

การเตรียมน้ำมันหอมระเหยจากผลมะแขว่นและการประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง
Preparation of Essential Oil from the *Zanthoxylum limonella* Fruit for Cosmetic

Application

จินตนา จับเทียน

อีเมล: 6351701254@lamduand.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรिता สังข์ทอง

อีเมล: sarita.san@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของผลมะแขว่นเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง โดยนำผลมะแขว่นทำการสกัดแยกน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำเป็นเวลา 7 ชั่วโมง ได้ร้อยละของผลผลิตเท่ากับ 5.19 ± 1.02 โดยน้ำหนัก จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นโดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ พบสารทั้งหมด 29 ชนิด โดยสาร 3 ตัวหลักที่พบเยอะ ได้แก่ Limonene (25.96%), Alpha Phellandrene (16.13%) และ Beta Phellandrene (13.61%) เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นที่ได้มาวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สารอนุมูลอิสระ 2,2-ไดพีนิล-1-ไพคริลไฮดรอกซิล (DPPH) ผลพบว่าน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดี มีค่า $IC_{50} = 0.036$ mg/ml หลังจากนั้นได้ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์กับแบคทีเรียทดสอบแกรมบวกและแกรมลบ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Escherichia coli* ทดสอบโดยดูจากบริเวณยับยั้ง (Inhibition Zone) ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์กับแบคทีเรียทดสอบทั้ง 4 สายพันธุ์ การพัฒนาสูตรตำรับเจลแต้มสิว เมื่อทดสอบความคงตัวและการประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับพบว่าสูตรที่มีน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นร้อยละ 0.15 นั้นลักษณะทางกายภาพของเจลที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นมีความคงตัว มีกลิ่นหอมในโทนซิตรัสจากผลมะแขว่นจึงสามารถสรุปได้ว่าการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่นในการศึกษานี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางต่อไปได้

คำสำคัญ: น้ำมันหอมระเหย, มะแขว่น, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

Abstract

This research was focused on the study of bioactive compounds extraction from Ma-Kwaen (*Zanthoxylum limonella*) fruit for application in cosmetics. The seed coat of Ma Kwaen was extracted and separated Ma Kwaen essential oil by water distillation method for 7 hours. The percentage of yield was $5.19 \pm 1.02\%$ by weight. The analysis of the major chemical constituents of Ma Kwaen essential oil by gas chromatography-mass spectrometer showed a total of 29 substances. The 3 main substances that are found are Limonene (25.96%), Alpha Phellandrene (16.13%) and Beta Phellandrene (13.61%). Antioxidant activity was analyzed using free radicals 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). It was found that Ma Kwaen essential oil had good anti-oxidant efficiency with $IC_{50} = 0.036$ mg/ml. Antimicrobial activity against 4 strains of gram-positive and gram-negative bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. The test results showed that Ma Kwaen essential oil had antimicrobial activity against all 4 strains of bacteria. Formula development for acne gel The stability test and the evaluation of the physical characteristics of the formula found that the formula containing 0.15 percent Ma Kwaen essential oil showed that the physical characteristics of the gel were stable. It has a citrusy tone from Ma Kwaen fruit. Therefore, it can be concluded that the extraction of essential oil from Ma Kwaen in this study can be used for further cosmetic applications.

Keywords: Essential Oil, Ma Kwan, Antioxidant Activity, Antimicrobial Activity

บทนำ/หลักการและเหตุผล

ในปัจจุบันเรามีการใช้ น้ำมันหอมระเหยอย่างแพร่หลายทั้งใช้เพื่อให้กลิ่นหอม เพื่อผ่อนคลาย ความเครียด ช่วยปรับอารมณ์และความรู้สึกให้ดีขึ้น ใช้ส่วนตัวเพื่อกระตุ้นการไหลเวียนของโลหิต ผ่อนคลายกล้ามเนื้อลดความปวดเมื่อย ซึ่งเป็นที่นิยมในบ้านเรามากขึ้นกว่าสมัยก่อนและมีการ นำมาใช้ประโยชน์หลากหลายขึ้น เช่น เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

พืชมีวิวัฒนาการสร้างองค์ประกอบทางเคมีเพื่อเป็นการต่อต้านภัยคุกคามต่อสิ่งแวดล้อม เช่น รังสียูวี การโจมตีของแมลง และสภาพอากาศที่ไม่เอื้ออำนวย องค์ประกอบทางเคมีเหล่านี้ถูกจัด

ประเภทเป็นสารทุติยภูมิ (Secondary Metabolite) สารทุติยภูมิที่ผลิตจากกระบวนการเผาผลาญอาหารซึ่งจะทำให้มีผลทางเภสัชวิทยาหรือพิษวิทยาจึงถูกแยกสกัดออกมาจากส่วนต่างๆของพืชเพื่อใช้ประโยชน์ สารประกอบเหล่านี้อาจสกัดได้จากส่วนราก ลำต้น เปลือกไม้ ใบ ดอก ผล และเมล็ด โดยทั่วไปถูกจำแนกออกเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่หลายกลุ่ม เช่น ฟีนอลิก เทอร์ปีน สเตียรอยด์ อัลคาลอยด์ และฟลาโวนอยด์ (Kessler & Kalske, 2018)

มะแขว่น สมุนไพรพื้นบ้านทางภาคเหนือของไทย ผลมะแขว่นมีลักษณะแห้งกลม ผิวขรุขระสีน้ำตาล เมื่อแก่ผลจะแตกจนเห็นเมล็ดสีดำกลม ผิวเรียบเป็นมัน มีกลิ่นหอมฉุนคล้ายผักชี มีรสเผ็ดเล็กน้อยจึงถูกนำมาประกอบอาหาร ในบางท้องถิ่นจะเรียกมะแขว่นว่าพริกหอมเนื่องจากผลแห้งที่ใช้มีรสเผ็ดร้อนคล้ายพริกมาก และใช้ประกอบอาหารแทนพริกได้เป็นอย่างดี ผลและเมล็ดนิยมนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหยหรือสำหรับทานวดกล้ามเนื้อรวมถึงใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคต่างๆ และใช้ฉีดพ่นป้องกันยุง

องค์ประกอบที่สำคัญในผลมะแขว่นประกอบด้วย 3 องค์ประกอบหลัก คือ limonene (43.63%), (+)-sabinene (16.72%) และ terpinen-4-ol (10.95%) (Charoensup et al., 2016) และยังมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยทดสอบด้วยวิธี DPPH Assay โดยสารสกัดหยาบในเมทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดรองลงมาคือในเอทิลอะซิเตท มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.37 mg/ml และมีปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ (24.15 ± 0.48 mgGAE/g) และปริมาณฟลาโวนอยด์เท่ากับ (10.25 ± 0.63 mgQE/g) (Phowichit et al., 2019) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร ได้แก่ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* (ณัฐกานต์ วงศ์สีสม และคณะ, 2557) สารสกัดน้ำมันมะแขว่นที่ถูกพัฒนาไปเป็นน้ำมันนวดมีฤทธิ์บรรเทาอาการปวดเมื่อยโดยสามารถลดอาการปวดกล้ามเนื้อแบบเฉียบพลันได้ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 3 (จวีภรณ์ อิมพัฒน์ และนันทกานต์ วุฒิสิลป์, 2564) และยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ Anti-inflammatory (Partiban et al., 2017)

ผู้วิจัยเล็งเห็นว่าจากการศึกษาเบื้องต้นถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากผลมะแขว่น ซึ่งเป็นสมุนไพรธรรมชาติที่ใช้ทั่วไปไม่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ดังนั้นการนำสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติมาเป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจึงเป็นทางเลือกที่ตืออย่างหนึ่ง จากสมบัติดังกล่าวข้างต้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์โดยนำมาเป็นองค์ประกอบในเครื่องสำอาง

ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาค้นคว้างานวิจัยที่เกี่ยวข้องของมะแขว่น *Zanthoxylum limonella*
2. สกัดเพื่อแยกน้ำมันหอมระเหยจากผลมะแขว่นด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ

3. ทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Assay และการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial Activity) ด้วยวิธี Agar well diffusion test
4. พัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์คาร์บอเนตที่มีส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นและทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์

การทบทวนวรรณกรรม

ณัฐกานต์ วงศ์สีสม (2557) ศึกษาการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกหุ้มเมล็ด, เมล็ด และผลรวม (เปลือกหุ้มเมล็ดและเมล็ด) ของมะแขว่น ผ่านกระบวนการกลั่นด้วยน้ำเพื่อศึกษาความสามารถในการต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในอาหาร แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Bacillus cereus* จากผลการวิจัยพบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกหุ้มเมล็ดมะแขว่น มีความสามารถในการต้านการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้ดีที่คิดเป็นค่า MIC เท่ากับ 6.64 mg/ml ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ผลรวม (เปลือกหุ้มเมล็ดและเมล็ด) ของเมล็ดมะแขว่นมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* เท่ากับ 26.56 mg/ml และความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากผลมะแขว่นทั้ง 3 ส่วนมีความสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยค่า MBC ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกหุ้มเมล็ดต่อเชื้อชนิด *Escherichia coli* มีค่าเท่ากับ 6.64 mg/ml ซึ่งสามารถออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อได้ดีกว่า ในกรณีที่ทำการศึกษาทดสอบกับเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ที่ค่า MBC เท่ากับ 26.56 mg/ml และ 13.28 mg/ml ตามลำดับ

Charoensup et al. (2016) ศึกษาข้อมูลลักษณะและองค์ประกอบที่สำคัญของผลมะแขว่น โดยพบว่าจากการศึกษาองค์ประกอบที่สำคัญโดยใช้วิธี Gas chromatography/mass spectrometry analysis องค์ประกอบสำคัญที่พบจากสารสกัดผลมะแขว่น ได้แก่ Alpha-pinene, Sabinene, Beta-myrcene, L-phellandrene, Alpha-terpinene, DL-limonene, Sabinene 1,3,6-octatriene, Gamma-terpinene และ Terpinen-4-ol โดยสาร 3 ตัวหลักที่พบเยอะ ได้แก่ limonene (43.63%), (+)-sabinene (16.72%) และ Terpinen-4-ol (10.95%)

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. เตรียมผลมะแขว่นโดยเก็บผลแห้งของมะแขว่นจากบ้านป่าแป๋ อำเภอมะเข่ จังหวัดเชียงใหม่ ประเทศไทย ในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2565
2. การเตรียมน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นด้วยเทคนิคการกลั่นด้วยน้ำ (Water Distillation) นำผลมะแขว่นแห้งที่เตรียมไว้ นำเมล็ดออกใช้เฉพาะส่วนเปลือกหุ้มเมล็ด 250 กรัม วางลงในหม้อกลั่นที่ด้านล่างที่มีน้ำตั้งอยู่ภายใน 2,500 มิลลิลิตร จนที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ต้มให้เดือด ทำการ

สกัดต่อเป็นเวลา 7 ชั่วโมง เมื่อกลับเสร็จแล้วเก็บชั้นของน้ำมันหอมระเหยซึ่งอยู่ชั้นบน น้ำมันหอมระเหยถูกเก็บไว้ในขวดสุญญากาศที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในตู้เย็น จากนั้นคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ต่อน้ำหนักของผลมะแขว่น (% yield)

3. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากผลมะแขว่น (Chemical Analysis) ด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีควบคู่แมสสเปกโตรเมตรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) นำส่วนสกัดที่สกัดด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีโดยเลือกสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง GC-MS คือ น้ำมันหอมระเหยมะแขว่น 1 มิลลิลิตร ถูกนำไปใช้กับขวดขนาด 2 มิลลิลิตร แล้ววิเคราะห์โดยเครื่อง GC-MS รุ่น Agilent model 6890N ควบคู่กับ Mass spectrometer รุ่น MS/5973N

4. ทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Antioxidant) โดยวิธี DPPH Assay ด้วยการเตรียมสารละลาย DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) เข้มข้น 0.2 mM และเตรียมสารมาตรฐาน Trolox และตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นโดยใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล เตรียมสารละลายเพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงจากสารละลายที่เตรียมไว้ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และทำการทดลอง 3 ซ้ำ (Williams et al., 1995)

5. ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial Activity) โดยการทดสอบหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition Zone) ด้วยวิธี Agar Well Diffusion Test โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* และ *E. coli* ในอาหารเหลว nutrient broth (NB) และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปรับความขุ่นของเชื้อแบคทีเรียทดสอบให้ได้เท่ากับความขุ่นมาตรฐาน McFarland No.0.5 (1.5×10^8 CFU/ml) นำเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ทำการ Spread plate ลงบนอาหาร nutrient agar (NA) และเจาะหลุมโดยใช้ Cock borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จากนั้นละลายตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นด้วย DMSO ที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้มีระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 และ 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุม ใช้ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่ระดับความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เป็น Positive control และใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อเป็น Negative control นำจานอาหารเพาะเลี้ยงไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลการทดสอบโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ (มนตรา ศรีษะแย้ม และคณะ, 2553)

6. ทดสอบความคงตัวและประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับเจลแต้มสิว ศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่สภาวะต่าง ๆ โดยกำหนดที่สภาวะ (Heating Cooling) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 4 รอบ (Cycles) ประเมินลักษณะทางกายภาพทั้ง Texture, Colour, Odour, pH และ Viscosity

ผลวิจัย

1. ผลมะแขว่นแห้งจำนวน 250 กรัม เมื่อนำมากลั่นด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (Hydrodistillation) จะได้น้ำหนักของน้ำมันหอมระเหยเท่ากับ 12.97 กรัม และ % yield ที่ได้ คือ $5.19 \pm 1.02\%$ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นที่ได้และ % yield

น้ำหนักมะแขว่นแห้ง (กรัม)	น้ำหนักน้ำมันหอมระเหยที่ได้ (กรัม)	ร้อยละของน้ำมันหอมระเหย (% yield \pm SD)
250	12.97	$5.19 \pm 1.02\%$

2. วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นโดยใช้เครื่อง GC-MS พบว่ามีพีค (Peak) ขององค์ประกอบทางเคมีของสารทั้งหมด 29 ชนิด โดยเวลาที่สารแยกออกมาในช่วง 7.55 ถึง 20.00 นาที

ในงานวิจัยนี้องค์ประกอบหลักที่พบมากที่สุดคือ Limonene (25.96%), Alpha Phellandrene (16.13%) และ Beta Phellandrene (13.61%) ดังตารางที่ 2 จะเป็นองค์ประกอบหลักของสารที่ให้ความหอมโดย Limonene จะให้กลิ่นแนว Citrus ซึ่งเป็นกลิ่น Top Note จะเป็นกลิ่นแรกที่เราได้กลิ่นออกมา เป็นกลิ่นแนวสดชื่น เกิดจากมีโมเลกุลขนาดเล็ก ระเหยเร็ว กลิ่นจะอยู่ไม่นานประมาณ 10-20 นาที และกลิ่นที่ตามมาเป็นกลิ่นแนว Peppery Minty และ Peppery Woody เป็น Middle Note และ Base Note เป็นกลิ่นที่เข้ามาแทนกลิ่นที่จางไปของ Top Note ซึ่งแต่ละกลิ่นนี้จะค่อย ๆ ปรากฏขึ้นมาหลังจากผ่านไปสักระยะหนึ่ง

ตารางที่ 2 สารประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยมะแขว่น

Essential oils	Odor Description	Activities
Limonene (25.96%)	Citrusy Aroma	Antimicrobial, Antioxidant, Anti-inflammatory
Alpha Phellandrene (16.13%)	Fresh Citrusy, Peppery Woody	Antimicrobial, Antioxidant, Anti-inflammatory
Beta Phellandrene (13.61%)	Peppery Minty, Slightly Citrusy	Antimicrobial, Antifungal Activity

3. การทดสอบฤทธิ์ในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Antioxidant) โดยวิธี DPPH Assay ดัดแปลงจาก (William et al., 1995) พบว่าน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.036 mg/ml เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ที่แสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 0.011 mg/ml ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

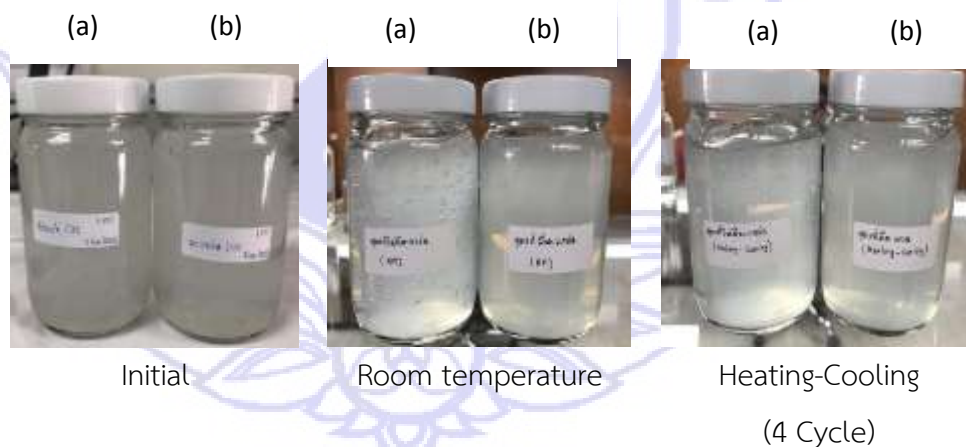
Sample	IC_{50} (mg/ml)
สารมาตรฐาน Trolox	0.011
น้ำมันหอมระเหยมะแขว่น	0.036

4. จากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial Activity) โดยการทดสอบหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition Zone) ด้วยวิธี Agar Well Diffusion Test ของน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นกับแบคทีเรียทดสอบ 4 สายพันธุ์ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, และ *Escherichia coli* พบว่าน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบโดยดูจากบริเวณยับยั้ง (Inhibition Zone) ดังตารางที่ 4 โดยน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นที่ความเข้มข้น 100 mg/ml ให้บริเวณยับยั้งที่กว้างกว่าเมื่อเทียบกับ 50 mg/ml และที่ความเข้มข้น 100 mg/ml เมื่อทดสอบกับแบคทีเรีย *Staphylococcus epidermidis* น้ำมันหอมระเหยมะแขว่นแสดงบริเวณยับยั้งใกล้เคียงกับ Ampicillin ซึ่งเป็น Positive control

ตารางที่ 4 แสดงบริเวณยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยมะแขว่น

แบคทีเรียสายพันธุ์ทดสอบ	Sterile water	บริเวณยับยั้ง (เซนติเมตร) (Inhibition zone) \pm SD			
		น้ำมันหอมระเหยมะแขว่น 50 mg/ml	100 mg/ml	Ampicillin 50 μ g/ml	95% Alc.
<i>Staphylococcus aureus</i>	ND	2.06 \pm 0.14	2.87 \pm 0.15	4.27 \pm 0.10	1.03 \pm 0.09
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ND	1.35 \pm 0.01	1.62 \pm 0.09	1.76 \pm 0.02	0.68 \pm 0.02
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ND	2.48 \pm 0.10	3.24 \pm 0.02	6.18 \pm 0.05	1.24 \pm 0.02
<i>Escherichia coli</i>	ND	1.32 \pm 0.14	1.93 \pm 0.30	3.85 \pm 0.03	0.66 \pm 0.02

5. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลแต้มสิวโดยได้เปรียบเทียบ 2 สูตร คือ สูตรที่ใส่น้ำมันหอมระเหยมะแขว่น และสูตรที่ไม่ใส่น้ำมันหอมระเหยมะแขว่น โดยใส่น้ำมันหอมระเหยมะแขว่นลงไปปริมาณร้อยละ 0.15 ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เมื่อทดสอบความคงตัวของตำรับเจลแต้มสิวที่ Heating-Cooling (4 °C/ 45°C) (4 Cycle) พบว่าตำรับมีความคงตัวดี ไม่เกิดการตกตะกอน ตำรับยังคงใสดังภาพที่ 1



หมายเหตุ (a) สูตรที่ไม่มีมะแขว่น (b) สูตรที่มีมะแขว่น

ภาพที่ 1 ความคงตัวของตำรับเจลแต้มสิวที่สภาวะต่างๆ

อภิปรายผลการวิจัย

การสกัดแยกน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำสออดคล้องกับงานวิจัยหลายชิ้นที่แสดงให้เห็นว่าการกลั่นด้วยน้ำแสดงร้อยละผลผลิตที่สูงกว่าในวิธีการทั่วไป ยืนยันได้จากการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำและน้ำสำหรับการสกัดน้ำมันไม้กฤษณา พบว่าผลการกลั่นด้วยน้ำได้ผลลัพธ์ที่สูงกว่าการกลั่นด้วยไอน้ำถึง 1.5 เท่า

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นโดยสาร 3 ตัวหลักที่พบเยอะ คือ กลุ่ม monoterpenes ได้แก่ Limonene , Alpha Phellandrene และ Beta Phellandrene คล้ายกับผลการทดลองงานวิจัยก่อนหน้าที่ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของผลมะแขว่น โดยใช้วิธี GC-MS องค์ประกอบที่พบจากสารสกัดผลมะแขว่น ตัวหลักที่พบเยอะที่สุด ได้แก่ Limonene (43.63%) Charoensup et al. (2016) แต่องค์ประกอบทางเคมีที่พบขึ้นอยู่กัส่วนของพืชที่ศึกษาและแหล่งที่มาซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญ อีกทั้งยังพบว่ามีปัจจัยอื่นก็มีผลต่อองค์ประกอบและปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ได้เช่นกัน ตั้งแต่อัตราการเจริญเติบโตของพืช สภาวะ แวดล้อม แสง ปริมาณน้ำที่ได้รับ

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของงานวิจัยครั้งนี้กับงานวิจัยก่อนหน้า พบว่างานวิจัยครั้งนี้แสดงถึงการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ดีกว่า ตามการศึกษาของ Phowichit et al. (2019) ที่สกัดสารจากก้านและเมล็ดมะแขว่นในเมทานอลพบว่า สารสกัดสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.26 และ 0.37 mg/ml ตามลำดับ และจากการศึกษาของ Tangjitjaroenkun et al. (2012) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะแขว่นมีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.76 mg/ml

โดยน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นที่ความเข้มข้น 100 mg/ml ให้บริเวณยับยั้งที่กว้างเมื่อเทียบกับ 50 mg/ml และที่ความเข้มข้น 100 mg/ml เมื่อทดสอบกับแบคทีเรีย *Staphylococcus epidermidis* น้ำมันหอมระเหยมะแขว่นแสดงบริเวณยับยั้งใกล้เคียงกับ Ampicillin ซึ่งเป็น Positive control และจากการทดสอบหาบริเวณยับยั้งกับสาร 95% Ethanol พบว่าให้ค่าบริเวณยับยั้งที่ต่ำเนื่องจาก 95% Ethanol มีข้อจำกัดเกี่ยวกับการระเหยที่ง่าย ทำให้อาจระเหยหมดก่อนที่จะเกิดการยับยั้งขึ้น

การพัฒนาสูตรตำรับเจลแต้มสิวนั้นมีที่มาจากการศึกษาที่ปกติแล้วในผลิตภัณฑ์ที่ใช้แต้มสิวจะประกอบด้วยสาร Antibacterial Agent อยู่ด้วยซึ่งก็จะไปช่วยทำลายแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิวและเป็นสาเหตุที่ทำให้ผิวเกิดการอักเสบและติดเชื้อรุนแรง โดยน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นนี้จะไปออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้

จากการทดสอบความคงตัวและการประเมินลักษณะทางกายภาพของสูตรแล้วไม่เกิดการ release ของน้ำมันหอมระเหยถือว่าตำรับมีความคงตัวดี แต่ในตำรับมีส่วนประกอบของ Salicylic

Acid pH ของตำรับมีค่าเท่ากับ 4.76-4.89 โดยประมาณ ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการออกฤทธิ์ของ Salicylic Acid หากมีการพัฒนาตำรับต่อไปในอนาคต ควรพิจารณาค่า pH อยู่ที่ต่ำกว่า 4.0 ลงไปเพื่อสร้างสภาวะที่เหมาะสมกับ Salicylic Acid ในการทำงาน

จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นด้วยการกลั่นด้วยน้ำให้ผลผลิตสูง น้ำมันหอมระเหยมะแขว่นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทั้งในกลุ่มของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ ผลที่ได้ชี้ให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นสามารถใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ได้

ข้อเสนอแนะ

1. หอมระเหยมะแขว่นมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ดีควรมีการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียให้มีความหลากหลายมากขึ้นเพื่อใช้ประโยชน์ในทางเครื่องสำอางหรือทางยาได้
2. จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยมะแขว่น พบว่ามีองค์ประกอบหลากหลาย ให้กลิ่นเฉพาะเหมือนเครื่องหอมสมุนไพรและกลิ่นซิตรัสเล็กน้อยเหมาะกับการนำไปพัฒนาต่อให้อุตสาหกรรม Flavor & Fragrance
3. การพัฒนาสูตรตำรับเจลแต้มสิวที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นนั้นอาจทำให้ตำรับมีแนวโน้มสีเหลืองขึ้น เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยมะแขว่นจะมีสีเหลืองตามธรรมชาติ

รายงานอ้างอิง

จूरिภรณ์ อิมพัฒน์ และนันทกานต์ วุฒิสิลป์. (2564). การพัฒนาน้ำมันนวดที่มีส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากผลมะแขว่นและฤทธิ์บรรเทาปวดที่มีต่อกล้ามเนื้ออ่อนแรงในผู้เข้าร่วมวิจัยสุขภาพดี, *วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก*, 19(1), 147-160.

ณัฐกานต์ วงศ์สีสม, จามจूरิ จินะตา, บุชบา มะโนแสน, จิรรัชต์ กันทะขู, สุธีพร วันควร, และสุภาวดี ศรีแย้ม. (2557). การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคในอาหารของน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่น, *วารสารวิจัยและพัฒนา มจร*, 37(1), 3-15.

มนตรา ศรีชะแย้ม, เขาวลิต พึ่งแดง, อนงค์ ศรีโสภา และอรุณลักษณ์ โชตินาครินทร์. (2553).

ฤทธิ์ทางชีวภาพปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและวิตามินซีจากสารสกัดลูกหว่า. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม*. 7(2), 103-113.

Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

- Charoensup, R., Duangyod, T., Phuneerub, P., & Singharachai, C. (2016). Pharmacognostic specification of *Zanthoxylum limonella* (Dennst.) Alston: Fruits and seeds in Thailand. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 7(4), 134-138. <https://doi.org/10.4103/2231-4040.191421>
- Kessler, A., & Kalske, A. (2018). Plant Secondary Metabolite Diversity and Species Interactions. *Annual Review of Ecology, Evolution*, 49(6), 115–138. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110617-062406>
- Phowichit, A., Ratanachamngong, P., Matsathit, U., & Ussawawongaraya, W. (2019). Anti-oxidant activity, phenolic and flavonoid constituents of Crude extracts from *Piper ribesioides* and *Zanthoxylum limonella* traditional herbal medicine in Northern Thailand. *Research Journal Rajamangala University of Technology Thanyaburi*, 19(1), 25-39.
- Parthiban, S., Gopalsathees Kumar, K., Boopathi, T., Sangeetha, G., Thanga Kokila, M., & Sanish Devan, V. (2017). In Vitro anti Inflammatory Activity of Stem of *Zanthoxylum rhetsa* (roxb.) dc. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 6(3), 591-600. <https://doi.org/10.20959/wjpr20173-7779>
- Tangjitjaroenkun, J., Supabphol, R., & Chavasiri, W. (2012). Antioxidant effect of *Zanthoxylum limonella* Alsto. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(8), 1407-1414. <https://doi.org/10.5897/JMPR10.846>