รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **แผนงานวิจัย** : วิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตพืชท้องถิ่นของประเทศไทย

2. **โครงการวิจัย** : การพัฒนาและใช้ประโยชน์สีย้อมธรรมชาติจากห้อม
   กิจกรรม : การผลิตสีย้อมห้อมเพื่อการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่
   กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) :

3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดใบห้อมและการพัฒนาแชมพูผสมสารสกัดห้อม

4. **ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ)** : Biological activity of crude extract from *Strobilanthes cusia (Nees) Kuntze* and its application in shampoo

5. **คณะผู้ดำเนินงาน**

หัวหน้าการทดลอง	: นางสาววิมลวรรณ วัฒนวิจิตร	กวป.
ผู้ร่วมงาน	: นายนราทร สุขวิเสส	กวป.
	นายประยูร เอ็นมาก	กวป.
	นางสาวประนอม ใจอ้าย	ศวพ.แพร่

6. **บทคัดย่อ**

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดใบห้อมและการพัฒนาแชมพูผสมสารสกัดห้อม ดำเนินการทดลองที่กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ระหว่างปี 2561 – 2563 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของตัวทำละลาย 3 ชนิดได้แก่ น้ำ สารละลายเอทานอลความเข้มข้น 95 %v/v และสารละลายเอทิลอะซีเตดความเข้มข้น 95 %v/v ในการสกัดห้อมต่อความสามารถต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง และพัฒนาผลิตภัณฑ์แชมพูสระผมผสมสารสกัดห้อม ผลการศึกษาความสามารถต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดห้อมมีความสามารถต้านอนูมลอิสระ DPPH และ ABTS ต่ำกว่าวิตามินซี โดยสารสกัดห้อมด้วยสารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95 %v/v จะมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS สูงกว่าสารสกัดห้อมจากตัวทำละลายอีก 2 ชนิด โดยสารสกัดห้อมด้วยสารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95 %v/v และสารละลายเอทิลอะซีเตดความเข้มข้น 95 %v/v มีความสามารถยับยั้ง

กรมวิชาการเกษตร

การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อยีสต์ได้ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *S. Aureus S. epidermidis B. subtilis C. albicans* และ *P.acnes* โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ S. epidermidis เท่ากับ 15.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดห้อมด้วยสารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95 %v/v มีความเหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไปเนื่องจากให้ปริมาณสารสกัดมากกว่าสารสกัดด้วยสารละลายเอทิลอะซีเตดความเข้มข้น 95 %v/v สูตรที่เหมาะสมสำหรับแชมพูผสมสารสกัดห้อมคือ 60% SLES 15 %, sodium chloride 1%, polyquaternium-44 0.5%, cocamido propyl betain 6 %, PEG-120 Methyl Glucose 2 %, panthenol 0.5 % , สารสกัดห้อม 0.4 % และสารกันเสีย (Bronidox L) 0.1 % จะได้แชมพูผสมสารสกกัดห้อมที่มีค่า pH ความหนืด อยู่เกณฑ์มาตรฐานตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส แชมพูผสมสมุนไพร (มอก.เอส 12-2561) และตรวจไม่พบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ และมีความคงตัว

Abtract

Biological activity of crude extract from *Strobilanthes cusia (Nees) Kuntze* and its application in shampoo was performed during 2018-2020 at Postharvest and Processing Research and Development Division. The effect of different solvent, water, 95% v/v ethanol and 95% v/v ethylacetate to antioxidant activity and antibacterial activity were investigated. Moreover, the application of *Strobilanthes cusia (Nees) Kuntze* extract was studied. The result found that antioxidant activity by scavenging of the stable radical DPPH and ABTS assay of the *Strobilanthes cusia (Nees) Kuntze* extract was lower than vitamin C. The highest antioxidant activity was the extract from 95% ethanol. The 95% v/v ethanol and 95% v/v ethylacetate extract exhibited antibacterial activity against *S. Aureus S. epidermidis B. subtilis C. albicans* and *P.acnes*. The minimum inhibitory concentration of 95% v/v ethanol and 95% v/v ethylacetate to against *S. epidermidis* was 15.62 mg/ml. Thus, the extract from 95% ethanol of *Strobilanthes cusia (Nees) Kuntze* was the most appropriate extract to apply in product because of higher yield than 95% v/v ethylacetate. The suitable formulation of shampoo with *Strobilanthes cusia (Nees) Kuntze* extract was 9% SLES, 1% sodium chloride, 0.5% polyquaternium-44, 6 % cocamido propyl betain, 2 % PEG-120 Methyl Glucose, 0.5 %panthenol , 0.4 % *Strobilanthes cusia (Nees) Kuntze* extract and 0.1 % Bronidox L (preservative). The obtained shampoo has properties, pH, viscosity, microbial and stability according to Thai SMEs standard – herbal shampoo.

กรมวิชาการเกษตร

7. คำนำ

ห้อม เป็นพืชที่ให้สีครามเหมือนกับต้นครามแต่เป็นพืชต่างวงศ์กัน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Strobilanthes cusia (Nees) Kuntze* หรือ *Baphicacanthus cusia (Nees) Bremek*. หรือ อยู่ในวงศ์ Acanthaceae มีชื่อเรียกแตกต่างกันในแต่ละท้องถิ่น ได้แก่ ห้อม ห้อมเมือง (เหนือ) แม่ฮ่องสอนเรียกคราม ดอย น่านเรียกห้อมเมือง ห้อมหลวง และที่เชียงใหม่ เชียงราย แพร่ ลำปาง เรียกห้อมน้อย จากการสำรวจและรวบรวมห้อมในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน 4 จังหวัด ได้แก่ แพร่ พะเยา เมื่อนำมาหมักในน้ำจะให้สารที่เรียกว่า อินดิแคน (Indican) มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ ไม่มีสี เมื่อทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนจะเกิดเป็นกลูโคสและสารอินโดซิล (Indoxyl) เมื่ออินโดซิลถูกออกซิไดซ์ด้วยออกซิเจนในอากาศจะได้สารสีน้ำเงิน ที่เรียกว่าอินดิโก (Indigo/Indigo blue)

นอกจากจะใช้ใบและต้นมาทำสีน้ำเงินใช้ย้อมผ้ากันมาแต่โบราณแล้ว ห้อมสามารถใช้ประโยชน์ด้านสมุนไพน โดยแพทย์พื้นบ้านไทยใช้รากและใบต้มน้ำดื่ม แก้อาการเจ็บป่วยหลายอย่าง เช่น อาการไข้ ปวดศีรษะเนื่องจากหวัด เจ็บคอ หลอดลมอักเสบ ต่อมทอนซิลอักเสบ ตาอักเสบ แพทย์ญี่ปุ่นในเกาะโอกินาวาใช้ใบต้มน้ำดื่มสำหรับรักษาโรคกลากเนื่องจากมีสาร tryptanthrin สามารถฆ่าเชื้อรา 2 ชนิด คือ *Trichophyton rubrum* และ *Trichophyton mentagrophytes* ส่วนแพทย์จีนได้ทดลองให้คนไข้โรคเอดส์ที่เป็นงูสวัด ดื่มน้ำต้มใบแห้งของครามผสมกับพืชอื่นอีก 3 ชนิด คือ *Coptis chinensis* Franch. *Arnebia euchroma* (Royle) I. M. Johnst. และ *Paeonia moutan* Sims พบว่าแผลหายภายใน 2 สัปดาห์ (อารี, มปป.) และสารสกัดจากใบห้อมสามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย (*Staphylococcus aureus*) ซึ่งทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ (Shahni and Handique, 2013)

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีต้องเป็นสารที่มีผลจำเพาะเจาะจง เช่นมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง เป็นต้น งานวิจัยด้านการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชและสารสกัดจากพืชได้รับความสนใจเป็นอย่างมากเนื่องจากสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมยาและเครื่องสำอางได้ เช่น อัฐญาพร (2555) ได้ศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดที่พบบนผิวหนังโดยใช้สารสกัดสมุนไพรพื้นบ้าน 29 ชนิด พบว่าสารสกัดเอทานอลของมะยมและเมี่ยงสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ *E. coli* O157:H7, *P. acnes*, **Ps. Aeruginosa**, *S. aureus*, MRSA และ *S. epidermidis* นอกจากนี้ยังพบว่าห้อมที่สกัดด้วยเอทานอล 95% สามารถแบคทีเรียก่อโรคได้ 4 ชนิด คือ *Ps. aeruginosa, S. aureus*, MRSA และ *S. epidermidis* และได้นำสารสกัดเมี่ยงพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกาย นอกจากนี้ยังมีการศึกษาใช้ผ้าย้อมครามซึ่งเป็นสารอินดิโก้เช่นเดียวกับห้อมยับยั้งการเจริญเติบโตแบคทีเรียใต้วงแขน โดยใช้แผ่นทดสอบชุบสารสกัดครามพบว่าแผ่นที่ย้อมคราม 6 ซ้ำ แผ่นที่ย้อมคราม 8 ซ้ำ แผ่นที่ชุบครามผงบริสุทธิ์ และแผ่นที่ชุบเนื้อครามมีความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตแบคทีเรียใต้วงแขนได้ (ปราชญ์สกล, 2552)

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่มีคุณสมบัติสำคัญและได้รับความสนใจอย่างมาก คือ เป็นสารต้านการออก ซิเดชั่นซึ่งเกิดจากอนุมูลอิสระ (free radical) ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมตาบอลิซึมตามปกติของร่างกาย หรือเกิดจากการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายที่มีการสร้างอนุมูลอิสระขึ้นมา เพื่อสู้กับเชื้อโรคบางชนิด หรือเกิดจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ได้แก่ สารเคมีและสิ่งปนเปื้อนที่มากับอากาศ สารเติมแต่งอาหาร หรือสารเคมี ต่างๆ ที่ใช้ในการเกษตร ฯ สารต้านอนุมูลอิสระจึงมีบทบาทสำคัญในการป้องกันโรคและความชรา ทำให้มนุษย์เราจึงจำเป็นต้องรับประทานอาหารที่เป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชัน ได้แก่ วิตามิน เอ, วิตามิน ซี, วิตามิน อี, และสารสกัดจากพืชหลายชนิด การวิเคราะห์ความสามารถต้านอนุมูลอิสระสามารถทำได้หลายวิธี โดยวิธีที่ที่นิยมใช้ได้แก่ 2, 2-azobis (3-ethylbenzothialzoline-6-sulfonic acid) (ABTS), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ferric reducing antioxidant power (FRAP) และ the oxygen radical absorption capacity (ORAC)

ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ คือความสามารถในการยับยั้งการเจริญ และ/หรือ ความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ โดยการทดสอบความต้านทานของเชื้อต่อยา ซึ่งมีวิธีการหลักอยู่ 2 แบบคือ dilution method และ agar diffusion method (รัชฎาพร และคณะ, 2554) โดยผิวหนังจัดเป็นอวัยวะของร่างกายที่มีโอกาสจุลินทรีย์ในอากาศได้มากที่สุด แต่แบคทีเรียในอากาศนั้นไม่สามารถเจริญเติบโตบนผิวหนังได้เนื่องจากเป็นสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ผิวหนังในแต่ละบริเวณจะมีลักษณะโครงสร้างและหน้าที่ที่ต่างกันออกไป ทำให้แบคทีเรียที่ผิวหนังในแต่ละบริเวณต่างกันออกไป จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังที่พบทั่วไป เช่น *Bacilus subtilis* เป็นแบคทีเรียอาจก่อให้เกิดโรคผิวหนังอักเสบและเป็นแบคทีเรียที่ผลิตสารละลายใสมีกลิ่นเฉพาะตัวซึ่งเป็นสาเหตุของกลิ่นตัว *propionibacterium acne* และ *Staphylococcus epidermidis* เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว *Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อที่ทำให้ฝี ผิวหนังอักเสบ และเป็นแผลติดเชื้อ ส่วนเชื้อ *candida albican* เป็นยีสต์ที่เป็นสาเหตุของการตกขาวจากเชื้อราในช่องคลอด แต่เป็นยีสต์ที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับยีสต์ *Pityrosporum ovale* และ *P. orbiculare* เป็นยีสตซึ่งปกติพบอยู่ที่ผิวหนังและหนังศีรษะในเกล็ดรังแค แต่การเพาะเชื้อ *Pityrosporum ovale* ให้บริสุทธิ์นั้นทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากเชื้อชนิดนี้ต้องการอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความจำเพาะมาก ดังนั้นจึงนิยมใช้เชื้อ *Candida albicans* เป็นตัวแทนสำหรับทำการทดสอบตัวยาในการยับยั้งเชื้อ (ชลลดา, 2546)

8. วิธีดำเนินการ :

- อุปกรณ์

1. ใบห้อม
2. สารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95 % v/v
3. อะซีโตน

กรมวิชาการเกษตร

4. สารละลายเอทิลอะซีเตท ความเข้มข้น 95 % v/v

5. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

6. 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS)

7. sodium laureth sulphate (SLES)

8. polyquaternium-44

9. cocamido Propyl Betain (CAPB),

10. *propipnibacterium acnes* ATCC 6919

11. *staphylococcus aureus subsp. Aureus* ATCC 6538

12. *staphylococcus epidermidis* ATCC 35984

13. *bacillus subtilis subsp. Spizizenii* ATCC6633

14. *candida albicans* ATCC 10231

15. อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar plates (MHA)

16. sabouraud dextrose agar (SDA)

17. เครื่องชั่งไฟฟ้า

18. สเปกโตรมิเตอร์

19. ตู้บ่มเชื้อ

20. ตู้ larmina air flow

- วิธีการ

1. การศึกษาผลของตัวทำละลายในการสกัดห้อมต่อความสามารถต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง

1.1 การสกัดสารสกัดห้อมด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

นำใบห้อมสดล้างด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้งแล้วอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้ใบห้อมแห้งมีลักษณะกรอบ สีของใบห้อมส่วนใหญ่เปลี่ยนสีเทาดำ มีความชื้นเฉลี่ยประมาณร้อยละ 8

นำใบห้อมอบแห้งมาสกัดในตัวทำละลาย 3 ขนิด ได้แก่ ethanol ความเข้มข้น 95 % v/v, ethylacetate ความเข้มข้น 95 % v/v และ น้ำ วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 กรรมวิธี 7 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สกัดด้วยสารละลายเอทานอล 95 % v/v

กรรมวิธีที่ 2 สกัดด้วยสารละลายเอทิลอะซีเดต 95 % v/v

กรรมวิธีที่ 3 สกัดด้วยน้ำ

กรมวิชาการเกษตร

การสกัดใบห้อมโดยใบห้อมอบแห้ง 100 กรัม ใส่ขวดแก้วเติมตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำ เอทานอล ความเข้มข้น 95 %v/v และ เอทิลอะซิเตด ความเข้มข้น 95 %v/v ปริมาตร 2000 มิลลิลิตร ปิดฝา ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 สกัดซ้ำ ด้วยตัวทำละลาย 1500 มิลลิลิตร อีก 6 ครั้ง จนสารละลายที่ได้มีสีอ่อนลง แล้วนำสารละลายที่ได้มารวมกันระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศ ชั่งน้ำหนักสารสกัดใบห้อมที่ได้

1.2 การศึกษาความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดห้อม

การศึกษาความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดห้อมจะศึกษา 2 วิธีได้แก่

1.2.1 DPPH radical scavenging assay

การศึกษาความสามารถต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay ของสารสกัดห้อมจากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด เปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระ วิตามิน ซี ประยุกต์วิธีการวิเคราะห์ Adedapo, *et al*. (2009) โดยผสมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.135 mM ในเมทานอล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร กับสารสกัดห้อมที่นำมาละลายในเมทานอล ความเข้มข้นของสารสกัด ตั้งแต่ 0 – 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณค่า % radical scavenging activity ดังสมการ

DPPH radical scavenging activity (%) = $\{(A_0-A_1)/A_0] \times 100$

โดยที่ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

A_1 = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

นำค่า % radical scavenging activity ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ มาสร้างกราฟเพื่อคำนวณหาค่า IC_{50} หรือ ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ % radical scavenging activity ลดลงร้อยละ 50

1.2.1 ABTS radical scavenging assay

การศึกษาความสามารถต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS radical scavenging assay ของสารสกัดห้อมจากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด เปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระ วิตามิน ซี ประยุกต์วิธีการวิเคราะห์ Adedapo, *et al*. (2009) โดยผสมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 mM และสารละลาย potassium persulfate ความเข้มข้น 2.4 mM ในปริมาตรที่เท่ากัน ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิริยาในที่มืด เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเจือจางด้วยเมทานอลจนมีค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เป็น 0.70 นำสารละลายที่ได้ปริมาตร 2 มิลลิลิตรผสมสารสกัดห้อมที่นำมาละลายในเมทานอล ความเข้มข้นของสารสกัดตั้งแต่ 0 – 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 7 นาที วัดค่าการดูกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร คำนวณค่า % Inhibition ABTS ดังสมการ

% Inhibition ABTS = $\{(A_0-A_1)/A_0] \times 100$

โดยที่ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

กรมวิชาการเกษตร

A_1 = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

นำค่า % Inhibition ABTS ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ มาสร้างกราฟเพื่อคำนวณหาค่า IC_{50} หรือค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ % radical scavenging activity ลดลงร้อยละ 50

1.3 การทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดห้อม

1.3.1 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธี agar disc diffusion

1) เตรียมสารสกัดและยาปฏิชีวนะ

เตรียมสารสกัดโดยละลายสารสกัดห้อมให้มีความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดด้วยน้ำให้ละลายกลับด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ส่วนสารสกัดเอทิตอะซิเตตและเอทานอลให้ละลายกลับด้วย dimethyl sulphoxide (DMSO) และละลายยาปฏิชีวนะ gentamicin และ ketoconazole ให้มีความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ

2) การเตรียมเชื้อทดสอบ

- เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *S. Aureus, B. Subtilis, S. Epidermidis* ในอาหาร Mueller Hinton broth (MHB) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

- เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *P. Acnes* ในอาหาร Brian heart infusion (BHI) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

- เพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ *C. albicans* ในอาหารเหลว sabouraud dextrose broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

3) ปรับความขุ่นของเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ทดสอบในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ให้มีค่าเทียบเท่ากับ 0.5 McFarland Standard โดยใช้ตาเปล่า จะได้ปริมาณเชื้อ 1.5×10^8 cfu/ml

4) นำเชื้อทดสอบมาเกลี่ย (swab) ให้ทั่วบนอาหาร Mueller Hinton agar ยกเว้น *P. Acnes* นำมาเกลี่ยในอาหาร Brian heart infusion (BHI) agar และยีสต์ *C. albicans* นำมาเกลี่ยในอาหาร sabouraud dextrose agar ด้วยไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ

5) นำ paper disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm จุ่งลงในสารสกัดแล้วผึ่งให้แห้งก่อนนำมาวางบนผิวหน้าอาหารแข็งที่เกลี่ยเชื้อไว้ โดยใช้ paper disc ชุบตัวทำละลายและยาปฏิชีวนะ gentamicin ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วางเป็นชุดควบคุมสำหรับเชื้อแบคทีเรีย และ ketoconazole ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วางเป็นชุดควบคุมสำหรับเชื้อยีสต์

6) นำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ยกเว้น *P. Acnes* บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 72 ชั่วโมง บันทึกผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสการยับยั้ง

ศรีปทุมการเกษตร

1.3.2 การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดห้อมที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) โดยวิธี agar disc diffusion

1) การเตรียมเชื้อทดสอบ

- เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *S. Aureus, B. Subtilis, S. Epidermidis* ในอาหาร Mueller Hinton broth (MHB) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

- เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *P. Acnes* ในอาหาร Brian heart infusion (BHI) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

- เพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ *C. albicans* ในอาหารเหลว sabouraud dextrose broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

2) ปรับความขุ่นของเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ทดสอบในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ให้มีค่าเทียบเท่ากับ 0.5 McFarland Standard โดยใช้ตาเปล่า จะได้ปริมาณเชื้อ 1.5×10^8 cfu/ml

3) นำเชื้อทดสอบมาเกลี่ย (swab) ให้ทั่วบนอาหาร Mueller Hinton agar ยกเว้น *P. Acnes* นำมาเกลี่ยในอาหาร Brian heart infusion (BHI) agar และยีสต์ *C. albicans* นำมาเกลี่ยในอาหาร sabouraud dextrose agar ด้วยไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ

4) นำสารสกัดห้อมที่มีบริเวณโซนยับยั้งมาเตรียมสารสกัดเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วเจือจางลงทีละ 2 เท่าด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ส่วนสารสกัดเอทิตอะซิเตตและเอทานอลเจือจางด้วย DMSO จะได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นระหว่าง 0.06-500 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร

5) นำ paper disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm จุ่งลงในสารสกัดแล้วผึ่งให้แห้งก่อนนำมาวางบนผิวหน้าอาหารแข็งที่เกลี่ยเชื้อไว้ โดยใช้ paper disc ชุบตัวทำละลายและยาปฏิชีวนะ gentamicin ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วางเป็นชุดควบคุมสำหรับเชื้อแบคทีเรีย และ ketoconazole ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วางเป็นชุดควบคุมสำหรับเชื้อยีสต์

6) นำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ยกเว้น *P. Acnes* บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 72 ชั่วโมง บันทึกผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสการยับยั้ง

2. การพัฒนาการผลิตภัณฑ์แชมพูสระผมผสมสารสกัดห้อม

2.1 การพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์แชมพูสระผมผสมสารสกัดห้อม

2.2.1 พัฒนาแชมพูสูตรทั่วไป

การพัฒนาแชมพูสูตรทั่วไป จะศึกษาปริมาณสารเพิ่มความหนืด PEG-120 Methyl Glucose 4 ระดับคือ ร้อยละ 0 1 2 และ 3 วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ โดยส่วนผสมของแชมพูสูตรทั่วไปในแต่ละกรรมวิธีแสดงดังตารางที่ 1 เตรียมแชมพูสูตรทั่วไปโดยละลาย Sodium chloride ใน

กรมวิทยาศาสตร์

น้ำเปล่าแล้วผสม sodium laureth sulphate ร้อยละ 60 ให้ละลายเข้ากัน จากนั้นเติมส่วนผสมแต่ละชนิดคนให้ละลายตามลำดับ ดังนี้ polyquaternium-44, Cocamido propyl betain, PEG-120 Methyl Glucose, สารกันเสีย และน้ำหอม นำตัวอย่างแชมพูที่ได้ไปศึกษาคุณภาพของแชมพูสูตรทั่วไป เทียบกับแชมพูสระผสมในท้องตลาด ได้แก่ ลักษณะปรากฏ pH ความหนืด

ตารางที่ 1 ส่วนผสมของแชมพูสูตรทั่วไปในแต่ละกรรมวิธี

สารเคมี	ปริมาณ (ร้อยละ)			
	กรรมวิธีที่ 1	กรรมวิธีที่ 2	กรรมวิธีที่ 3	กรรมวิธีที่ 4
60 % sodium laureth sulphate	15	15	15	15
Sodium chloride	1	1	1	1
polyquaternium-44	0.5	0.5	0.5	0.5
Cocamido propyl betain	6	6	6	6
Panthenol	0.5	0.5	0.5	0.5
PEG-120 Methyl Glucose	0	1	2	3
preservative (Bronidox L)	0.1	0.1	0.1	0.1
fragrance	0.3	0.3	0.3	0.3
water	76.6	75.6	74.6	73.6
รวม	100	100	100	100

กรมวิชาการเกษตร

2.2.2 พัฒนาแชมพูผสมสารสกัดห้อม

การพัฒนาแชมพูสระผมผสมสารสกัดห้อม จะคัดเลือกแชมพูสูตรทั่วไปที่มีคุณภาพใกล้เคียงกับแชมพูสระผมในท้องตลาด มาพัฒนาแชมพูสระผสมผสมสารสกัดห้อม โดยใช้สารสกัดห้อมในปริมาณร้อยละ 0.4 ซึ่งเป็นปริมาณที่มีความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus epidermis* คือ 35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การพัฒนาแชมพูสระผมห้อมจะศึกษาปริมาณ PEG-120 Methyl Glucose ซึ่งช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีความหนืดเพิ่มขึ้น 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0 1 และ 2 และใช้แชมพูสูตรทั่วไปเป็นสูตรควบคุม วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 กรรมวิธี 5 ซ้ำ โดยส่วนผสมของแชมพูผสมสารสกัดห้อม แสดงดังตารางที่ 2 เตรียมแชมพูสูตรทั่วไปโดยละลาย Sodium chloride ในน้ำเปล่าแล้วผสม sodium laureth sulphate ร้อยละ 60 ให้ละลายเข้ากัน จากนั้นเติมส่วนผสมแต่ละชนิดคนให้ละลายตามลำดับ ดังนี้ polyquaternium-44, Cocamido propyl betain, PEG-120 Methyl Glucose, สารสกัดห้อม, สารกันเสีย และน้ำหอม นำตัวอย่างแชมพูที่ได้ไปศึกษาคุณภาพต่าง ๆ ดังนี้

- ค่า pH
- ความหนืด

- จำนวนรวมของแบคทีเรีย โดยใช้ 3M PetrifilmTM Plates
- ความคงสภาพ โดยเก็บตัวอย่างแชมพู ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วนำไปเก็บที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำเช่นนี้สลับกันจนครบ 4 ครั้ง นำตัวอย่างแชมพูมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบลักษณะทั่วไปเปรียบเทียบกับลักษณะเดิมของผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 2 ส่วนผสมของแชมพูผสมสารสกัดห้อมในแต่ละกรรมวิธี

สารเคมี	ปริมาณ (ร้อยละ			
	ควบคุม	กรรมวิธีที่ 1	กรรมวิธีที่ 2	กรรมวิธีที่ 3
60 % sodium laureth sulphate	15	15	15	15
Sodium chloride	1	1	1	1
polyquaternium-44	0.5	0.5	0.5	0.5
Cocamido propyl betain	6	6	6	6
PEG-120 Methyl Glucose	2	0	1	2
Panthenol	0.5	0.5	0.5	0.5
สารสกัดห้อม	0	0.4	0.4	0.4
preservative (Bronidox L)	0.1	0.1	0.1	0.1
fragrance	0.3	0.3	0.3	0.3
water	74.6	76.2	75.2	74.2
รวม	100	100	100	100

กรมวิชาการเกษตร

- เวลาและสถานที่

กันยายน 2560 – ตุลาคม 2563

กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

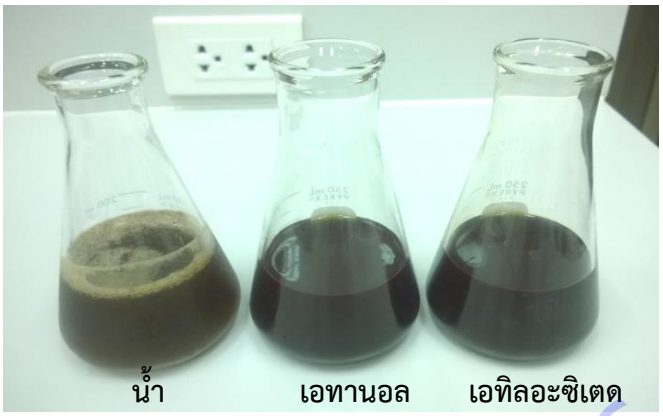
9. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การศึกษาผลของตัวทำละลายในการสกัดห้อมต่อความสามารถต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง

1.1 การสกัดสารสกัดห้อมด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

การศึกษาการสกัดห้มด้วยตัวทำละลาย 3ชนิด ได้แก่ ได้แก่ น้ำ เอทานอล ความเข้มข้น 95 %v/v และเอทิลอะซิเตด ความเข้มข้น 95 %v/v สารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำเป็นของเหลวสีน้ำตาล ส่วนสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลและเอทิลอะซิเตดจะเป็นของเหลวสีเขียว ดังแสดงในภาพที่ 1 หลังจากนำสาร

สกัดที่ได้ระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศ จะได้สกัดเป็นลักษณะเป็นของข้นหนืดสีน้ำตาลทั้ง 3 ตัวทำละลาย ดังแสดงในรูปที่ 2 โดยปริมาณสารสกัดที่ได้แสดงดังตารางที่ 1 จะเห็นว่า การสกัดห้อมด้วยน้ำจะได้ปริมาณสารสกัดสูงสุด เฉลี่ย 47.410 กรัม



ภาพที่ 1 สารสกัดห้อมที่ได้จากตัวทำละลายแต่ละชนิด

ภาพที่ 2 สารสกัดห้อมที่ได้จากตัวทำละลายแต่ละชนิดภายหลังระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศ

ตารางที่ 3 น้ำหนักเฉลี่ยสารสกัดห้อมที่ได้จากการสกัดด้วยตัวละลายชนิดต่าง ๆ

solvent	Extract yield weight (g)
water	47.410 a
95 %v/v ethanol	13.944 b
95 %v/v ethyl acetate	5.401 c

Means within the same column followed by different letter are significantly different (P<0.05) by DMRT test.

1.2 การศึกษาความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดห้อม

1.2.1 DPPH radical scavenging assay

การศึกษาความสามารถต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay ของสารสกัดห้อมจากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด เปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระ วิตามิน ซี ผลการการทดลองแสดงดังตารางที่ 4 จะเห็นได้ว่า ความสามารถต้านอนมูลอิสระของสารสกัดห้อมจากตัวทะละลายทั้ง 3 ชนิดนั้นมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระต่ำ DPPH ต่ำกว่าวิตามิน ซี โดยสารสกัดห้อมด้วยสารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95 %v/v จะมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าสารสกัดห้อมที่สกัดด้วยตัวทำละลายอีก 2 ชนิด

ตารางที่ 4 ความสามารถต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay ของสารสกัดห้อมจากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

solvent	IC_{50} (µg/ml)
water	457.09 c
95 %v/v ethanol	104.23 a
95 %v/v ethyl acetate	277.76 b
Vitamin C	5.86

Means within the same column followed by different letter are significantly different (P<0.05) by DMRT test.

1.2.1 ABTS radical scavenging assay

การศึกษาความสามารถต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS radical scavenging assay ของสารสกัดห้อมจากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด เปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระ วิตามิน ซี ให้ผลแสดงดังตารางที่ 5 จะเห็นได้ว่า สารสกัดห้อมจากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระ ABTS ต่ำกว่าวิตามินซี โดยสารสกัดห้อมด้วยสารสะลายเอทานอลความเข้มข้น 95 %v/v มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสกัดห้อมจากตัวทำละลายอีก 2 ชนิด เช่นเดียวกับความสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH

ตารางที่ 5 ความสามารถต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS radical scavenging assay ของสารสกัดห้อมจากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

กรมวิชาการเกษตร

solvent	IC_{50} (µg/ml)
water	329.29 c
95 %v/v ethanol	65.06 a
95 %v/v ethyl acetate	101.04 b
Vitamin C	5.51

Means within the same column followed by different letter are significantly different (P<0.05) by DMRT test.

1.3 การทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดห้อม

1.3.1 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธี agar disc diffusion

ผลการทดสอบความสามารถของสารสกัดห้อมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและยีสต์จำนวน 5 ชนิดได้แก่ *staphylococcus aureus, bacillus subtilis*, *staphylococcus epidermidis*, *propionibacterium acnes* และ *cadida albicans* พบว่าสารสกัดห้อมด้วยน้ำมีความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ 3 ชนิด ได้แก่ *S. Aureus S. epidermidis* และ *P.acnes* ส่วนสารสกัดห้อมด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 95 % และ เอทิลอะซิเตด ความเข้มข้น 95 % v/v สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อยีสต์ได้ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *S. Aureus S. epidermidis B. subtilis C. albicans* และ *P.acnes* ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้งของการยับยั้งการเจริญของ *S. Aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis C. albicans* และ *P. acenes* โดยสารสกัดใบห้อมด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ gentamicin ความเข้มข้น 2.5 mg/ml และ ketoconazole ความเข้มข้น 20 mg/ml ด้วยวิธี agar disc diffusion

เชื้อทดสอบ	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้ง (mm)				
	น้ำ	95 %v/v ethanol	95 %v/v ethyl acetate	gentamicin	ketoconazole
S. Aureus	11.8	15.6	14.7	18.5	-
S. epidermidis	22.0	19.6	14.3	19.9	-
B. subtilis	-	11.5	14.2	29.1	-
C. albicans	-	8.7	12.8	-	15.4
P. acenes	5.5	5.2	6.3	28.8	-

กรมวิชาการเกษตร

1.3.2 การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดห้อมที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) โดยวิธี agar disc diffusion

เมื่อทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 2 ชนิดคือ เชื้อ *S. epidermidis* ซึ่งเป็นเชื้อที่พบบริเวณผิวหนัง หนังศรีษะ ทำให้เกิดผิวหนังอักเสบ สามารถผลิตเมือกและมีกลิ่นไม่พึงประสงค์ได้ ส่วน *C. albicans* นิยมใช้เป็นตัวแทนสำหรับทดสอบตัวยาในการยับยั้ง *P. orbiculare* เป็นยีสตซึ่งปกติพบอยู่ที่ผิวหนังและหนังศีรษะในเกล็ดรังแค แต่การเพาะเชื้อ *Pityrosporum ovale* ให้บริสุทธิ์นั้นทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากเชื้อชนิดนี้ต้องการอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความจำเพาะ (ชลลดา, 2546) จึงทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของเชื้อ 2 ชนิดนี้ ในการนำสารสกัดห้อมไปประยุกต์ใช้ในแชมพู โดยพบว่า สารสกัดห้อมด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 95 % และ เอทิลอะซิเตด ความเข้มข้น 95 % v/v มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ต่ำที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดห้อมด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค

เชื้อทดสอบ	MIC (mg/ml)		
	น้ำ	95 %v/v ethanol	95 %v/v ethyl acetate
S. epidermidis	125	15.62	15.62
C. albicans	-	500	250

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดห้อมด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดได้แก่ น้ำ เอทานอล ความเข้มข้น 95 % และ เอทิลอะซีเตด ความเข้มข้น 95 % v/v เท่ากับ 500 และ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้แก่ ความสามารถต้านอนุมูลอิสระ DHHP และ ABTS และ ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย จะเห็นได้ว่า สารสกัดห้อมด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระต่ำเมื่อเทียบกับวิตามิน ซี แต่มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ โดยสารสกัดห้อมด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 95 % และ เอทิลอะซีเตด ความเข้มข้น 95 % v/v มีความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ จำนวน 5 ชนิดได้แก่ S. *aureus, B. subtilis*, *S. epidermidis*, *P. acnes* และ *C. albicans* ได้ และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ของ สารสกัดห้อมด้วยน้ำ เอทานอล ความเข้มข้น 95 % และ เอทิลอะซีเตด ความเข้มข้น 95 % v/v เท่ากับ 15.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95 % v/v จะได้ปริมาณสารสกัดมากกว่าการสกัดห้อมด้วย เอทิลอะซีเตด ความเข้มข้น 95 % v/v ดังนั้นจึงคัดเลือดสารสกัดห้อมด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95 % v/v ในการศึกษาการพัฒนาแชมพูสระผมผสมสารสกัดห้อมต่อไป โดยใช้ปริมาณสารสกัดห้อมในอัตราส่วนร้อยละ 0.4 เพื่อให้มีความเข้มข้นของสารสกัดสูงกว่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis*

กรมวิชาการเกษตร

2. การพัฒนาการผลิตภัณฑ์แชมพูสระผมผสมสารสกัดห้อม

2.1 การพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์แชมพูสระผมผสมสารสกัดห้อม

2.2.1 พัฒนาแชมพูสูตรทั่วไป

การพัฒนาแชมพูสูตรทั่วไป ศึกษาปริมาณสารเพิ่มความหนืด PEG-120 Methyl Glucose ผลการศึกษาคุณภาพของแชมพูแสดงดังตารางที่ 8 จะเห็นได้ว่าแชมพูสูตรทั่วไป ทั้ง 4 กรรมวิธี จะมีลักษณะใสไม่มีสี ส่วนแชมพูทางการค้า จะมีลักษณะใส สีชมพูจากการเพิ่มสี ดังแสดงใน ภาพที่ 9 มีค่า pH อยู่ระหว่าง 4.5 – 8.0 ตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส แชมพูผสมสมุนไพร (มอก.เอส 12-2561) การเพิ่มปริมาณสารเพิ่มความหนืด (thickener) PEG-120 Methyl Glucose 4 ระดับคือ ร้อยละ 0 1 2 และ 3 ทำให้ค่าความหนืดของแชมพูสูตรทั่วไป เพิ่มขึ้น โดยแชมพูสูตรทั่วไปกรรมวิธีที่ 3 จะมีความหนืด 325.2 cP ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับความหนืดของแชมพูทางการค้ามากที่สุด (504.3 และ 389.4 cP) ดังนั้นจึงเลือกแชมพูสูตรทั่วไป กรรมวิธี 3 เพื่อพัฒนาแชมพูผสมสารสกัดห้อมต่อไป

ตารางที่ 8 คุณสมบัติของแชมพูสูตรทั่วไปที่ระดับสารเพิ่มความหนืด PEG-120 Methyl Glucose ต่าง ๆ

คุณสมบัติ	ปริมาณ PEG-120 Methyl Glucose				ทางการค้า1	ทางการค้า2
	ร้อยละ 0	ร้อยละ 1	ร้อยละ 2	ร้อยละ 3		
ลักษณะปรากฏ	ของเหลวใส ไม่มีสี	ของเหลวใส ไม่มีสี	ของเหลวใส ไม่มีสี	ของเหลวใส ไม่มีสี	ของเหลวใส สีชมพู	ของเหลวใส สีชมพู
pH	5.82	5.82	5.80	5.76	4.75	4.88
ความหนืด (cP)	2.91	116.5	325.8	1,710	504.3	389.4

แชมพูสูตรทั่วไป แชมพูทางการค้า

ภาพที่ 3 ลักษณะแชมพูสระผมสูตรทั่วไป และแชมพูทางการค้า

กรมวิชาการเกษตร

2.2.2 พัฒนาแชมพูผสมสารสกัดห้อม

การพัฒนาแชมพูสระผมผสมสารสกัดห้อม โดยใช้สารสกัดห้อมในปริมาณร้อยละ 0.4 ซึ่งเป็นปริมาณที่มีสูงกว่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus epidermis* โดยศึกษาปริมาณ PEG-120 Methyl Glucose ซึ่งช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีความหนืดเพิ่มขึ้น 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0 1 และ 2 ผลการศึกษาคุณภาพของแชมพูผสมสารสกัดห้อม แสดงดังตารางที่ 9 จะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มปริมาณ PEG-120 Methyl Glucose ความหนืดของแชมพูผสมสารสกัดห้อมจะมีความหนืดเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับแชมพูสูตรทั่วไป โดยที่แชมพูผสมสารสกัดห้อมจะมีความหนืดสูงกว่าแชมพูสูตรทั่วไปที่ระดับของ PEG-120 Methyl Glucose ร้อยละ 2 และใกล้เคียงกับแชมพูทางการค้า โดยความหนืดอยู่ในช่วง 100 – 7,000 cP ตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส แชมพูผสมสมุนไพร (มอก.เอส 12-2561) เมื่อศึกษาความคงสภาพของแชมพูผสมสารสกัดห้อมทั้ง 3 กรรมวิธี พบว่า ลักษณะปรากฏของแชมพูผสมสารสกัดห้อมยังคงมีลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 4) ก่อนและหลังการทดสอบความคงสภาพคุณสมบัติของแชมพูสระผสมผสมสารสกัดห้อมทั้ง 3 กรรมวิธี มีค่า pH ความหนืด ใกล้เคียงกัน และอยู่เกณฑ์มาตรฐานตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส แชมพูผสมสมุนไพร (มอก.เอส 12-2561) และตรวจไม่พบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นแชมพูสระผสมผสมสกัดห้อม ในกรรมวิธี 3 จึงเป็นกรรมวิธีที่เหมาะสมมากกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ เนื่องจากมีค่าความหนืดอยู่ในช่วงที่เหมาะสม

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 9 คุณภาพของแชมพูผสมสารสกัดห้อมในแต่ละกรรมวิธี

คุณสมบัติ	ก่อนทดสอบความคงสภาพ				หลังทดสอบความคงสภาพ			
	กรรมวิธี 1	กรรมวิธี 2	กรรมวิธี 3	ควบคุม	กรรมวิธี 1	กรรมวิธี 2	กรรมวิธี 3	ควบคุม
ลักษณะปรากฏ	ของเหลวสีน้ำตาลเข้ม	ของเหลวสีน้ำตาลเข้ม	ของเหลวสีน้ำตาลเข้ม	ของเหลวใสไม่มีสี	ของเหลวสีน้ำตาลเข้ม	ของเหลวสีน้ำตาลเข้ม	ของเหลวสีน้ำตาลเข้ม	ของเหลวใสไม่มีสี
pH	5.46	5.44	5.40	5.51	5.35	5.33	5.30	5.43
ความหนืด	3.20	93.2	515.3	382.4	4.5	87.6	489.2	335.2
ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND = not detected

ภาพที่ 4 ตัวอย่างแชมพูผสมสารสกัดห้อม

10. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สารสกัดห้อมมีความสามารถต้านอนูมลอิสระ DPPH และ ABTS ต่ำกว่าวิตามินซี โดยสารสกัดห้อมด้วยสารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95 %v/v จะมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS สูงกว่าสารสกัดห้อมด้วยสารละลายเอทิลอะซีเตดความเข้มข้น 95 %v/v และน้ำ

สารสกัดห้อมด้วยสารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95 %v/v และ สารละลายเอทิลอะซีเตดความเข้มข้น 95 %v/v มีความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อยีสต์ได้ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *S. Aureus S. epidermidis B. subtilis C. albicans* และ *P.acnes* โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* เท่ากับ 15.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดห้อมด้วยสารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95 %v/v เหมาะสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไปเนื่องจากให้ปริมาณสารสกัดมากกว่าสารสกัดด้วย สารละลายเอทิลอะซีเตดความเข้มข้น 95 %v/v ทั้งนี้ควรศึกษาความพิษเฉียบพลัน ความเป็นพิษเรื้อรังและข้อมูลด้านความปลอดภัยต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกาย

สูตรที่เหมาะสมสำหรับแชมพูผสมสารสกัดห้อมคือ 60% SLES 15 %, sodium chloride 1%, polyquaternium-44 0.5%, cocamido propyl betain 6 %, PEG-1 2 0 Methyl Glucose 2 %, panthenol 0.5 % , สารสกัดห้อม 0.4 % และสารกันเสีย (Bronidox L) 0.1 % จะได้แชมพูผสมสารสกกัดห้อมที่มีค่า pH ความหนืด อยู่เกณฑ์มาตรฐานตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส แชมพูผสมสมุนไพร (มอก.เอส 12-2561) และตรวจไม่พบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ และมีความคงตัว ทั้งนี้ควรศึกษาประสิทธิภาพของแชมพู เช่น ปริมาณฟองและความคงตัวของฟอง ประสิทธิภาพการชำระล้าง การลดการพันกันของเส้นผมขณะเปียกและขณะแห้ง รวมไปถึงการทดสอบความระคายเคืองในอาสาสมัคร และประเมินความพึงพอใจในอาสาสมัคร

11. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ศูนย์วิทยทรัพยากร

ผลจากการทดลองนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาสารสกัดห้อม สามารถเป็นข้อมูลให้กับนักวิจัยและศึกษาข้อมูลด้านอื่น ๆ เพื่อพัฒนาต่อไป และเผยแพร่ในวารสารวิชาการทั้งภายในและต่างประเทศ

12. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

13. เอกสารอ้างอิง

ชลลดา วชิรเดชเสถียร. 2546. การพัฒนาผลิตภัณฑ์แชมพูผสมมะกรูดจากวัสดุเหลือใช้ของอุตสาหกรรมอาหาร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ทนงศักดิ์ เพียขันที. 2553. ผลของพอลิเมอร์บางชนิดในการเคลือบสีและป้องกันการหลุดของเม็ดสีในตำรับครีมเปลี่ยนสีผม. สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม. 81 หน้า.

ปราชญ์สกล ช่วยสุดสกุลชัย. 2552.การศึกษาคุณสมบัติยับยั้งแบคทีเรียบริเวณใต้วงแขนของผ้าย้อมคราม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตรศึกษา. มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร.62 หน้า

มนตรี กระสายทอง. 2556. การพัฒนาแชมพูสมุนไพรผสมสารสกัดใบขนุนพันธ์ฟ้าถล่ม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตรศึกษา. มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์. ปทุมธานี. 86 หน้า.

รัชฎาพร อ่นศิวิไลย์, จิราวรรณ อุ่นเมตตาอารี และ จิตรา สิงห์ทอง. 2554. ฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดย่านาง เครือหมาน้อย และรางจืด. รายงานวิจัย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 53 หน้า.

สุมนต์ทิพย์ คงตัน และวิชัย สุรเชิดเกียรติ. 2551.การพัฒนาตำรับสีย้อมผมถาวรจากพืชสมุนไพร. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ. 124 หน้า.

อัฐญาพร ชัยชมภู. 2555. การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดที่พบบนผิวหนังโดยใช้สารสกัดสมุนไพรพื้นบ้าน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาประยุกต์ บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 128 หน้า

อารี พลดี. มปป. สำนักงานราชบัณฑิตยสภา (ออนไลน์) แหล่งข้อมูล : http://www.royin.go.th/?knowledges [22 พฤษภาคม 2559]

Adedapo, A. A., Jimoh, F. O., Afolayan, A. J., and Masika, P. J. 2009. Antioxidant properties of the methanol extracts of the leaves and stems of Celtis africana. Records of Natural Products, 3(1), 23–31.

Taguchi, K., Tokano, T., Yamaoka, Y. and Furuse, K. (2003).Hair dye and hair-dyeing methods using the same. Google Patents.

กรมวิชาการเกษตร

Shahni, R. and P J Handique. 2013. Antibacterail Properties of leaf extracts of Strobilanthes cusia (Nees) Kuntze, a rare ethno-medicinal plant of Manipur, India. Int. J.Pharm Tech Res. 5(3): 1281-1285.

กรมวิชาการเกษตร