไพลเป็นตัวหลักในการต้านออกซิเดชันของอนุมูล DPPH

การเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ 0.1 มิลลิกรัม (รูปที่ 4.12) 1.0 มิลลิกรัม (รูปที่ 4.13) และ 10 มิลลิกรัม (รูปที่ 4.14) พบว่าให้ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น อันเป็นผลจากปริมาณที่มากขึ้นของสารสกัดไพล โดยภายในเวลา 10 นาที (รูปที่ 4.12) สารสกัดไพลมีประสิทธิภาพต่ำกว่ากรดแอสคอร์บิกถึง 5 เท่า เนื่องจากเป็นสารมาตรฐานที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุด อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดไพลยังคงเทียบได้กับสมุนไพรชนิดอื่น ๆ [22,28-30]



รูปที่ 4.13 การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของ 1.0 mg of Phlai extract, Phlai@ZnAl-LDH, Phlai@cZnAl-LDH300, Phlai@cZnAl-LDH500 และ Phlai@cZnAl-LDH700

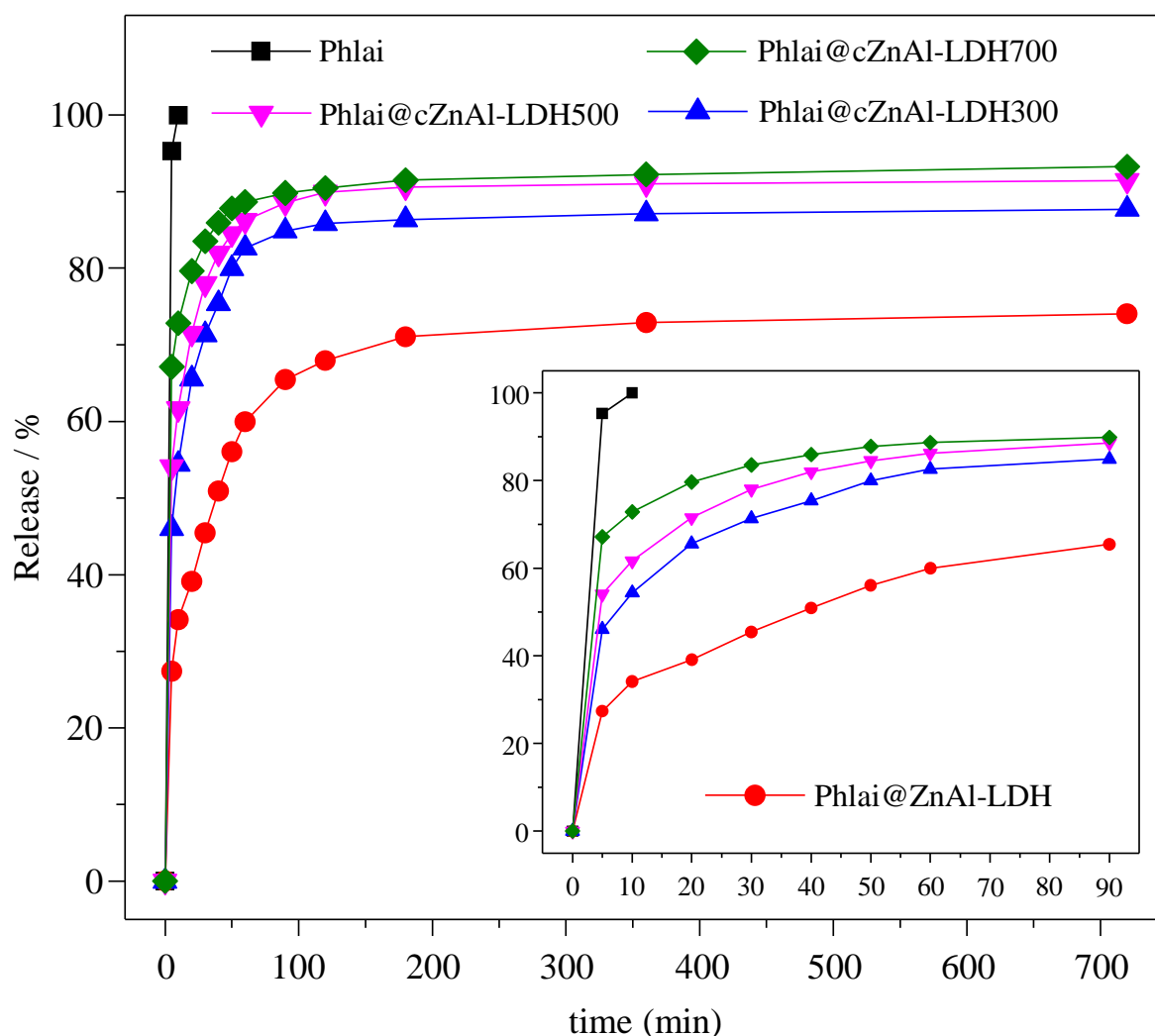
ดังแสดงในรูปที่ 4.13 พบว่า สามารถกำจัดปริมาณอนุมูล DPPH ทั้งหมด ได้โดยใช้สารสกัดไพล 10 มิลลิกรัม ภายในเวลา 90 นาที ในขณะที่ Phlai@ZnAl-LDH, Phlai@cZnAl-LDH300, Phlai@cZnAl-LDH500 และ Phlai@cZnAl-LDH700 ให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล DPPH (%) ประมาณ 36, 43, 59 และ 73 ตามลำดับ เมื่อพิจารณากระบวนการต้านอนุมูลอิสระของสารบริสุทธิ์พบว่าสามารถเข้าสู่ภาวะสมดุลได้อย่างรวดเร็วเพียง 5-30 นาที ในขณะที่วัสดุคอมโพสิตมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระช้ากว่า จนถึง 720 นาที โดยที่ Phlai@cZnAl-LDH700 ให้ประสิทธิภาพสูงกว่า ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับความเสถียรและอัตราการปลดปล่อยของสารสกัดไพลในวัสดุโอสต์ชนิดต่าง ๆ [2,5] อย่างไรก็ตาม สารคอมโพสิตมีปริมาณสารสกัดไพลเพียง 1/5 เท่านั้น แต่ประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารผสม (Phlai@cZnAl-LDH700) จึงต่ำกว่าสารสกัดไพลเพียง 1 เท่า อาจเป็นเพราะเกิดปฏิกิริยาระหว่างไพล และ LDH (cLDH) ที่มีผลเสริมฤทธิ์กันของอนุมูลอิสระ DPPH [10,23]



รูปที่ 4.14 การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของ 10 mg of Phlai extract, Phlai@ZnAl-LDH, Phlai@cZnAl-LDH300, Phlai@cZnAl-LDH500, Phlai@cZnAl-LDH700, ZnAl-LDH, cZnAl-LDH300, cZnAl-LDH500, cZnAl-LDH700 และ ZnO

และเพื่อยืนยันกลไกการต้านออกซิเดชัน ได้ศึกษาการปลดปล่อยของสารสกัดไพล และสารสกัดในวัสดุไฮสโตในสารละลายเอทานอลิกฟอสเฟต ดังแสดงในรูปที่ 4.14 พบว่า ภายใน 10 นาที ปริมาณสารสกัดไพลทั้งหมดถูกปลดปล่อย (100 %) ซึ่งสอดคล้องกันกับพฤติกรรมของกรดแอสคอร์บิกอันเป็นผลมาจากการระเบิด [7,13] ในขณะที่ สารสกัดไพลในวัสดุไฮสโตส่วนใหญ่จะถูกปลดปล่อยที่เวลา 10 นาที ประมาณ 34, 54, 62 และ 73 % สำหรับ Phlai@ZnAl-LDH, Phlai@cZnAl-LDH300, Phlai@cZnAl-LDH500 และ Phlai@cZnAl-LDH700 ตามลำดับ แล้วค่อย ๆ ปล่อยเป็น 74, 88, 91 และ 93 % เมื่อเวลาสัมผัสเพิ่มขึ้นเป็น 720 นาที ดังนั้นสามารถอนุมานประสิทธิภาพการห่อหุ้มของสารสกัดไพลโดยแตกต่างกันตามวัสดุไฮสโต ดังนี้  $\text{ZnAl-LDH} > \text{cZnAl-LDH} > \text{cZnAl-LDH500} > \text{cZnAl-LDH700}$  โดย ZnAl-LDH แสดงอันตรกิริยาที่แข็งแกร่งที่สุดกับสารสกัดไพล เพราะมันมีตำแหน่งที่ว่างไว้มากเมื่อเทียบกับวัสดุไฮสโต cZnAl-LDH ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลจากศักย์รีดักซ์ และรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ นอกจากนี้ ปริมาณที่ปล่อยออกมาเพิ่มขึ้นในเวลาสัมผัสและวัสดุไฮสโตที่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นผลที่สอดคล้องกับประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันที่สูงขึ้น ดังที่กล่าวไว้ข้างต้นในการทดสอบการกำจัดอนุมูลของ DPPH [11] ดังนั้น การกำจัดอนุมูล DPPH ของ

สารสกัดไพลสามารถควบคุมและเพิ่มขึ้นทีละน้อย ๆ เป็นเวลานาน 720 นาที โดยใช้ ZnAl-LDH และ cZnAl-LDH เป็นวัสดุโอสต์ชะลอการปลดปล่อยสาร [14,15]



รูปที่ 4.15 ข้อมูลการปลดปล่อยของ Phlai extract, Phlai@ZnAl-LDH, Phlai@cZnAl-LDH300, Phlai@cZnAl-LDH500 และ Phlai@cZnAl-LDH700 ใน the ethanoic phosphate buffer (pH ~ 7.4)

เนื่องจากสารสกัดจากสมุนไพร และ ZnAl-LDH, cZnAl-LDH และ ZnO มีการรายงานฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย [2] ดังนั้น จึงได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารผลิตภัณฑ์ด้วยการศึกษาการมีชีวิตรอดของแบคทีเรีย *S. aureus* โดยนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตบน PCA ดังแสดงในตารางที่ 4.1 โดยพบว่า ZnO สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ทดสอบได้เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดไพล กลไกการออกฤทธิ์ของ ZnO เกี่ยวข้องกับการเกิด reactive oxygen species (ROS) ที่ lipid peroxidation ของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดการรั่วของเยื่อหุ้มเซลล์ของน้ำตาลรีดิคซ์, DNA, โปรตีน และลดการมีชีวิตของเซลล์ [21,35] ในขณะที่สารสกัดจากพืชมีผลอย่างมากต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบโดยการลดลงของค่า pH และการ



ไฮเปอร์โพลาริเซชันของเยื่อหุ้มเซลล์ [36] นอกจากนี้ สารสกัดจากสมุนไพรไพลยังให้ประสิทธิภาพการฆ่า *S. aureus* ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยในสารสกัดจากใบไพลเป็นส่วนแสดงศักยภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรีย [24,30] ในขณะเดียวกัน ความสามารถในการต้านแบคทีเรียของ ZnAl-LDH และ cZnAl-LDH300 สามารถเทียบได้กับความสามารถของ ZnO นอกจากนี้ วัสดุไฮสโตอื่น ๆ (cZnAl-LDH500 และ cZnAl-LDH700) แสดงความสามารถที่เหนือกว่าซึ่งอาจเป็นการทำงานร่วมกันกับ ZnO และ ZnAl-ออกไซด์ ที่เหมาะสมด้านปริมาณและขนาด ในการต้านแบคทีเรีย [2,16] เป็นผลให้ cZnAl-LDH500 เป็นวัสดุไฮสโตที่เหมาะสมในการเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัด *S. aureus* เมื่อเปรียบเทียบกับ ZnAl-LDH, cZnAl-LDH300 และ ZnO รวมถึง cZnAl-LDH700 ในแง่ของการประหยัดพลังงาน แต่สิ่งที่น่าแปลกใจคือ วัสดุคอมโพสิตทั้งหมดสามารถฆ่าแบคทีเรียได้เกือบหมดเนื่องจากผลเสริมฤทธิ์กันระหว่างวัสดุไฮสโตและสารสกัดไพล [2,16] ในส่วนประกอบของสารคอมโพสิต เช่น ZnAl-LDH, ZnO และ ZnAl-ออกไซด์ และ/หรือไพล จึงเกิดการต้านแบคทีเรียร่วม ซึ่งมีขนาด ปริมาณ และการจัดเรียงตัวทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกัน

**ตารางที่ 4.1** การต้านแบคทีเรีย *S. aureus* ของสารสกัดไพล วัสดุไฮสโต วัสดุคอมโพสิต และ ZnO

Sample	Viable cell count (CFU/mL)		
	$10^{-1}$	$10^{-3}$	$10^{-5}$
Phlai extract	$8.35 \times 10^3$	< 30 colony	< 30 colony
ZnO	< 30 colony	< 30 colony	Not detected
ZnAl-LDH	< 30 colony	< 30 colony	Not detected
cZnAl-LDH300	< 30 colony	< 30 colony	Not detected
cZnAl-LDH500	< 30 colony	Not detected	Not detected
cZnAl-LDH700	< 30 colony	Not detected	Not detected
Phlai@ZnAl-LDH			
Phlai@cZnAl-LDH300			
		Not detected	
Phlai@cZnAl-LDH500			
Phlai@cZnAl-LDH700			

## บทที่ 5

### อภิปรายผลสรุปและข้อเสนอแนะ

#### อภิปรายผลสรุป

การพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค XRD และ SEM สามารถยืนยันการเกิด ZnAl-LDH ที่ประกอบด้วยอนุภาค ZnO และ  $\text{ZnAl}_2\text{O}_4$  บนผิวภายนอก ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างและสมบัติทางเคมีหลังจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 300 °C (cZnAl-LDH300), 500 °C (cZnAl-LDH500) และ 700 °C (cZnAl-LDH700) สำหรับวัสดุคอมโพสิตระหว่างสารสกัดไพล (*Zingiber montanum* (Koenig) Link ex Dietr.) และวัสดุโฮสต์ (ZnAl-LDH, cZnAl-LDH300, cZnAl-LDH500 หรือ cZnAl-LDH700) สามารถเตรียมได้ด้วยวิธีของแข็ง-ของแข็ง ซึ่งยืนยันอันตรกิริยาและการมีสารสกัดไพลเป็นองค์ประกอบด้วยเทคนิค FT-IR, EDX/การกระจายธาตุองค์ประกอบ ศักย์ซีตาและ UV-VIS โดยพบว่า เอกลักษณ์ทางความร้อนและแสงของสารสกัดไพลสามารถปรับปรุงได้โดยการผสมกับวัสดุโฮสต์เนื่องจากอันตรกิริยาระหว่างวัสดุโฮสต์และเกสต์ และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นที่ละน้อยจนถึงเวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลการปลดปล่อยสารสกัดไพลจากวัสดุโฮสต์ ดังนี้  $\text{ZnAl-LDH} < \text{cZnAl-LDH300} < \text{cZnAl-LDH500} < \text{cZnAl-LDH700}$  ในขณะที่การยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* เพิ่มขึ้นโดยสารผลิตภัณฑ์ต้านแบคทีเรีย ดังนี้ สารสกัดไพล  $< \text{ZnO} < \text{ZnAl-LDH} < \text{cZnAl-LDH300} < \text{cZnAl-LDH500} \sim \text{cZnAl-LDH700} < \text{วัสดุคอมโพสิต}$  ในงานวิจัยนี้ให้กระบวนการที่มีคุณค่าและเป็นทางเลือกหนึ่งในการพิจารณาการปรับปรุงสมบัติทางชีวภาพและเคมีของไพลและสารสกัดสมุนไพรอื่น ๆ โดยใช้วัสดุเลเยอร์อนินทรีย์ได้หลากหลาย

#### ข้อเสนอแนะ

1. ควรทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เช่น การต้านแบคทีเรียแกรมลบ และการต้านเชื้อรา
2. ควรศึกษาการประยุกต์ใช้เป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอาง เช่น สบู่สมุนไพรไพลต้านแบคทีเรีย
3. ควรศึกษาชนิดของวัสดุโฮสต์ เช่น  $\text{MgFe-LDH}$  และสารสกัดสมุนไพรชนิดอื่น ๆ เช่น มะเมีฬ้า พลู มะขามป้อม

## บรรณานุกรม

- [1] Szerlauth, A., Mura' th, S., Szilagy, I. (2020). Layered double hydroxide-based antioxidant dispersions with high colloidal and functional stability. *Soft Matter.*, 16, 10518-10527.
- [2] Izbudak, B., Cecen, B., Anaya, I., Miri, A.K., BalOzturk, A., Karaoz, E. (2021). Layered double hydroxide-based nanocomposite scaffolds in tissue engineering applications. *RSC Adv.*, 11, 30237–30252.
- [3] Poosimma, P., Ontam, A., Intachai, S., Khaorapapong, N., Ogawa, M. (2018). Control of the optical properties of cadmium selenide nanoparticles using magadiite. *Dalton Trans.*, 47, 807–813.
- [4] Zhang, Y., Xu, H., Lu, S. (2021). Preparation and application of layered double hydroxide nanosheets. *RSC Adv.*, 11, 24254–24281.
- [5] Kim, H.J., Lee, S.B., Choi, A.J., Oh, J.M. (2019). Zingiber officinale extract (ZOE) incorporated with layered double hydroxide hybrid through reconstruction to preserve antioxidant activity of ZOE against ultrasound and microwave irradiation. *Nanomaterials*, 9, 1281.
- [6] Liu, Y., Wu, Y., Zhang, R., Lam, J., Ng, J.C., Xu, Z.P., Li, L., Ta, H.T. (2019). Investigating the use of layered double hydroxide nanoparticles as carriers of metal oxides for Theranostics of ROS-related diseases. *ACS Appl. Bio Mater.*, 2, 5930–5940.
- [7] Jeung, D.G., Kim, H.J., Oh, J.M. (2019). Incorporation of glycine max merrill extract into layered double hydroxide through ion-exchange and reconstruction. *Nanomaterials*, 9, 1262.
- [8] Intasa-ard, S., Bureekaew, S., Ogawa, M. (2019). Efficient production of MgAl layered double hydroxide nanoparticle. *J. Ceram. Soc. Jpn.*, 127(1), 11-17.
- [9] Koba-Ucun, O., Hanci, T.Ö., Arslan-Alaton, I., Arefi-Oskoui, S., Khataee, A., Kobya, M., Orooji, Y. (2021). Toxicity of Zn-Fe layered double hydroxide to different organisms in the aquatic environment. *Molecules*, 26, 395.
- [10] Muráth, S., Szerlauth, A., Sebok, D., Szilágyi, I. (2020). Layered double hydroxide nanoparticles to overcome the hydrophobicity of ellagic acid : an antioxidant hybrid material. *Antioxidants*, 9, 153.

- [11] Asiabi, H., Yamini, Y., Alipour, M., Shamsayei, M., Hosseinkhani, S. (2019). Synthesis and characterization of a novel biocompatible pseudo-hexagonal NaCa-layered double metal hydroxides for smart pH-responsive drug release of dacarbazine and enhanced anticancer activity in malignant melanoma. *Mat. Sci. & Eng. C*, 97, 96–102.
- [12] Szilagyi, I. (2019). Layered double hydroxide-based nanomaterials-from fundamentals to applications. *Nanomaterials*, 9, 1174.
- [13] Ferrari, I.V., Narducci, R.G., Prestopino, G., Costantino, F., Mattoccia, A., Giamberardino, L.D., Nocchetti, M., Vona, M.L.D., Paolone, A. M., Bini, M. R., Pezzilli, R., Borromeo, I., Beninati, S., Medaglia, P.G. (2021). Layered double hydroxides as a drug delivery vehicle for S-Allyl-Mercapto-Cysteine (SAMC). *Processes* 9, 1819.
- [14] Bi, X., Zhang, H., Dou, L. (2014). Layered double hydroxide-based nanocarriers for drug delivery. *Pharmaceutics*, 6, 298-332.
- [15] Li, C., Yin, S., Zhou, H., Zhang, Y., Li, Y., Chen, Y. (2021). Near-infrared emission carrier, Er<sup>3+</sup>-doped ZnAl-LDH, for delivery and release of ibuprofen in vitro. *J. Sol-Gel Sci. Technol*, 99, 430–443.
- [16] Mishra, G., Dash, B., Sethi, D., Pandey, S., Mishra, B.K. (2017). Orientation of organic anions in Zn-Al layered double hydroxides with enhanced antibacterial property. *Environ. Eng. Sci.*, 34(7), 516-527.
- [17] Yang, J., Jing, R., Wang, P., Liang, D., Huang, H., Xia, C., Zhang, Q., Liu, A., Meng, Z., Liu, Y. (2021). Black phosphorus nanosheets and ZnAl-LDH nanocomposite as environmental-friendly photocatalysts for the degradation of methylene blue under visible light irradiation. *Appl. Clay Sci.*, 200, 105902.
- [18] Rabiee, N., Bagherzadeh, M., Ghadiri, A.M., Salehi, G., Fatahi, Y., Dinarvand, R. (2020). ZnAl nano layered double hydroxides for dual functional CRISPR/Cas9 delivery and enhanced green fluorescence protein biosensor. *Sci. Rep.*, 10, 20672.
- [19] Huang, G., Sun, Y., Zhao, C., Zhao, Y., Song, Z., Chen, J., Ma, S., Du, J., Yin, Z. (2017). Water–nBuOH solvothermal synthesis of ZnAl–LDHs with different morphologies and its calcined product in efficient dyes removal. *J. Colloid Interface Sci.*, 494, 215-222.
- [20] Starukh, H., Levytska, S. (2019). The simultaneous anionic and cationic dyes removal with Zn-Al layered double hydroxides. *Appl. Clay Sci.*, 180, 105183.

- [21] Krishnamoorthy, R., Athinarayanan, J., Periyasamy, V.S., Alshuniaber, M.A., Alshammari, G., Hakeem, M.J., Ahmed, M.A., Alshatwi, A.A. (2022). Antibacterial mechanisms of zinc oxide nanoparticle against bacterial food pathogens resistant to beta-lactam antibiotics. *Molecules*, 27, 2489.
- [22] Bua-in, S., Paisooksantivatana, Y. (2009). Essential oil and antioxidant activity of Cassumunar ginger (Zingiberaceae: Zingiber montanum (Koenig) Link ex Dietr.) collected from various parts of Thailand. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*, 43, 467 – 475.
- [23] Kim, H-J., Lee, G-J., Choi, A-J., Kim, T-H., Kim, T-i., Oh, J-M. (2018). Layered double hydroxide nanomaterials encapsulating angelica gigas Nakai extract for potential anticancer nanomedicine. *Front. Pharmacol.*, 9, 723.
- [24] Devkota, H.P., Paudel, K.R., Hassan, M.M., Dirar, A.I., NDas, N., Adhikari-Devkota, A., Echeverría, J., Logesh, R., Jha, N.K., Singh, S.K., Hansbro, P.M., Chan, Y., Chellappan, D.K., Dua, K. (2021). Bioactive compounds from zingiber montanum and their pharmacological activities with focus on zerumbone. *Appl. Sci.*, 11, 10205.
- [25] Intachai, S., Tongchoo, P., Sumanatrakul, P., Pankam, P., Khaorapapong, N. (2022). Efficient and practical adsorption of mixed anionic dyes in aqueous solution by magnetic NiFe-layered double oxide. *Korean J. Chem. Eng.*, 39(10), 2675-2684.
- [26] Intachai, S., Na-Nakorn, M., Kaewnok, A., Pankam, P., Sumanatrakul, P., Khaorapapong, N. (2022). Versatile inorganic adsorbent for efficient and practical removal of hexavalent chromium in water. *Mater. Chem. Phys.*, 288, 126388.
- [27] Intachai, S., Sumanatrakul, P., Pankam, P., Suppaso, C., Khaorapapong, N. (2022). Efficient removal of both anionic and cationic dyes by activated carbon/NiFe-layered double oxide. *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.*, 32, 1999–2008.
- [28] Khan, W., Subhan, S., Shams, D.F., Afridi, S.G., Ullah, R., Shahat, A.A., Alqahtani, A.S. (2019). Antioxidant potential, phytochemicals composition, and metal contents of datura alba. *Biomed Res. Int.*, 2403718.
- [29] Pinela, J., Barros, L., Dueñas, M., Carvalho, A.M., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C.F.R. (2012). Antioxidant activity, ascorbic acid, phenolic compounds and sugars of wild and commercial Tuberaria lignose samples: effects of drying and oral preparation methods. *Food Chem.*, 135, 1028–1035.
- [30] Parham, S., Kharazi, A.Z., Bakhsheshi-Rad, H.R., Nur, H., Ismail, A.F., Sharif, S., RamaKrishna, S., Berto, F. (2020). Antioxidant, antimicrobial and antiviral properties of herbal materials. *Antioxidants*, 9, 1309.

- [31] Suárez-Quezadaa, M., Romero-Ortiza, G., Samaniego-Beníteza, J.E., Suárezb, N., Mantilla, A. (2019). H<sub>2</sub> production by the water splitting reaction using photocatalysts derived from calcined ZnAl LDH. *Fuel*, 240, 262–269.
- [32] Ogawa, M., Hiramine, M. (2014). Direct correlation between nanostructure and particle morphology during intercalation. *Cryst. Growth Des.*, 14, 1516–1519.
- [33] Intachai, S., Nakato, T., Khaorapapong, N. (2021). ZnO decorated on low carbonate NiAl-layered double hydroxide as efficient photocatalyst for methyl orange degradation. *Appl. Clay Sci.*, 201, 105927.
- [34] Intachai, S., Sumanatrakul, P., Khaorapapong, N. (2021). Easy intercalation and size control of zinc selenide by nanospace modification of montmorillonite and saponite with enhanced photoluminescence. **Opt. Mater.**, 122, 111655.
- [35] Tiwari, V., Mishra, N., Gadani, K., Solanki, P.S., Shah, N.A., Tiwari, M. (2018). Mechanism of anti-bacterial activity of zinc oxide nanoparticle against carbapenem-resistant acinetobacter baumannii. *Front. Microbiol.*, 9, 1218.
- [36] Gonelimali, F.D., Lin, J., Miao, W., Xuan, J., Charles, F., Chen, M., Hatab, S.R., (2018). Antimicrobial properties and mechanism of action of some plant extracts against food pathogens and spoilage microorganisms. *Front. Microbiol.*, 9, 1639.

## ภาคผนวก


### งานวิจัยตีพิมพ์

1. Submitted manuscript:  
Sonchai Intachai, Parichat Thepthong, Panita Sumanatrakul, Wankuson Chanasit, Chomponoot Suppaso, Nithima Khaorapapong (2023). Optimization of *Zingiber montanum* (Koenig) Link ex Dietr. extract via ZnAl-layered double hydroxide based-host materials on antioxidation and antibacterial activities.
2. เลขคำขออนุสิทธิบัตร: ศรชัย อินทะไชย และปรีชาติ เทพทอง กรรมวิธีการผลิตผงสารสกัดสมุนไพรไพลกับซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ด้วยวิธีเชิงกล เลขที่คำขอ 2203003372

## งานวิจัยตีพิมพ์ (หลักฐาน)

## เรื่องที่ 1

แบบ สป/สผ/อสป/001-ก  
หน้า 1 ของจำนวน 2 หน้า

 <p><b>คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร</b></p> <p><input type="checkbox"/> การประดิษฐ์ <input type="checkbox"/> การออกแบบผลิตภัณฑ์ <input checked="" type="checkbox"/> อนุสิทธิบัตร</p> <p>ข้าพเจ้าผู้ลงลายมือชื่อในคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ตามพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2535 และ พระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2542</p>	<p><b>สำหรับเจ้าหน้าที่</b></p> <p>วันรับคำขอ 15/12/2565 เลขที่คำขอ 2203003372</p> <p>วันยื่นคำขอ</p>	
	<p>สัญลักษณ์สำหรับการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ</p> <p>ใช้กับแบบผลิตภัณฑ์ ประเภทผลิตภัณฑ์</p>	
	<p>วันประกาศโฆษณา</p>	<p>เลขที่ประกาศโฆษณา</p>
	<p>วันออกสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร</p>	<p>เลขที่สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร</p>
	<p>ลายมือชื่อเจ้าหน้าที่</p>	
<p>1. ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์ กรรมวิธีการผลิตผสมสารสกัดสมุนไพรโพลีกับซึ่งคืออะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ด้วยวิธีเชิงกล</p>		
<p>2. คำขอรับสิทธิบัตรการออกแบบผลิตภัณฑ์นี้เป็นคำขอสำหรับแบบผลิตภัณฑ์อย่างเดียวกันและเป็นคำขอลำดับที่ _____ ในจำนวน _____ คำขอ ที่ยื่นในคราวเดียวกัน</p>		
<p>3. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร <input type="checkbox"/> บุคคลธรรมดา <input checked="" type="checkbox"/> นิติบุคคล <input type="checkbox"/> หน่วยงานรัฐ <input type="checkbox"/> มูลนิธิ <input type="checkbox"/> อื่นๆ _____</p> <p>ชื่อ มหาวิทยาลัยทักษิณ</p> <p>ที่อยู่ 222 หมู่ที่ 2</p> <p>ตำบล/แขวง บ้านพร้าว อำเภอ/เขต ป่าพะยอม จังหวัด พัทลุง รหัสไปรษณีย์ 93210 ประเทศ ไทย</p> <p>อีเมล ip.rdltsu@gmail.com</p> <p><input type="checkbox"/> เลขประจำตัวประชาชน <input checked="" type="checkbox"/> เลขทะเบียนนิติบุคคล <input type="checkbox"/> เลขประจำตัวผู้เสียภาษีอากร 0 9 9 4 0 0 0 6 2 9 8 0 0 <input type="checkbox"/> เพิ่มเติม (ตั้งแนบ)</p> <p>ในกรณีที่มีการมา สื่อสารกับท่าน ท่านสะดวกใช้ทาง <input checked="" type="checkbox"/> อีเมล <input type="checkbox"/> อีเมลตัวแทน</p>		
<p>4. สิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร</p> <p><input type="checkbox"/> ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบ <input checked="" type="checkbox"/> ผู้รับโอน <input type="checkbox"/> ผู้ขอรับสิทธิโดยเหตุอื่น</p>		
<p>5. ตัวแทน (ถ้ามี)</p> <p>ชื่อ _____</p> <p>ที่อยู่ _____</p> <p>ตำบล/แขวง อำเภอ/เขต จังหวัด พัทลุง รหัสไปรษณีย์ ประเทศ ไทย</p> <p>อีเมล _____</p> <p>เลขประจำตัวประชาชน _____ <input type="checkbox"/> เพิ่มเติม (ตั้งแนบ)</p>		
<p>6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์ <input type="checkbox"/> ชื่อและที่อยู่เดียวกับผู้ขอ</p> <p>ชื่อ นายศรัชัย อินทะไชย</p> <p>ที่อยู่ 222 หมู่ที่ 2</p> <p>ตำบล/แขวง บ้านพร้าว อำเภอ/เขต ป่าพะยอม จังหวัด พัทลุง รหัสไปรษณีย์ 93110 ประเทศ ไทย</p> <p>อีเมล sonchai.i@tsu.ac.th</p> <p>เลขประจำตัวประชาชน 1 3 5 0 1 0 0 1 5 1 7 5 8 <input checked="" type="checkbox"/> เพิ่มเติม (ตั้งแนบ)</p>		
<p>7. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิม</p> <p>ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้ถือว่าได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ในวันเดียวกับคำขอรับสิทธิบัตร</p> <p>เลขที่ _____ วันยื่น _____ เพราะคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิมเพราะ</p> <p><input type="checkbox"/> คำขอเดิมมีการประดิษฐ์หลายอย่าง <input type="checkbox"/> ถูกคัดค้านเนื่องจากผู้ขอไม่มีสิทธิ <input type="checkbox"/> ขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ</p>		

หมายเหตุ ในกรณีที่ไม่อาจระบุรายละเอียดได้ครบถ้วน ให้จัดทำเป็นเอกสารแนบท้ายแบบพิมพ์นี้โดยระบุหมายเลขกำกับข้อและหัวข้อที่แสดงรายละเอียดเพิ่มเติมดังกล่าวด้วย

<p><b>สำหรับเจ้าหน้าที่</b></p>			
<p>จำแนกประเภทสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร</p> <p><input type="checkbox"/> กลุ่มวิศวกรรม</p> <p>สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (วิศวกรรม)</p> <p>สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ไฟฟ้า)</p> <p>สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ฟิสิกส์)</p>	<p><input type="checkbox"/> กลุ่มเคมี</p> <p>สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เคมีเทคนิค)</p> <p>สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ปิโตรเคมี)</p> <p>สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เทคโนโลยีชีวภาพ)</p> <p>สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เภสัชภัณฑ์)</p>	<p>สิทธิบัตรการออกแบบ</p> <p><input type="checkbox"/> สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 1)</p> <p><input type="checkbox"/> สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 2)</p> <p><input type="checkbox"/> สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 3)</p>	<p>อนุสิทธิบัตร</p> <p><input type="checkbox"/> อนุสิทธิบัตร (วิศวกรรม)</p> <p><input type="checkbox"/> อนุสิทธิบัตร (เคมี)</p>



8. การยื่นคำขออนุญาตนำเข้า <input type="checkbox"/> PCT <span style="float: right;"><input type="checkbox"/> เพิ่มเติม (ดังแนบ)</span>				
วันยื่นคำขอ	เลขที่คำขอ	ประเทศ	สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	สถานะคำขอ
8.1				
8.2				
8.3				
8.4 <input type="checkbox"/> ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอสิทธิให้ถือว่าได้ยื่นคำขอนี้ในวันที่ได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรในต่างประเทศเป็นครั้งแรกโดย <input type="checkbox"/> ได้ยื่นเอกสารหลักฐานพร้อมคำขอนี้ <input type="checkbox"/> ขอยื่นเอกสารหลักฐานหลังจากวันยื่นคำขอนี้				
9. การแสดงการประดิษฐ์หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรได้แสดงการประดิษฐ์ที่หน่วยงานของรัฐเป็นผู้จัด วันแสดง _____ วันเปิดงานแสดง _____ ผู้จัด _____				
10. การประดิษฐ์เกี่ยวกับจุลชีพ				
10.1 เลขทะเบียนฝากเก็บ		10.2 วันที่ฝากเก็บ		10.3 สถาบันฝากเก็บ/ประเทศ
11. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอยื่นเอกสารภาษาต่างประเทศก่อนในวันยื่นคำขอนี้ และจะจัดยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ที่จัดทำเป็นภาษาไทยภายใน 90 วัน นับจากวันยื่นคำขอนี้ โดยขอเป็นภาษา <input type="checkbox"/> อังกฤษ <input type="checkbox"/> ฝรั่งเศส <input type="checkbox"/> เยอรมัน <input type="checkbox"/> ญี่ปุ่น <input type="checkbox"/> อื่นๆ _____				
12. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้อธิบดีประกาศโฆษณาคำขอรับสิทธิบัตร หรือรับจดทะเบียน และประกาศโฆษณาอนุสิทธิบัตรนี้ หลังจากวันที่ _____ <input type="checkbox"/> ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอให้ใช้รูปเขียนหมายเลข _____ ในการประกาศโฆษณา				
13. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ประกอบด้วย			14. เอกสารประกอบคำขอ	
ก. แบบพิมพ์คำขอ _____ 3 หน้า			<input checked="" type="checkbox"/> เอกสารแสดงสิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	
ข. รายละเอียดการประดิษฐ์ หรือคำพรรณนาแบบผลิตภัณฑ์ _____ 2 หน้า			<input type="checkbox"/> หนังสือรับรองการแสดงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์	
ค. ข้อถ้อยสิทธิ _____ 1 หน้า			<input type="checkbox"/> หนังสือมอบอำนาจ	
ง. รูปเขียน _____ รูป _____ หน้า			<input type="checkbox"/> เอกสารรายละเอียดเกี่ยวกับจุลชีพ	
จ. ภาพแสดงแบบผลิตภัณฑ์ _____ รูป _____ หน้า			<input type="checkbox"/> เอกสารการขอรับวันยื่นคำขอในต่างประเทศเป็นวันยื่นคำขอในประเทศไทย	
ฉ. รูปเขียน _____ รูป _____ หน้า			<input type="checkbox"/> เอกสารขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ	
ฉ. ภาพถ่าย _____ รูป _____ หน้า			<input type="checkbox"/> เอกสารอื่นๆ	
ฉ. บทสรุปการประดิษฐ์ _____ 1 หน้า				
15. ข้าพเจ้าขอรับรองว่า <input checked="" type="checkbox"/> การประดิษฐ์นี้ไม่เคยยื่นขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรมาก่อน <input type="checkbox"/> การประดิษฐ์นี้ได้พัฒนาปรับปรุงมาจาก _____				
16. ลายมือชื่อ <input checked="" type="checkbox"/> ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร <input type="checkbox"/> ตัวแทน ( _____ มหาวิทยาลัยทักษิณ _____ )				

หมายเหตุ บุคคลใดยื่นขอรับสิทธิบัตรการประดิษฐ์หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ หรืออนุสิทธิบัตร โดยการแสดงข้อความอันเป็นเท็จแก่พนักงานเจ้าหน้าที่ เพื่อให้ได้ไปซึ่งสิทธิบัตรหรืออนุสิทธิบัตร ต้องระวางโทษจำคุกไม่เกินหกเดือน หรือปรับไม่เกินห้าพันบาท หรือทั้งจำทั้งปรับ

## ใบแนบต่อท้าย สป/สผ/001-ก

## 6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์

2. ชื่อ นางปริชาติ เทพทอง

ที่อยู่ 222 หมู่ที่ 2 ซ.- ถ.- ต.บ้านพร้าว อ.ป่าพะยอม จ.พัทลุง 93110 ประเทศไทย ประเทศไทย

อีเมล tsu\_parichat@hotmail.com สัญชาติ ไทย โทรศัพท์

เลขประจำตัวประชาชน 3801300432150

หน้า 1 ของ 2 หน้า

## รายละเอียดการประดิษฐ์

### ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์

กรรมวิธีการผลิตผงสารสกัดสมุนไพรไลกกับชิงค้อลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ ด้วยวิธีเชิงกล

### 5 สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์

สาขาเคมี

### ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง

สารสกัดจากสมุนไพรมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและอนุมูลอิสระที่ดี แต่มีความเสถียรต่ออนุมูลอิสระและแสงค่อนข้างต่ำเนื่องจากส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์ที่มีความว่องไวต่อการเกิดออกซิเดชันและทำปฏิกิริยาในสภาวะที่มีแสงได้ ทั้งนี้ สารสกัดที่ได้จะหนืดหรือเป็นของเหลวทำให้การประยุกต์ใช้งานและเก็บรักษาให้สมบัติทางเคมีและกายภาพเสถียรคงที่ค่อนข้างยุ่งยากและซับซ้อน

การเพิ่มความเสถียรให้กับสารอินทรีย์โดยการขึ้นรูปเป็นของแข็งเป็นกรรมวิธีที่นิยมใช้ด้วยสารอนินทรีย์ที่เป็นมิตรต่อเซลล์และสิ่งแวดล้อมเป็นวัสดุไฮดรอกไซด์ แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานสิ่งประดิษฐ์และจดอนุสิทธิบัตรเกี่ยวกับการนำมาประยุกต์ใช้กับสารสกัดสมุนไพร ชิงค้อลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ เป็นวัสดุอนินทรีย์ที่ประกอบด้วยธาตุที่จำเป็นในปริมาณน้อยในระบบร่างกายและมีสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและป้องกันแสงยูวี นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและขนส่งไปยังบริเวณเป้าหมายได้

วิธีเชิงกล เป็นการผสมสารตั้งแต่ 2 ชนิด ผ่านการบดสารเข้าด้วยกันให้เป็นผงละเอียด โดยไม่ต้องใช้ตัวทำละลายอันตราย ประหยัดค่าใช้จ่ายและเวลา และไม่ซับซ้อน เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีไฮโดรเทอร์มอล (hydrothermal) และโซลโวเทอร์มอล (solvothermal)

ดังนั้น การพัฒนาผลิตภัณฑ์ผงคอมโพสิตระหว่างสารสกัดจากสมุนไพรไลกกับ ชิงค้อลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ เป็นกระบวนการใหม่ และยังช่วยควบคุมการปลดปล่อยเพื่อเพิ่มฤทธิ์ทางชีวภาพและการต้านแบคทีเรีย นอกจากนี้ ผงคอมโพสิตที่มีความเสถียรต่ออนุมูลอิสระและแสงสูงสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานและเก็บรักษาได้ง่าย

### 25 ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์

กระบวนการการผลิตผงสารสกัดสมุนไพรไลกกับชิงค้อลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ โดยการประยุกต์ใช้วัสดุไฮดรอกไซด์อนินทรีย์ ชิงค้อลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ ที่ปลดปล่อยต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม มีโครงสร้างเสถียรและสมบัติการต้านแบคทีเรีย มาผสมกับสารสกัดสมุนไพรไลกด้วยวิธีเชิงกลที่ไม่ต้องใช้ตัวทำละลายอันตราย ประหยัดค่าใช้จ่ายและเวลา และไม่ซับซ้อน เพื่อเกิดผงสารคอมโพสิตที่ให้ประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียสูง มีความเสถียรต่ออนุมูลอิสระและแสงสูงโดยสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานและเก็บรักษาได้ง่าย

### การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

กรรมวิธีการผลิตผงสารสกัดสมุนไพรไลกกับชิงค้อลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ ด้วยวิธีเชิงกล มีส่วนประกอบ

35 1) สารสกัดจากสมุนไพรไลก 2) ชิงค้อลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ ในอัตราส่วน 1 : 5 โดยน้ำหนัก โดยมีกรรมวิธีการผลิต ดังนี้

1 ขั้นตอนการสารสกัดจากสมุนไพรไลก มีกรรมวิธีการผลิต ดังนี้

## หน้า 2 ของ 2 หน้า

- ก. นำเหง้าไหลสดมาทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นบาง ๆ แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
  - ข. นำมาบดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปสกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 95 โดยมวลต่อปริมาตร เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ภายใต้การเขย่าทุก ๆ 15 นาที แล้วตามด้วยการใช้เทคนิคอัลตราโซนิก ที่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ เป็นเวลา 30 นาที
  - ค. นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน ที่ 40 องศาเซลเซียส แล้วทำให้แห้งด้วยด้วยการแช่เยือกแข็ง จะได้โดยสารสกัดจากสมุนไพร
- 2 ขั้นตอนการผลิตซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ มีกรรมวิธีการผลิต ดังนี้
- ก. ละลาย ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต 120 มิลลิโมล และอะลูมิเนียมซัลเฟตออกตะเดคะไฮเดรต 40 มิลลิโมล ด้วยน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ แล้วคนสารด้วยแท่งแม่เหล็ก
  - ข. ปรับ pH ด้วยสารละลายแอมโมเนียเข้มข้นที่ละลาย ภายใต้อการคนสารด้วยแท่งแม่เหล็กอย่างรวดเร็ว จนได้ pH ของสาร เท่ากับ 9.5
  - ค. ปิดบีกเกอร์ด้วยแผ่นอะลูมิเนียม 2 ชั้น ทำการบ่มสารที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ในตู้อบสารเป็นเวลา 1 วัน
  - ง. ล้างตะกอนด้วยน้ำปราศจากไอออน จนได้ pH ของสารละลายส่วนใสด้านบนเป็นกลางทางไฟฟ้า และล้างอีก 3 รอบ ด้วยเอทานอล
  - จ. นำสารที่ได้ไปอบสารให้แห้ง แล้วบดให้เป็นผงละเอียด จะได้ ซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์
3. ทำการชั่งน้ำหนัก สารสกัดจากสมุนไพร 1 กรัม และ ซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ 5 กรัม
  4. ผสมสารลงในโถรงบดสารแล้วบดรวมกันเป็นผงละเอียดเป็นเวลา 30 นาที โดยใช้อะซิโตนเป็นสารผสม จะได้ผงคอมโพสิตระหว่างสารสกัดจากสมุนไพรกับ ซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์

## วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด

- 25 เหมือนกับที่ได้บรรยายไว้ในกาเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

### ข้อถ้อยสัญญา

1. ผงคอมโพสิตด้วยวิธีเชิงกล มีส่วนประกอบ 1) สารสกัดจากสมุนไพรไพรไพล และ 2) ชิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ ในอัตราส่วน 1:5 โดยน้ำหนัก
2. กรรมวิธีการผลิตผงคอมโพสิตระหว่างสารสกัดจากสมุนไพรไพรไพลและ ชิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ ตามข้อถ้อยสัญญา 1 ด้วยวิธีเชิงกล ดังนี้
  - 1 ขั้นตอนการสารสกัดจากสมุนไพรไพรไพล มีกรรมวิธีการผลิต ดังนี้
    - ก. นำเหง้าไพรไพลสดมาทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นบาง ๆ แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
    - ข. นำมาบดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปสกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 95 โดยมวลต่อปริมาตร เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ภายใต้การเขย่าทุก ๆ 15 นาที แล้วตามด้วยการใช้เทคนิคอัลตราโซนิก ที่ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ เป็นเวลา 30 นาที
    - ค. นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน ที่ 40 องศาเซลเซียส แล้วทำให้แห้งด้วยด้วยการแช่เยือกแข็ง จะได้โดยสารสกัดจากสมุนไพรไพรไพล
  - 2 ขั้นตอนการผลิตชิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ มีกรรมวิธีการผลิต ดังนี้
    - ก. ละลาย ชิงค์ซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต 120 มิลลิโมล และอะลูมิเนียมซัลเฟตออกตะเดคะไฮเดรต 40 มิลลิโมล ด้วยน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ แล้วคนสารด้วยแท่งแม่เหล็ก
    - ข. ปรับ pH ด้วยสารละลายแอมโมเนียเข้มข้นที่ละลายหยด ภายใต้การคนสารด้วยแท่งแม่เหล็กอย่างรวดเร็ว จนได้ pH ของสาร เท่ากับ 9.5
    - ค. ปิดบีกเกอร์ด้วยแผ่นอะลูมิเนียม 2 ชั้น ทำการบ่มสารที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ในตู้อบสาร เป็นเวลา 1 วัน
    - ง. ล้างตะกอนด้วยน้ำปราศจากไอออน จนได้ pH ของสารละลายส่วนใสด้านบนเป็นกลางทางไฟฟ้า และล้างอีก 3 รอบ ด้วยเอทานอล
    - จ. นำสารที่ได้ไปอบสารให้แห้ง แล้วบดให้เป็นผงละเอียด จะได้ ชิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์
3. ทำการชั่งน้ำหนัก สารสกัดจากสมุนไพรไพรไพล 1 กรัม และ ชิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ 5 กรัม
4. ผสมสารลงในโถรงบดสารแล้วบดรวมกันเป็นผงละเอียดเป็นเวลา 30 นาที โดยใช้อะซิโตนเป็นสารผสม จะได้ผงคอมโพสิตระหว่างสารสกัดจากสมุนไพรไพรไพลกับ ชิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์

หน้า 1 ของ 1 หน้า

### บทสรุปการประดิษฐ์

กระบวนการประยุกต์ใช้วัสดุโอสต่อนินทรีย์ ซึ่งอะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ ที่ปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม มีโครงสร้างเสถียรและสมบัติการต้านแบคทีเรีย มาผสมกับสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธีเชิงกลที่ไม่ต้องใช้ตัวทำละลายอันตราย ประหยัดค่าใช้จ่ายและเวลา และไม่ซับซ้อน เพื่อเกิดผงสารคอมโพสิตที่

5 ให้ประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียสูง มีความเสถียรต่ออุณหภูมิและแสงสูงโดยสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานและเก็บรักษาได้ง่าย



## รายงานการวิจัย

การพัฒนาตำรับสบู่ไพโลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ ที่มี

ประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรีย

The development of *Zingiber montanum* ZnAl-layered double  
oxide soap with high effectiveness for antioxidant and  
antibacterial activities

ภายใต้ชุดโครงการวิจัยเรื่อง

สบู่ไพโลประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียด้วยนวัตกรรมการขนส่ง  
สารที่ยึดการปลดปล่อย

ดร.สุกาญจนา กำลังมาก

ดร.นิดา น้อยเด็น

คณะวิทยาการสุขภาพและการกีฬา มหาวิทยาลัยทักษิณ

นางสาวเบญจวรรณ บัวขวัญ

สำนักส่งเสริมการบริการวิชาการและภูมิปัญญาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้

ประเภททุนพัฒนาแผนงานริเริ่มสำคัญ (Flagship) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565

มหาวิทยาลัยทักษิณ

## บทคัดย่อ

หัวข้อวิจัย	การพัฒนาตำรับสมุนไพรชิงค้อละมุนเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ ที่มีประสิทธิภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรีย
ผู้ดำเนินการวิจัย	สุกาญจนา กำลิ่งมาก นิดา น้อยเต็ม และเบญจวรรณ บัวขวัญ
หน่วยงาน	คณะวิทยาการสุขภาพและการกีฬา มหาวิทยาลัยทักษิณ
ปี พ.ศ.	2566

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ ดังนี้ (1) เพื่อพัฒนาตำรับ (2) เพื่อศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพและความคงตัว (3) เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และต้านแบคทีเรีย และ (4) เพื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของตำรับสมุนไพรชิงค้อละมุนเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ ผลการวิจัยพบว่า การพัฒนาตำรับสมุนไพรชิงค้อละมุนเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ (S-PZ) จำนวน 9 สูตร พบว่าทุกสูตรมีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีตามเกณฑ์กำหนด มอก. และสูตร S-PZ9 เป็นสูตรที่ดีที่สุด จึงนำมาทดสอบการปลดปล่อยสารสำคัญ พบว่าสารสกัดโพลชิงค้อละมุนเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ (PZ) และ ตำรับ S-PZ สามารถปลดปล่อยสารสำคัญในช่วง 1 และ 5 นาที่ ไม่แตกต่างจากสารสกัดโพล ตำรับ S-PZ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีค่าปริมาณรวมฟีนอลิกเท่ากับ  $60.04 \pm 2.42$  mg GAE/g extract นอกจากนี้ตำรับ S-PZ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermis* ตั้งแต่ 5 นาที่ที่ตัวอย่างสัมผัสเชื้อ ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ เมื่อทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง มีการเปลี่ยนแปลงกลิ่นเล็กน้อย แต่ในขณะเดียวกันเมื่อทดสอบระยะยาว 4 เดือน พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง PZ จึงเหมาะสมที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในการปลดปล่อยยาและพัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่เพื่อวางขายในท้องตลาดได้ต่อไปในอนาคตได้

**คำสำคัญ**      สบู่ ชิงค้อละมุนเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ โพล ต้านอนุมูลอิสระ ต้านแบคทีเรีย



## Abstract

<b>Research Title</b>	The development of <i>Zingiber montanum</i> ZnAl-layered double oxide soap with high effectiveness for antioxidant and antibacterial activities
<b>Researcher</b>	Sukanjana Kamlungmak Nida Nuiden and Benjawan Beaukwan
<b>Organization</b>	Faculty of health and sports science Thaksin University
<b>Year</b>	2023

The objectives of this study were (1) to develop the formula, (2) to study its physical properties and stability, (3) to test its antioxidant activity, and (4) to test the cytotoxicity of *Zingiber montanum* ZnAl-layered double oxide soap formulations (S-PZ). According to Thai Industrial Standard criteria, the formula has physical and chemical properties, and S-PZ9 is the best formula. Therefore, it was evaluated the release of essential substances. We found that *Zingiber montanum* ZnAl-layered double oxide extract (PZ) and S-PZ formulations can release active substances in 1 and 5 minutes, like *Zingiber montanum* extracts. S-PZ formulations had antioxidant activity; the total phenolic content was  $60.04 \pm 2.42$  mg GAE/g extract. In addition, S-PZ had an inhibitory effect on *S. aureus* and *S. epidermis* after 5 minutes of exposure to bacteria cells. S-PZ had no cytotoxicity. When testing stability under accelerated conditions, there is a slight change in odor. However, it was found that there was no change at the same time, after 4 months of long-term testing. Thus, PZ was be applied in drug release and the development of soap.

**Keywords** Soap, ZnAl-layered double oxide, Phlai (*Zingiber montanum*)  
Antioxidant activity, Antibacterial activity

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาอย่างสูงจาก ศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ ที่ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำในด้านต่าง ๆ และให้ความรู้ทั้งทางทฤษฎีและ ทางปฏิบัติ ตลอดจนแนวคิดในการทำงานอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา รวมถึงห้องปฏิบัติการในการทำการทดลอง จึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบคุณคณะบุคลากรที่เกี่ยวข้อง คณะวิทยาการสุขภาพและการกีฬา มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ อุปกรณ์ในการปฏิบัติงานด้านการวิจัย ตลอดจนคำแนะนำและการสนับสนุนด้านอื่น ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการปฏิบัติงานวิจัยในโครงการนี้ด้วยดีตลอดมา

ทั้งนี้ งานวิจัยนี้จะประสบความสำเร็จไม่ได้ ถ้าไม่ได้รับการสนับสนุนเงินทุนวิจัยจากกองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยทักษิณ ประเภททุนรายได้ จึงขอขอบพระคุณทุกท่านที่เกี่ยวข้อง ไว้ ณ ที่นี้ด้วย

และสุดท้ายขอขอบคุณนิสิตและท่านที่เกี่ยวข้องที่ช่วยงานวิจัย ตลอดจนขอขอบพระคุณ คณาจารย์และคุณครูทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และประสบการณ์ เป็นผลให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

คณะผู้จัดทำ

2566

## สารบัญเรื่อง

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

กิตติกรรมประกาศ

สารบัญเรื่อง

สารบัญตาราง

สารบัญภาพ

<b>บทที่ 1</b>	<b>บทนำ</b>	<b>1</b>
	ความเป็นมาและความสำคัญ	1
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
	ขอบเขตการวิจัย	2
	สมมติฐานการวิจัย	3
	คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย	3
	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>บทที่ 2</b>	<b>แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>4</b>
	สารพฤษเคมี	4
	สารต้านอนุมูลอิสระ	4
	สบู	5
	กรอบแนวคิดในการวิจัย	14

	หน้า
<b>บทที่ 3    วิธีดำเนินการวิจัย</b>	15
การเตรียมสูตรตำรับสบู์ไฟลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์	15
การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ	16
การศึกษาการปลดปล่อยตัวสารสำคัญด้วยเทคนิค Dialysis test	16
การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT assay	17
การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ	17
การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งและต้านแบคทีเรีย	18
การศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์	18
 <b>บทที่ 4    ผลการวิจัย</b>	19
การเตรียมสูตรตำรับสบู์ไฟลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์	19
การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ	21
การศึกษาการปลดปล่อยตัวสารสำคัญด้วยเทคนิค Dialysis test	24
การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ	24
การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งและต้านแบคทีเรีย	24
การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT assay	27
การศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์	27
 <b>บทที่ 5    สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ</b>	30
สรุปผลการวิจัย	30
อภิปรายผล	31
ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้	32
ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป	32
 <b>บรรณานุกรม</b>	33

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ปริมาณกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันหรือไขมันชนิดต่าง ๆ	6
2.2.	สมบัติทางเคมีของกรดไขมันที่พบในสัตว์และพืชที่นิยมนำมาทำสบู่	8
2.3	ค่าสะaponิฟิเคชัน (Saponification value: SV) ของไขมันและน้ำมัน	10
2.4	คุณลักษณะทางเคมีสบู่	12
3.1	ตำรับสบู่โฟลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์	15
4.1	ตำรับสบู่ผสมสารสกัดสกัดโพลีที่บรรจุในซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์	20
4.2	คุณสมบัติทางกายภาพสบู่โฟลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์	22
4.3	คุณสมบัติทางเคมีสบู่โฟลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์	22
4.4	ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH	25
4.5	ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP	25
4.6	ผลการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents)	26
4.7	ผลการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งและต้านแบคทีเรีย <i>S. aureus</i> และ <i>S. epidermis</i>	26
4.8	ผลการประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์ระยะยาว	29
4.9	ผลการประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์ระยะสั้น	29

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชัน	5
2.3	การเกิดไคลสบู	6
4.1	การทดลองผลิตเบสสบู่และการขึ้นรูปสบู่	19
4.2	สบู่ผสมสกัดไพลที่บรรจุอยู่ซึ่งคอะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ (S-PZ1-9)	20
4.3	การปลดปล่อยสารสกัดไพลจาก PE PE50 PE75 PZ S-PZ	24
4.4	Live cells ของ <i>S. aureus</i> ที่เวลา 5 นาที หลังเติมตัวอย่าง	27
4.5	Live cells ของ <i>S. aureus</i> ที่เวลา 5 นาที หลังเติมตัวอย่าง <i>S. epidermis</i>	27
4.6	ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT assay	28

## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความเป็นมาและความสำคัญ

ปัจจุบันได้มีการนำเอาเทคโนโลยีมาใช้ในการพัฒนาส่วนผสมที่อยู่เครื่องสำอางเป็นจำนวนมาก [1] ซึ่งสารออกฤทธิ์ในเครื่องสำอางในปัจจุบัน จะเป็นสารสกัดจากสมุนไพร ซึ่งสารสกัดมักไม่ค่อยเสถียรที่อุณหภูมิสูง หรือ อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง และยังพบว่าสารสกัดจะลดความสามารถในการทำงานลงหรือลดประสิทธิภาพ เมื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ การพัฒนาระบบนำส่งยาในรูปแบบต่างๆ จึงเป็นนวัตกรรมที่นิยมนำมาช่วยเพิ่มความเสถียรให้กับสารสกัดสมุนไพร วิตามินซี และสารออกฤทธิ์ที่ไม่เสถียรอื่น ๆ ช่วยยืดการออกฤทธิ์ หรือ ควบคุมการปลดปล่อยได้ และยังสามารถไปออกฤทธิ์ที่บริเวณเป้าหมายได้ [2] ซึ่งระบบนำส่งยาที่นิยมคือการ ใช้ตัวขนส่ง (carrier) ที่นิยมคือวัสดุเลเยอร์อินทรีย์ เช่น ซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ (ZnAl-LDO) ที่มีองค์ประกอบหลักเป็นซิงค์ออกไซด์ (ZnO) เพราะมีพื้นที่ผิวมาก มีประจุพื้นผิวเป็นบวก มีรูพรุน ขนาดไมโครและนาโนเมตรจำนวนมาก มีความเสถียรต่อความร้อนและสารเคมีสูง นอกจากนี้ ZnO ยังมีสมบัติต้านแบคทีเรียได้ดีและช่วยดูดกลืนแสงยูวี นำเป็นส่วนผสมในสบู่หรือผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่าง ๆ มากมาย

จากปัญหาที่สารสกัดสมุนไพรจะลดความสามารถในการทำงานลงหรือลดประสิทธิภาพเมื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ จึงต้องนำกระบวนการการวิจัยและพัฒนา (Research and Development; R&D) จึงเป็นกระบวนการสำคัญในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ และสามารถพิสูจน์คุณสมบัติของสารนำส่งยา [3] เมื่อนำมาผสมลงในเบสของผลิตภัณฑ์จะสามารถคงตัว และปลดปล่อยสารสำคัญออกมาได้ดีหรือไม่ ๆ ดังนั้น การนำเทคโนโลยีหรือนวัตกรรมที่ควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญจากสารสกัดไพล โดยใช้ซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ (ZnAl-LDO) เพิ่มความเสถียร และสมบัติการต้านแบคทีเรียมาแก้ปัญหาก็เป็นเรื่องที่น่าสนใจ โดยสอดคล้องกับยุทธศาสตร์มหาวิทยาลัยทักษิณในประเด็นริเริ่มสำคัญ (Flagship) “วิจัยและพัฒนาต่อยอดภูมิปัญญาสมุนไพรพื้นถิ่น (ไพล) ให้มีมูลค่าสูง” เพื่อสร้างนวัตกรรมผู้ประกอบการเพื่อเพิ่มขีดความสามารถการแข่งขันระดับประเทศ ไพล (zingiber montanum) เป็นสมุนไพรท้องถิ่นในพืชมงคล นิยมปลูกเพื่อการรักษาตามภูมิปัญญาชาวบ้าน ซึ่งไพลมีสรรพคุณในแทบทุก ๆ ส่วน โดยเฉพาะเหง้าที่มีสารสำคัญเป็นกลุ่ม Terpinen ที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และน้ำมันหอมระเหยในการต้านแบคทีเรียและให้กลิ่นเฉพาะ โดยปัจจุบันได้มีการนำเป็นส่วนผสมในสบู่หรือผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่าง ๆ มากมาย แต่อย่างไรก็ตาม สารสำคัญเหล่านี้ไม่ค่อยเสถียรที่อุณหภูมิสูง และเกิดออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศได้ง่าย และฤทธิ์การต้านแบคทีเรียยังต่ำ หากนำระบบนำส่งยาซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ (ZnAl-LDO) ที่นิยมนำมาช่วยเพิ่มความเสถียรให้กับสารสมุนไพรเป็นไปได้ว่าจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของตำรับสบู่ที่มีส่วนผสมของสารสกัดไพล

สบู่ก้อนยังเป็นที่นิยมมากกว่าสบู่เหลว พบว่าคนไทยส่วนใหญ่ 70-80% ยังนิยมใช้เพราะสบู่ก้อนอยู่คู่กับคนไทยมาช้านาน คนส่วนใหญ่คุ้นเคยกับการทำความสะอาดโดยใช้สบู่ก้อนมาถูที่ผิวแล้วเกิดฟองตลาดสบู่ก้อนในบ้านเราจึงมีให้เลือกหลากหลายและนิยมกันมาก โดยเฉพาะคนไทยในต่างจังหวัดมีพฤติกรรม

การเลือกใช้สบู่อ่อนเกือบร้อยละ 90 โดยจะเลือกจากส่วนผสมที่นำมาใช้ – สรรพคุณของผลิตภัณฑ์ เพราะจะมีผลต่อการตัดสินใจซื้อมากที่สุด สบู่อ่อนจึงมีจุดแข็งและโอกาสในการพัฒนาเพื่อแข่งขันในท้องตลาด [4,5] ดังนั้นโครงการวิจัยจะพัฒนาต้นแบบสบู่อ่อนด้วยนวัตกรรมด้วยระบบนำส่งสารสกัดไพลที่ยึดการปลดปล่อยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรีย ทั้งนี้ สบูไพลยังมีเม็ดนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ช่วยเพิ่มการต้านแบคทีเรีย การสครับ และป้องกันแสงยูวี เมื่อได้ต้นแบบสบู่อ่อนที่พัฒนาขึ้น ก็จะสามารถนำเทคโนโลยีดังกล่าวมาถ่ายทอดให้กับวิสาหกิจชุมชนเพื่อส่งเสริมและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรในท้องถิ่นจังหวัดพัทลุง เพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ในวิสาหกิจชุมชน และเพื่อสร้างนวัตกรรมผู้ประกอบการ ซึ่งสอดคล้องกับยุทธศาสตร์มหาวิทยาลัยทักษิณ (ประเด็นที่ 3) ที่เน้นนวัตกรรมผู้ประกอบการ โดยงานวิจัยนี้มีเป้าประสงค์เพื่อสร้างนวัตกรรมผู้ประกอบการเพื่อเพิ่มขีดความสามารถการแข่งขันระดับประเทศ ในประเด็นการวิจัยวิจัยและพัฒนาต่อยอดภูมิปัญญาสมุนไพรพื้นถิ่น (ไพล) ให้มีมูลค่าสูง ภายในปี 2564 – 2568 โดยกรอบใหญ่ของงานวิจัยมีความสอดคล้องกับยุทธศาสตร์การอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม พ.ศ. 2563 – 2570 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตำรับสบูไพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ ทดสอบลักษณะทางกายภาพและความคงตัว ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านแบคทีเรียและทดสอบความเป็นพิษในเซลล์ของตำรับสบูไพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิล ออกไซด์ เปรียบเทียบกับสารสกัดและซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ที่บรรจุสารสกัดไพล และมุ่งเป้าเพื่อให้เกิดผลิตภัณฑ์ต้นแบบเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่กลุ่มเป้าหมายต่อไป

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 6.1 เพื่อพัฒนาตำรับสบูไพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์
- 6.2 เพื่อศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพและความคงตัวของตำรับสบูไพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์
- 6.3 เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และต้านแบคทีเรียของตำรับสบูไพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์
- 6.4 เพื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของตำรับสบูไพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์

### ขอบเขตการวิจัย

รูปแบบการวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยและพัฒนา (R&D) ซึ่งเป็นการพัฒนาสบูไพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ โดยทำการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ pH ปริมาณฟอง และการสีกร่อน การทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง โดยใช้วิธี ใช้วิธี Freeze and Thaw cycle และการทดสอบระยะยาวที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 4 เดือน การทดสอบการปลดปล่อย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย และความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยใช้ Human fibroblast cell line (BJ)



## สมมติฐานการวิจัย

สบู่ไฟลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ควบคุมการปลดปล่อยสารสกัดไฟลได้ดีกว่าแอโรโทนิคจากสารสกัดไฟล

สบู่ไฟลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ควบคุมการปลดปล่อยสารสกัดไฟลเท่ากับซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ที่บรรจุสารสกัดไฟล

## คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย

(ภาษาไทย) สบู่ ซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ ไฟล ด้านอนุมูลอิสระ ด้านแบคทีเรีย

(ภาษาอังกฤษ) Soap ZnAl-layered double oxide Phlai (*Zingiber montanum*) Antioxidant activity, Antibacterial activity

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ต้นแบบสบู่ไฟลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ และเผยแพร่เชิงวิชาการในวารสารระดับชาติ

TCI1 หรือ นานาชาติ Scopus หรือการจดอนุสิทธิบัตร

ได้ถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตสบู่แก่กลุ่มวิสาหกิจชุมชน

## บทที่ 2

### แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### สารพฤกษเคมี

สารเคมีที่พบในพืชมีจำนวนมาก สามารถแบ่งกลุ่มสารเคมีในพืชตามสารตั้งต้น (Biosynthesis origin) ของสารเคมีเหล่านี้ได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ สารปฐมภูมิ (Primary metabolites) และสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites)

สารปฐมภูมิเป็นสารเคมีพื้นฐานที่พบในพืชชั้นสูงโดยทั่วไป พบได้ในพืชเกือบทุกชนิด เป็นกลุ่มสารที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมที่จำเป็น (Essential metabolism) ของเซลล์ส่วนใหญ่ เป็นสารที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช และกระบวนการชีวสังเคราะห์กรดอะมิโนบางชนิด สารปฐมภูมิได้แก่ คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrates) ไขมัน (Lipid) โปรตีน กรดอะมิโนและเอนไซม์ (Enzymes)

สารทุติยภูมิเป็นสารประกอบที่พบแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิดเชื่อว่าสารเหล่านี้เกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ในพืช สารเหล่านี้มักจะแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามสารทุติยภูมิก็ยังเกี่ยวข้องในวงจรเมตาบอลิซึมพื้นฐานของเซลล์ที่มีชีวิต สารทุติยภูมิที่พบในพืชแต่ละชนิด ตัวอย่างเช่น แอลคาลอยด์ ไกลโคไซด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ ซาโปนิน [6]

#### สารต้านอนุมูลอิสระ

สารอนุมูลอิสระ (Free radicals) หรือ Reactive Oxygen Species (ROS) เป็นโมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอกและมีอายุสั้นมาก จัดเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี จึงทำปฏิกิริยากับโมเลกุลต่าง ๆ ภายในร่างกาย เพื่อให้สารอนุมูลอิสระนั้นมีความเสถียรมากขึ้น แหล่งที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระในตัวตน มี 2 แหล่ง คือ จากภายในร่างกาย เช่น การเผาผลาญอาหาร การหายใจ การออกกำลังกาย และจากแหล่งภายนอกร่างกายที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระ ได้แก่ ความเครียด การติดเชื้อ มลพิษในอากาศ เป็นต้น อนุมูลอิสระมีหลายชนิด โดยชนิดที่สำคัญ ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน (Superoxide anion) ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide) ไฮดรอกซิลแรดิคัล (Hydroxyl radical) เมื่อมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นจึงเกิดการทำลายโมเลกุลอื่น ๆ ต่อเนื่องกันเป็นลูกโซ่ส่งผลให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อร่างกาย เกิดริ้วรอยเหี่ยวย่น บนใบหน้า รอบดวงตา และผิวพรรณ รวมทั้งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคหัวใจขาดเลือด ต้อกระจก ความดันโลหิตสูง อัลไซเมอร์ เบาหวาน และมะเร็ง เป็นต้น ปกติภายในร่างกายมีกลไกป้องกัน การโจมตีจากอนุมูลอิสระโดยอาศัยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นในร่างกาย เช่น เอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD), Catalase และ Glutathione peroxidase เป็นต้น แต่การสร้างสารต้านอนุมูลอิสระยังไม่เพียงพอและมีขีดจำกัด ประกอบกับเมื่ออายุมากขึ้น ร่างกายจะสร้างสารต้านอนุมูลอิสระได้น้อยลง ดังนั้นร่างกายจึงควรรับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกด้วยเช่นกัน สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารแอนติออกซิแดนซ์ (Antioxidants) ที่รู้จักกันดี ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี ซีลีเนียม เบต้าแคโรทีน วิตามินเอ และพฤกษเคมีต่าง ๆ (Phytochemical) เช่น โพลีฟีนอล (Polyphenol) และไอโซฟลาโวน (Isoflavone) เป็นต้น

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณเป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่าง ๆ วิธีที่นิยม ได้แก่ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH<sup>•</sup>) วิธีการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS<sup>•+</sup>) และการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) ซึ่งวิธีการดังกล่าวข้างต้นจะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนและวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจ โดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือจากค่าการดูดกลืนแสง [7]

### สบู่ (Soap) [8]

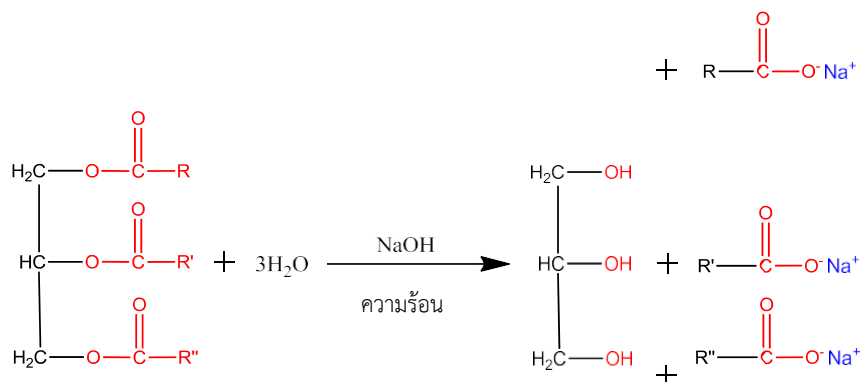
สบู่ เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับใช้ทำความสะอาดร่างกายที่ได้จากปฏิกิริยาของด่างกับไขมัน หรือน้ำมันจากพืชหรือสัตว์ ปัจจุบันสบู่มีการใช้ส่วนผสมชนิดต่าง ๆ เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของสบู่ ให้มีลักษณะพิเศษตรงตามความต้องการใช้งานที่หลากหลายขึ้น

สะปอนนิฟิเคชัน (Saponification) เป็นปฏิกิริยาไฮโดรลิซิสของไตรกลีเซอไรด์ (Triglycerides) โดยมีโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide NaOH) หรือโพแทสเซียม

ไฮดรอกไซด์ (Potassium hydroxide KOH) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะได้เกลือของกรดไขมันหรือที่เรียกว่า สบู่ (Soap) และไขมัน (Fat) หรือน้ำมัน (Oil) นั้น เป็นสารประกอบไตรกลีเซอไรด์

เป็นสารประกอบเอสเทอร์ เมื่อนำมาทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์ จะได้กลีเซอรอล และสบู่ ที่เป็นเกลือโซเดียมของกรดไขมันชนิดนั้น ๆ ดังภาพที่ 2.1 กลีเซอรอลที่ได้มีคุณสมบัติเป็นสาร

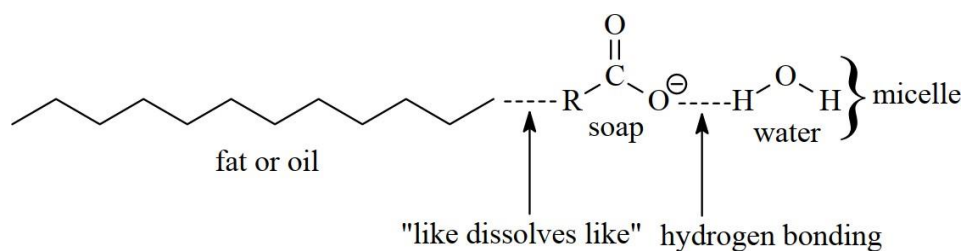
ให้ความชุ่มชื้น บำรุงผิว และไม่เป็นอันตรายต่อผิว ในทางอุตสาหกรรมเครื่องสำอางนำกลีเซอรอล ไปใช้กับ ครีม โลชั่น และใช้ผลิตพลาสติก รวมทั้งใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา เป็นสารให้ความหวาน



ภาพที่ 2.1 ปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชัน

### 1. คุณสมบัติการทำความสะอาดของสบู่

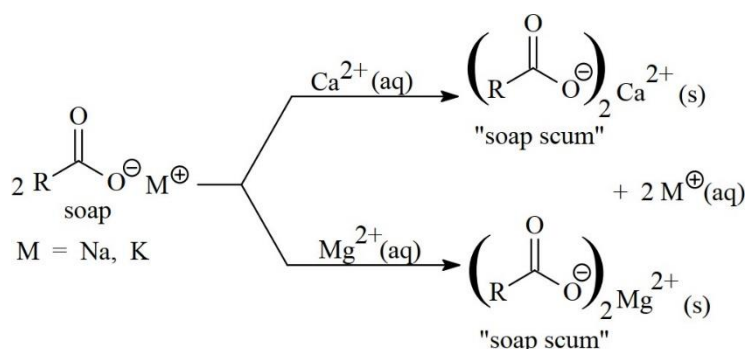
โมเลกุลของสบู่เป็นเกลือของกรดไขมัน ซึ่งกรดไขมันเป็นสารไฮโดรคาร์บอนสายยาว ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีขั้วต่อกับโซเดียมคาร์บอกซิเลต ( $-\text{COO}^-\text{Na}^+$ ) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ไม่มีขั้ว การใช้สบู่ ทำความสะอาดไขมันหรือสิ่งสกปรก อธิบายกลไกการชำระล้างสิ่งสกปรกได้ดังนี้ เมื่อสบู่ละลายในน้ำจะแตกตัวให้โซเดียมไอออนและหมู่  $\text{COO}^-$  ซึ่งจับกันเป็นกลุ่มโดยหันด้านขั้วลบเข้าหาโมเลกุลของน้ำที่ล้อมรอบจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจน [8] ดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 การทำความสะอาดโดยการเกิดไมเซลล์ของสบู่

ส่วนด้านที่ไม่มีขั้ว จะล้อมรอบหยดน้ำมันและสิ่งสกปรกที่ไม่มีขั้วเหมือนกัน ตามหลักการละลาย “Like dissolves like” เกิดเป็นไมเซลล์ ทำให้สิ่งสกปรกหลุดออกมาและแพร่กระจายอยู่ในน้ำในรูปของอิมัลชันจึงใช้สบู่ทำความสะอาดได้

สบู่เป็นสารที่ใช้ชำระล้างคราบสกปรกต่าง ๆ ได้ แต่ถ้าใช้สบู่กับน้ำกระด้างจะไม่เกิดฟอง และส่งผลให้ประสิทธิภาพการทำความสะอาดลดลง เนื่องจากในน้ำกระด้างมีแคลเซียมไอออนและ แมกนีเซียมไอออน เมื่อไอออนเหล่านี้รวมตัวกับไอออนลบของสบู่ จะเกิดเกลือแคลเซียมหรือ แมกนีเซียมของกรดไขมันที่ไม่ละลายน้ำ ลอยเป็นฝ้าอยู่บนผิวน้ำซึ่งเรียกว่า ไคลสบู่ (Scum) เขียนสมการแสดงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้ [9] ดังภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 การเกิดไคลสบู่

## 2. ชนิดของสบู่ [8-9]

สมัยก่อนการเตรียมสบู่ทำโดยการต้มไขมันสัตว์กับน้ำขี้เถ้า ปัจจุบันโซเดียม ไฮดรอกไซด์จะได้สบู่ก้อน และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์จะได้สบู่เหลว ดังนี้

2.1 สบู่ก้อน มีลักษณะเป็นก้อนแข็งสีขาวขุ่นหรือมีสีต่าง ๆ ตามสีของสารเติมแต่ง เช่น สีสมุนไพร จากการเติมสมุนไพรต่าง ๆ ลงไป หรือใส่สีสังเคราะห์ ลงไป สบู่ชนิดนี้ใช้น้ำมัน หรือไขมันเป็นสารตั้งต้น เป็นวัตถุดิบสำคัญในการทำปฏิกิริยากับด่างตามที่กล่าวมาข้างต้น จะได้ สบู่ ที่ให้คุณสมบัติเป็นก้อนแข็ง ให้ฟองดี

### 2.2 สบู่ก้อนใส (Melt and pour soap) หรือเรียกว่า สบู่กลีเซอริน เป็นผลิตภัณฑ์

ที่มีลักษณะก้อนใสหรือค่อนข้างใสตามสัดส่วนของกลีเซอรินที่ผสม ก้อนสบู่จะมีลักษณะอ่อนกว่า สบู่แบบแรก สบู่ชนิดนี้ได้มาจากการนำสบู่ก้อนมาละลายด้วยแอลกอฮอล์ และเติมสารที่ช่วยให้ใส เช่น กลีเซอริน หรือน้ำตาลลงไป สบู่จะมีลักษณะใส สามารถนำมาหลอมเหลวด้วยความร้อน เมื่อทิ้งให้เย็นกลับจะเป็นก้อนได้

ใหม่จึง เป็นที่นิยมสำหรับผู้ทำสบู่รายย่อยแบบโฮมเมด เพราะขั้นตอนทำได้ไม่ยุ่งยาก เนื่องจากมีบริษัททำสบู่ก้อนในนี้จำหน่ายเพื่อให้ลูกค้านำมาทำสบู่ ต่อตามรูปแบบและสีที่ต้องการ โดยเรียกสบู่ที่ว่าเบสสบู่ ลูกค้าสามารถซื้อเบสสบู่มาหลอมด้วยความร้อนให้ละลาย แล้วเติมสี น้ำหอมและสมุนไพรลงไป จากนั้นเทในเบ้าซิลิโคน ที่มีรูปร่าง ต่าง ๆ ทั้งให้เย็นแกะออกจากเบ้าจะได้สบู่ใสที่มีรูปร่าง กลิ่น และสีตามต้องการ

2.3 สบู่เหลว เป็นสบู่ที่มีน้ำเป็นส่วนผสม 13 เท่าของเนื้อสบู่ ทำให้เนื้อสบู่เหลว สีสนต่าง ๆ ตามสารเติมแต่ง สบู่ชนิดนี้ได้จากปฏิกิริยาข้างต้นเหมือนชนิดก้อน แตกต่างกัน ที่จะใช้ต่างโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์แทนโซเดียมไฮดรอกไซด์ เพราะจะให้เนื้อสบู่อ่อนตัวดีกว่า

### 3. ลักษณะของสบู่ที่ดี [9]

สมบัติที่สำคัญของสบู่ที่ใช้ทำความสะอาดได้ดีต้องมีฟองในระดับที่เหมาะสมสบู่ก้อน ไม่มีเนื้อเหลว ไม่มีกลิ่นหืนมีความเป็นด่างน้อยในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อผิวหรือทำลาย ชั้นไขมันของผิว มีค่า pH ไม่เกิน 10 มีสมบัติต่าง ๆ ตามคุณสมบัติสบู่ไขมันสัตว์และน้ำมันพืช ชนิดต่าง ๆ ประกอบด้วยกรดไขมัน หลายชนิดและจะให้ลักษณะของสบู่ที่แตกต่างกันออกไป

### 4. วัตถุดิบที่ใช้ทำสบู่ [9]

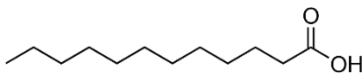
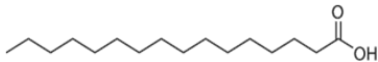
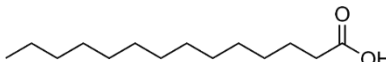
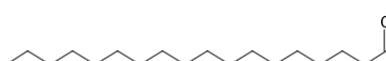
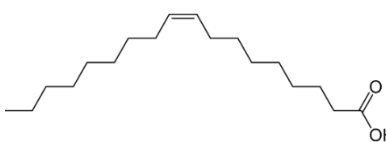
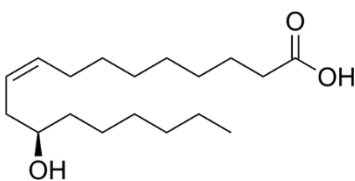
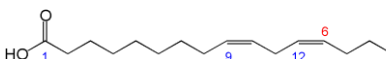
ไขมันหรือน้ำมัน ทั้งจากสัตว์และจากพืชหลายชนิด สามารถนำมาเป็นส่วนผสมในการทำสบู่ได้ เพราะไขมันหรือน้ำมันแต่ละชนิด มีกรดไขมันเป็นองค์ประกอบที่ดีกว่า 1 ตัว ตัวอย่างดังตารางที่ 2-2 กรดไขมันที่พบในสัตว์และพืชที่นิยมนำมาทำสบู่ เป็นกรดคาร์บอกซิลิก ที่มีหมู่อัลคิลเป็นไฮโดรคาร์บอนสายตรงที่มีคาร์บอน 12-18 อะตอม มีสูตรเคมี ชื่อตาม IUPAC และโครงสร้างดังในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2,1 ปริมาณกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันหรือไขมันชนิดต่าง ๆ

ร้อยละโดยมวลของกรดไขมัน	ชนิดของไขมัน/ น้ำมัน					กรดอื่น ๆ
	Myristic acid	Palmitic acid	Stearic acid	Linoleic acid	Oleic acid	
ไขมันหมู (Lard)	1	28	13	6	46	-
ไขมันวัว (Tallow)	6	28	2	3	36	Lauric acid 2%
น้ำมันมะกอก (Olive)	-	14	3	12	69	-
น้ำมันปาล์ม (Palm oil)	1	44	5	10	39	-
น้ำมันรำข้าว (Rice bran oil)	1	22	3	26	43	-
น้ำมันถั่วเหลือง (Soybean oil)		11	5	50	24	-
น้ำมันดอกทานตะวัน (Sunflower oil)		3	4	4	83	-
น้ำมันละหุ่ง (Castor oil)				4	4	Ricinoleic acid 90%
น้ำมันดอกคำฝอย (Safflower oil)		5	2	15	77	-
น้ำมันอาโวคาโด (Avocado oil)		7	2	12	8	-
น้ำมันแกนปาล์ม (Palm kernel oil)	16	8	2	3	5	Lauric acid 49%
น้ำมันมะพร้าว 76 (Coconut oil 76)	19	9	3	2	8	Lauric acid 48%

\* ผลรวมของกรดไขมันอาจไม่เป็น 100 พอดี เนื่องจากยังมีกรดไขมันชนิดอื่นที่มีปริมาณน้อยอยู่แต่ไม่ได้แสดงข้อมูลไว้

ตารางที่ 2,2 สมบัติทางเคมีของกรดไขมันที่พบในสัตว์และพืชที่นิยมนำมาทำสบู่

กรดไขมัน	สูตรเคมี	ชื่อตามIUPC	สูตรโครงสร้าง
Lauric acid	$C_{11}H_{23}COOH$	Dodecanoic acid	
Palmitic acid	$C_{15}H_{31}COOH$	Hexadecanoic acid	
Myristic acid	$C_{13}H_{27}COOH$	Tetra decanoic acid	
Stearic acid	$C_{17}H_{35}COOH$	Octadecanoic acid	
Oleic acid	$C_{17}H_{33}COOH$	(9Z)-Octadec-9-enoic acid	
Ricinoleic acid	$C_{17}H_{33}O_3$	(9Z,12R)-12-Hydroxyoctadec-9-enoic acid	
Linoleic acid	$C_{17}H_{31}COOH$	(9Z,12Z)-Octadeca-9-12-dienoic acid	

ปริมาณเบสที่ใช้ในปฏิกิริยามีการรายงานเป็นค่าที่เรียกว่า ค่าสะaponนิฟิเคชัน (Saponification value) ซึ่งหมายถึง จำนวนมิลลิกรัมของ KOH ซึ่งทำปฏิกิริยาพอดีกับไขมัน หรือน้ำมัน 1 กรัม ค่าสะaponนิฟิเคชันนี้หาได้โดยเทคนิคการไทเทรตย้อนกลับ (Back titration)

โดยการนำไขมันหรือน้ำมันมาทำปฏิกิริยากับ KOH ที่เกินพอและรู้ปริมาณแน่นอน จากนั้นไทเทรตหาปริมาณ KOH ที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีน

ค่าสะaponนิฟิเคชันนี้มีความสำคัญในการบ่งบอกลักษณะกรดไขมันในไขมันหรือน้ำมัน นั้น ๆ โดยค่านี้จะแปรผกผันกับมวลโมเลกุลของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ นั้น ตัวอย่างเช่น ไตรบิวไทรีน (Tributyryn) และไตรสเตียรีน (Tristearin) ในน้ำหนักที่เท่ากัน

ค่าสะaponนิฟิเคชันของ Tributyrin จะสูงกว่า Tristearin เนื่องจากมีกรดไขมันโมเลกุลมีขนาดเล็กกว่าเป็นองค์ประกอบ และมีจำนวนโมเลกุลมากกว่าในน้ำหนักที่เท่ากันจึงต้องใช้ KOH

ในการทำปฏิกิริยาที่มากกว่า โดยค่าสะaponนิฟิเคชันสูงเป็นไฮโดรคาร์บอนจะสั้น ส่วนค่า สะaponนิฟิเคชันต่ำไฮโดรคาร์บอนจะยาว ตัวอย่าง ค่าสะaponนิฟิเคชันของไขมันและน้ำมัน แสดงไว้ในตารางที่ 2.3 จะเห็นได้ว่าน้ำมันมะพร้าวมีค่าสะaponนิฟิเคชันสูงเนื่องจากมีสายโซ่ ไฮโดรคาร์บอนสั้นที่สุด น้ำมันรำข้าวค่าสะaponนิฟิเคชันต่ำ จึงมีสายโซ่ไฮโดรคาร์บอนยาวที่สุด [10]

**ตารางที่ 2.3** ค่าสะaponนิฟิเคชัน (Saponification value: SV) ของไขมันและน้ำมัน

น้ำมัน/ ไขมัน	ประเภท	ปริมาณที่แนะนำ		SV
		(%)	(mgKOH/ gOil)	
ไขมันหมู	แข็ง	25-50	198	
ไขมันวัว	แข็ง	25-50	200	
น้ำมันมะกอก	อ่อน	25-80	190	
น้ำมันปาล์ม	แข็ง	25-50	199	
น้ำมันรำข้าว	อ่อน	5-12	179	
น้ำมันถั่วเหลือง	อ่อน	5-12	191	
น้ำมันดอกทานตะวัน	อ่อน	5-12	189	
น้ำมันละหุ่ง	อ่อน	5-10	180	
น้ำมันดอกคำฝอย	อ่อน	5-12	190	
น้ำมันอาโวคาโด	อ่อน	5-12	186	
น้ำมันแกนปาล์ม	แข็ง	15-30	247	
น้ำมันมะพร้าว76	แข็ง	15-50	257	

ที่มา: Saponification value (2018)



## วิธีการทำสบู่

ปัจจุบันการทำสบู่ไว้ใช้เองในครัวเรือน หรือการทำสบู่ขายแบบงานศิลปะ เป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลาย วิธีการทำสบู่ที่ใช้กันอยู่มี 3 วิธี ได้แก่ Cold process วิธี Melt and pour และ วิธี Hot process แต่ละวิธีมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

Cold process เป็นวิธีการทำสบู่ที่ง่ายที่สุด ทำจากการผสมกันระหว่างโซเดียม ไฮดรอกไซด์ กับน้ำมัน สามารถใช้น้ำมันได้ทั้งสัตว์และพืช เช่น น้ำมันมะกอก น้ำมันมะพร้าว ไขมันหมู ไขมันวัว โดยดูจากคุณสมบัติของน้ำมันที่มีประโยชน์ต่อผิวของแต่ละบุคคล การทำสบู่ด้วยวิธีนี้ต้องรอ 6 สัปดาห์ เพื่อให้ปฏิกิริยาสaponification สิ้นสุดลง การทำสบู่แบบนี้เป็นสามารถ การบูรณาการความรู้ วิทยาศาสตร์ และศิลปะเข้าด้วยกันโดยในการเพิ่มลวดลายให้กับสบู่ ในขั้นตอน การเทลงแม่พิมพ์ เนื่องจากสบู่จะแห้งช้ากว่าวิธีอื่น ๆ

Melt and pour เป็นวิธีที่ใช้ในการทำสบู่กลีเซอรินและสบู่เชิงพาณิชย์หลายชนิด โดยใช้สารตั้งต้นเป็นสบู่ก้อนสำเร็จมาหลอมและเติมกลีเซอรินลงไปเพื่อให้เกิดความใสและเพิ่มความชุ่มชื้นให้กับสบู่ การทำสบู่ประเภทนี้ทำได้ง่าย ๆ ไม่ยุ่งยาก เมื่อละลายสบู่ใสแล้ว ก็ปรุงสี ปรุงกลิ่น ใส่สารบำรุงผิว เช่นวิตามินอี สารสกัดว่านหางจระเข้ อยากให้ผิวใส่ก็สามารถใส่ วิตามินซี หรือ AHA เพิ่มไปได้ แต่ต้องระวังเรื่องความเป็นกรดเบส (pH)

Hot process การทำสบู่ด้วยวิธีนี้คล้ายกันกับ Cold process ทั้งเรื่องของส่วนผสม และวัตถุดิบ เพียงแต่กระบวนการและเวลาต่างกัน ซึ่ง Hot process นี้ต้องใช้ความร้อนเข้ามาเกี่ยวข้อง คือ ผสมวัตถุดิบด้วยอุณหภูมิที่เหมาะสม (45-55 °C) คนจนส่วนผสมข้นคล้ายครีม แล้วก็ให้ความร้อนต่อจนน้ำส่วนเกินระเหยไปหมด หลังจากนั้นก็นำไปใส่แม่พิมพ์ที่เตรียมไว้ ขั้นตอนนี้ ก็ปรุงสี ปรุงกลิ่น ตามใจชอบได้ แล้วปล่อยให้เย็นก็สามารถใช้ได้เลย ไม่ต้องรอปฏิกิริยาให้สมบูรณ์ เหมือน Cold Process โดยความร้อนจะช่วยย่นระยะเวลาของกระบวนการได้ การทำสบู่แบบนี้ต้อง ศึกษาการทำโดยละเอียด แต่ก็ไม่สามารถสร้างสรรค์งานศิลปะได้ดีเนื่องจากข้อจำกัด ของสถานะของสบู่ตอนที่ใส่ลงไปแม่พิมพ์ สบู่จะแข็งตัวเร็ว [8]

## สมุนไพรสำหรับทำสบู่

สมุนไพรนิยมนำมาเป็นส่วนผสมของสบู่ สมุนไพรนั้นมีหลายชนิดให้เลือก โดยที่แต่ละสมุนไพรมีคุณสมบัติที่โดดเด่นต่างกันไป สมุนไพรที่ได้มีการวิจัยทดสอบนำมาเป็น ส่วนผสมของเครื่องสำอาง สามารถแบ่งออกเป็น 4 ประเภท ดังนี้

- สมุนไพรที่ให้น้ำมัน เช่น อโวคาโด กระบก เม็ดมะรุม
- สมุนไพรที่ให้สี เช่น อัญชัน แครอท ขมิ้น กระเจี๊ยบแดง
- สมุนไพรที่ให้กลิ่น เช่น ใบเตย ใบมะกรูด ตะไคร้
- สมุนไพรให้สารต้านเชื้อ เช่น มะขามป้อม ใบรางจืด หัวไชเท้า กระชาย ไพล

การใช้สมุนไพรทำให้ปลอดภัยจากสารเคมีที่อาจมีฤทธิ์แรงเกินไป อาจเกิดอาการแพ้ได้ ในบางคน และเป็นการประหยัดต้นทุน สมุนไพรจึงนิยมนำมาเป็นส่วนผสมของสบู่และเครื่องสำอาง ซึ่งต้องมีคุณสมบัติเป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส 13-2561 [9] ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 คุณลักษณะทางเคมีสบู่

รายการ ที่	คุณลักษณะ	เกณฑ์ที่กำหนด		วิธีทดสอบตาม
		สบู่ชำระล้างผิว ทั่วไป	สบู่ ประเทืองผิว	
1	ไขมันทั้งหมด ร้อยละโดยมวล ไม่น้อยกว่า	76.5	79.0	ISO 685
2	กรดไขมันของน้ำมันลอริก (เช่น น้ำมันเมล็ดปาล์ม น้ำมันมะพร้าว น้ำมันบาบาสสุ)ในรูปของกรดจากน้ำมันลอริก (คำนวณเป็นไขมันทั้งหมด) ร้อยละโดยมวล ไม่น้อยกว่า	ไม่กำหนด	13.0	ISO 12966-1 และ ISO 12966-2
3	สารที่ไม่ละลายในเอทานอล ร้อยละโดยมวล ไม่เกิน	2.5	2.0	ISO 673
4	ไฮดรอกไซด์อิสระ <sup>(1)</sup> (คำนวณเป็น Na <sub>2</sub> O) ร้อยละโดยมวล	ไม่เกิน 0.05	ต้องไม่มี	ISO 456
5	คลอไรด์ (คำนวณเป็น NaCl) ร้อยละโดยมวล	ไม่เกิน 0.8	1.2	ISO 4323
6	สารประเทืองผิว (1) กรดไขมันอิสระ (คำนวณเป็นกรดไขมัน) ร้อยละ โดยมวล โมเลกุลสัมพัทธ์เฉลี่ย 248 (เฉพาะสบู่ประเทืองผิว ที่มีกรดไขมัน) (2) สารให้ความชุ่มชื้น <sup>(2)</sup> (เฉพาะสบู่ประเทืองผิวที่มี สารให้ความชุ่มชื้น) (3) สารสกัดจากพืช <sup>(2)</sup> (เฉพาะสบู่ประเทืองผิวที่มี สารสกัดจากพืช)	ไม่กำหนด  ไม่กำหนด ไม่กำหนด	2.0 ถึง 10.0  ต้องมี <sup>(2)</sup> ต้องมี <sup>(2)</sup>	BS 1715: Section 2.4  (2) (2)

หมายเหตุ <sup>(1)</sup> หมายถึง สบู่โซเดียม ทดสอบตาม method A สบู่โซเดียมผสมโพแทสเซียมและสบู่โพแทสเซียม ทดสอบตาม method B

<sup>(2)</sup> หมายถึง ผู้ทำต้องแจ้งชื่อสาร ปริมาณที่ใช้และวิธีทดสอบแก่ผู้เกี่ยวข้อง

### งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นพพร บิ๊กแวน และคณะ [12] ได้รายงาน การออกแบบและพัฒนากระบวนการผลิตสบู่สมุนไพรกรณีศึกษาศูนย์เรียนรู้โครงการบ้านต๋อยอด พบว่าการพัฒนาการออกแบบผลิตภัณฑ์รูปแบบใหม่ ๆ สามารถเพิ่มทางเลือกใหม่ให้กับลูกค้า การนำเทคโนโลยีเข้ามาช่วยในการออกแบบสามารถ

ปรับเปลี่ยนรูปแบบของผลิตภัณฑ์ตามที่ถูกความต้องการ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนา รูปแบบของผลิตภัณฑ์สบู่สมุนไพรของศูนย์เรียนรู้ให้มีความหลากหลาย และการพัฒนากระบวนการ ผลิตสบู่สมุนไพร

วิลาสินี ศิริธร และคณะ [13] สรุปการวิจัยครั้งนี้ได้ข้อค้นพบใหม่คือ ควรมีการส่งเสริมการจัดทำบรรจุภัณฑ์เพื่อรักษาสิ่งแวดล้อมให้มากยิ่งขึ้นและอยากให้ผู้ผลิตบรรจุภัณฑ์เพื่อสิ่งแวดล้อม ผลิตบรรจุภัณฑ์ที่ดีและมีคุณภาพตาม มาตรฐานและออกแบบบรรจุภัณฑ์ให้สะดวกในการใช้งานมี รูปลักษณะลักษณะที่ดึงดูดต่อการใช้งาน เพื่อให้ผู้ประกอบการรายย่อยมั่นใจในคุณภาพและ มาตรฐาน สินค้าและพึงพอใจในการใช้งาน

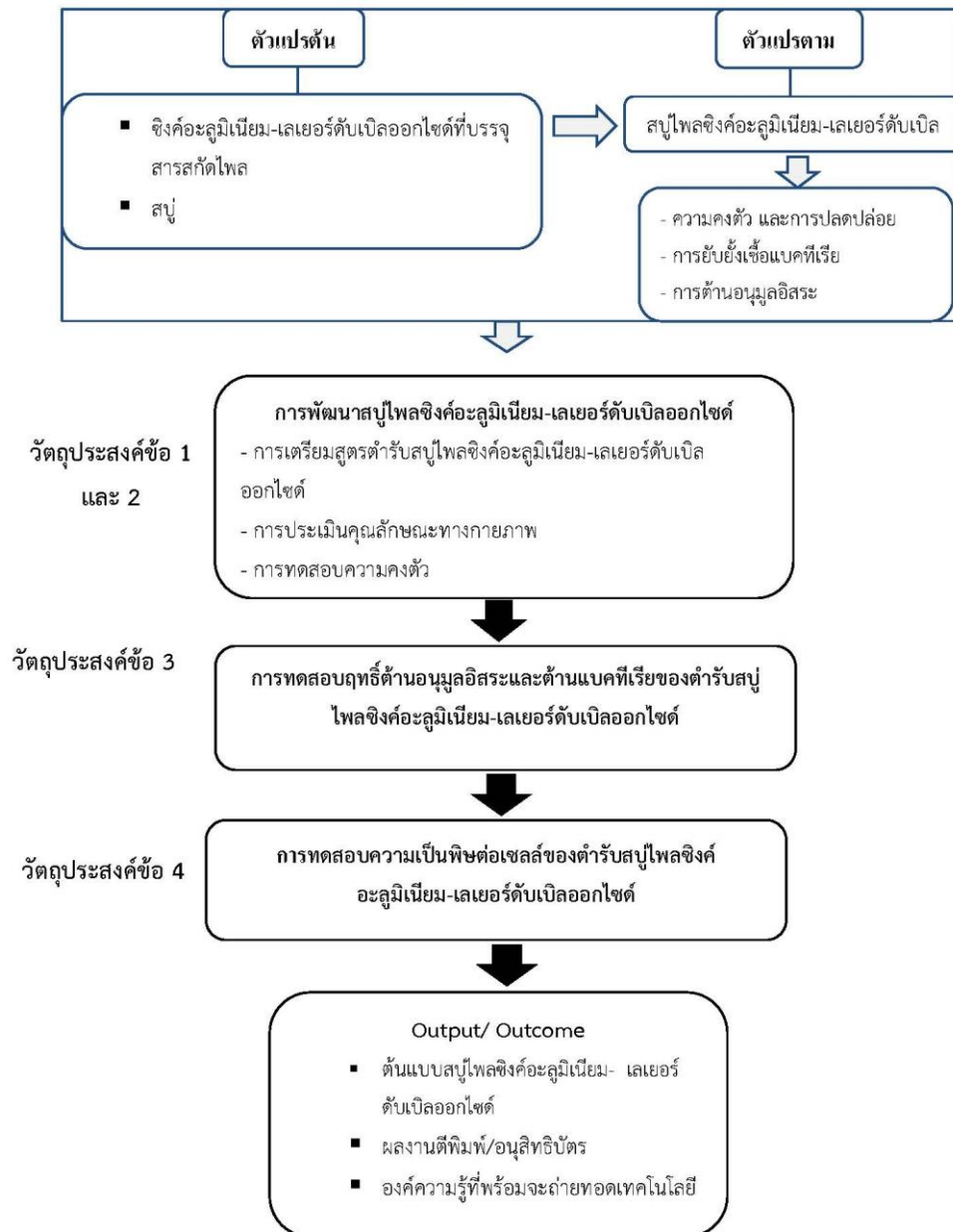
สุตาทิร คงเกิด และจิรภัทร กิตติวรากล [14] การพัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่สมุนไพร มีดังนี้ ทำ การปรับปรุงส่วนผสมหลักจากกลีเซอรีน ซึ่งทำให้ผู้บริโภคผิวแห้ง เปลี่ยนเป็นน้ำมันรำข้าว น้ำมันบัว ซึ่งจะช่วยลดจุดอ่อนของผลิตภัณฑ์ และยังแก้ไขจุดอ่อนในเรื่องรูปลักษณะสบู่สมุนไพรจากสีเหลืองครีม ให้มี 3 สีตามสีธรรมชาติของสมุนไพร มะขาม ทานาคา และขมิ้นชัน เปลี่ยนวิธีกวนสบู่จากกวนร้อน (HP: Hot Process Soap) เปลี่ยนมาเป็นการกวนเย็น (CP: Cold Process Soap) ซึ่งเป็นตาม ธรรมชาติในการระเหยสารโซดาไฟออกไป และทำให้สบู่มีความเรียบเนียนสวย

ชุดิมา วิทักษบุตร และนภวรรณ คณานุรักษ์ [15] ได้แบ่งกลุ่มผู้ใช้สบู่ก่อนออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่ม A ชื่อ “Buying easy” กลุ่มนี้มีพฤติกรรมในการเลือกซื้อสบู่กลิ่นธรรมชาติ (ไม่เติมกลิ่น) ซื้อสบู่เพราะใช้ระงับกลิ่นกายคุณสมบัติที่เลือกคือผลัดเซลล์ผิวและเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิว กลุ่ม B ชื่อ “Extreme Skin lovers” กลุ่มนี้มีพฤติกรรมในการเลือกซื้อสบู่กลิ่นดอกไม้หรืออโรมา ซื้อเพราะ เพื่อลดการใช้สารเคมีกับผิว และเพื่อผิวพรรณสวยงาม คุณสมบัติสบู่ที่เลือกซื้อคือ เพื่อปรับผิวให้ขาว กระจ่างใส เพื่อความอ่อนเยาว์ของผิว และลดสิว กลุ่ม C ชื่อ “Skin lovers” กลุ่มนี้มีพฤติกรรมในการ เลือกซื้อสบู่กลิ่นผลไม้ซื้อเพื่อลดการใช้สารเคมีกับผิว และเพื่อผิวพรรณสวยงาม คุณสมบัติสบู่ที่เลือก ซื้อคือ เพื่อผลัดเซลล์ผิว และเพื่อปรับผิวให้ขาวกระจ่างใส

ฮาซัน ดอพอ และคณะ [16] ได้ทดสอบฤทธิ์ด้านแบคทีเรียของสบู่ก่อนที่มีส่วนผสมของสาร สกัดสมุนไพร โดยทำการละลายสบู่ด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ ก่อนการทดสอบ

จากการทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ทำให้ได้แนวทางนำไปสู่การพัฒนา ผลิตภัณฑ์สบู่ โดยวางแผนการวิจัยในการพัฒนารูปแบบสบู่ ตลอดจนการผลิตสบู่กระดาดตาม มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน และมาตรฐานอุตสาหกรรม สามารถให้วิสาหกิจชุมชนผลิตได้ และนำไปสู่ ผลิตภัณฑ์ที่มีรูปแบบที่ตรงกับความต้องการของผู้บริโภคต่อไป

## กรอบแนวคิดในการวิจัย



### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

##### การเตรียมสูตรตำรับสบู่ไพโลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์

วิธีการทำสบู่ ดัดแปลงจาก วิไลพร ปองเพียร [17] โดยการละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในน้ำทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง หลอมกรดสเตียริกในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร โดยผ่าน Water bath (ไม่ให้ความร้อนโดยตรง) โดยค่อยๆเติมลงไปจนไปเรื่อย ๆ จนหลอมหมดขณะเติมให้คนอยู่ตลอดเวลา และให้ความร้อนต่อไปจนอุณหภูมิ 70-90 องศาเซลเซียส เติมน้ำมันตามสูตรลงไปและคนตลอดเวลา เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์แข็งตัวแล้วจับเป็นก้อนค่อยๆเติมแอลกอฮอล์ลงทีละน้อยเพราะอาจเกิดฟองล้นภาชนะได้แล้วปิดปากบีกเกอร์ด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์เพื่อไม่ให้แอลกอฮอล์ระเหยออกไปเพราะจะทำให้ส่วนผสมเปลี่ยนแปลงและอาจทำให้สบู่ไม่ใสได้พร้อมทั้งคนตลอดเวลาจากนั้นเติมกลีเซอริน ปิดปากด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์และคนตลอดเวลา ในงานวิจัยนี้ปิดปากบีกเกอร์ด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ตลอดเวลาและคนด้วย Magnetic Stirrer เมื่อส่วนผสมเป็นเนื้อเดียวกันแล้วและลดอุณหภูมิลงให้ได้ ระหว่าง 45-50 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมสารสกัดไพโลที่บรรจุอยู่ซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์คนให้เข้ากันประมาณ 5 นาที จะได้สารละลายสบู่ใสจากสารสกัดไพโลที่บรรจุอยู่ซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์เหลวพิมพ์ที่เตรียมไว้ (รอสบู่แข็งตัว) ตามความต้องการโดยใช้อัตราส่วนผสม ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ตำรับสบู่ไพโลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์

ตำรับ	สารสกัดไพโลที่บรรจุ อยู่ซิงค์อะลูมิเนียม- เลเยอร์ดับเบิล ออกไซด์ (ร้อยละ)	Base สบู่	อัตราส่วนระหว่างสารสกัดกับ Base สบู่
1	1	Base A	1:99
2	3	Base A	3:97
3	5	Base A	5:95
4	1	Base B	1:99
5	3	Base B	3:97
6	5	Base B	5:95
7	1	Base C	1:99
8	3	Base C	3:97
9	5	Base C	5:95

Base A= น้ำมันมะพร้าวและสารอื่นๆ Base B= น้ำมันรำข้าว และสารอื่นๆ Base C= น้ำมันมะกอกและสารอื่นๆ

### การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ

- การทดสอบค่า pH โดยการแบ่งสบู่มาทดสอบมา 0.4 กรัม และเติมน้ำกลั่น 9.6 มิลลิลิตรเทใส่บีกเกอร์ และคนผสมให้เข้ากันนำไปวัด pH ด้วย pH meter บันทึกผลค่า pH ต้องอยู่ในช่วง 8-10

- การทดสอบปริมาตรฟอง [18] โดยการตัดสบู่อ่อนเป็นก้อนสี่เหลี่ยมลูกเต๋า ให้มีน้ำหนักประมาณ 20 กรัม นำน้ำสบู่มานำเข้าในน้ำกระด้างโดยนำสบู่อ่อนไปแช่ในน้ำกระด้าง ปริมาณ 50 มิลลิลิตรที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ณ อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 5 นาทีตวงน้ำสบู่อ่อนปริมาณ 30 มิลลิลิตรโดยใช้กระบอกขนาด 100 มิลลิลิตรเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 3 cm. แช่คว่ำ ขึ้น-ลง จำนวน 5 ครั้ง อ่านปริมาณฟองที่ได้ทันที (ปริมาณฟองที่ได้ เรียกว่า flash foam) และสังเกตลักษณะฟองทิ้งไว้ 2 นาที อ่านความสูงของฟองที่เหลือ (ปริมาณฟองที่เหลือ เรียกว่า foam drainage และสังเกตลักษณะฟองทำการทดสอบซ้ำอีก 2 ครั้ง โดยสบู่อ่อนต้องให้ฟองเมื่อละลายน้ำ

- การทดสอบความสึกกร่อน [18] โดยการตัดสบู่อ่อนเป็นก้อนสี่เหลี่ยมลูกเต๋า ให้มีน้ำหนักประมาณ 20 กรัม ชั่งน้ำหนักสบู่อ่อน และบันทึกน้ำหนักเป็นทศนิยม 3 ตำแหน่ง โดยนำสบู่อ่อนไปแช่ในน้ำกระด้าง จำนวน 50 มิลลิลิตร(ประกอบด้วย  $MgCl_2$  0.0139 % w/w และ  $CaCl_2$  ปริมาณ ใน 0.0304 % w/w) ที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 30 °C เป็น เวลา 5 นาที ใช้กระดาษชำระซับน้ำออก นำสบู่อ่อนมาผึ่งเป็นเวลา 1 ชั่วโมงใช้กระดาษชำระซับน้ำที่เหลือออกให้หมด นำสบู่อ่อนที่ได้ไปชั่งน้ำหนักที่หายไปจากนั้นนำสบู่อ่อนไปแช่ในน้ำกระด้าง จำนวน 50 ml ที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ณ อุณหภูมิ 30 °C โดยเพิ่มเวลาเป็น 10, 15 และ 30 นาที ตามลำดับ นำสบู่อ่อนที่เหลือ ทำการทดสอบซ้ำอีก 2 ครั้ง แล้วคำนวณหาความสึกกร่อนโดยใช้สูตรต่อไปนี้

$$\% \text{ การสึกกร่อน} = (\text{น้ำหนักก่อนทดสอบ} - \text{น้ำหนักหลังทดสอบ}) / \text{น้ำหนักก่อนทดสอบ}$$

### การทดสอบคุณสมบัติทางเคมี

คุณสมบัติทางเคมีสบู่โซลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ตามมาตรฐานอุตสาหกรรม เอส 13-2561 ได้แก่ ปริมาณไขมันทั้งหมด ปริมาณสารที่ไม่ละลายในเอทานอล ปริมาณไฮดรอกไซด์อิสระ และปริมาณคลอรีน

### การศึกษาการปลดปล่อยตัวสารสำคัญด้วยเทคนิค Dialysis test

ซิงสบู่โซลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ สบู่สารสกัดโพลี และซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ที่บรรจุสารสกัดโพลี แต่ละตัวอย่างนำมาใส่ใน dialysis bag (Cellu Sep T4® MW cut off 1000, Membrane Filtration Product, Inc., USA) โดยใช้สารละลายผสมระหว่างเอทิลแอลกอฮอล์กับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (1:1, pH 7.4) ปริมาตร 20 mL เป็น สารละลายตัวกลาง แช่ด้วยเครื่องเขย่าควบคุมที่อุณหภูมิ 32 °C อัตราเร็ว 100 rpm สุ่มเก็บตัวอย่างที่เวลา 1, 5, 10, 20, 30, 60, 120, 180, 240, 300, 420, 540, 660 และ 720 นาที ตามลำดับ และเติมสารละลายตัวกลางกลับปริมาณเท่าเดิม จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณสาร marker ของโพลีที่สอดคล้องกับโครงการโครงการวิจัยย่อยที่ 2 ด้วยเครื่อง HPLC เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการควบคุมการ

ปลดปล่อยสารสกัดโพลของสบูโพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ จะเปรียบเทียบกับสบูสารสกัดโพล และซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ที่บรรจุสารสกัดโพล ภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน [19]

#### การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT assay [20]

1) เพาะเลี้ยงเซลล์ Human fibroblast cell line (BJ) ให้มีความหนาแน่น  $1 \times 10^5$  cell/ml ในถาดเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม จากนั้นนำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ  $37^\circ\text{C}$  ภายใต้สภาวะ  $5\% \text{CO}_2$  ในตู้บ่มควบคุมความชื้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2) ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ในถาดเพาะเลี้ยงเซลล์ทิ้ง และดูดสารละลายตัวอย่างที่ปริมาตร  $10 \mu\text{l}$  ใส่ในถาดเพาะเลี้ยงที่มีเซลล์เพาะเลี้ยงอยู่ จากความเข้มข้นต่ำไปสูง โดยทำซ้ำตัวอย่างละ 8 หลุม โดยมี untreated control เป็นแถวที่มีเซลล์ และอาหารเลี้ยงเซลล์ ซึ่งอยู่ในแถวที่ 10-12 จากนั้นใส่ 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT, Sigma, USA) ปราศจากเชื้อที่มีความเข้มข้น  $5 \text{ mg/ml}$  ปริมาตร  $50 \mu\text{l}$  นำถาดเพาะเลี้ยงเซลล์ดังกล่าวนำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ  $37^\circ\text{C}$  ภายใต้สภาวะ  $5\% \text{CO}_2$  ในตู้บ่มควบคุมความชื้น เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

3) ดูดสารละลายในถาดเพาะเลี้ยงออกให้หมด จากนั้นเติม DMSO ปริมาตรหลุมละ  $100 \mu\text{l}$  เพื่อละลายตะกอน formazan salt (สีน้ำเงินม่วง) ซึ่งเกิดจาก enzyme dehydrogenase จาก mitochondria ของเซลล์เพาะเลี้ยงที่ยังมีชีวิตเปลี่ยนสารละลาย 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide ซึ่งจะเห็นสารละลายที่ได้มีสีน้ำเงินม่วง แสดงว่าเซลล์รอดชีวิต

4) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น  $570 \text{ nm}$  ด้วยเครื่อง microplate reader ภายใน 1 ชั่วโมง หลังจากเติม DMSO จากนั้นนำค่า OD ที่ได้คำนวณหา %viability (อัตราการรอดชีวิต) เทียบกับ untreated control จากสมการ

$\%viability = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ทำการศึกษา}}{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงของ untreated control})} \times 100$

#### การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (DPPH scavenging activity)

โดยเตรียมสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ละลายใน DMSO จำนวน 25 ไมโครลิตร เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ จำนวน 75 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ  $37^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น  $517 \text{ nm}$  โดยใช้วิตามินซี (Ascorbic acid) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ และค่า  $\text{IC}_{50}$  ของการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH [21]

### การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งและต้านแบคทีเรีย

เมื่อได้ดำรับที่ดีที่สุด นำดำรับนั้นไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งและต้านเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermis* อีกครั้ง ด้วยวิธี Resazurin-based 96-well plate microdilution เพื่อหาค่า Minimum Inhibitory Concentration: MIC และ Minimum Bactericidal Concentration: MBC

ทดสอบ Live cells ของ *S. mutants* หลังจากสัมผัสสารสกัดในรูป nano micell โดยใช้ flow cytometry เพื่อดูระยะเวลาการออกฤทธิ์ของสารสกัดต่อการมีชีวิตของ *S. aureus* และ *S. epidermis* [22]

### การศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์

#### ■ ประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์วิธีที่ 1 (ระยะยาว)

ดูความคงสภาพของ สี กลิ่น และการละลาย ต้องอยู่ในสภาพที่ดี ไม่แปรสภาพ ระยะเวลาทดสอบ 4 เดือน [23]

##### 1. ผลต่อผลิตภัณฑ์ต่อแสง

- เก็บสบูไว้ได้แสง อุณหภูมิห้อง
- เก็บสบูไว้พ้นแสงในช่องห่อฟอยด์มืดชิดอุณหภูมิห้อง

##### 2. ผลต่อผลิตภัณฑ์ต่ออุณหภูมิ

- เก็บยาในช่องที่บแสง อุณหภูมิ 4 °C
- เก็บยาในช่องที่บแสงที่อุณหภูมิห้อง

##### 3. ผลต่อสภาวะเร่งผลิตภัณฑ์

- เก็บสบูไว้ที่อุณหภูมิ 45 °C

#### ■ ประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์วิธีที่ 2 (ระยะสั้น)

ใช้วิธี Freeze and Thaw cycle เพื่อทดสอบความคงสภาพของสบู โดยนำสบูที่เตรียมไว้โดยแบ่งช่องที่บแสง กับไม่บแสงมาใส่ใน ตู้เย็นที่ประมาณ 4 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาใส่ตู้อบ 45 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เช่นกัน ทำอย่างนี้ไปเรื่อย ๆ อีก 5-6 cycle บันทึกผลลงตาราง เมื่อทำเช่นนี้ครบ 5-6 cycle แล้วนำมาตรวจสอบ สี กลิ่น และการละลาย [23]

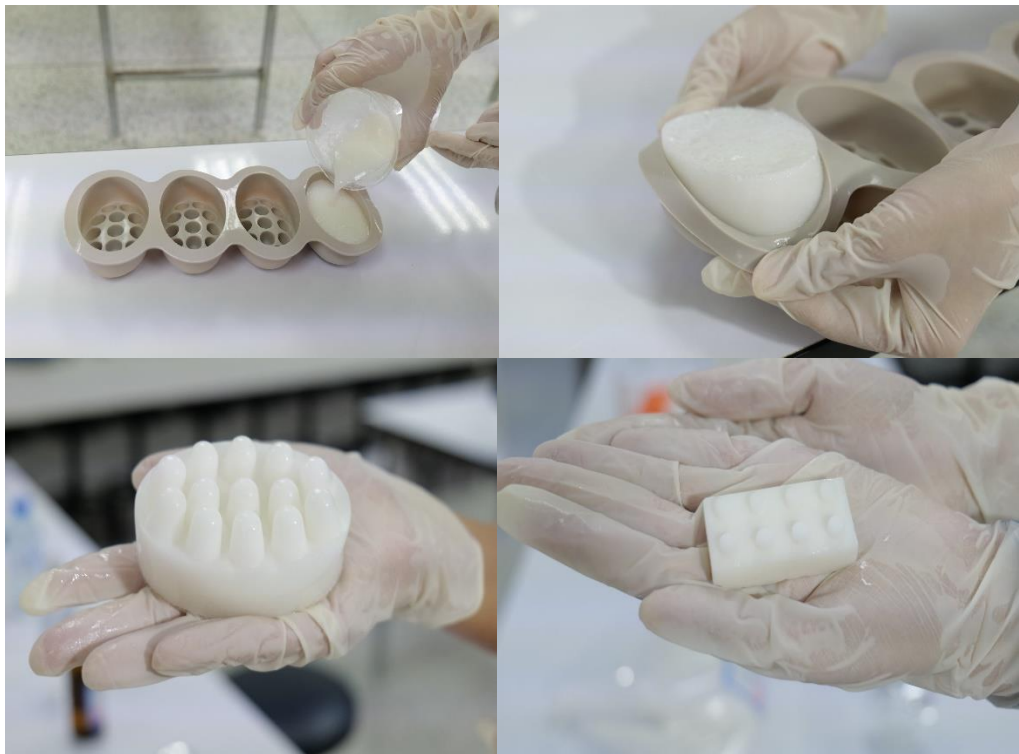


## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### การพัฒนาตำรับสบู่ไพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์

ทดลองทำการวิจัยนำร่องในการผลิตเบสสบู่จากน้ำมันชนิดต่างๆ เพื่อการทดลองผลิตเบสสบู่และการขึ้นรูปสบู่ ดังภาพที่ 4.1 เพื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพและเคมีของสบู่แต่ละชนิด ทดลองทำการวิจัยในการผลิตเบสสบู่จากน้ำมัน 3 ชนิด จำนวน 9 สูตร ค่า pH อยู่ในช่วง 8-10 ทุกสูตร ตามมาตรฐานการผลิตสบู่ก้อน



ภาพที่ 4.1 การทดลองผลิตเบสสบู่และการขึ้นรูปสบู่

พัฒนาตำรับสบู่ที่มีส่วนผสมของสารสกัดไพลที่บรรจุอยู่ซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ จำนวน 9 ตำรับจาก Base ที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ Base A B และ C และนำสารสกัดไพลที่บรรจุอยู่ซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ 3 อัตราส่วน 1 3 และ 5 มาผสมกับ Base ทำให้ได้อัตราส่วนระหว่างสารสกัดกับ Base สบู่ ดังตารางที่ 4.1 และ ภาพที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 ตำรับสบู่มผสมสารสกัดสกัดโพลที่บรรจุในซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์

ตำรับ	สารสกัดโพลที่บรรจุใน ซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ ดับเบิลออกไซด์ (ร้อยละ)	Base สบู่	อัตราส่วนระหว่างสารสกัดกับ Base สบู่
S-PZ1	1	Base A	1:99
S-PZ2	3	Base A	3:97
S-PZ3	5	Base A	5:95
S-PZ4	1	Base B	1:99
S-PZ5	3	Base B	3:97
S-PZ6	5	Base B	5:95
S-PZ7	1	Base C	1:99
S-PZ8	3	Base C	3:97
S-PZ9	5	Base C	5:95



ภาพที่ 4.2 สบู่ผสมสกัดโพลที่บรรจุอยู่ซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ (S-PZ1-9)

### **การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพของสบู่ไฟลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์**

การตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของสบู่ไฟลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส 13-2561 ซึ่งสบู่ที่เตรียมในครั้งนี้เป็นชนิดสบู่ก้อนที่มีส่วนผสมของสมุนไพร ซึ่งเป็นสบู่ประเภณีผิว และการทดสอบทางกายภาพในส่วนของการเป็นความเป็นกรด-ด่าง ปริมาตรฟอง ความสึกกร่อน เป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด ดังตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบพบว่าปริมาณไขมันทั้งหมด กรดไขมันของน้ำมันลอริก ไฮดรอกไซด์อิสระ คลอไรด์ ความเป็นกรด-ด่าง สารที่ไม่ละลายในเอทานอล และสารประเภณีผิว เป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด ดังตารางที่ 4.2 และ 4.3

ตารางที่ 4.2 คุณสมบัติทางกายภาพสบู์โฟลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์

รายการ ที่	คุณลักษณะ	สูตร base A	สูตร base B	สูตร base C	ตำรับ									เกณฑ์ที่ กำหนด
					S-PZ1	S-PZ2	S-PZ3	S-PZ4	S-PZ5	S-PZ6	S-PZ7	S-PZ8	S-PZ9	
1	ลักษณะทั่วไป	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	เป็นก้อน ไม่ มีสิ่ง แปลกปลอม
2	ความเป็นกรด-เบส (pH)	8.22±0.25	8.26±0.35	8.29±0.15	8.22±0.25	8.35±0.11	9.03±0.16	8.26±0.35	8.44±0.35	9.09±0.06	8.29±0.15	8.31±0.16	9.05±0.23	pH 8-10
3	ปริมาตรของฟอง (มิลลิลิตร)	60±1.22	65±1.67	67±1.34	58±1.92	56±1.77	55±1.94	62±1.62	61±1.89	60±1.42	65±1.36	64±1.22	63±1.44	มีปริมาตร มากพอ
4	ความคงตัวของฟอง (นาที)	120±0.33	125±0.43	133±0.55	119±0.92	123±0.98	130±0.95	119±0.78	123±0.16	130±0.59	119±0.93	123±0.49	130±0.75	มีความคง ตัวของฟอง ดี
5	ความเป็นเมือก	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	ไม่เกิดเมือก หรือเกิด น้อยที่สุด
6	การสีกร่อนของสบู่ (% การใช้ 1 ครั้ง (g))	1.2±0.11	1.5±0.19	1.9±0.17	1.5±0.21	1.7±0.15	20±0.16	1.5±0.24	1.7±0.23	20±0.42	1.5±0.12	1.7±0.2	20±0.31	เกิดการสี กร่อนน้อย ที่สุด

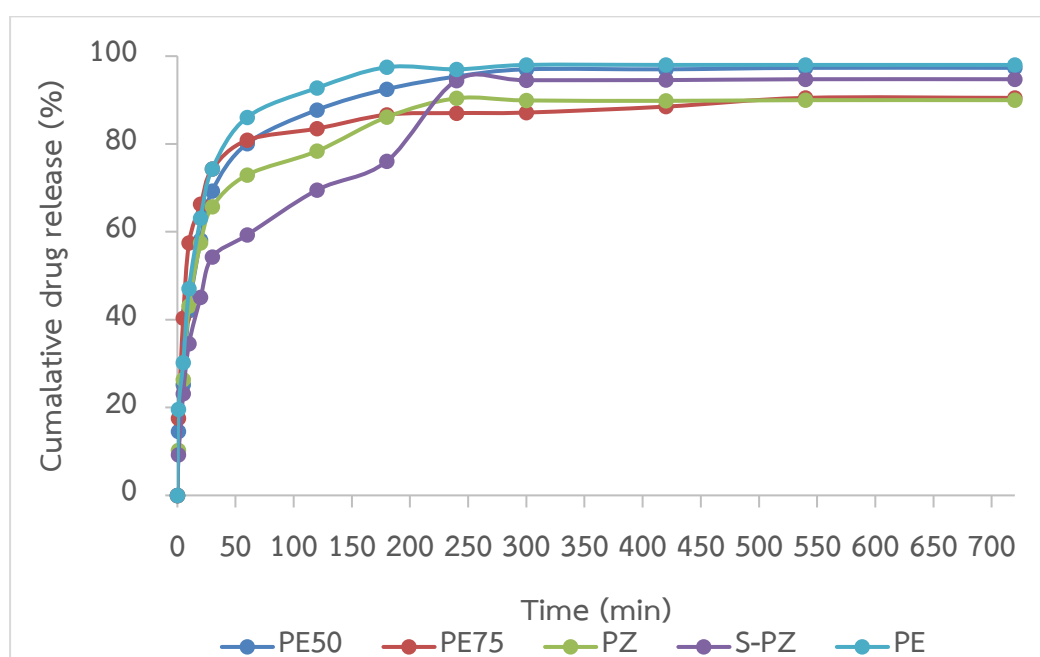
✓ ผ่านเกณฑ์กำหนด X ไม่ผ่านเกณฑ์กำหนด

ตารางที่ 4.3 คุณสมบัติทางเคมีสบู์ฟอสฟอรัสอะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส 13-2561

รายการ ที่	คุณลักษณะ	สูตร base A	สูตร base B	สูตร base C	ตำรับ										เกณฑ์ที่
					S-PZ1	S-PZ2	S-PZ3	S-PZ4	S-PZ5	S-PZ6	S-PZ7	S-PZ8	S-PZ9	กำหนด	
1	ปริมาณไขมันทั้งหมด ร้อย	78.88	79.12	79.96	78.01	79.07	79.22	78.03	79.10	79.34	78.06	79.05	79.28	ไม่น้อยกว่า	
	ละโดยมวล	±0.24	±0.22	±0.19	±0.20	±0.21	±0.18	±0.21	±0.19	±0.26	±0.18	±0.20	±0.18	76.5	
2	ปริมาณสารที่ไม่ละลายในเอ	1.77	1.77	1.77	1.78	1.79	1.79	1.78	1.79	1.79	1.78	1.79	1.79	ร้อยละโดย	
	ทานอล	±0.09	±0.11	±0.08	±0.09	±0.12	±0.04	±0.08	±0.11	±0.3	±0.09	±0.08	±0.09	น้ำหนัก	
3	ปริมาณไฮดรอกไซด์อิสระ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	ไม่เกิน 2.5	
														ร้อยละโดย	
4	ปริมาณคลอไรด์	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	ไม่เกิน 0.05	
		±0.001	±0.001	±0.001	±0.001	±0.001	±0.001	±0.001	±0.001	±0.001	±0.001	±0.001	±0.001	ร้อยละโดย	
														น้ำหนัก	
✓ ผ่านเกณฑ์กำหนด X ไม่ผ่านเกณฑ์กำหนด															ไม่เกิน 0.8

### การศึกษาการปลดปล่อยตัวสารสำคัญด้วยเทคนิค Dialysis test

การศึกษาการปลดปล่อยตัวสารสำคัญด้วยเทคนิค Dialysis test ได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง ได้แก่ ด้วย ethanal (PE) สารสกัดโพล ด้วย 50% ethanal (PE50) สารสกัดโพล ด้วย 75% ethanal (PE75) สารสกัดโพลที่บรรจุอยู่ซึ่งคืออะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ (PZ) และ ตำรับสบู่โพลซึ่งคืออะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ (S-PZ) ที่เวลา 1, 5, 10, 20, 30, 60, 120, 180, 240, 300, 420, 540, 660 และ 720 นาที ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ ด้วยเครื่อง HPLC พบว่า นาทีที่ 0-30 นาที ค่อยๆปลดปล่อยสารสำคัญ ที่เวลา 60-240 นาที S-PZ มีการปลดปล่อยสารน้อยกว่าสูตรอื่น นอกจากนี้ตั้งแต่ นาที 240 เป็นต้นไปมีการปลดปล่อยสารสำคัญเท่ากันในแต่ละจุดอย่างสม่ำเสมอ ดังภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 การปลดปล่อยสารสกัดโพลจาก PE PE50 PE75 PZ S-PZ

### การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (DPPH scavenging activity)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโพล ด้วย ethanal (PE) สารสกัดโพล ด้วย 50% ethanal (PE50) สารสกัดโพล ด้วย 75% ethanal (PE75) สารสกัดโพลที่บรรจุอยู่ซึ่งคืออะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ (PZ) และ ตำรับสบู่โพลซึ่งคืออะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ (S-PZ) นำ samples ดังกล่าวมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยการทดสอบด้วยวิธี DPPH มีผลการทดสอบ ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

Samples	DPPH IC50 (mg/ml), (Mean±S.D., n=3)
PE	0.03±1.22
PE50	0.15±4.33
PE75	0.06±0.55
PZ	0.09±1.87
S-PZ	0.07±2.09

จากตารางที่ 1 พบว่า PE มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC50 อยู่ที่ 0.03±1.22 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ S-PZ PE75 PZ PE50 และ โดยมีค่า IC50 อยู่ที่ 0.07±2.09 0.06±0.55 และ 0.09±1.87 0.15±4.33 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วน PE50 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด โดยมีค่า IC50 อยู่ที่ 0.15±4.33 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

#### การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (Ferric ion reducing antioxidant power assay)

โดยเตรียมสารละลาย FRAP reagent ปิเปตสารตัวอย่างผสมกับ FRAP reagent เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 4 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร (n=3) คำนวณความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (FRAP value) โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของ Ferrous sulfate ( $\text{FeSO}_4$ ) ได้ผลการศึกษาดังตารางที่ 4.5 จากตารางพบว่า PE และ S-PZ มีค่า FRAP value 76.66±2.22 และ 75.24±2.12 มีฤทธิ์ในการรีดิวซ์เฟอริกมากเป็น 2 ลำดับแรก

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

Samples	FRAP value (mg AAE/g extract), (Mean±S.D., n=3)
PE	76.66±2.22
PE50	63.23±1.33
PE75	67.73±1.49
PZ	70.19±1.85
S-PZ	75.24±2.12

#### การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents)

การทดสอบด้วยวิธี Folin Ciocalteu reagent เป็นการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของตัวอย่าง ทำโดยการนำสารตัวอย่างมาผสมกับ Folin-Ciocalteu reagent และคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ผสม

กับรีเอเจนต์แทนลงในสมการ และรายงานค่าในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักแห้งของสารสกัด 1 กรัม (mg GAE/g extract) ดังแสดงในตารางที่ 4.6 พบว่า PE และ PZ มีค่าปริมาณฟีนอลิกรวมมาเป็น 2 ลำดับแรก โดยมีค่าเท่ากับ  $70.43 \pm 1.93$  และ  $66.16 \pm 2.15$  ตามลำดับ

**ตารางที่ 4.6** ผลการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents)

Samples	Total phenolic contents (mg GAE/g extract), (Mean $\pm$ S.D., n=3)
PE	$70.43 \pm 1.93$
PE50	$42.35 \pm 1.87$
PE75	$51.03 \pm 1.65$
PZ	$66.16 \pm 2.15$
S-PZ	$60.04 \pm 2.42$

#### การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

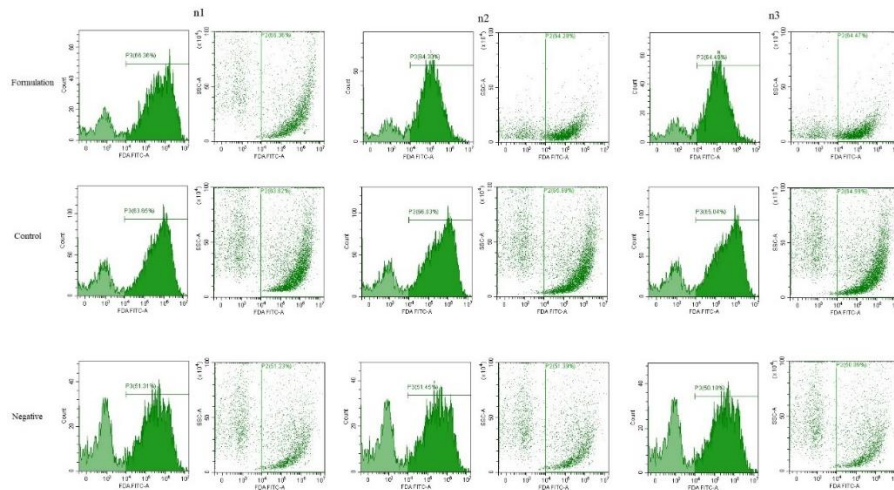
เมื่อได้ตำรับที่ดีที่สุด นำตำรับ PE50 PZ และ S-PZ นั้นไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งและต้านเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermis* อีกครั้ง ด้วยวิธี Resazurin-based 96-well plate microdilution เพื่อหาค่า Minimum Inhibitory Concentration: MIC และ Minimum Bactericidal Concentration: MBC พบว่า S-PZ มีค่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อและฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermis* เท่ากับ PZ แต่น้อยกว่า PE50 ในการทดสอบฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *S. aureus* พบว่าความเข้มข้นจะสูงกว่าฤทธิ์ฆ่าเชื้อ ดังตารางที่ 4.7

**ตารางที่ 4.7** ผลการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งและต้านแบคทีเรีย *S. aureus* และ *S. epidermis*

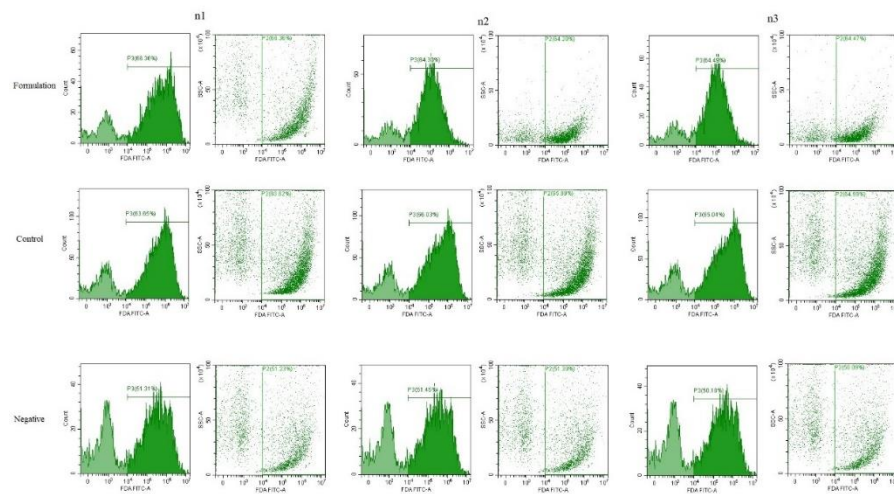
Sample	<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermis</i>	
	MIC ( $\mu$ g/mL)	MBC ( $\mu$ g/mL)	MIC ( $\mu$ g/mL)	MBC ( $\mu$ g/mL)
PE50	1.250	2.5	0.625	0.625
PZ	0.625	0.625	0.313	0.313
S-PZ	0.625	1.250	0.313	0.625

ผลการทดสอบ Live cells ของ *S. aureus* และ *S. epidermis* หลังจากสัมผัส S-PZ โดยใช้ flow cytometry เพื่อดูระยะเวลาการออกฤทธิ์ของสารสกัดต่อการมีชีวิตของ *S. aureus* และ *S. epidermis* พบว่าที่เวลา 5 นาที เชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermis* S-PZ มีการลดลงของจำนวนเชื้อมากกว่า Control น้อยกว่า Negative ซึ่งเป็นยามาตรฐาน และจำนวนการลดลงของเชื้อ *S. epidermis* มากกว่า *S. aureus* ดังภาพ 4.4 และ 4.5





ภาพที่ 4.4 Live cells ของ *S. aureus* ที่เวลา 5 นาที หลังเติมตัวอย่าง

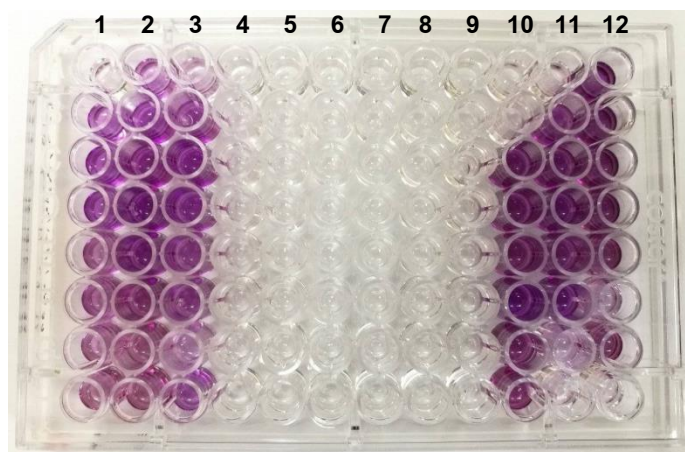


ภาพที่ 4.5 Live cells ของ *S. aureus* ที่เวลา 5 นาที หลังเติมตัวอย่าง *S. epidermidis*

## การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT assay

### 1. ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT assay

ศึกษาโดยเจือจางตำรับที่เตรียมได้ทั้ง 5 ตำรับ ได้แก่ ด้วย ethanal (PE) สารสกัดไพล ด้วย 50% ethanal (PE50) สารสกัดไพล ด้วย 75% ethanal (PE75) สารสกัดไพลที่บรรจุอยู่ซิงค์ อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ (PZ) และ ตำรับสบู์ไพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ (S-PZ) โดยเจือจางด้วยอาหารเลี้ยง จะได้สารสกัดไพลที่มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 200  $\mu\text{g/ml}$  จากนั้นนำไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ Human fibroblast cell line ด้วยวิธี MTT assay ซึ่ง MTT จะไปจับกับเอนไซม์ของสิ่งมีชีวิต ทำให้เกิดเป็นตะกอน formazan salt (สีน้ำเงินม่วง) และเมื่อละลายตะกอนจะเห็นเป็นสารละลายที่ได้มีสีน้ำเงินม่วง แสดงว่าเซลล์รอดชีวิต ได้ผลการศึกษา ดังภาพที่ 4.6



**ภาพที่ 4.6** ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT assay  
(สีน้ำเงินม่วง: เซลล์รอดชีวิต และสีใส: เซลล์ตาย)

1 = S-PZ; 2 = PZ; 3 = PE50; 4 = PE75; 5 = PE

6- 9 = สบู่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียในท้องตลาด

10-12 คือ Untreated control

ซึ่งจากผลของการรอดชีวิตของเซลล์ในหลอดเพาะเลี้ยงที่ได้ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 nm จากนั้นนำค่า OD ที่ได้คำนวณหา %viability (อัตราการรอดชีวิต) เทียบกับ untreated control จะพบว่าค่า %viability ของเซลล์เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษของเซลล์ด้วยตำรับ S-PZ PZ และ PE50 เมื่อเทียบกับ untreated control จะมีค่าอยู่ในช่วง 104.09-105.43% แสดงให้เห็นว่าเซลล์มีการรอดชีวิต และมีการเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้นเล็กน้อย ส่วนในกลุ่มเซลล์ที่ทดสอบด้วยผลิตภัณฑ์สบู่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียในท้องตลาด PE75 และ PE จะมีค่า %viability อยู่ในช่วง 8.07-10.15% หรือประมาณ 9% แสดงให้เห็นว่าตำรับดังกล่าวมีความเป็นพิษต่อเซลล์เนื่องจากมีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตอยู่น้อยมาก เมื่อเทียบกับ untreated control

#### การศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์

##### ประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์วิธีที่ 1 (ระยะยาว)

สังเกตความคงสภาพของ สี กลิ่น และการละลาย ต้องอยู่ในสภาพที่ดี ไม่แปรสภาพ ระยะเวลาทดสอบ 4 เดือน โดยสังเกตผลต่อผลิตภัณฑ์ต่อแสง ต่ออุณหภูมิ และต่อสภาวะเร่งผลิตภัณฑ์ พบว่าในทุกสภาวะ ตำรับ S-PZ มีความคงตัว ดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ผลการประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์ระยะยาว

สิ่งทดสอบ	ความคงตัว		
	สี	กลิ่น	การละลาย
S-PZ ใต้แสง อุณหภูมิห้อง	✓	✓	✓
S-PZ พ้นแสงในช่องห่อฟอยด์มืดชิดอุณหภูมิห้อง	✓	✓	✓
S-PZ ใส่ช่องที่บแสง อุณหภูมิ 4 °C	✓	✓	✓
S-PZ ที่อุณหภูมิ 45 °C	✓	✓	✓

✓ คงเดิม X เปลี่ยนแปลง

#### ประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์วิธีที่ 2 (ระยะสั้น)

ใช้วิธี Freeze and Thaw cycle เพื่อทดสอบความคงสภาพของสบู่ โดยนำสบู่ที่เตรียมไว้โดยแบ่งช่องที่บแสง กับไม่บแสงมาใส่ใน ตู้เย็นที่ประมาณ 4 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาใส่ตู้อบ 45 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จำนวน 6 cycles ทำเช่นนี้ครบ 6 cycles แล้วนำมาตรวจสอบ สี กลิ่น และการละลาย พบว่า Cycle 5 และ 6 มีความเปลี่ยนแปลงของกลิ่นเล็กน้อย โดยกลิ่นลดลงจากเดิมเล็กน้อย ดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ผลการประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์ ระยะสั้น

S-PZ	ความคงตัว		
	สี	กลิ่น	การละลาย
Cycle 1	✓	✓	✓
Cycle 2	✓	✓	✓
Cycle 3	✓	✓	✓
Cycle 4	✓	✓	✓
Cycle 5	✓	X (เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย)	✓
Cycle 6	✓	X (เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย)	✓

✓ คงเดิม X เปลี่ยนแปลง

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### สรุปผลการวิจัย

จากการพัฒนาตำรับสบู่โพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ จำนวน 9 สูตร พบว่าทุกสูตรมีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีตามเกณฑ์กำหนด มอก. และสูตร S-PZ9 เป็นสูตรที่ดีที่สุดนำมาทดสอบการปลดปล่อยสารสำคัญพบว่า PZ ซึ่งเป็นสารสกัดโพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ และ S-PZ ซึ่งเป็นสบู่โพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ สามารถปลดปล่อยสารสำคัญในช่วง 1 และ 5 นาที ไม่แตกต่างจากสารสกัดไพล (PE PE50 PE70) ตำรับ S-PZ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีค่าปริมาณรวมฟีนอลิกเท่ากับ  $60.04 \pm 2.42$  mg GAE/g extract) ตำรับ S-PZ มีฤทธิ์ยับยั้งตั้งแต่ 5 นาทีที่ตัวอย่างสัมผัสเชื้อ และสามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermis* ตำรับ S-PZ PZ และ PE50 ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ นอกจากนี้พบว่าตำรับสบู่โพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์เมื่อทดสอบในสภาวะเร่ง มีการเปลี่ยนแปลงกลิ่นเล็กน้อย ในขณะเดียวกันเมื่อทดสอบระยะยาว 4 เดือน พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง

การคิดต้นทุนผลิตภัณฑ์และจุดคุ้มทุน มีความจำเป็นสำหรับผู้ประกอบการที่ทางผู้วิจัยจะนำไปถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตสบู่ให้ โดยที่การละเอียดการคำนวณ ดังนี้

(1) คำนวณต้นทุนวัตถุดิบ สบู่โพลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์

ชนิดวัตถุดิบ	%	นน. วัตถุดิบ (100 g/1 กล่อง)	ต้นทุนวัตถุดิบ (บาท/1 กล่อง)
สารสกัดไพลที่บรรจุในซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์	5	5	25
Base C	95	95	7
ราคา (คำนวณต้นทุน)			32 บาท

(2) คิดต้นทุน/ผลิตภัณฑ์

ลำดับที่	รายการผลิต	บรรจุภัณฑ์	
		บาท	สต.
1	ค่าเสื่อมเครื่องมือและอุปกรณ์	-	50
2	ค่าบรรจุภัณฑ์	7	50
3	ค่าแรงการผลิต	3	
4	ค่าไฟ	2	-
ราคาต้นทุนวัตถุดิบ		13	
รวมต้นทุนการผลิตต่อชิ้น		32+13= 45	

การคำนวณเพื่อกำหนดราคาการจำหน่าย

ลำดับที่	รายการผลิต	สบู่ 100 กรัม
1	ค่าเสื่อมของผลิตภัณฑ์ 5%	2.45
2	ค่าประชาสัมพันธ์ 5%	2.45
3	ค่าขนส่ง 5%	2.45
4	ค่าส่วนแบ่งในการวางจำหน่าย 30%	14.7
5	ค่ากำไรในการขาย 30 %	14.7
รวม		36.75
วิเคราะห์ราคา+ต้นทุนการผลิต		36.75+45
ยอดรวม		81.75
ราคาขายปลีก		100 บาท

การคิดจุดคุ้มทุน

$$\begin{aligned}
 \text{จุดคุ้มทุน (หน่วย)} &= \text{ต้นทุนคงที่} / (\text{ราคาขายต่อหน่วย} - \text{ต้นทุนแปรผันต่อหน่วย}) \\
 &= 5000 / (100 - 45) \\
 &= 111.11
 \end{aligned}$$

สรุปต้องมียอดขายอย่างน้อย 112 กล่อง ต่อเดือน เพื่อสร้างกำไร ในระยะเวลา 1 ปีจะต้องมีการลดต้นทุนต่างๆ และสร้างยอดขายให้ได้อย่างน้อย 150 กล่อง ต่อเดือน

**อภิปรายผล**

ตำรับสบู่โฟลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ สามารถเติม สารสกัดโฟลซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ได้ถึงร้อยละ 5 ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐาน มอก. [14] การนำสารสกัดโฟลพัฒนามาร่วมกับซิงค์อะลูมิเนียม-เลเยอร์ดับเบิลออกไซด์ สามารถช่วยเพิ่มฤทธิ์การฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และนำมาพัฒนาเป็นสาระสำคัญในการตำรับสบู่ พบว่าสารมีความคงตัว ยังสามารถออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ นอกจากนี้พบว่ายังไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ แต่ยังคงต้องมีการศึกษาความระคายเคืองต่อไปในอนาคต นอกจากนี้พบว่าสบู่มีความคงตัว เนื่องจากสบู่เป็นสบู่ก้อนมีความแข็ง สามารถรักษาคุณสมบัติทางกายภาพได้ ซึ่งยังจำเป็นต้องมีการพัฒนาในการลดต้นทุนการผลิตสบู่ต่อไป เพื่อให้ชุมชนสามารถผลิตแล้วได้ผลกำไรที่คุ้มค่า เหมือนอย่างชุมชนที่จังหวัดอุบลราชธานี [13]

### ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

ถ่ายทอดองค์ความรู้ให้กับชุมชนเป้าหมายและติดตามความหลังการถ่ายทอดองค์ความรู้

### ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

ควรศึกษาการระคายเคืองในสัตว์ทดลองและในมนุษย์ต่อไป และควรทดสอบความพึงพอใจในการใช้ผลิตภัณฑ์

## บรรณานุกรม

- [1] Fytianos, G., Rahdar, A., & Kyzas, G. Z. (2020). Nanomaterials in cosmetics: Recent updates. *Nanomaterials*, 10(5), 979.
- [2] Bilal, M., & Iqbal, H. (2020). New insights on unique features and role of nanostructured materials in cosmetics. *Cosmetics*, 7(2), 24.
- [3] Panda, S. (2017). Influence of research and development (R&D) cost on profitability: A study of indian pharmaceutical sector. *Splint International Journal of Professionals*, 4(1), 60.
- [4] ชุติมา วิ ทักษ บุตร, & น ภ วรรณ ค ณา นุ รั กษ์. (2017, September). การ แบ่ง กลุ่ม ผู้ ใช้ สบู่ ก่อน ทำความ สะอาด ผิว ภาย ที่ ผลิต จาก สบู่ ไพร โดย ใช้ ปัจจัย ด้าน การ ใช้ ผลิตภัณฑ์ ใน เขต กรุงเทพมหานคร. In *Rangsit Graduate Research Conference: RGRC* (Vol. 12, pp. 594-603).
- [5] Sookcharoen, W. (2020). การ จำลอง การ เปลี่ยนแปลง ของ ส่วน แบ่ง การ ตลาด และ ราคา ของ ผลิตภัณฑ์ สบู่ สบู่ ไพร ไทย โดยใช้ แผน ที่ การ รับ รู้ แบบ สาม มิติ. *KKBS Journal of Business Administration and Accountancy*, 4(2), 141-162.
- [6] นพมาศ สุนทรเจริญนนท์. (2544). เกสซ์วินิจฉัยยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: แสงเทียนการพิมพ์.
- [7] บุหรัน พันธุ์สุวรรณค์. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. *Thai Science and Technology Journal*, 21(3), 275-286.
- [8] Mabrouk, S. T. (2005). Making usable, quality opaque or transparent soap. *Journal of Chemical Education*, 82(10), 1534-1537.
- [9] Atolani, O., Olabiya, E. T., Issa, A. A., & Azeez, H. T. (2016). Green synthesis and characterization of natural antiseptic soap from the oil of underutilised tropical seed. *Journal of Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 4, 32-39.
- [10] Sutheimer, S., Caster, J. M., & Smith, S. H. (2015). Green soap: An extraction and saponification of avocado oil. *Journal of Chemical Education*, 92(10), 1763-1765.
- [11] Vasquez, J. A., Sneider, C., & Comer, M. (2013). *STEM lesson essentials: Grades 3-8: Integrating science, technology, engineering and mathematics*. New Hampshire: Heinemann.
- [12] Bukwan, N., Rianthong, S., Khonthon, S., & Veerasoonthorn, S. (2021). การออกแบบ และพัฒนา กระบวนการผลิตสบู่สมุนไพรกรณีศึกษาศูนย์เรียนรู้โครงการบ้านต่อยอด. *Industry Technology Lampang Rajabhat University*, 14(1), 52-64.

- [13] วิลาลินี ศิริธร, ปริญญา ธุระพระ, กวินภพ ศรีวัฒนา นุศาสตร์, & เอกพงษ์ ณรงค์ดี. (2021). การพัฒนาและลด ต้นทุนกระบวนการผลิตเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มผลิตภัณฑ์สบู่สมุนไพรของกลุ่มชุมชนตำบลโคกสูงอำเภอวังสามหมอ จังหวัดอุดรธานี. วารสารวิชาการวิทยาลัยสันตพล, 7(2), 128-136.
- [14] สุตาภัทร คงเกิด. (2020). การพัฒนาผลิตภัณฑ์ และการปรับภาพลักษณ์โดยการใช้สมุนไพรในการเพิ่มมูลค่าของ กลุ่มวิสาหกิจ ชุมชนตำบลบ้านธิ อำเภอบ้านธิ จังหวัดลำพูน. Journal of Social Science and Buddhistic Anthropology, 5(8), 67-88.
- [15] ชุตินา วิทักษบุตร, & นภวรรณ คณานุรักษ์. (2017, September). การแบ่งกลุ่มผู้ใช้สบู่ก่อนทำความสะอาดผิว ภายที่ผลิตจากสมุนไพรโดยใช้ปัจจัยด้านการใช้ผลิตภัณฑ์ในเขต กรุงเทพมหานคร. In Rangsit Graduate Research Conference: RGRC (Vol. 12, pp. 594 603).
- [16] ฮาซัน ดอปอ, อามี เนาะสาหะ, อิสมะแอ เจ๊ะ หลง, อิมรอน มีชัย, & สุนีย์ แวมะ. (2560) การวิเคราะห์หา ปริมาณฟลาโวนอยด์จากรังชันโรง และฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ของผลิตภัณฑ์สบู่ก้อน.
- [17] วิไลพร ปองเพียร. (2554) การพัฒนาสูตรสบู่แพนซีจากน้ำมันที่ใช้แล้ว. มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์:เพชรบูรณ์.
- [18] ชนม์สวัสดิ์ ขาวสะอาด. (2551). การพัฒนาสบู่ที่มีส่วนผสมของน้ำตะไคร้. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ความงามและสุขภาพ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.
- [19] Kaewpinta A, Khongkhunthian S, Chaijareenont P, Okonogi S. (2018) Tooth whitening efficacy of pigmented rice gels containing carbamide peroxide. Drug discoveries & therapeutics. 30;12(3):126-32.
- [20] Newby, C.S., Barr, R.M., Greaves, M.W. and Mallet, A.I., (2000). Cytokine release and cytotoxicity in human keratinocytes and fibroblasts induced by phenols and sodium dodecyl sulfate. Journal of investigative dermatology, 115(2), pp.292-298.
- [21] Sethi, S., Joshi, A., Arora, B., Bhowmik, A., Sharma, R.R. and Kumar, P., (2020). Significance of FRAP, DPPH, and CUPRAC assays for antioxidant activity determination in apple fruit extracts. European Food Research and Technology, 246, pp.591-598.
- [22] de Brito Monteiro, L., Davanzo, G.G., de Aguiar, C.F. and Moraes-Vieira, P.M., 2020. Using flow cytometry for mitochondrial assays. MethodsX, 7, p.100938.
- [23] ศศิประภา ชิตรัตธา. (2561). ความคงสภาพของยา (Drug stability). สืบค้น 3 ธันวาคม 2564, จาก <https://ccpe.pharmacycouncil.org/>.