

การพัฒนาผลิตภัณฑ์โทนิกสำหรับเส้นผมที่มีสารสกัดบัวบก

DEVELOPMENT OF HAIR TONIC CONTAINING

CENTELLA ASIATICA EXTRACT

พ.ต.หญิง กิริติกันต์ กฤตินิธิ

Kridnithi.keerantikan@gmail.com

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร. ณัฐววุฒิ ฐิติปราชญ์

natthawut.thi@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมสารสกัดบัวบกแห้งโดยใช้วิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือน้ำกลั่น และเอทานอล และศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิก (TPC), ฟลาโวนอยด์ (TFC), และโพรแอนโทไซยานิน (TPAC) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดบัวบก ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดบัวบกแห้งที่สกัดด้วยน้ำ มีปริมาณสารประกอบรวมฟีนอลิกสูงที่สุดเท่ากับ 388.6 ± 9.0 mg GAE/g sample ($p < 0.05$) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดบัวบกแห้งที่สกัดด้วยน้ำ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH ($1,503.0 \pm 19.3$ mg TEAC / g sample), ABTS ($1,863 \pm 18.3$ mg TEAC / g sample) และ FRAP ($4,760.2 \pm 56.0$ mg TEAC / g sample) ตามลำดับ ($p < 0.05$) การพัฒนาตำรับพื้นแสร้งโทนิก พบว่าตำรับพื้นที่มีสารก่อกเจลชนิด Acrylate copolymer ปริมาณ 0.4 % w/w ให้ลักษณะเหลวใส นุ่มลื่นไม่เหนอะหนะ จึงนำมาพัฒนาเป็นแสร้งโทนิกที่มีสารสกัดบัวบกแห้งที่มีปริมาณ 10% โดยน้ำหนัก มีความเหมาะสมที่สุด โดยให้ผลิตภัณฑ์ มีเนื้อสวยงาม มีความคงตัวและมีความพึงพอใจของผู้บริโภคสูงสุด (3.8 ± 0.8 คะแนน) จากคะแนนเต็ม 5 คะแนน โดยปราศจากความระคายเคือง เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในอาสาสมัครพบว่าอาสาสมัครมีการหลุดร่วงของเส้นผมลดลง หลังจากใช้ผลิตภัณฑ์ 28 วัน โดยเส้นผมหลุดร่วงลดลงจากวันที่ 0 (วันเริ่มต้น) 10.51 เส้น/การหวี 20 ครั้ง (100%) เป็น 7.77 เส้น/การหวี 20 ครั้ง (26.80 ± 7.00 %) ในวันที่ 28 ซึ่งมีประสิทธิภาพสามารถป้องกันผมร่วงได้ร้อยละ 26.80 ± 7.00 % จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สารสกัดบัวบกสามารถนำไปใช้เป็นสารสกัดธรรมชาติได้อีกด้วยซึ่งช่วยในการบำรุงเส้นผมและป้องกันผมร่วง

คำสำคัญ: ฟลาโวนอยด์/ฟีนอลิก/สารต้านอนุมูลอิสระ/สารสกัดบัวบก

Abstract

The objective of this study was to prepare *Centella asiatica* (CA) leaves extract by solvents extraction using 2 solvents: DI water and ethanol and to investigate the bioactive compound (total phenolic: TPC, flavonoid: TFC and proanthocyanidin TPAC contents) and antioxidant in the *Centella asiatica* extracts. The results showed that the CA extract with water had the highest TPC (388.6 ± 9.0 mg GAE/g sample). In addition, the antioxidant capacity of these CA extracts tended to be greatest on water analyze with DPPH ($1,503.0 \pm 19.3$ mg TEAC /g sample), ABTS ($1,863 \pm 18.3$ mg TEAC /g sample) and FRAP ($4,760.2 \pm 56.0$ mg TEAC /g sample) For the development of base hair tonic, the best base formula composed of acrylate copolymer (0.4 % w/w in formula) that its characteristic was clearly liquid, smooth hair tonic. Moreover, hair tonic with *Centella asiatica* (DI water) extract was developed in CA concentration 10 % w/w in formula that has stability and high customer stratification (3.8 ± 0.8 of total 5 scores) without irritation. Furthermore, the result of the efficiency of CA hair tonic. showed that this CA product could be anti-hair loss (anti-hair fall~ 26.8 ± 7.0 % n=30). The results suggested that *Centella asiatica* extracted by water could be used as natural active ingredient for hair nourish and anti-hair loss product.

Keywords: Antioxidant; *Centella asiatica* extract; Flavonoid; Hair care; Phenolic

บทนำ

บัวบก (*Centella asiatica*) เป็นสมุนไพรไทยที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายตั้งแต่ในอดีต ก่อให้เกิดภูมิปัญญาไทย ส่งต่อมาถึงในรุ่นปัจจุบัน เช่น การนำใบบัวบกมาหั่นบดหรือคั้นสดกับน้ำสะอาด โดยใช้เป็นสารสกัดหลัก หรือสารสกัดร่วมกับสารอื่นในการดูแลด้านความงามและสุขภาพ เส้นผม โดยทำให้ผมดกดำเงางามและอื่นๆ นอกจากนี้ใบบัวบกยังมีสรรพคุณอื่นๆ เช่น ช่วยในการรักษาการติดเชื้อของร่างกาย ซึ่งมีสารต้านอนุมูลอิสระจำนวนมากที่จะช่วยบำรุงและฟื้นฟูอวัยวะต่างๆ ของร่างกายให้แข็งแรงและทำงานอย่างเป็นปกติ กระตุ้นการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ ลดความเสี่ยงของเซลล์ อวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายได้นอกจากนี้ยังพบว่าใบบัวบกยังส่งผลในการช่วยเร่งการสร้างสารคอลลาเจน (Collagen) ที่เป็นโครงสร้างของผิวจึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการกระตุ้นให้แผลสมานตัวได้เร็วขึ้น ยังเพิ่มการไหลเวียนโลหิตช่วยบำรุงเส้นผมและหนังศีรษะ ลดการหลุดร่วงของเส้นผม นอกจากนี้ยังมีประโยชน์ เป็นยาบำรุงหัวใจ แก้อ่อนใน กระหายน้ำ แก้ไข้ใน ลดความดัน

โลหิตสูง ขับยั้งเซลล์มะเร็ง รักษาแผลอักเสบมีหนองได้ดี เป็นต้น (ยูวดี, 2537; นิภาพร, 2547;จินดาพร, 2552; Nerya et al., 2003 ; Wang et al.,2006) นอกจากนี้ในปัจจุบันใบบวบก็จึงเป็นสมุนไพร 1 ใน4 สมุนไพรหลักตามนโยบายของภาครัฐมีการส่งเสริมการเพาะปลูกสมุนไพรเพื่อการแข่งขันต่อตลาดโลกจึงมีการเพาะปลูกมากขึ้น ทำให้แนวโน้มจะมีสมุนไพรใบบวบก็มีปริมาณมากขึ้นดังนั้นนอกจากการใช้ประโยชน์ทางด้านสมุนไพรทางยาแล้วยังคงต้องนำสมุนไพร ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ เช่นเดียวกัน จึงควรส่งเสริมให้มีการวิจัยพัฒนาการประยุกต์ใช้ใบบวบในอุตสาหกรรมที่หลากหลายรวมทั้งผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

แม้ว่าบวบจะมีภูมิปัญญาไทยใช้ในการทำให้ผิวพรรณและเส้นผมสุขภาพดี แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาเปรียบเทียบการเตรียมสารสกัดแบบภูมิปัญญาไทยและการสกัดด้วยตัวทำละลายยังมีน้อย นอกจากนี้ยังขาดการพัฒนาสารสกัดใบบวบเป็นแฮร์ โทนิค เพื่อดูแลเส้นผม ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาสารสกัดบวบแห้ง ด้วยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย (DI waterและEtOH) และพัฒนาผลิตภัณฑ์แฮร์ โทนิคที่มีสารสกัดบวบ พร้อมกับทดสอบประสิทธิภาพการลดการหลุดร่วงของเส้นผม

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากบวบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย
2. เพื่อพัฒนาตำรับพื้นโทนิคสำหรับเส้นผม จากสารสกัดบวบสำหรับบำรุงเส้นผม
3. เพื่อทดสอบความระคายเคืองและประสิทธิภาพของแฮร์ โทนิคที่มีสารสกัดบวบ

ขอบเขตการศึกษา

ค้นคว้าศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ทำการสกัดสารจากบวบด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอลและวิเคราะห์หาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ทางชีวภาพ(ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ) จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาพัฒนาผลิตภัณฑ์แฮร์ โทนิคสมุนไพรบำรุงผมและหนังสือชี้แนะเพื่อลดการหลุดร่วงจากสารสกัดจากธรรมชาติมีการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ทางกายภาพและทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร รวบรวมผล ประเมิน วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1. พัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรบำรุงเส้นผมและหนังศีรษะเพื่อลดการหลุดร่วงจากสารสกัดจากธรรมชาติ
2. เป็นแนวทางในการส่งเสริมสนับสนุนการใช้ภูมิปัญญาชาวบ้านในพืชสมุนไพร

การทบทวนวรรณกรรม

บัวบก มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Centella asiatica* (Linn) Urban มีชื่อสามัญว่า asiatic pennywort ในประเทศไทยมีชื่อเรียกกันไปตามท้องถิ่นต่างๆ เช่น ผักหนอก ผักแว่น ปะหนะเอหา เต้าะ เป็นพืชล้มลุก ขนาดเล็กที่มีลักษณะคล้ายบัว ลำต้นเลื้อยแผ่ไปตามดิน มีรากงอกออกมาตามลำต้น ก้านใบงอตรงจาก ดิน ใบมีสีเขียว ใบรูปกลมรีเล็กน้อย ดอกสีม่วงแดง เข้ม บัวบกมีกลิ่นหอม รสขมเล็กน้อย(ยูวดี, 2537; นิภาพร, 2547) ยังพบว่าใบบัวบกประกอบด้วยสารประกอบโพลีฟีนอล ที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ tyrosinase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทในการเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์เมลานิน และยังพบว่าใบบัวบกมีให้สารไกลโคไซด์ (Glycosides) หลายชนิดที่ให้ผลต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Antioxidation) ซึ่งส่งผลให้การลดความเสื่อมของเซลล์ อวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายได้นอกจากนี้ยังพบว่าสารไกลโคไซด์ที่ได้จากใบบัวบกยังส่งผลในการช่วยเร่งการสร้างสารคอลลาเจน(Collagen) ที่เป็นโครงสร้างของผิวจึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการกระตุ้นให้แผลสมานตัวได้เร็วขึ้นยังเพิ่มการไหลเวียนโลหิตช่วยบำรุงเส้นผมและหนังศีรษะ ลดการหลุดร่วงของเส้นผมและผมหงอกก่อนวัยได้(Trüeb, Ralph M., 2006, Leung and Foster, 1998, Zheng and Qin, 2007, Hussin, et al., 2009)

วิธีดำเนินการวิจัย

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากบัวบก

การเตรียมสารสกัดใบบัวบก (*Centella asiatica* (L.) Urb.) โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย DI water โดยนำใบบัวบกสดล้างให้สะอาด (อบใบบัวบกที่อุณหภูมิ 50°C เป็นระยะเวลา 2 วันหรือจนตัวอย่างแห้งได้น้ำหนักคงที่และนำไปบดให้ละเอียด) นำใบบัวบกแห้งไปสกัดด้วยตัวทำละลาย (DI water และ ethanol) ด้วยอัตราส่วน ตัวอย่าง : ตัวทำละลาย 1 : 10 (w/v) ด้วยวิธี Shaking method ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง ความเร็วรอบ 150 rpm จากนั้นกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง Whatman no. 1 filter paper และนำตัวทำละลายอินทรีย์ออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator นำสารสกัดที่ได้ไปทำแห้งด้วย freeze-dryer เก็บสารสกัดไว้ขวดสีชาที่อุณหภูมิ -4 °C (Temrangsee, 2011)

วิเคราะห์หาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดบัวบก

วิเคราะห์หาปริมาณ Total Phenolic Content (TPC)

ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method โดยใช้ Gallic acid เป็นสารละลายมาตรฐาน โดยเปิดสารสกัดบัวบกปริมาตร 60 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 นาทีที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นเติม 7 % w/v Sodium carbonate ปริมาตร 240 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ทำการทดลองตัวอย่างละ 5 ซ้ำ โดยคำนวณจากกราฟมาตรฐาน Gallic acid (Singleton & Rossi, 1965) แล้วรายงานผลเป็นปริมาณ mg GAE / g sample.

วิเคราะห์หาปริมาณสาร Total Flavonoid content (TFC)

ด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetry โดยใช้ Quercetin เป็นสารละลายมาตรฐาน โดยใช้สารสกัดบัวบกปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับ 95% Ethanol ปริมาตร 300 ไมโครลิตร จากนั้นเติม 10% Aluminium chloride ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วเติม 1 M potassium acetate ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 560 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ทำการทดลองตัวอย่างละ 5 ซ้ำ คำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์จากกราฟมาตรฐาน Quercetin (Chang et al., 2002) รายงานผลเป็นปริมาณ mg QE / g sample.

วิเคราะห์หาปริมาณสาร Total Proanthocyanidin content (TPAC)

โดยใช้ Catechin เป็นสารละลายมาตรฐาน โดยใช้สารสกัดบัวบกปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันกับ 1% Vanillin ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วเติม 25% Sulfuric acid ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ทดสอบจำนวน 5 ซ้ำ แล้วนำมาคำนวณหาค่าการดูดกลืนแสง ดังสมการ ค่าการดูดกลืนแสง = $(D - C) - (A - B)$ โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ control, B = ค่าการดูดกลืนแสงของ Blank control, C = ค่าการดูดกลืนแสงของ Blank sample และ D = ค่าการดูดกลืนแสงของ sample จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณโปรแอนโทไซยานิดินจากกราฟมาตรฐานของ Catechin (Singleton & Rossi, 1965) แล้วรายงานผลเป็นปริมาณ mg CE / g sample.

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

วิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบบัวบก ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity โดยปีเปิดสารสกัดบัวบกปริมาตร 30 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) ปริมาตร 570 ไมโครลิตร ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาที่อนุมูลอิสระในที่มีดเป็น เวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร (Sharma & Bhat, 2009) ทดสอบจำนวน 5 ซ้ำ แล้วนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิด DPPH radical ดังสมการ % DPPH radical-scavenging activity = $[(A - B)/A] \times 100$ โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ Control และ B = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณจากกราฟมาตรฐานของ Trolox แล้วรายงานผลเป็นปริมาณ mg TEAC / g sample

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

วิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดบัวบกด้วยวิธี FRAP antioxidant activities โดยปีเปิดสารละลาย 2,4,6-tripyridylsptriazine (TPTZ) 10 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย Ferric chloride 10 มิลลิลิตร และ Sodium acetate buffer 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปีเปิดสารสกัดใบ บัวบกปริมาตร 30 ไมโครลิตร ผสมสารละลาย Ferric tripyridylthiazine (FRAP) ปริมาตร 570 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาที่อนุมูลอิสระในที่มีดเป็นเวลา 15 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร (Prior et al., 2005) ทดสอบจำนวน 5 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาคำนวณหาความสามารถการต้านออกซิเดชันจากกราฟมาตรฐานของ Trolox และ รายงานผลเป็นปริมาณ mg TEAC / g sample

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

วิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดบัวบกด้วยวิธี ABTS radical-scavenging activity โดยการเตรียมสารละลาย 3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) กับสารละลาย Potassium persulphate ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในอัตราส่วน 1:1 (v/v) ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาที่ อนุมูลอิสระในที่มีดนาน 15 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเจือจางด้วยสารละลาย Phosphate buffer ใน อัตราส่วน 1:20 (v/v) จากนั้นปีเปิดสารสกัดใบบัวบกที่ปริมาตร 30 ไมโครลิตร กับสารละลาย ABTS ปริมาตร 570 ไมโครลิตรผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาที่อนุมูลอิสระในที่มีดเป็นเวลา 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร (Thaipong et al., 2006) ทดสอบจำนวน 5 ซ้ำ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิด ABTS radical จากสมการ % ABTS radical-scavenging activity = $[(A - B)/A] \times 100$ โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ Control และ B

= ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาความสามารถการต้านออกซิเดชัน จากกราฟมาตรฐานของ Trolox และรายงานผลเป็นปริมาณ mg TEAC/ g sample

พัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์

พัฒนาตำรับพื้นให้มิลักษณะของตำรับพื้นแฮร์โทนิค ที่ตั้งเป้าหมายไว้ คือ แฮร์โทนิค ของเหลวใสคูดซึมได้ดี ผมมิลักษณะนุ่มลื่นและสวยงามน่าใช้ จึงพบว่าได้ตำรับแฮร์โทนิค จำนวน 5 สูตร โดยใช้สารก่อเจล 2 ชนิดคือ Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) และ Acrylate copolymer ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.3, 0.4, และ 0.5 % w/w in formula

การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ในสภาวะเร่งนำไปทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง โดยใช้ 2 วิธี (1) Heating-cooling cycle test เป็นการเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิสูงสลับอุณหภูมิต่ำ โดยเก็บผลิตภัณฑ์ในตู้บที่มีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเข้าตู้เย็นที่มี อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำซ้ำ 3 รอบ จากนั้นตรวจสอบลักษณะ ภายนอก เช่น สี กลิ่น การแยกชั้น การตกตะกอน (2) Centrifuge test นำผลิตภัณฑ์ไปปั่นเหวี่ยงที่ 9,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นตรวจสอบลักษณะทางกายภาพและสังเกตการแยกชั้น ของผลิตภัณฑ์พบว่ามิลักษณะที่มีความคงตัวในสภาวะเร่ง และนำไปทำการทดสอบความพึงพอใจ ในตำรับพื้นแฮร์โทนิคทั้ง 5 สูตร จึงได้ ตำรับพื้นแฮร์โทนิคที่เหมาะสม มีลักษณะตรงกับเป้าหมาย (Target) คือเหลวใสเกลี้ยงง่าย ไม่มีกลิ่น มีความชุ่มชื้นไม่เหนอะหนะคูดซึมเร็ว

การพัฒนาผลิตภัณฑ์แฮร์โทนิคที่มีสารสกัดบัวบก

พัฒนาแฮร์โทนิคที่มีสารสกัดบัวบกโดยเลือกสารสกัดบัวบกที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือฤทธิ์ทางชีวภาพมากที่สุดมาเป็น active ในผลิตภัณฑ์และนำตำรับโทนิคที่มีความคงตัวที่มี ลักษณะเหลวข้นน่าใช้ เกลี้ยงง่าย ไม่มีกลิ่น มีความชุ่มชื้นดี ไม่มีความเหนอะหนะและมีการคูดซึม เร็วมาพัฒนาโดยสารสกัดบัวบกที่นำมาพัฒนาที่ความเข้มข้นที่ 10% w/w in formula และนำมา ศึกษาลักษณะทางกายภาพ พร้อมทั้งประเมินความพึงพอใจ

การทดสอบความคงตัว นำไปทำการทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งโดยใช้ 2 วิธี (1) **Heating-cooling cycle test** เป็นการเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิสูงสลับอุณหภูมิต่ำ โดยเก็บผลิตภัณฑ์ ในตู้บที่มีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเข้าตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 4 องศา เซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำซ้ำ 3 รอบ จากนั้นตรวจสอบลักษณะภายนอก เช่น สี กลิ่น การแยกชั้น การตกตะกอน (2) **Centrifuge test** นำผลิตภัณฑ์ไปปั่นเหวี่ยงที่ 9,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นตรวจสอบลักษณะทางกายภาพและสังเกตการแยกชั้นของผลิตภัณฑ์ ทำ

การทดสอบความพึงพอใจของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์แฮร์โทนิคที่มีสารสกัดบัวบกเพื่อพัฒนาเป็นสูตรแฮร์โทนิคที่มีความคงตัวและมีประสิทธิภาพต่อไป

ทดสอบการระคายเคืองโดยวิธี Single application closed patch test

ทดสอบความระคายเคืองของสารสกัดบัวบก,ผลิตภัณฑ์แฮร์โทนิคที่มีสารสกัดบัวบกและตำรับพื้นแฮร์โทนิคด้วยวิธี Single closed patch test โดยใช้แผ่นแปะ Finn Chamber ปิดผิวหนังบริเวณท้องแขนด้านใน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แปลผลและบันทึกผลการทดลองมีทั้งหมด 4 ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ โดยมีปริมาตรสารตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร โดยมีกลุ่มควบคุมเชิงบวก(0.5% SLES) และเชิงลบ(DI water และpropylene glycol) การแปลผลการทดสอบจากการประเมินผิวหนังของอาสาสมัครภายหลังการทดสอบที่ ณ.เวลา 60 นาทีโดยใช้คะแนนความระคายเคืองและการแปรผลการศึกษา

ทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร

อาสาสมัครที่ทำการทดลอง (Inclusion criteria) อาสาสมัครเพศชายอายุ 35-60 ปี มีภาวะผมร่วง/ศีรษะล้าน ไม่เป็นผู้ที่ได้รับการรักษาเกี่ยวกับการเจริญเติบโตของเส้นผมภายใน 6 เดือน ไม่รับประทานกลุ่มยาแก้แพ้ใน 1 สัปดาห์ก่อนทำวิจัยและไม่มีภาวะลักษณะดังนี้ (Exclusion criteria) อาการแพ้ผลิตภัณฑ์จากการทดสอบการระคายเคืองผิวหนังประวัติการแพ้เครื่องสำอางเป็นผู้ที่รับประทานยาสเตียรอยด์ ยาที่ใช้รักษาความดันโลหิตสูง โรคที่เกี่ยวกับระบบไหลเวียนเลือด โดยให้ใช้ผลิตภัณฑ์ 28 วัน โดยทาผลิตภัณฑ์ เช้า-เย็น โดยใช้อาสาสมัคร 30 คน ถ่ายภาพและประเมินผล โดยประเมินผลวันที่ 0, 7, 14, 21, 28 วัน โดยผลลัพธ์ที่ใช้ในการประเมิน ได้แก่ การประเมินความหนาโดยรวมจากภาพถ่าย การวัดการหลุดร่วงของเส้นผม การประเมินความพึงพอใจของผู้เข้าร่วมวิจัยและการประเมินผลข้างเคียงจากการใช้ผลิตภัณฑ์

วิเคราะห์ผลการศึกษาทางสถิติ

นำข้อมูลที่ศึกษาได้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS โดยแสดงผลที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, STD) และเปรียบเทียบความแตกต่างด้วย One-way ANOVA โดยวิธีการ Tukey HSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

ผลการวิจัย

จากการศึกษาพบว่าบวบกแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น (DI water) ให้ร้อยละผลผลิตสูงที่สุด 5.62 และให้ปริมาณสารประกอบรวมฟีนอลิก สูงที่สุด 388.63 ± 9.02 mg GAE/g sample (ตารางที่ 1) พร้อมทั้งให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (DPPH 1503.01 ± 19.37 , ABTS 4760.22 ± 56.00 , และ FRAP 1863.00 ± 18.29 mg TEAC/ g sample) (ตารางที่ 2) ดังนั้นจึงเป็นสารสกัดที่เหมาะสมในการเป็นสารสำคัญในการพัฒนาแฮร์โทนิคที่มีสารสกัดบวบก

ตารางที่ 1 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Total phenolic, flavonoid และ proanthocyanidin contents) ในสารสกัดบวบก

สารสกัด	ตัวทำละลาย	Total Phenolic content (mg GAE/g sample)	Total Flavonoid content (mg QE/g sample)	Total Proanthocyanidin content (mg ECE/g sample)
สารสกัดบวบก	DI Water	388.6 ± 9.0^a	35.16 ± 0.5^d	179.2 ± 6.6^a
	EtOH	361.1 ± 5.4^b	189.02 ± 2.2^a	52.0 ± 0.0^b

Mean \pm S.D (n=5) ตัวอักษรยกที่แตกต่างกัน (a,b,c,d,e) ในคอลัมน์เดียวกัน แสดงถึงการแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$ ANOVA, Turkey Test)

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH, ABTS และ FRAP) ของสารสกัดบวบก

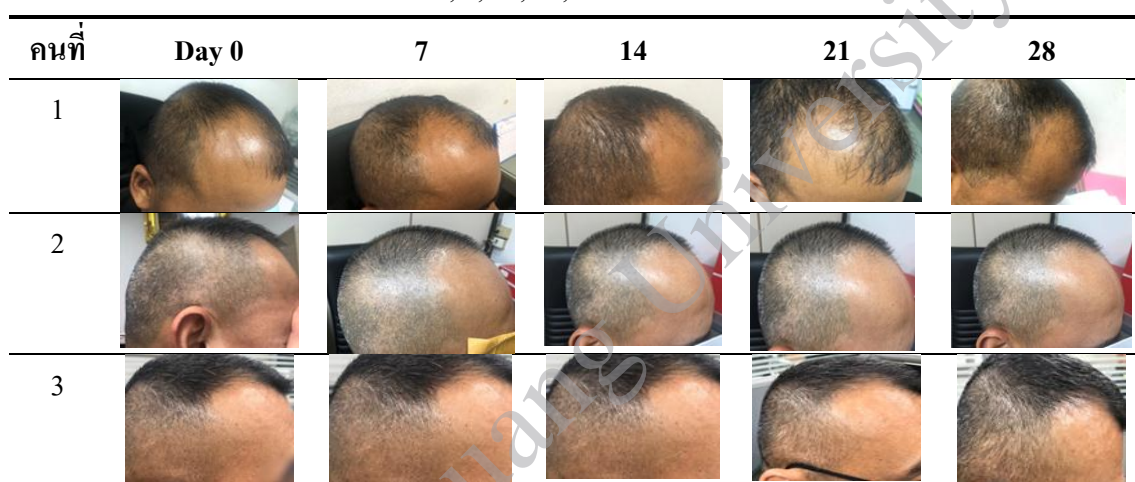
สารสกัด	ตัวทำละลาย	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ		
		DPPH (mg TEAC/g sample)	FRAP (mg TEAC/g sample)	ABTS (mg TEAC/g sample)
สารสกัดบวบก	DI Water	1503.0 ± 19.3^a	1863.0 ± 18.3^a	4760.2 ± 56.0^a
	EtOH	1241.8 ± 9.2^a	1092.67 ± 24.1^b	2894.04 ± 98.6^b

Mean \pm S.D (n=5) ตัวอักษรยกที่แตกต่างกัน (a,b,c,d,e) ในคอลัมน์เดียวกัน แสดงถึงการแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$ ANOVA, Turkey Test)

นอกจากนี้จากการพัฒนาตำรับพื้นแฮร์โทนิค พบว่าตำรับพื้นที่มีสารก่อกเจด Acrylate copolymer ที่ 0.4 % w/w ให้ลักษณะเหลวใส นุ่มลื่นไม่เหนอะหนะ จึงนำมาพัฒนาเป็นแฮร์โทนิคที่มีสารสกัดบวบกแห้งสกัดด้วยน้ำกลั่น พบว่าสารสกัดบวบก ปริมาณ 10% w/w in formula เหมาะสมที่สุด โดยให้ผลิตภัณฑ์ มีเนื้อสวยงาม น่าใช้ มีความคงตัวและมีความพึงพอใจของผู้บริโภคสูงสุด (3.8 ± 0.8) ปราบจากความระคายเคืองจึงนำไปทดสอบประสิทธิภาพในอาสาสมัคร

พบว่าหลังจากใช้ผลิตภัณฑ์แฮร์โทนิคสารสกัดบัวบก อาสาสมัครมีผมร่วงลดลงหลังจากใช้ผลิตภัณฑ์ 28 วัน โดยเส้นผมหลุดร่วงลดลงจาก 10.51 เส้น/การหวี 20 ครั้ง ในวันที่ 0 (100%) เป็น 7.77 %/การหวี 20 ครั้งในวันที่ 28 (26.8 %) มีประสิทธิภาพสามารถป้องกันผมร่วงได้ร้อยละ 26.8 % จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สารสกัดบัวบกสามารถนำไปใช้เป็นสารสกัดธรรมชาติได้อีกด้วยทั้งยังช่วยในการบำรุงเส้นผมและป้องกันผมร่วง

ตารางที่ 3 ภาพเส้นผมและหนังศีรษะอาสาสมัครชายหลัง ใช้แฮร์โทนิคที่มีสารสกัดบัวบกบำรุงเส้นผมและหนังศีรษะเป็นระยะเวลา 0, 7, 14, 21, 28 วัน



ตารางที่ 4 จำนวนเส้นผมร่วงของอาสาสมัครจากการหวี 20 ครั้งหลังจากใช้ผลิตภัณฑ์แฮร์โทนิคที่มีสารสกัดบัวบกเป็นระยะเวลา 0, 7, 14, 21, 28 วัน

วันที่ทำการทดลอง	จำนวนเส้นผมที่ร่วง (เส้นผม/การหวี 20 ครั้ง)	ร้อยละการป้องกันผมร่วง
Day 0	10.50±1.87	0.00±0.00
Day7	9.77±1.83	7.00±4.50
Day14	9.37±1.79	11.00±2.9
Day21	8.63±1.88	18.31±4.70
Day28	7.77±1.85	26.80±7.00

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาพบว่าบวบกแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น ให้ร้อยละผลผลิตสูงสุด 5.62 และให้ปริมาณสารประกอบรวมฟีนอลิกสูงสุด 388.63 ± 9.02 mg GAE/g sample พร้อมทั้งให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH (1503.01 ± 19.3729 mg TEAC/ g sample, ABTS (4760.22 ± 56.0029 mg TEAC/ g sample), และ FRAP (1863.00 ± 18.29 mg TEAC/ g sample) ดังนั้นจึงเป็นสารสกัดที่เหมาะสมในการเป็นสารสำคัญ (Active) ในการพัฒนาแอสร์โทนิคที่มีสารสกัดบวบก นอกจากนี้จากการพัฒนาตำรับพื้นแอสร์โทนิค พบว่าตำรับพื้นที่มีสารก่อกเจด Acrylate copolymer ที่ 0.4 % w/w ให้ลักษณะเหลวใส นุ่มลื่นไม่เหนอะหนะ จึงนำมาพัฒนาเป็นแอสร์โทนิคที่มีสารสกัดบวบกแห้งสกัดด้วยน้ำกลั่น พบว่าสารสกัดบวบก ปริมาณ 10% w/w in formula เหมาะสมที่สุดโดยให้ผลิตภัณฑ์ มีเนื้อสวยงาม น่าใช้ มีความคงตัวและมีความพึงพอใจของผู้บริโภคสูงสุด (3.8 ± 0.8 คะแนน) ปราศจากความระคายเคืองจึงนำไปทดสอบประสิทธิภาพในอาสาสมัครพบว่าหลังจากใช้ผลิตภัณฑ์แอสร์โทนิคสารสกัดบวบก อาสาสมัครมีผมร่วงลดลงหลังจากใช้ผลิตภัณฑ์ 28 วัน โดยเส้นผมหลุดร่วงลดลงจากวันที่ 0 (วันเริ่มต้น) 10.51 เส้น/การหวี 20 ครั้ง เป็น 7.77 %/การหวี 20 ครั้งในวันที่ 28 (26.8 %) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สารสกัดบวบกสามารถนำไปใช้เป็นสารสกัดธรรมชาติได้อีกด้วยทั้งยังช่วยในการบำรุงเส้นผมและป้องกันผมร่วง

รายการอ้างอิง

- จินดาพร คงเดช.(2551). *การผลิตสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชเพื่อใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
- นิภาพร ตะเกาพงษ์.(2547).*สมุนไพรเพื่อสุขภาพ*.กรุงเทพมหานคร:มิโซค.ผลงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ และการแพทย์ มหัชจรรย์ บวบก หน้า 16
- ยุวดี จอมพิทักษ์.(2537).*ใบบวบกสมุนไพรใกล้ตัวสรรพคุณสูง*. กรุงเทพมหานคร:หอสมุดกลาง 09
- Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M. & Chern J.C. (2002). *Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods*. J. Food Drug Anal. 3,178-182.
- Hussin, M., Abdul-Hamid, A., Mohamad, S., Saari,N., Ismail, M. and Hair Bejo, M. (2007,2009). *“Protective effect of Centella asiatica extract and powder on oxidative stress in rats”*. Food Chemistry 100:535–541.

- Nerya, O., Vaya, J., Musa, R., Izrael, S., Ben-Arie, R., Tamir, S., (2003). *Glabrene and isoliquiritigenin as tyrosinase inhibitors from licorice roots. Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 51, 1201–1207
- Kubola, J. & Siriamornpun, S. (2011). *Phytochemicals and Antioxidant Activity of Different Fruit Fractions (Peel, Pulp, Aril and Seed) of Thai Gac (Momordica cochinchinensis Spreng)*. *Food Chemistry*, 127, 1138-1145.
- Sharma, O.P. and Bhat, T.K. (2009) *.DPPH Antioxidant Assay Revisited*. *Food Chemistry*, 113, 1202-1205.
- Singleton, V. L.; Rossi, J. A.(1965)Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol.Vitic*, 16, 144-158.
- Temrangsee P, Kondo S, Itharat A. (2011). *Antibacterial activity of extracts from five medicinal plants and their formula against bacteria that cause chronic wound infection*. *J Med Assoc Thai* ,94(Suppl 7) ,S166-71.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., and Byrne, D.H. (2006). *Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 669-675.
- Trüeb, Ralph M. *Clin Interv Aging*. (June 2006). 1(2): *Pharmacologic interventions in aging hair. PubMed: U.S. National Library of Medicine and the National Institutes of Health*. [Cited: August 4, 2011.]
- Wang, L. and Weller, C.L.(2006). *Recent advances in extraction of nutraceuticals from plant. Trends Food Sci. Technol.*17:300-312
- Zheng CJ. And Qin LP, *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*.(2007). *Chemical component of Centella asiatica and their bioactivities* , 5(3), 348-351