ผลของสมุนไพรบางชนิดต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรค *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*

INHIBITORY EFFECT OF SOME SELECTED HERBS ON *CANDIDA ALBICANS*, *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

รักษิณา ยาประเสริฐ
อินทุอร นิ่มประยูร

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของสมุนไพรบางชนิดต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรค *Candida albicans, Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*

INHIBITORY EFFECT OF SOME SELECTED HERBS ON *CANDIDA ALBICANS, STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

T149051

รักษิณา ยาประเสริฐ
อินทุอร นิ่มประยูร

เลขหมู่ 149051
เลขทะเบียน
วัน,เดือน,ปี 27 S.A. 2560
.b 12879903
.i

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

INHIBITORY EFFECT OF SOME SELECTED HERBS ON *CANDIDA ALBICANS, STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

RUKSINA YAPRASERT
INTUORN NIMPRAYUR

A SPECIAL PROJECT IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ผลของสมุนไพรบางชนิดต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรค *Candida albicans, Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* Inhibitory effect of some selected herbs on *Candida albicans, Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*
ชื่อนักศึกษา	นางสาวรักษิณา ยาประเสริฐ 55051374 นางสาวอินทุอร นิ่มประยูร 55051436
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร. เยาวพา สุวัตถิ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร. อุ่นเรือน เพชราวัลย์ กรรมการ	
รศ.ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	
ดร.เยาวพา สุวัตถิ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ผลของสมุนไพรบางชนิดต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรค *Candida albicans, Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*
ชื่อนักศึกษา	นางสาวรักษิณา ยาประเสริฐ รหัสนักศึกษา 55051374 นางสาวอินทุอร นิ่มประยูร รหัสนักศึกษา 55051436
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร.เยาวพา สุวัตถิ

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากเอทานอลร้อยละ 95 ของพืชสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ มังคุด ฝรั่ง ยอ และชาเขียว ต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรค 3 ชนิด คือ *Candida albicans, Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* โดยวิธี Disc diffusion ผลการทดลอง พบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุด ผลยอ ใบฝรั่งและชาเขียวมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 6538 และ *S. epidermidis* ATCC 12228 โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งระหว่าง 8.24±0.14 ถึง 14.85±1.08 มิลลิเมตร ในขณะที่สารสกัดจากผลยอเท่านั้นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อยีสต์ *C. albicans* ATCC 10231 โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 21.78±0.61 มิลลิเมตร สรุปได้ว่าสารสกัดจากผลยอมีสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อยีสต์ *C. albicans* ATCC 10231 และสารสกัดจากชาเขียวมีสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 6538 และ *S. epidermidis* ATCC 12228 ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด

คำสำคัญ : สมุนไพร *Candida albicans, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Inhibitory effect of some selected herbs on *Candida albicans, Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*
Students	Miss Ruksina Yaprasert Student ID 55051374
	Miss Intuorn Nimprayur Student ID 55051436
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Academic Year	2015
Advisor	Assoc.Prof.Dr. Dusanee Thanaboripat
Co-advisor	Dr. Yaowapa Suvathi

Abstract

This study aims to investigate the inhibitory effects of 4 crude ethanolic extracts of mangosteen peel (*Garcinia mangostana* L.), guava leaves (*Psidium guajava* L.), noni (*Morinda citrifolia* L.) and green tea (*Camellia sinensis*) against *Candida albicans, Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. The inhibitory effects were determined by disc diffusion method. The result showed that extract of mangosteen peel, noni, guava leaves and green tea could inhibit *S. aureus* and *S. epidermidis* with the range between 8.24±0.14 to 14.85±1.08 mm . The extract of noni showed inhibitory effects against yeast only with an inhibition zone of 21.78±0.61 mm. Therefore, it can be concluded that the extract of noni gave the best ability to inhibit *C.. albicans* ATCC 10231 and the extract of green tea showed the best ability to inhibit *S. aureus* ATCC 6538 and *S. epidermidis* ATCC 12228.

Keywords : Herbs, Inhibitory effect, *Candida albicans , Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษ เรื่อง ผลของสมุนไพรบางชนิดต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรค *Candida albicans, Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ผู้วิจัยขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์ ที่กรุณาเป็นที่ปรึกษาโครงงาน ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ ชี้แนะแนวทางในการทดลอง ตลอดจนการเขียนรายงานโครงงานพิเศษในครั้งนี้ จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณ ดร.เยาวพา สุวัตถิ ที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ช่วยให้คำแนะนำ คำอธิบาย วิธีการทดลองต่างๆ และให้ความช่วยเหลือในการเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ สารเคมีที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้

ขอขอบคุณ อาจารย์คณะวิทยาศาสตร์ทุกท่าน สำหรับการอบรมสั่งสอน ให้วิชาความรู้ คำแนะนำในการเรียน ตลอดจนการดำรงชีวิตในรั้วมหาวิทยาลัย

ขอขอบพระคุณ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่ให้ใช้สถานที่ อุปกรณ์ สารเคมี ตลอดจนการสนับสนุนงบประมาณในการจัดทำโครงงาน

ขอขอบคุณทุกคำแนะนำ ทุกแรงบันดาลใจ ที่ไม่ได้กล่าวไว้ใน ณ ที่นี้ แต่ทุกๆคนมีความหมายกับผู้เขียนเสมอ สุดท้ายนี้หวังว่า โครงงานพิเศษเล่มนี้จะเป็นประโยชน์ต่อบุคคลที่สนใจศึกษาเกี่ยวกับผลของสมุนไพรบางชนิดต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรค เพื่อนำไปพัฒนาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ยารักษาแผลติดเชื้อต่อไป

รักษิณา ยาประเสริฐ
อินทุอร นิ่มประยูร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข

กิตติกรรมประกาศ ..... ค

สารบัญ ..... ง

สารบัญตาราง ..... ฉ

สารบัญรูป ..... ช

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 1

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 สมุนไพร 3

2.1.1 มังคุด 3

2.1.2 ฝรั่ง 4

2.1.3 ยอ 5

2.1.4 ชาเขียว 5

2.2 เชื้อ *Candida albicans* 7

2.2.1 คุณสมบัติทั่วไป 7

2.2.2 โรคติดเชื้อแคนดิดา 8

2.2.3 การรักษาโรคติดเชื้อแคนดิดา 9

2.3 เชื้อ *Staphylococcus* 10

2.3.1 คุณสมบัติทั่วไป 10

2.3.2 โรคติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* 10

2.3.2 โรคติดเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* 11

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 12

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย 15

3.1 เชื้อจุลินทรีย์ 15

3.2 อุปกรณ์ สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ 15

3.3 สมุนไพร 16

3.4 วิธีการทดลอง 17

3.4.1 การเตรียมสารละลายเชื้อ *Candida albicans* ATCC 10231 17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

3.4.2 การเตรียมสารละลายเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 17
3.4.3 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดสอบ 17
3.4.4 การเตรียมสมุนไพรที่ใช้ในการทดสอบ 17
3.4.5 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disc Diffusion 18
3.4.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ (statistical analysis) 18
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 19
4.1 ผลการสกัดสมุนไพร 19
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธี Disc Diffusion 19
4.3 การอภิปรายผลการทดลอง 23
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 24
เอกสารอ้างอิง 25
ภาคผนวก 28
ภาคผนวก ก 29
ภาคผนวก ข 30
ภาคผนวก ค 31
ภาคผนวก ง 32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 แสดงปริมาณร้อยละของผลผลิต (% yield) ของสารสกัดจากสมุนไพร 4 ชนิด
ด้วยวิธีการหมักกับเอทานอลร้อยละ 95 19
4.2 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร
4 ชนิด ด้วยวิธีการหมักกับเอทานอลร้อยละ 95 โดยวิธี Disc Diffusion....................22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 มังคุด (*Garcinia mangostana* L.)	3
2.2 ฝรั่ง (*Psidium guajava* L.)	4
2.3 ยอ (*Morinda citrifolia* L.)	5
2.4 ชาเขียว (*Camellia sinensis*)	6
2.5 ลักษณะของ *Candida albicans*	7
4.1 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ATCC 10231 ของสารสกัดสมุนไพร 4 ชนิด	20
4.2 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 6538 ของสารสกัดสมุนไพร 4 ชนิด	21
4.3 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228 ของสารสกัดสมุนไพร 4 ชนิด	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การติดเชื้อโรคขึ้นอยู่กับความรุนแรงในการก่อโรคและจำนวนเชื้อที่มีปริมาณมากเพียงพอต่อการก่อโรค ถ้าเชื้อโรคมีจำนวนน้อยระบบภูมิคุ้มกันร่างกายจะทำลายเชื้อโรค ในกรณีผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องจะติดเชื้อได้แม้เชื้อโรคมีจำนวนน้อย และเมื่อผู้ป่วยเหล่านี้ติดเชื้อปริมาณมากอาจนำมาซึ่งการเสียชีวิตได้ โดยเมื่อเชื้อโรคเข้าสู่ร่างกายจะแบ่งไปตามที่อยู่อาศัย เช่น อาศัยอยู่ภายในเซลล์ ภายนอกเซลล์ ผิวหนัง และเยื่อบุผิวหนัง (Stevens และ Lowe, 2000)

Staphylococcus aureus และ *Staphylococcus epidermidis* เป็นเชื้อที่พบบริเวณผิวหนังที่ก่อให้เกิดสิวอักเสบ ผิวหนังอักเสบ บวม พองและสามารถติดต่อจากคนสู่คนผ่านการสัมผัสแผลหนอง หรืออาจก่อให้เกิดการติดเชื้อที่รุนแรงได้ เช่น การติดเชื้อที่แผลผ่าตัดหรือปอดอักเสบติดเชื้อ (โสภณ, 2524) สำหรับเชื้อยีสต์ *Candida albicans* สามารถก่อโรคที่เยื่อบุผิวหนัง เช่น แผลที่ปาก (Thrush) พบว่าเป็นเชื้อฉวยโอกาสที่เกี่ยวข้องกับโรคเอดส์ (Opportunistic and AIDS-associated infection) และโรคติดเชื้อแคนดิดา (candidiasis) โดยเชื้อยีสต์ชนิดนี้สามารถเปลี่ยนรูปร่างเป็นยีสต์เซลล์เดี่ยวหรือสร้างเส้นใย (hyphae และ pseudohyphae) จัดเป็นพวก dimorphic โดยเชื้อจะก่อโรคไปตามส่วนต่างๆของร่างกาย ที่พบเห็นได้บ่อย คือ บริเวณช่องปาก อาการโดยทั่วไปที่เห็นได้ชัดคือ จะมีผื่นเป็นฝ้าขาวคล้ายคราบน้ำนม บริเวณกระพุ้งแก้ม เพดานปาก ถ้าขูดออกจะพบเป็นรอยแดงอักเสบถลอกมีเลือดออกง่าย เชื้อนี้สามารถก่อโรคได้ทั้งในคนและสัตว์หลายชนิด พบทั้งในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องและผู้ที่มีภาวะร่างกายปกติ (Ahmad และ Khan, 2012)

ปัจจุบันมีการควบคุมและรักษาโรคติดเชื้อต่างๆดังกล่าวจากยาปฏิชีวนะ แต่ก็ยังมีข้อจำกัดของยาต้านเชื้อที่มีประสิทธิภาพซึ่งมีความเป็นพิษและผลิตจากสารเคมีที่มีราคาสูงและหากรักษาด้วยยาเคมีต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน อาจทำให้เกิดปัญหาเชื้อดื้อยาและส่งผลให้เกิดการติดเชื้อซ้ำรวมถึงส่งผลข้างเคียงต่ออวัยวะ เช่น ตับและไต และเนื่องด้วยประเทศไทยอุดมไปด้วยสมุนไพรนานาชนิดที่มีสรรพคุณทางยาที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ ได้โดยไม่ส่งผลข้างเคียงต่อผู้ป่วย ดังนั้นในการทดลองนี้จึงทำการศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพสารสกัดของสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* เพื่อนำไปพัฒนาเป็นยาต้านเชื้อต่อไป (Martins *et al.*, 2015)

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อคัดเลือกสารสกัดจากสมุนไพรชนิดที่มีฤทธิ์สูงสุดในการยับยั้งเชื้อก่อโรค *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากสมุนไพร 4 ชนิด คือ เปลือกมังคุด ผลยอ ใบฝรั่ง และชาเขียว ในการยับยั้งเชื้อก่อโรค *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* โดยใช้วิธี disc diffusion เพื่อคัดเลือกสมุนไพรที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคดังกล่าวได้มีประสิทธิภาพสูงสุด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงประสิทธิภาพของสมุนไพรบางชนิดที่สามารถยับยั้งก่อโรค *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*
2. เป็นการนำสารสกัดที่ได้จากสมุนไพรมาใช้แทนยาปฏิชีวนะ ในการยับยั้งเชื้อ *Candida albicans, Staphylococcus aureus และ Staphylococcus epidermidis* ที่ก่อให้เกิดโรคในช่องปากและผิวหนัง ตามลำดับ
3. เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการรักษาสุขภาพในช่องปาก เช่น น้ำยาบ้วนปาก จากสมุนไพรที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* และ ผลิตภัณฑ์รักษาสิว เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สมุนไพร

2.1.1 มังคุด

มังคุด (รูปที่ 2.1) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia mangostana* L. ชื่อสามัญคือ Mangosteen จัดอยู่ในวงศ์ *Guttiferae* มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์คือเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง สูงประมาณ 7-12 เมตร มียางสีเหลือง ใบมีลักษณะรูปรี ปลายใบแหลม โคนใบมน เนื้อใบหนา และค่อนข้างเหนียวคล้ายหนัง หลังใบสีเขียวเข้ม เป็นมัน ท้องใบมีสีอ่อน ลักษณะดอกมีสีชมพูเรื่อๆ ออกเป็นเดี่ยวหรือคู่และออกดอกบริเวณปลายกิ่ง ผลมีลักษณะเป็นทรงกลม ผลอ่อนมีสีเขียวโดยเมื่อสุกจะมีสีแดงอมชมพูหรือม่วงแดง (สุรีย์ และ อนันต์, 2540)

การใช้ประโยชน์จากมังคุด ส่วนที่ใช้ คือ เปลือกผลแห้ง ซึ่งมีสรรพคุณดังนี้ (สุนทรี, 2536)

1) ใช้รักษาอาการท้องร่วง ท้องเดิน ท้องเสียเรื้อรัง และโรคลำไส้

2) ใช้เป็นยาคุมธาตุในการรักษาโรคบิด (ปวดเบ่งและมีมูก และอาจมีเลือดด้วย)

3) ใช้เป็นยารักษาบาดแผลและน้ำกัดเท้า

4) สารแทนนินในมังคุด ช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น ใช้สมานแผล ชะล้างบาดแผล แก้แผลเปื่อย และแผลเป็นหนอง

5) สารแมงโกสติน ช่วยต้านเชื้อแบคทีเรียทำให้เกิดหนองและการอักเสบ

รูปที่ 2.1 มังคุด (*Garcinia mangostana* L.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 ฝรั่ง

ฝรั่ง (รูปที่ 2.2) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Psidium guajava* L. ชื่อสามัญคือ Guava จัดอยู่ในวงศ์ *Myrtaceae* มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ คือ เป็นไม้ยืนต้น มีขนาดสูง 3-5 เมตร ผิวลำต้นมีสีเขียวปนน้ำตาล เปลือกเรียบเป็นมัน ลักษณะใบเป็นรูปไข่ ใต้ท้องใบเป็นริ้ว เห็นเส้นใบชัดเจน ลักษณะดอกออกเป็นช่อมีสีขาวอมเขียวอ่อน ผลมีลักษณะเป็นรูปทรงกลมหรือรูปไข่ เปลือกมีสีเขียวอ่อน เนื้อในสีขาว เมื่อผลสุกจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหรือเหลืองอมแดง ภายในมีเมล็ดขนาดเล็กลักษณะกลมและแข็งมีสีครีมไปจนถึงเหลือง (นิดดา, 2550) สรรพคุณทางยาของฝรั่ง มีดังนี้ (สุนทรี, 2536)

1) ใบ ใช้แก้ท้องเสีย ท้องร่วง ท้องเดิน (ที่ไม่ใช่บิด หรืออหิวาตกโรค) ใช้เป็นยาห้ามเลือด ใช้ใส่แผลสด ใช้ใบ 2-3 ใบเคี้ยวๆ ระงับกลิ่นปาก แก้ฝี เป็นยาล้างแผล ดูดหนองและถอนพิษบาดแผล แก้เหงือกบวม แก้พิษเรื้อรัง แก้ปวดเนื่องจากเล็บขบ และแก้แพ้ยุง

2) ผลอ่อน ใช้แก้ท้องเสีย ท้องร่วง ท้องเดิน ระงับกลิ่นปาก แก้บิดมูกเลือด มีวิตามินซี (vitamin C) มาก ใช้แก้โรคเลือดออกตามไรฟัน (ลักปิดลักเปิด) บำรุงเหงือกและฟัน บำรุงผิวพรรณ

3) ผลสุก มีสารเพ็กติน (pectin) ปริมาณมาก สามารถใช้รับประทานเป็นยาระบายได้

4) ราก ใช้แก้น้ำเหลืองเสีย เป็นฝี แผลพุพอง และแก้เลือดกำเดาไหล

นอกจากนี้ฝรั่งยังมีสารแทนนินอยู่ในปริมาณมาก ซึ่งสามารถช่วยยับยั้งการลุกลามของเชื้อโรค ลดอาการอักเสบของกระเพาะลำไส้ อาการคลื่นไส้อาเจียน และอาการเกร็งตัวของลำไส้ ทำให้อาการปวดท้องบรรเทาลงได้

รูปที่ 2.2 ฝรั่ง (*Psidium guajava* L.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 ยอ

ยอ (รูปที่ 2.3) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Morinda citrifolia* L. ชื่อสามัญคือ Indian Mulberry จัดอยู่ในวงศ์ *Rubiaceae* มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ คือ เป็นไม้ต้นขนาดเล็ก ลำต้นมีสีน้ำตาลเทา ผิวเกลี้ยงและเรียบ ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว ลักษณะใบรูปรี ปลายใบเป็นติ่งแหลม ขอบใบเป็นคลื่น โคนใบสอบเรียว มีสีเขียวเข้มเป็นมัน ก้านใบเป็นรูปสี่เหลี่ยม ดอกมีขนาดเล็ก ออกดอกเป็นช่อตามง่ามใบ ผลมีลักษณะเป็นรูปกลมหรือรี มีตาหรือตุ่มรอบผล ผลอ่อนมีสีเขียวและเมื่อผลแก่จะมีสีเหลืองหรือสีขาวนวล เมล็ดมีสีน้ำตาลไหม้ (อุดมการ และ ปาริชาติ, 2549) มีสรรพคุณดังนี้ (สุนทรี, 2536)

1) ใบ มีวิตามินเอ (vitamin A) มีคุณสมบัติในการบำรุงสายตา หัวใจ น้ำคั้นใช้ทาแก้โรคเก๊าท์ (gout) ปวดตามข้อเล็กๆ ของนิ้วมือ นิ้วเท้า หรือใช้สระผมฆ่าเหาได้ ใช้แก้กระษัยหรือใช้ใบปรุงเป็นอาหาร แก้ท้องร่วง

2) ผลดิบ เมื่อนำมาต้มน้ำรับประทานกับรากผักชี ใช้แก้อาการอาเจียนของหญิงมีครรภ์

3) ผลโตเต็มที่แต่ไม่สุก ใช้จิ้มน้ำผึ้งรับประทาน มีคุณสมบัติเป็นยาขับลม บำรุงธาตุ เจริญอาหาร ขับลมในลำไส้ กระเพาะอาหาร แก้เหงือกเปื่อยเป็นขุมบวม ขับเลือดลม ขับโลหิตประจำเดือน

4) ราก ใช้เป็นยาระบาย แก้กระษัย ใช้สกัดสีออกมา เป็นสีย้อมผ้าได้ โดยผสมส่วนของเกลือต่างๆ สามารถเปลี่ยนเป็นสีต่างๆ ได้ตามต้องการ ซึ่งสีเดิมของรากจะมีสีเหลือง หรือเหลืองปนแดง หากผสมตามส่วนด้วยเกลือ อาจจะได้สีแดง ชมพู น้ำตาลอ่อน สีม่วงแดง หรือสีดำ เป็นต้น

รูปที่ 2.3 ยอ (*Morinda citrifolia* L.)

(ที่มา : http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_11_5.htm)

2.1.4 ชาเขียว

ชาเขียว (รูปที่ 2.4) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Camellia sinensis* ชื่อสามัญคือ Green tea จัดอยู่ในวงศ์ *Theaceae* ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของชาเขียวคือ เป็นไม้พุ่มหรือไม้ต้นขนาดเล็ก ใบเดี่ยว รูปรี โคนสอบ ปลายเว้าหรือเว้ากว้าง มักเป็นติ่งแหลมขนาดเล็ก ขอบใบหยักแบบจักฟันเลื่อยถี่และเว้าเป็นคลื่น ซี่ฟันโค้ง ปลายสีดำ เนื้อใบหนาเหมือนแผ่นหนัง ด้านหลังใบสีเขียวเข้มเป็นมัน ดอกตูมมีขนปกคลุม สีเขียวอ่อน ห้อยลง กลีบดอก 7-8 กลีบ สีขาว รูปไข่กว้างถึงรูปกึ่งทรงกลม ขอบงุ้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกสรเพศผู้ยาวได้ถึง 13 มิลลิเมตร โคนเชื่อมติดกัน รังไข่มีขนสีขาวปกคลุมหนาแน่น ผลแห้งแตกเป็น 3 แฉก มีเมล็ด 1-2 เมล็ด (แสงไทย, 2548) โดยการใช้ประโยชน์จากส่วนของใบอ่อนมีดังนี้

1) โรคมะเร็งต่อมลูกหมาก (Prostate cancer) การศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่า สารสกัดจากชาเขียวสามารถป้องกันการเติบโตของเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากในหลอดทดลอง โดยการศึกษาทางคลินิกในประเทศจีนตะวันออกเฉียงใต้พบว่าการเพิ่มความถี่และปริมาณของการบริโภคชาเขียวมีความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งต่อมลูกหมาก นอกจากนี้สารสกัดจากทั้งชาเขียวและชาดำยังช่วยกระตุ้นยีนซึ่งจะทำให้เซลล์มีความไวต่อยาเคมีบำบัดน้อยลง ฉะนั้นผู้ป่วยที่จะต้องได้รับยาเคมีบำบัดควรมีการปรึกษาแพทย์ก่อนที่จะดื่มชาเขียวหรือชาดำ หรือการบริโภคผลิตภัณฑ์อาหารเสริมชาเขียว (Jian *et al.*, 2004)

2) โรคมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ (Bladder cancer) เมื่อศึกษาเปรียบเทียบระหว่างคนที่เป็นและไม่เป็นโรคมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ พบว่าคนที่ดื่มชาเขียวมีโอกาสเป็นโรคมะเร็งกระเพาะปัสสาวะน้อยกว่าคนที่ไม่ได้ดื่ม และผู้ที่ป่วยเป็นโรคมะเร็งกระเพาะปัสสาวะที่ดื่มชาเขียวมีอัตราการอยู่รอดนานกว่าผู้ป่วยที่ไม่ได้ดื่ม ดังนั้นการเพิ่มปริมาณการดื่มชาเขียวของผู้ป่วยควรมีการปรึกษากับแพทย์ผู้เชี่ยวชาญก่อน (Setiawan *et al.*, 2001)

3) โรคมะเร็งผิวหนัง (Skin cancer) สารโพลีฟีนหลักในชาเขียวก็คือ epigallocatechin gallate (EGCG) โดยการศึกษาทางวิทยาศาสตร์แสดงให้เห็นว่าสาร EGCG และโพลีฟีนในชาเขียวมีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบและต้านมะเร็ง ซึ่งอาจช่วยป้องกันการขยายขนาดหรือการโตขึ้นของเนื้องอกที่ผิวหนังได้ (Pazyar *et al.*, 2012)

4) โรคเบาหวาน (Diabete) ชาเขียวได้มีการนำมาใช้ในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ซึ่งการศึกษาวิจัยในสัตว์พบว่าชาเขียวอาจช่วยป้องกันการพัฒนาของโรคเบาหวาน ชนิดที่ 1 ที่มีภาวะตับอ่อนไม่สามารถสร้างอินซูลินเพื่อไปเปลี่ยนกลูโคสหรือน้ำตาลไปเป็นพลังงาน อาจทำให้ผู้ป่วยมีน้ำตาลมากเกินไป ดังนั้นชาเขียวจึงอาจจะช่วยควบคุมระดับน้ำตาลได้ (Liu *et al.*, 2013)

รูปที่ 2.4 ชาเขียว (*Camellia sinensis*)

(ที่มา : movie-delicious.com และ yellowthai.yellowpages.co.th)

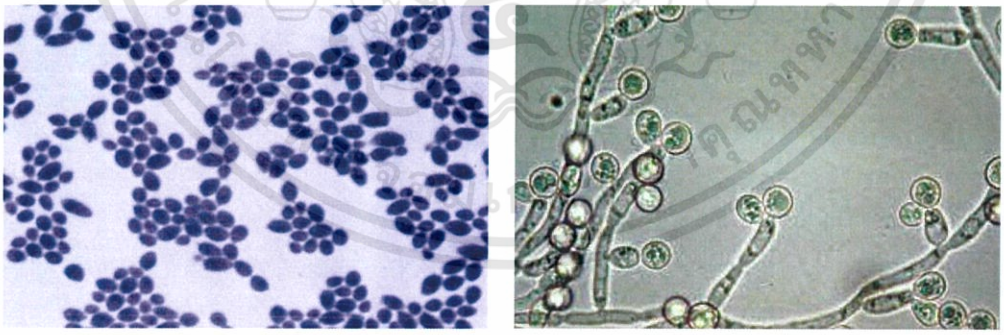
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5) ลดน้ำหนัก (Weight loss) การศึกษาทางคลินิกแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากชาเขียวอาจช่วยเพิ่มการเผาผลาญและช่วยในการเผาผลาญไขมัน โดยผลการศึกษาพบว่าการรวมกันของชาเขียวและคาเฟอีนสามารถช่วยให้การลดลงของนำหนักมีการปรับปรุงที่ดีขึ้นและช่วยบำรุงรักษาผู้ที่มีน้ำหนักเกินและผู้ที่เป็นโรคอ้วนระดับปานกลาง (Boschmann และ Thielecke , 2007) แต่ก็มีการศึกษาวิจัยอื่นๆ ที่พบว่าชาเขียวนั้นไม่มีประโยชน์

2.2 เชื้อ *Candida albicans*

2.2.1 คุณสมบัติทั่วไป

Candida albicans เป็นเชื้อยีสต์ (รูปที่ 2.5) รูปร่างรี ขนาด 3.5-6 x 6-10 ไมโครเมตร ไม่มีแคปซูลหุ้ม (Quinn *et al*., 1994) สามารถสร้าง Pseudohyphae, Chalamydospore และ germ tube เจริญได้ในอาหารได้หลากหลายชนิด แต่ในการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการมักเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud dextrose agar (SDA) เนื่องจากอาหารชนิดนี้ผสมด้วยยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียประจำถิ่นไม่ให้เจริญคลุมบริเวณที่ *C. albicans* เจริญได้ เชื้อ *C. albicans* สามารถเจริญได้ทั้งที่อุณหภูมิ 25 °C และ 37 °C (Rose *et al*, 1987) เชื้อนี้สามารถก่อโรคได้ทั้งในมนุษย์และสัตว์หลายชนิด เชื้อมักจะอยู่บริเวณผิวหนังและเยื่อบุเมือก โดยเฉพาะทางเดินอาหารและทางเดินอวัยวะสืบพันธุ์ การติดเชื้อส่วนใหญ่เกิดจากสาเหตุต่างๆ เช่น ภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง การใช้ยาปฏิชีวนะระยะยาว และภาวะขาดอาหาร โดยโรคติดเชื้อดังกล่าวนี้เรียกว่า Candidiasis (Dangi *et al*., 2010)



รูปที่ 2.5 ลักษณะของ *Candida albicans*

(ที่มา : http://galleryhip.com/bakers-yeast-microscope.html)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 โรคติดเชื้อแคนดิดา

เชื้อ *Candida* มีมากกว่า 200 ชนิด ซึ่งการติดเชื้อ *Candida* ในกระแสเลือดมากกว่า 90-95% ทั่วโลก มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Candida* 4 สปีชีส์ คือ *Candida albicans, Candida glabrata, Candida parapsilosis* และ *Candida tropicalis* (Richardson และ Warnock, 2012) โดยเชื้อ *C. albicans* เป็นเชื้อที่มีการติดเชื้อในคนมากที่สุด สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อที่บริเวณชั้นเยื่อเมือกของผิวหนังและในบุคคลที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องได้ อีกทั้งยังเป็นสาเหตุหลักของโรค candidiasis ทั่วโลกอีกด้วย (Campbell *et al*, 2013) และสามารถก่อโรคตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย โดยมีอาการที่แตกต่างออกไปขึ้นกับการติดเชื้อนั้นเกิดกับส่วนใดของร่างกาย (Richardson และ Warnock, 2012) ดังนี้

2.2.2.1 การติดเชื้อบริเวณช่องปากและลำคอ (Oral and pharyngeal candidiasis) เป็นอาการที่พบได้บ่อย โดยอาการทั่วไปจะปรากฏผื่นเป็นฝ้าขาวคล้ายคราบน้ำนม ถ้าขูดออกจะพบเป็นรอยถลอกมีเลือดออกง่าย และอาจพบเป็นแผลตื้นบริเวณลิ้น เพดาน โดยเฉพาะใต้ฟันปลอม รวมถึงมีอาการเปื่อยเจ็บที่มุมปากทั้งสองข้าง บางครั้งเชื้อ *Candida* จะรุกรานลึกเข้าไปถึงผิวของชั้นมิวคัส (mucous membrane) ทำให้เห็นเป็นปื้นสีขาว ไม่สามารถลอกออกหรืออาจกลายเป็นแผลซึ่งทำให้เกิดเป็นโรคติดเชื้อแคนดิดาแบบเรื้อรังได้

2.2.2.2 การติดเชื้อบริเวณผิวหนัง มักเป็นบริเวณซอกพับต่าง ๆ เช่น ใต้ราวนม รักแร้ ขาหนีบ โดยเฉพาะในคนอ้วน ลักษณะอาการจะเป็นผื่นแดง คัน แฉะ และผิวหนังเปื่อยลอก มักมีตุ่มแดงขนาดเล็กๆ หรือตุ่มหนองกระจายอยู่ที่บริเวณขอบๆ ของผื่น (satellite lesion) ในคนที่มือและเท้าโดนน้ำบ่อยๆ จะพบผื่นที่บริเวณซอกนิ้วได้

2.2.2.3 การติดเชื้อบริเวณมดลูก (Intrauterine candidiasis) อาการทั่วไปจะพบการตกขาวที่มีกลิ่น และมีเมือกขาวออกมามาก รู้สึกคัน และปัสสาวะบ่อย เมื่อมีเพศสัมพันธ์จะเจ็บมากและเป็นสิ่งบงชี้แรกเริ่มของการมีระบบภูมิคุมต่ำลง มักจะเกิดกับคนในกลุ่มสตรีตั้งครรภ์ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องกับการขาดธาตุเหล็กหรือสตรีปกติในช่วงระยะสุดท้ายของรอบเดือน

2.2.2.4 การติดเชื้อบริเวณทางเดินอาหาร (Gastrointestinal candidiasis) เปนภาวะการติดเชื้อที่ลำไส้ในบุคคลที่ป่วยเป็นโรคเอดส์หรือโรคมะเร็ง แต่การติดเชื้อจะไม่ส่งผลให้เกิดแผลเยื่อเมือกในลำไส้ขึ้น การติดเชื้อ *Candida* สามาถทำให้เกิดอาการที่น่ากลัวได้โดยผู้ป่วยจะมีอาการน้ำหนักลดลง ปวดหัว ท้องร่วง และคลื่นไส้วิงเวียนศีรษะ หากเมือกขาวที่เกิดจากเชื้อ *Candida* นั้นเมื่อเพิ่มมากขึ้น อาจจะทำให้มีการอุดตันของทางเดินหลอดอาหารได้ การติดเชื้อบริเวณนี้มีผลต่อการวินิจฉัยโรคค่อนข้างยากและมักไม่ได้รับการรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2.5 การติดเชื้อในกระดูกและข้ออักเสบ (Oeteomyelitis and arthritis) เป็นภาวะแทรกซ้อนของการติดเชื้อในกระแสเลือดในผู้ป่วยที่มีภาวะเซลล์เม็ดเลือดขาวต่ำและในทารกแรกเกิดที่มีน้ำหนักน้อย นอกจากนี้ยังเกิดจากการใช้เข็มฉีดยา การผ่าตัด หรืออุบัติเหตุ การติดเชื้อในผู้ใหญ่จะพบบริเวณกระดูกสันหลังส่วนเอว ส่วนในเด็กจะพบบริเวณกระดูกยาว (long bone) มากที่สุด โดยอาการที่พบบ่อยคือมีอาการปวด แต่ไม่มีไข้ และการติดเชื้อยังก่อให้เกิดลักษณะกระดูกถูกทำลาย (osteolytic lesion) อีกด้วย ซึ่งจะมีอาการนานเป็นสัปดาห์หรือเป็นเดือนหลังจากเกิดการติดเชื้อ

2.2.2.6 Systemic candidiasis เป็นการติดเชื้อ *Candida* ของอวัยวะภายในของร่างกาย ทั้งระบบประสาทส่วนกลาง ระบบทางเดินปัสสาวะตอนล่าง ระบบทางเดินหายใจ หัวใจ ลูกตา และไต การติดเชื้อสามารถเกิดขึ้นได้ผานทางเข็มฉีดยาที่ไม่สะอาดซึ่งมักพบในผู้ป่วยที่มีประวัติการฉีดยาเสพติดเข้ากระแสโลหิต และการแพร่กระจาย (disseminate) มาจากรอยโรคที่มีอยู่ก่อนแล้ว การติดเชื้อของอวัยวะภายในร่างกายนี้เป็นการคุกคามต่อชีวิตโดยตรง

2.2.3 การรักษาโรคติดเชื้อแคนดิดา

การรักษาแบ่งออกเป็น 2 รูปแบบ (Richardson และ Warnock, 2012) ดังนี้

2.2.3.1 การรักษาแบบมาตรฐาน (Standard treatment) เป็นการรักษาแบบเฉพาะที่ โดยยาที่ใช้บริเวณเยื่อบุช่องปาก ได้แก่ nystatin oral suspension และยาอม clotrimazole (1 มิลลิกรัม) ยาที่ใช้บริเวณผิวหนัง ได้แก่ imidazole cream และยาที่ใช้บริเวณช่องคลอด ได้แก่ ยาเหน็บช่องคลอด nystatin และกลุ่ม imidazole เป็นต้น สำหรับผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อเป็นบริเวณกว้างหรือภูมิคุ้มกันผิดปกติหรือไม่ตอบสนองต่อยาทา จะรักษาโดยใช้ยาชนิดรับประทาน เช่น ketoconazole 200 มิลลิกรัมต่อวัน นาน 10–14 วัน

2.2.3.2 การรักษาทั้งระบบทั่วร่างกาย (systemic) จะชักับผู้ป่วยที่ติดเชื้อบริเวณหลอดอาหาร และที่แพร่กระจายไปตามอวัยวะภายในต่างๆ หรือในกรณีที่การให้ยารักษาแบบเฉพาะที่ไม่ได้ผล โดยยาที่ใช้ได้แก่ Nizaral (ketoconazole), Diflucan (fluconazole) ซึ่งให้ผลการรักษาที่ดีกว่า แต่ในปัจจุบันพบว่ามีแนวโน้มการดื้อ fluconazole มากขึ้น จึงเปลี่ยนมาใช้ยาในกลุ่ม amphotericin B ในกรณีที่การติดเชื้อนั้นไม่รุนแรงมากนัก สำหรับยาตัวใหม่ที่อยู่ระหวางการทดลอง คือ bis-triazole เป็นยาในตระกูลเดียวกันกับ fluconazole และ itraconazole จากการทดลองในห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นว่ามีประสิทธิภาพการยับยั้งต่อการเจริญของเชื้อราได้หลายชนิดรวมทั้ง เชื้อ *Candida* ด้วย

2.2.3.3 การรักษาแบบประคับประคอง (Supportive treatment) เป็นการรักษาโดยการคำนึงถึงปัจจัยเสี่ยงที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อ เช่น ความเครียด การใช้ยาปฏิชีวนะ หรือยาลดการอักเสบ รวมทั้งการรักษาโดยการควบคุมด้านโภชนาการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 *เชื้อ Staphylococcus*

2.3.1 คุณสมบัติทั่วไป

เชื้อ *Staphylococcus* อยู่ในแฟมิลี่ *Micrococcaceae* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะรูปร่างกลม (gram-positive cocci) เกาะอยู่กันเป็นกลุ่มๆคล้ายพวกองุ่น เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-1.5 ไมครอน ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ จัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobe (นงลักษณ์, 2547) มีลำดับ sequence ที่บริเวณ 16s ribosomal ที่สัมพันธ์กับแบคทีเรียแกรมบวกที่มี G+C ต่ำในจำพวก *Bacillus-Lactobacillus-Staphylococcus* โดยStaphylococci สามารถจำแนกได้มากกว่า 30 ชนิด ส่วนใหญ่มักพบที่บริเวณผิวหนังและเยื่อเมือกของมนุษย์ โดยเชื้อสายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับมนุษย์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus, S. epidermidis, S. haemolyticus, S. capitis, S. hominis, S. cohnii, S. lugdunensis, S. schleiferi, S. saprophyticus, S. simulan, S. warneri* และ *S. xylosus* เชื้อสายพันธุ์ที่แตกต่างกันดังกล่าวนี้ มีความสามารถในการก่อโรคในมนุษย์ แต่ *S. aureus, S. epidermidis* และ *S. saproohyticus* เป็นสายพันธุ์สำคัญที่พบก่อโรคในคน โดยพบว่าเชื้อ *S. aureus* ก่อโรคในมนุษย์ได้บ่อยที่สุด (Wiedmann และ Zhang, 2011)

2.3.2 โรคติดเชื้อ *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus เป็นเชื้อสายพันธุ์ที่มีมีความแตกต่างจาก staphylococci ตัวอื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ โดยสามารถจับตัวกับพลาสมา ผลิตสารพิษ และมีกลไกในการทำลายภูมิคุ้มกัน และปัจจัยอื่นๆอีกมาก เมื่อมีความรุนแรงมากขึ้นก็จะทำให้เชื้อนี้ทนต่อยาปฏิชีวนะ ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในโรงพยาบาล โดยเชื้อสามารถก่อโรคที่บริเวณผิวหนังและอาจแพร่กระจายเข้าสู่เลือดไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกายได้ ทำให้เกิดโรคติดเชื้อตามระบบต่างๆ ในร่างกาย (Varnam และ Evans, 1991; Wiedmann และ Zhang, 2011) ดังนี้

2.3.2.1 การติดเชื้อบนชั้นผิวหนัง เชื้อนี้มีความสามารถในการก่อโรคที่บริเวณผิวหนัง เยื่อเมือก ทำให้เกิดการอักเสบเป็นหนอง โดยเฉพาะในบริเวณผิวหนังและชั้นเนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง รวมทั้งการติดเชื้อของแผลผ่าตัดในผู้ป่วยที่มีภาวะร่างกายปกติและจะเห็นได้ชัดเจนในผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น ผู้ป่วยโรคเบาหวาน มักพบได้บ่อยในทารกและเด็กเล็ก โดยโรคติดเชื้อที่ผิวหนังส่วนใหญ่จะมีลักษณะอาการเป็นผื่น ผิวหนังอักเสบบวมพอง และเป็นฝีหนอง

2.3.2.2 การติดเชื้อในระบบไหลเวียนเลือด ส่วนใหญ่จะเกิดจากการลุกลามของเชื้อในบริเวณผิวหนังเข้าสู่กระแสเลือด รวมทั้งการติดเชื้อจากบาดแผลผ่าตัดหรือการใส่สายให้น้ำเกลือทางเส้นเลือด เมื่อมีการติดเชื้อในกระแสเลือดอาจส่งผลให้เกิดโรคลิ้นหัวใจอักเสบเฉียบพลัน (acute infective endocarditis) ซึ่งถือเป็นภาวะที่มีอันตรายและมีอัตราเสียชีวิตสูง โดยเชื้อ *S. aureus* ถือเป็นสาเหตุก่อโรคดังกล่าวที่พบได้บ่อยที่สุด โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีประวัติฉีดยาเสพติดเข้าทางเส้นเลือดถือเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2.3 การติดเชื้อในระบบหายใจ ได้แก่ โรคปอดบวม (pneumonia) ซึ่งเกิดจากการติดเชื้อ โดยการติดเชื้อสามารถติดได้จากทางเลือด และทางการสำลักสารหลั่งในช่องปาก เมื่อเชื้อผ่านมาทางกระแสเลือดจะส่งผลให้เกิดการติดเชื้อในตำแหน่งอื่นๆ เช่น บาดแผล หรือ ลิ้นหัวใจ การสำลักเชื้อลงสู่ปอดมักพบได้ในเด็กเล็ก ผู้สูงอายุ ผู้ที่มีการติดเชื้อไวรัสในทางเดินหายใจนำมาก่อน และมีผู้ที่มีโรคเรื้อรังของทางเดินหายใจ

2.3.2.4 การติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร เชื้อจะสร้างสารพิษที่เรียกว่า enterotoxin ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ(food poisoning) ซึ่งเกิดจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ รวมถึงอาการปวดท้องคลื่นไส้อาเจียน โดยอาการเหล่านี้จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 30 นาทีถึง 8 ชั่วโมงภายหลังกินอาหารที่ปนเปื้อนสารพิษ และอาการจะหายได้เองภายใน 24 ชั่วโมง โดยอาหารที่เกี่ยวข้องกับโรคอาหารเป็นพิษ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์นม เนื้อสัตว์ ไข่และหอย ในผู้ป่วยบางรายอาจเกิดการติดเชื้อในลำไส้ (enterocolitis) ได้ ส่วนใหญ่มักพบในผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลานานซึ่งทำให้เชื้อประจำถิ่นในลำไส้ลดลงอย่างมาก จึงทำให้เกิดการติดเชื้ออื่นๆ ได้ง่าย

2.3.2.5 การติดเชื้อที่กระดูกและข้อ เชื้อ *S. aureus* เป็นสาเหตุที่พบบ่อยที่ทำให้เกิดโรคข้ออักเสบติดเชื้อ (septic arthitis) ในเด็ก และในผู้ใหญ่ ส่วนใหญ่จะพบเป็นภาวะแทรกซ้อนจากการฉีดสารเข้าข้อ หรือในผู้ที่มีความพิการของข้ออยู่เดิม อาการสำคัญ คือ ข้อบวมแดงและปวด ภายในข้อจะเกิดการอักเสบเป็นหนอง เชื้ออาจพลัดเข้าสู่กระแสเลือดและกระจายไปสู่ข้ออื่นๆ ได้ (อิสยา และ วัชรินทร์, 2553)

2.3.2.6 Toxic shock syndrome (TSS) เป็นกลุ่มอาการติดเชื้อ *S. aureus* ที่ทำให้เกิดไข้สูง ความดันโลหิตต่ำ อวัยวะต่างๆอย่างน้อย 3 ระบบล้มเหลวและมีการหลุดลอกของผิวหนังที่ฝ่ามือและฝ่าเท้า โดยอาการนี้สามารถเกิดขึ้นได้กับทุกวัย แหล่งของการติดเชื้อมาจากแผลที่ผิวหนัง แผลผ่าตัด แผลจากการคลอดบุตร ฝีในเนื้อเยื่อ ทอนซิลอักเสบ ไซนัสอักเสบ กระดูกอักเสบ หนองในเยื่อหุ้มปอด และการใช้ผ้าอนามัยแบบสอด โดยเชื้อจะสร้างสารพิษ (exotoxin) ไปทำลายระบบต่างๆของร่างกายอย่างรวดเร็ว อัตราการเสียชีวิตมีสูงถึงร้อยละ 70 (อิสยา และ วัชรินทร์, 2553)

2.3.3 โรคติดเชื้อ *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis เป็นเชื้อสายพันธุ์ที่พบก่อโรคบ่อยในผู้ป่วยที่มีสายสวนปัสสาวะ และเป็นสาเหตุของการอักเสบของเยื่อบุหัวใจชั้นใน ในผู้ป่วยที่ผ่าตัดเปลี่ยนลิ้นหัวใจเทียม เนื่องจากเชื้อสามารถยึดเกาะกับสายยางและอุปกรณ์การแพทย์ต่าง ๆ ได้ โดยเชื้อสามารถสร้างสารคัดหลั่งที่เป็นสารเมือก คือ glycocalyx เพื่อช่วยให้เชื้อสามารถเกาะรวมตัวกันเป็นกลุ่มและยังช่วยปกป้องเชื้อจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายและยาต้านเชื้อแบคทีเรียอีกด้วย โรคติดเชื้อ *S. epidermidis* อื่นๆ ที่พบ เช่น การติดเชื้อของบาดแผล การติดเชื้อของกระดูกและกล้ามเนื้อ การติดเชื้อในช่องท้อง และการติดเชื้อในเลือด (อิสยา และ วัชรินทร์, 2553) เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาของจีราภรณ์ และคณะ (2554) โดยการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อยีสต์ *C. albicans* จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ TISTR 5239, TISTR 5779, BCC 6120 และ Clinical isolate โดยใช้สารสกัดจากผลยอสุกและผลยอห่ามที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 80 ด้วยวิธี agar well diffusion และวิธี broth microdilution พบว่าสารสำคัญจากผลยอทุกรูปแบบที่ระดับความเข้มข้น 120 และ 240 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านเชื้อยีสต์ *C. albicans* ทุกสายพันธุ์ โดยมีค่าบริเวณเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเชื้ออยู่ในช่วง 14.0±0.0 ถึง 20.0±0.0 มิลลิเมตร และ 18.0±0.0 ถึง 23.5±0.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อศึกษาโดยวิธี agar well diffusion พบว่ามีค่าบริเวณเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเชื้อยีสต์ใกล้เคียงกับยาต้านเชื้อรา amphotericin B (10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร), ketoconazole (15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร), nystatin (50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ fluconazole (25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับการทดสอบโดยวิธี broth microdilution พบว่าสารสำคัญที่ได้จากผลยอทุกรูปแบบสามารถฆ่าเชื้อรา *C. albicans* ทุกสายพันธุ์ โดยมีระดับความเข้มข้นต่ำสุด ที่สามารถทำลายเชื้อราอยู่ในช่วง 0.94 ถึง 15.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าสารสำคัญที่ได้จากผลยอแสดงฤทธิ์ร่วมกับ amphotericin B ในการต้านเชื้อ *C. albicans* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ทัศนีย์ และคณะ (2548) ศึกษาถึงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโดยสารสกัดจากผลยอด้วยเมทานอล ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethylsulphoxide) และน้ำกลั่น และนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย 41 สายพันธุ์ แบ่งเป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างกลม แกรมบวก 9 สายพันธุ์ และรูปแท่งแกรมบวก 4 สายพันธุ์ และแกรมลบ 28 สายพันธุ์ มีทั้งชนิดที่ก่อโรคและเชื้อประจำถิ่นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในระบบทางเดินอาหาร ด้วยวิธี disc diffusion และ broth dilution พบว่าในการทดสอบด้วย disc diffusion สารสกัดยอขนาด 2.5 มิลลิกรัม มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และเชื้อแบคทีเรียรูปแท่งแกรมลบที่เป็นเชื้อก่อโรคในทางเดินอาหารหลายชนิด เช่น *Aeromonas hydrophila, Escherichia coli* AD group, *Shigella boydii, Shigella dysenteriae* และ *Shigella sonnei* รวมถึงฤทธิ์ต้านเชื้อประจำถิ่นในทางเดินอาหารเป็นส่วนใหญ่ เช่น *Citrobacter freundii, Enterobacter agglomerans* และ *E. coli* โดยมีขอบเขตการยับยั้งประมาณ 7-13 มิลลิเมตร ซึ่งจัดว่าต่ำมากเมื่อเทียบกับยาต้านเชื้อแบคทีเรีย เช่น amikacin, ampicillin, cephalothin และ chloramphenicol ขนาดยา 5-30 ไมโครกรัมต่อแผ่น ที่ให้ขอบเขตการยับยั้งการเจริญของเชื้อประมาณ 18-35 มิลลิเมตร แต่ไม่พบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในการทดสอบด้วยวิธี broth dilution โดยขนาดความเข้มข้นของสารสกัดยอที่ใช้สูงสุดเป็น 255 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารสกัดจากยอมีศักยภาพในการใช้เป็นยาต้านเชื้อแบคทีเรียต่ำ และการบริโภคสารสกัดผลยอไม่น่าจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อประจำถิ่นในทางเดินอาหาร

อภิราม และ มณฑล (2554) ศึกษาถึงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญและทำลาย *Candida albicans* และ *Cryptococcus neoformans* ของสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ ข่าเล็ก กระชาย ใบฝรั่ง บัวบก และกล้วยน้ำว้าดิบ ที่สกัดด้วยน้ำหรือเอทานอล ด้วยวิธี broth microdilution พบว่า สารสกัดสมุนไพรทุกชนิดที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญและทำลายจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด ได้ดีกว่าสารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วยน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุดมลักษณ์ และคณะ (2549) ศึกษาถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของเปลือกมังคุดสดและแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเปลือกมังคุดสดและแห้งที่สกัดแบบต่อเนื่องด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน (hexane) อะซีโตน (acetone) และ เมทานอล (methanol) โดยใช้วิธีการสกัดเย็น (Maceration) และวิธีการสกัดร้อนด้วย Soxhlet extraction apparatus ผลการทดลองพบว่า การสกัดสารจากเปลือกมังคุดแห้งด้วยตัวทำละลายเอทานอลได้สารสกัดหยาบมากที่สุด คือ 26.59 และจากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 5 ชนิด คือ เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Propionibacterium acnes* เชื้อยีสต์ *Candida albicans* และเชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes* ด้วยวิธี disc diffusion พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดสดโดยวิธีการสกัดเย็นด้วยเอทานนอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. acnes*. และ *T. mentagrophytes* ได้ดีที่สุด แต่ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* และเมื่อนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดสดโดยวิธีการสกัดเย็นด้วยเอทานอลมาทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดโดยวิธี agar dilution พบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดสดโดยวิธีการสกัดเย็นด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุด 128 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาได้แก่ *P. acnes* (ค่าความเข้มข้นต่ำสุด 256 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร), *S. epidermidis* (ค่าความเข้มข้นต่ำสุด 4096 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ *T. mentagrophytes* (ค่าความเข้มข้นต่ำสุด 8192 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ

Archana และ Abraham (2011) รายงานผลการวิจัยเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของชาเขียว ใบชาสดจากต้นใบชาเขียวเชิงพาณิชย์ และผงชา ในการต้านเชื้อโรค (enteropathogen) และเชื้อราที่จำเพาะเจาะจง โดยวิธี well diffusion, paper disc diffusion และหาค่า MIC โดยใช้ยาปฏิชีวนะ chloramphenicol เป็นตัวเปรียบเทียบ ผลการทดลองพบว่าการใช้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียเป็นการฟุ่มเฟือยและมีผลข้างเคียงมากและยังทำให้สายพันธุ์ของเชื้อมีการดื้อยาเพิ่มขึ้นอีกด้วย ดังนั้นสมุนไพรจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีราคาถูกและมีผลกระทบน้อยกว่า ในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา

Chomnawang *et al*. (2008) ได้ศึกษาถึงฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของพืชสมุนไพรไทย 17 ชนิดที่สกัดด้วยเอทานอล โดยใช้วิธี disc diffusion พบว่าสารสกัดจากเสลดพังพอน มังคุด กระเจี๊ยบ ชุมเห็ดเทศ ดาวเรือง และฝรั่ง สามรถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์พื้นฐานได้ ส่วนการเจริญของเชื้อ MRSA (Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus*) ถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากมังคุด เสลดพังพอน กระเจี๊ยบ ฝรั่ง สาบเสือ เทียนกิ่ง ชุมเห็ดเทศ และดาวเรือง โดยสารสกัดจากมังคุดสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้โดยมีบริเวณยับยั้งสูงที่สุดในการยับยั้ง *S. aureus* เท่ากับ 11.30±0.60 มิลลิเมตร บริเวณยับยั้ง *S. epidermidis* เท่ากับ 10.50±0.70 มิลลิเมตร และบริเวณยับยั้งเชื้อ MRSA เท่ากับ 10.00±0.00 มิลลิเมตร

Doddanna *et al*. (2012) ศึกษาถึงผลการต้านเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารสกัดพืช 6 ชนิด ได้แก่ ใบชา ใบหอม หัวหอม ใบมิ้นต์ ว่านหางจระเข้ และใบหอมแขก ในการยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* ด้วยวิธี Ditch plate พบว่า ใบหอมแขกที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 100 สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ได้ดี โดยมีบริเวณเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 23.3±0.14 และ 24.05±0.07 มิลลิเมตร รองลงมาคือใบชาที่สกัดด้วยน้ำ มีบริเวณยับยั้งเท่ากับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

17.95±0.07 และ 18.10±0.14 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดเอทานอลจากใบหอม ใบชา หัวหอม ว่านหางจระเข้ และใบมิ้นต์ สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ได้เช่นกัน แต่อยู่ในระดับต่ำ

Farjana *et al*. (2014) ศึกษาถึงฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียด้วยสารสกัดของฝรั่ง ชาเขียว สะเดา และดาวเรือง ที่สกัดด้วยน้ำ น้ำมัน และเมทานอล ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ คือ *Pseudomonas* spp., *Vibrio cholera*, *V. parahaemolyticus*, *Klebsiella* spp., *E. coli*, *Salmonella* spp. และ *S. aureus* โดยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดจากฝรั่งที่สกัดด้วยน้ำเดือดมีบริเวณการยับยั้ง *V. parahaemolyticus* สูงสุด คือ 22 มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดของใบชาเขียวด้วยน้ำเดือดและน้ำอุณหภูมิห้อง สามารถยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *S. aureus* โดยบริเวณยับยั้งมีค่าเท่ากับ 17.5 และ 19 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดของใบสะเดาด้วยน้ำเดือดสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* (10 มิลลิเมตร) และ *Klebsiella* spp. (14 มิลลิเมตร) ได้พอประมาณ สำหรับสารสกัดน้ำและน้ำมันของใบดาวเรืองทั้งต้มและอุณหภูมิห้องไม่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ทดสอบได้ แต่สารสกัดเมทานอลของทั้งใบฝรั่งและใบชาเขียวสามารถยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas* spp. ได้เท่ากัน คือ 18 มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดเมทานอลของใบสะเดาแสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง *Klebsiella* spp. (16 มิลลิเมตร) และ *V. cholera* (14 มิลลิเมตร) และสารสกัดเมทานอลใบดาวเรืองก็แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* (18 มิลลิเมตร) และ *Klebsiella* spp. (12 มิลลิเมตร)

Kaomongkolgit *et al*. (2009) ศึกษาถึงสารสำคัญในมังคุด คือสาร alpha-mangostin ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* ที่ก่อให้เกิดโรค candidiasis และมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อใกล้เคียงกับยา clotrimazole และ nystatin โดยผลการทดลองพบว่า สาร alpha-mangostin มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *C. albicans* โดยมีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) และค่าการฆ่าเชื้อรา (minimum fungicidal concentration, MFC) เท่ากับ 1,000 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และ alpha-mangostin มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *C. albicans* มากว่า clotrimazole และ nystatin นอกจากนี้ยังพบว่า alpha-mangostin ที่ 4,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความเป็นพิษต่อเหงือกของมนุษย์ จึงมีแนวโน้มที่จะสามารถใช้รักษาโรค candidiasis ในช่องปากได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ 3 ชนิด ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม ดังนี้

1. *Candida albicans* ATCC 10231
2. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
3. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

3.2 อุปกรณ์ สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่

1. เครื่องชั่ง (balance)
2. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow, M-tech)
3. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ (Autoclave, Hirayama)
4. เครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (Rotary Vacuum Evaporator, Heidolph)
5. โถดูดความชื้น (Desiccator, Schott)
6. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator, Binder)
7. เครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixer, Scientific Industries)
8. ชุดกรองบุชเนอร์ (buchner funnel set)
9. จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dish)
10. เข็มเขี่ยเชื้อ (loop)
11. ขวดอาหาร (Duran flask)
12. กระบอกตวง (Cylinder)
13. แท่งแก้ว
14. หลอดทดลอง (test tube) ขนาด 20 มิลลิลิตร
15. ปิเปตต์ (pipette)
16. ไมโครปิเปตต์ (Micropipette) ขนาด 200 ไมโครลิตร
17. Mc Farland standard เบอร์ 0.5
18. บีกเกอร์ (Beaker)
19. ปากคีบ (forceps)
20. สำลี (cotton)
21. ไม้พันสำลี
22. Paper disc เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร
23. กระดาษอะลูมินั่มฟอยล์
24. ช้อนตักสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
26. ตะเกียงแอลกอฮอล์
27. ลูปเขี่ยเชื้อ (Loop)
28. กระบอกฉีดยา (Syringe)
29. ที่กรองสารสำหรับกระบอกฉีดยา ขนาด 0.45 ไมโครเมตร (Syringe Filter)
30. หลอดทดลองขนาดเล็ก (Eppendorf tube) ขนาด 2 มิลลิลิตร
31. ดิจิตอลเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ (Digital Vernier Caliper, Mitutoyo)

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. น้ำเกลือ (Normal Saline, GHP)
2. 95% Ethyl Alcohol (เอทานอลร้อยละ 95, องค์การสุรา กรมสรรพสามิต)
3. 100% Methyl Alcohol (เมทานอลร้อยละ100, องค์การสุรา กรมสรรพสามิต)
4. ยาปฏิชีวนะ Clotrimazole ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อแผ่น (GPO, องค์การเภสัชกรรม)
5. ยาปฏิชีวนะ Dicloxacillin ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (GPO, องค์การเภสัชกรรม)

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง
1. Sabouraud dextrose agar (SDA, HIMEDIA)
2. Tryptic soy agar (TSA, Difoc)

3.3 สมุนไพร

สมุนไพรที่ใช้ในการทดลองอยู่ในรูปผง ซื้อมาจาก ร้านจักรวรรดิสมุนไพร 88/286 สำเพ็ง2 ซอย 5/1 ถนน กัลปพฤกษ์ บางแค กรุงเทพมหานคร 10160

ชื่อสมุนไพร (ชื่อสามัญ)	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อวงศ์
1. เปลือกมังคุด	*Garcinia mangostana* L.	*Guttiferae*
2. ผลยอ	*Morinda citrifolia* L.	*Rubiaceae*
3. ใบฝรั่ง	*Psidium guajava* L.	*Myrtaceae*
4. ชาเขียว	*Camellia sinensis*	*Theacease*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมสารละลายเชื้อ *Candida albicans* ATCC 10231 (NCCLS, 2002)

3.4.1.1 นำเชื้อยีสต์ *Candida albicans* ATCC 10231 มาเลี้ยงลงบนอาหาร Sabouraud dextrose agar ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.4.1.2 เลือกโคโลนีเดี่ยวมาปรับความขุ่นในน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ให้ความขุ่นเท่ากับสารละลาย McFarland standard เบอร์ 0.5 (ภาคผนวก ก) จะได้สารละลายเชื้อ *Candida albicans* ATCC 10231 ที่มีปริมาณเชื้อประมาณ 1×10^{6} ถึง 5×10^{6} CFU/ml

3.4.2 การเตรียมสารละลายเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (Bauer และคณะ, 1966)

3.4.2.1 นำเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 มาเลี้ยงบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3.4.2.2 เลือกโคโลนีเดี่ยวมาปรับความขุ่นในน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ให้มีความขุ่นเท่ากับสารละลาย McFarland Standard เบอร์ 0.5 จะได้สารละลายเชื้อที่มีปริมาณเชื้อประมาณ 1.5×10^{8} CFU/ml

3.4.3 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการทดสอบ

เทอาหาร Sabouraud dextrose agar (SDA) และ Tryptic soy agar (TSA) ที่ฆ่าเชื้อและหลอมเหลวแล้วปริมาณ 45 มิลลิลิตร ใส่จานเลี้ยงเชื้อ ตั้งทิ้งไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง

3.4.4 การเตรียมสมุนไพรที่ใช้ในการทดสอบ (ณัฎฐา นิธิกุลวรวงศ์, 2555)

3.4.4.1 นำผงสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มาสกัดด้วยวิธีการหมัก (Maceretion) กับเอทานอลร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 1 : 6 (น้ำหนัก : ปริมาตร) ในขวดรูปชมพู่ ปิดฝาให้สนิทด้วยกระดาษอะลูมิเนียมฟอยล์ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นระเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศจนได้สารสกัดลักษณะข้นเหนียว เรียกว่า สารสกัดหยาบ (Crude Extract) เพื่อระเหยตัวทำละลายที่หลงเหลืออยู่ ชั่งน้ำหนักและคำนวณร้อยละผลได้ของสารสกัด (% yield)

$$\text{ร้อยละผลผลิต (\% yield)} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดที่ได้} \times 100}{\text{น้ำหนักของพืชบดละเอียดที่ใช้ในการสกัด}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

149051

3.4.4.2 เตรียมความเข้มข้นสารสกัดหยาบสมุนไพรแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 50 น้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) โดยชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบ และใช้เมทานอลร้อยละ 100 ละลายสารสกัดหยาบ จากนั้นใช้กระบอกฉีดยาดูดสารละลายสารสกัดหยาบแต่ละชนิด กรองด้วยที่กรองสารสำหรับกระบอกฉีดยาขนาด 0.45 ไมโครเมตร เพื่อกรองเชื้อจุลินทรีย์ออก เก็บสารสกัดหยาบทั้ง 4 ชนิดไว้ในขวดสีชา และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ทดสอบ

3.4.5 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disc Diffusion (Bauer และคณะ, 1966)

3.4.5.1 เกลี่ยเชื้อ *Candida albicans* ATCC 10231 ซึ่งมีความขุ่นเท่ากับ McFarland เบอร์ 0.5 ลงบนอาหารแข็ง SDA และเกลี่ยเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ซึ่งมีความขุ่นเท่ากับ McFarland เบอร์ 0.5 ลงบนอาหารแข็ง TSA ด้วยไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ (swab) รอประมาณ 5 นาที เพื่อให้หน้าอาหารแห้ง

3.4.5.2 นำแผ่น paper disc ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร มาหยดสารสกัดหยาบของสมุนไพรแต่ละชนิดอย่างละ 20 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ประมาณ 3 ชั่วโมง เพื่อให้แผ่น disc ซึมซับสารสกัดสมุนไพรทั้งหมด และให้ตัวทำละลายระเหยออกมากที่สุด จากนั้นนำไปวางลงบนจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 3.4.5.1 และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับเชื้อ *Candida albicans* ATCC 10231 และบ่มเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

3.4.5.3 อ่านผลความสามารถในการต้านเชื้อโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสรอบแผ่น disc (clear zone) โดยมีเมทานอลร้อยละ 100 เป็นชุดควบคุมลบ และ Clotrimazole ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมบวก สำหรับเชื้อ *Candida albicans* ATCC 10231 และมีเมทานอลร้อยละ 100 เป็นชุดควบคุมลบ และ Dicloxacillin ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมบวก สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 โดยทดสอบทั้งหมดจำนวน 3 ซ้ำ

3.4.5.4 การอ่านผล

วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส (inhibition zone) ที่ไม่มีเชื้อขึ้นรอบแผ่นกระดาษกรองทั้งในแนวตั้งและแนวนอน โดยใช้ดิจิตอลเวอร์เนียร์คาลิเปอร์

3.4.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ (statistical analysis)

ใช้แผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล 2 ปัจจัย (Two-Facter Factorial Design) ออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) ปัจจัยสารสกัดสมุนไพรมี 4 ระดับ ปัจจัยเชื้อก่อโรคมี 3 ระดับ ดังนั้นการทดลองจะประกอบไปด้วย 12 สิ่งทดลอง (Treatment) ในแต่ละสิ่งทดลองมีการทำซ้ำ 3 ครั้ง นำข้อมูลที่ได้จากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติและเปรียบเทียบความแตกต่างในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม Minitab Version 16 (Minitab 16.1.0, Minitab Inc., State College, PA, USA) (ชัชวาล, 2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการสกัดสมุนไพร

การสกัดสมุนไพรด้วยวิธีการหมักกับเอทานอลร้อยละ 95 สามารถแยกปริมาณสารสกัดของสมุนไพรแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน คิดเป็นร้อยละผลผลิต (% yield) อยู่ในช่วงร้อยละ 10.06 ถึง 27.44 (ตารางที่ 4.1) โดยสารสกัดที่ได้จากการหมักกับเอทานอลร้อยละ 95 ของชาเขียวมีปริมาณร้อยละของผลผลิตมากที่สุด (ร้อยละ27.44) ตามด้วยใบฝรั่ง (ร้อยละ 22.87) และผลยอ (ร้อยละ 10.30) โดยเปลือกมังคุดมีปริมาณร้อยละของผลผลิตน้อยที่สุด (ร้อยละ10.06)

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณร้อยละของผลผลิต (% yield) ของสารสกัดจากสมุนไพร 4 ชนิด ด้วยวิธีการหมักกับเอทานอลร้อยละ 95

สมุนไพร	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	ร้อยละผลผลิต (%yield)
เปลือกมังคุด	15.09	10.06
ผลยอ	10.30	10.30
ใบฝรั่ง	34.30	22.87
ชาเขียว	41.16	27.44

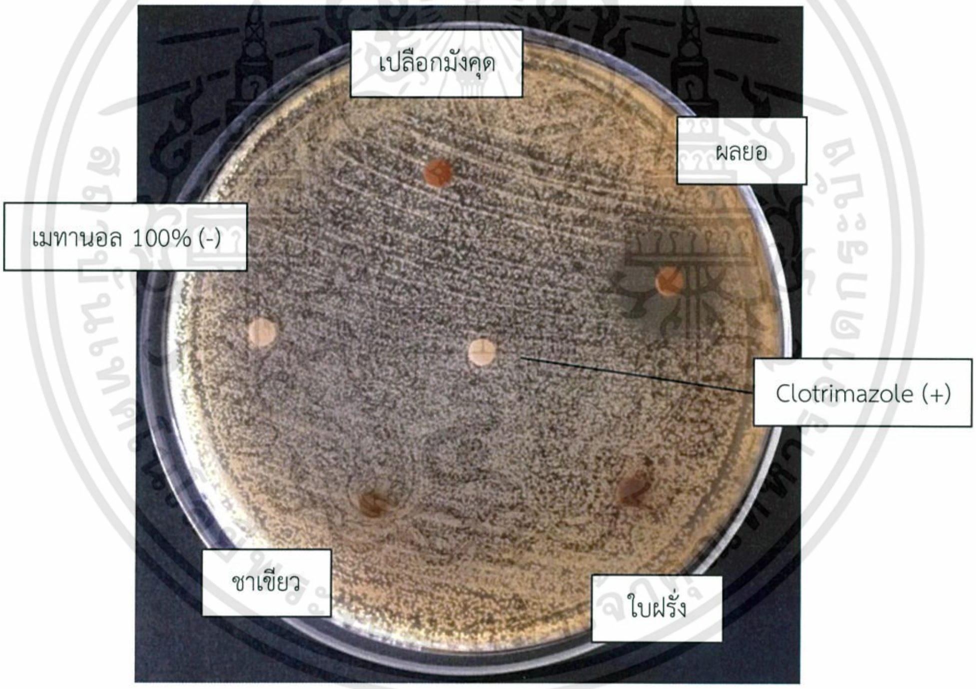
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธี Disc Diffusion

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ด้วยวิธี Disc Diffusion ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.1-4.3 และตารางที่ 4.2 พบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อยีสต์ *C. albicans* ATCC 10231 แต่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 6538 และ *S. epidermidis* ATCC 12228 โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) เท่ากับ 9.81±0.23 และ 12.24±0.89 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดจากผลยอมีฤทธิ์ในการยับยั้งทั้งเชื้อยีสต์และเชื้อแบคทีเรียทุกตัวที่ใช้ในการทดสอบ โดยมีบริเวณยับยั้งของเชื้อยีสต์ *C. albicans* ATCC 10231 เท่ากับ 21.78±0.61 มิลลิเมตร และมีบริเวณยับยั้งของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 6538 และ *S. epidermidis* ATCC 12228 เท่ากับ 9.14±0.96 และ 9.84±0.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ สำหรับสารสกัดจากใบฝรั่งและชาเขียวพบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อยีสต์ *C. albicans* ATCC 10231 แต่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

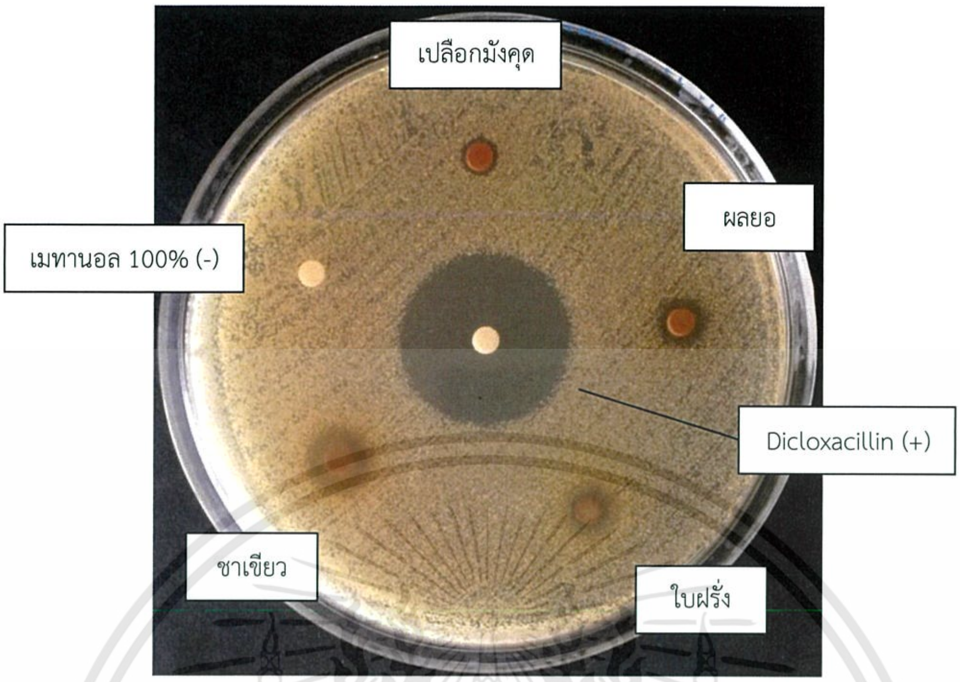
S. aureus ATCC 6538 และ *S. epidermidis* ATCC 12228 โดยสารสกัดจากใบฝรั่งมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 8.24±0.14 และ 11.08±0.93 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดจากชาเขียวมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 13.06±0.37 และ 14.85±1.08 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ในการทดสอบ พบว่า ยาปฏิชีวนะ dicloxacillin (250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ใช้เป็น positive control มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 6538 และ *S. epidermidis* ATCC 12228 โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 37.84±0.06 และ 41.78±1.08 มิลลิเมตร ตามลำดับ และยาปฏิชีวนะ clotrimazole (500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ใช้เป็น positive control ในการทดสอบต่อเชื้อยีสต์ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ATCC 10231 โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 24.35±0.58 มิลลิเมตร ดังแสดงในตารางที่ 4.2

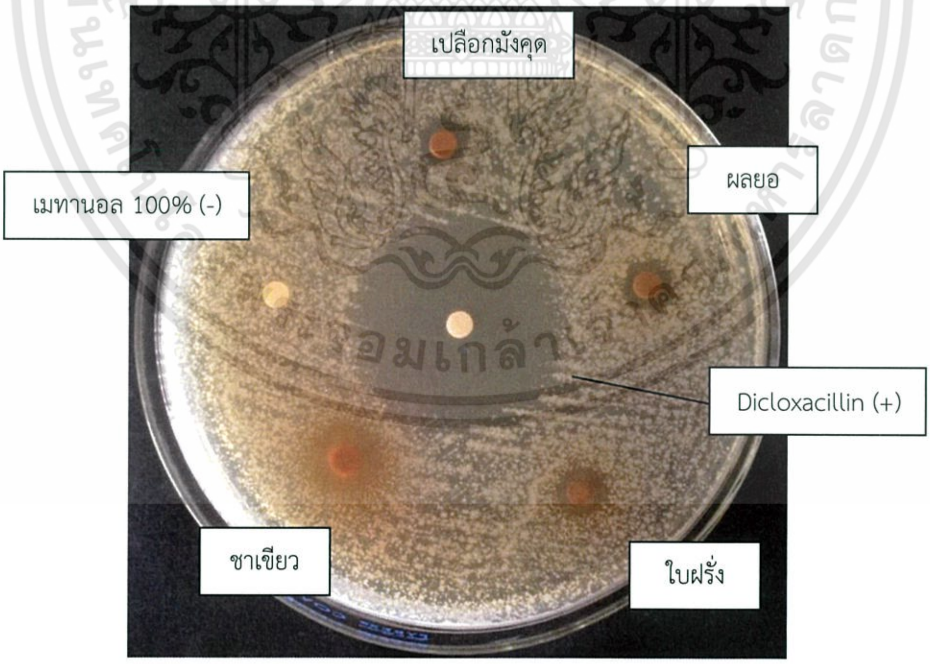


รูปที่ 4.1 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ATCC 10231 ของสารสกัดสมุนไพร 4 ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 6538 ของสารสกัดสมุนไพร 4 ชนิด



รูปที่ 4.3 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228 ของสารสกัดสมุนไพร 4 ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร 4 ชนิด ด้วยวิธีการหมักกับเอทานอลร้อยละ 95 โดยวิธี Disc Diffusion

ความเข้มข้น 50% w/v ของสารสกัดสมุนไพร	**ค่าเฉลี่ยของ Inhibition Zone (มิลลิเมตร)**		
	Candida albicans ATCC 10231	*Staphylococcus aureus* ATCC 6538	*Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228
เปลือกมังคุด	0^{g}	9.81 ± 0.23^{ef}	12.24 ± 0.89^{cd}
ผลยอ	21.78 ± 0.61^{a}	9.14 ± 0.96^{f}	9.84 ± 0.33^{ef}
ใบฝรั่ง	0^{g}	8.24 ± 0.14^{f}	11.08 ± 0.93^{de}
ชาเขียว	0^{g}	13.06 ± 0.37^{bc}	14.85 ± 1.08^{b}
เมทานอลร้อยละ 100	0	0	0
Clotrimazole (500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	24.35±0.58	-	-
Dicloxacillin (250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	-	37.84±0.06	41.78±1.60

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

จากตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์สถิติ พบว่า มีอิทธิพลร่วมระหว่างสารสกัดสมุนไพรกับเชื้อก่อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยผลยอมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ATCC 10231 ได้ดีที่สุด โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 21.78±0.61 มิลลิเมตร รองลงมา ได้แก่ ชาเขียว ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228 (14.85±1.08 มิลลิเมตร) และ *S. aureus* ATCC 6538 (13.06±0.37 มิลลิเมตร) และเปลือกมังคุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228 (12.24±0.89 มิลลิเมตร) และเปลือกมังคุด ชาเขียวและใบฝรั่งไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ATCC 10231

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การอภิปรายผลการทดลอง

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมา (Chomnawang *et al*., 2008; อุดมลักษณ์ และคณะ, 2549) พบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ในงานวิจัยนี้ ซึ่งพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* เช่นกัน โดยมีค่าบริเวณยับยั้งเท่ากับ 9.81±0.23 และ 12.24±0.89 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อยีสต์ *C. albicans* ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kaomongkolgit *et al*. (2009) ที่กล่าวว่า สาร alpha-mangostin ในมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ที่ก่อให้เกิดโรค candidiasis และมีความสามารถในการฆ่าเชื้อใกล้เคียงกับยา clotrimazole และ nystatin อาจเนื่องมาจากการใช้สารที่นำมาสกัดที่แตกต่างกันซึ่งส่งผลให้ได้ปริมาณสารสำคัญในปริมาณที่แตกต่างกัน

สารสกัดจากใบฝรั่งด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chomnawang *et al*. (2008) ที่กล่าวว่าสารสกัดจากใบฝรั่งด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* แต่ไม่สอดคล้องกับผลที่ว่าสารสกัดจากใบฝรั่งด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* อาจเนื่องมาจากสายพันธุ์ของเชื้อที่ทดสอบ โดยเชื้อนี้สามารถสร้างไบโอฟิล์มได้ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดการดื้อยา หรือปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดที่แตกต่างกันทำให้ผลการยับยั้งแตกต่างกัน

สารสกัดจากชาเขียวด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* โดยมีค่าบริเวณยับยั้งเท่ากับ 13.06±0.37 และ 14.85±1.08 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Farjana *et al*. (2014) ที่กล่าวว่า สารสกัดของใบชาเขียวด้วยน้ำเดือดและน้ำอุณหภูมิห้อง มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* บริเวณยับยั้งมีค่าเท่ากับ 19 มิลลิเมตร และสกัดจากชาเขียวด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ของงานวิจัยนี้ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Doddanna *et al*. (2012) ที่กล่าวว่า สารสกัดเอทานอลจากชาเขียว มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ได้แต่อยู่ในระดับต่ำ อาจเนื่องมาจากแหล่งที่มาของพืชที่เลือกใช้ต่างกัน รวมถึงการใช้สารที่นำมาสกัดแตกต่างกัน กล่าวคือในการสกัดชาเขียวด้วยน้ำอาจส่งผลให้ได้ปริมาณสารที่สำคัญในปริมาณที่มากกว่า

สารสกัดจากผลยอด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans, S. aureus* และ *S. epidermidis* ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ จีราภรณ์ และคณะ (2554) ที่กล่าวว่า สารสกัดจากผลยอด้วยเอทานอลร้อยละ 80 ที่ระดับความเข้มข้น 120 และ 240 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *C. albicans* ทุกสายพันธุ์ที่นำมาศึกษา โดยมีค่าบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 14.0±0.0 ถึง 20.0±0.0 มิลลิเมตร และ 18.0±0.0 ถึง 23.5±0.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ ทัศนีย์ และคณะ (2548) ที่กล่าวว่าสารสกัดจากผลยอด้วยเมทานอลและละลายในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ และน้ำกลั่น มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Disc Diffusion ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 พบว่าในสารสกัดจากเปลือกมังคุด ผลยอ ใบฝรั่งและชาเขียว มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 6538 และ *S. epidermidis* ATCC 12228 และสารสกัดจากผลยอเท่านั้นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อยีสต์ *C. albicans* ATCC 10231 โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 21.78±0.61 มิลลิเมตร ซึ่งผลการวิจัยสรุปได้ว่าสารสกัดจากผลยอมีสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อยีสต์ *C. albicans* ATCC 10231 และสารสกัดจากชาเขียวมีสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 6538 และ *S. epidermidis* ATCC 12228 ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด ซึ่งน่าจะสามารถนำไปพัฒนาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ยารักษาแผลติดเชื้อต่อไปได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1) การทดสอบในห้องปฏิบัติการ ควรใช้เทคนิคเปลอดเชื้อ (aseptic technique) อย่างเคร่งครัด เพื่อป้องกันการปนเปื้อนข้ามของเชื้อราและแบคทีเรีย

2) ควรทำการวิจัยนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดและชาเขียวไปทดสอบค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (minimum inhibitory concentration, MIC) และค่าการฆ่าเชื้อรา (minimum fungicidal concentration, MFC) เพื่อนำไปพัฒนาเป็นยารักษาแผลติดเชื้อต่อไป

3) เปลือกมังคุดและชาเขียว จะมีสารแทนนินและสารคาเทชิน ตามลำดับ ซึ่งเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ ควรมีการวิจัยและพัฒนาการนำเปลือกมังคุดและชาเขียวมาใช้เป็นยาต้านจุลิทรีย์แทนยาปฏิชีวนะต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จิราภรณ์ บุราคร และ เรือนแก้ว ประพฤติ. 2555. “ผลของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านไทยจำนวน 7 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย.” *วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก*. 10(1) : 11-22.

จีราภรณ์ สุวรรณชาตรี, นัฐพล คำธร, วีรวรรณ หนูแดง และ มณฑล เลิศคณาวนิชกุล. 2554. “ฤทธิ์การต้าน *Candida albicans* ของสารสำคัญจากผลยอ.” *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด*. 23(1) : 7-18.

ชัชวาล เรืองประพันธ์. 2542. **สถิติพื้นฐาน : พร้อมตัวอย่างการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MINITAB SPSS SAS**. ครั้งที่พิมพ์ 4. ขอนแก่น : คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ณัฏฐา นิธิกุลวรวงศ์. 2555. “ประสิทธิภาพของสารสกัดสิรินธรวัลลีต่อความต้านทานเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*).” *วารสารวิจัยวิทยาลัยขอนแก่น*. 17(5) : 715-724.

ทัศนีย์ ปัญจานนท์, กันทิมา ชูแสง และ ธีรกุล อาภรณ์สุวรรณ. 2548. “ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัด จากผลยอ.” *วารสารสมุนไพร*. 12(1) : 19-29.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2547. **แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค**. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาศรีนครินทรวิโรฒ.

นิดดา หงส์วิวัฒน์. 2550. **ผลไม้ 111 ชนิด คุณค่าอาหารและการกิน**. กรุงเทพฯ : แสงแดด.

สุนทรี สิงหบุตรา. 2536. **สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด**. กรุงเทพฯ : โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮาส์.

สุรีย์ ภูมิภมร และ อนันต์ คำคง. 2540. **ไม้อเนกประสงค์กินได้**. กรุงเทพฯ : เฟื่องฟ้า พริ้นติ้ง.

แสงไทย เค้าภูไทย. 2548. **เจาะลึกสมุนไพรยอดนิยม**. กรุงเทพฯ : ปิรามิด.

อภิราม ส่งศรี และ มณฑล เลิศคณาวนิชกุล. 2554. “การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Candida albicans* และ *Cryptococcus neoformans* ของสารสกัดสมุนไพร. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*. 44(4)250 : 260.

อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และ วัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์. 2553. **แบคทีเรียทางการแพทย์**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อุดมการ อินทุใส และ ปาริชาติ ทะนานแก้ว. 2549. **สมุนไพรไทย ตำรับยา บำบัดโรค บำรุงร่างกาย**. กรุงเทพฯ : มติชน.

อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ, อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, ประภัสสร รักถาวร, สิริพร ศิริวรรณ และ พจมาน พิศเพียงจันทร์. 2549 “การสกัดและการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด.” สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Ahmad, S. and Khan, Z. 2012. “Invasive candidiasis : a review of nonculture-based laboratory diagnostic methods.” Indian Journal of Medical Microbiology. 3(30) : 264-269.

Archana, S. and Abraham, J. 2011. “Comparative analysis of antimicrobial activity of leaf extracts from fresh green tea, commercial green tea and black tea on pathogens.” Journal of Applied Pharmaceutical Science. 1(8) : 149-152.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bauer, A.W., Kirby, M.M., Sherris, J.C. and Truck, M. 1966. "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinic Pathology. 45(4) : 493-6.

Boschmann, A.L and Thielecke, F. 2007. The effects of epigallocatechin-3-gallate on thermogenesis and fat oxidation in obese men : a pilot study. The Journal of the American College of Nutrition. 26(4) : 389S-95S.

Campbell, C.K., Johnson, E.M. and Warnock D.W. 2013. **Identification of Pathogenic Fungi.** 2nd ed. Chichester : Wiley-Blackwell.

Chomnawang, M., Chomnawang, T., Surassmo, S., Wongsariya, K. and Bunyapraphatsara, N. 2008. "Antibacterial activity of Thai medicinal plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus.*" Fitoterapia 80(2) : 102–104.

Dangi, Y.S., Soni, M.L and Namdeo. 2010. Oral Candidiasis: A Review. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2(4) : 36-41.

Doddanna, S.J., Patel, S., Sundarrao, M.A. and Veerabhadrappa, R.S. 2012. "Antimicrobial activity of plant extracts on *Candida albicans* : An *in vitro* study." Indian Journal of Dental Research. 24(4) : 401-405.

Farjana, A, Zerin, N and Kabir, S. 2014. "Antimicrobial activity of medicinal plant leaf extracts against pathogenic bacteria." Asian Pacific Journal Tropical Disease. 4(2) : S920-S923.

Jian L., Xie L.P., Lee A.H. and Binns C.W. 2004. Protective effects of green tea against prostate cancer : a case-control study in southeast China. International Journal of Cancer 1. 108(1) : 130-5

Kaomongkolgit, R., Jamdee, K. and Chaisomboon, N. 2009. "Antifungal activity of alpha-mangostin against *Candida albicans*." Journal of Oral Science. 51(3) : 401-406.

Liu, K., Zhou, R. and Wang, B. 2013. Effect of green tea on glucose control and insulin sensitivity : a meta-analysis of 17 randomized controlled trials. The American Journal of Clinical Nutrition. 98(2) : 340-8.

Martins, N., Barros, L., Henriques, M., Silva, S. and Ferreira, L.C.F.R. 2015. "Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida* species." Industrial Crops and Products. 74(2015) : 648-670.

NCCLS. 2002. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard 2nd Edition M27-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pennsylvania.

NCCLS. 2003a. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, 8th ed. Approved standard M2-A8. NCCLS, Wayne, Pennsylvania.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

NCCLS. 2003b. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tesea for Bacteria That Grow Aerobically, 6thed. Approved standard M7-A6. NCCLS, Wayne, Pennsylvania.

Pazyar, N., Feily, A. and Kazerouni, A. 2012. Green tea in dermatology. Skinmed Journal. 10(6) : 352-5.

Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B.K. and G.R. Carter, G.R. 1994. **Clinical Veterinary Microbiology**. Spain : Wolfe Publishing.

Richardson, M.D. and Warnock D.W. 2012. **Fungal Infection Diagnosis and Management**. 4thed. Chichester : Wiley-Blackwell.

Rose, A.H., Wheals, A.E. and Harrison, J.S. 1987. **The Yeasts**, 2nded, London : Academic Press.

Setiawan, V.W., Zhang, Z.F. and Yu, G.P. 2001. Protective effect of green tea on the risks of chronic gastritis and stomach cancer. Internation Journal of Cancer. 92(4) : 600-4.

Stevens, A and Lowe, J. 2000. **Pathology**. 2nded. St. Louis : Mosby.

Varnam, A.H. and Evans, M.G. 1991. **Foodborne Pathogens an Illustrated Text**. Spain : Wolfe Publishing.

Wiedmann, M. and Zhang, W. 2011. **Genomics of Foodborne Bacterial Pathogens**. New York : Springer.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารเคมี

1. McFarland Standard เบอร์ 0.5 (NCCLS, 2003a,b)

1.1 ปิเปตต์ H_2SO_4 (conc.) มา 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

1.2 ชั่งสาร $BaCl_2$ 1 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร

1.3 นำสารละลายในข้อ 1.1 ปริมาตร 995 มิลลิลิตร และสารละลายข้อ 1.2 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร มาผสมและคนให้เข้ากัน ได้เป็นสารละลาย McFarland standard No. 0.5 นำมาบรรจุใส่หลอดทดลอง ปิดฝาให้สนิท เก็บในที่มืด อุณหภูมิ 2-30 องศาเซลเซียส

1.4 ก่อนใช้งานต้องเขย่าเป็นเนื้อเดียวกัน และควรตรวจสอบความขุ่นทุกเดือน อายุการใช้งานสามารถใช้ได้นานถึง 6 เดือน

2. Clotrimazole (500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

เตรียม stock ยา 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายยา Clotrimazole 0.0025 กรัม ด้วยเมทานอล แล้วปรับปริมาตรให้เท่ากับ 5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเก็บ stock ยาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บไว้ใช้ไม่เกิน 1-2 สัปดาห์ และป้องกันการถูกแสงแดด

3. Dicloxacillin (250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

เตรียม stock ยา 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายยา Dicloxacillin 0.025 กรัม ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เท่ากับ 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นให้เก็บ stock ยาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บไว้ใช้ไม่เกิน 1-2 สัปดาห์ และป้องกันการถูกแสงแดด

4. Sabouraud dextrose agar (SDA)

ละลาย SDA 65.0 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร และนำไปทำการฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

5. Tryptic soy agar (TSA)

ละลาย TSA 40.0 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร และนำไปทำการฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การคำนวณร้อยละผลได้ (%yield)

ร้อยละผลผลิต (% yield) (ณัฎฐา นิธิกุลวรวงศ์, 2555)

สูตร : ร้อยละผลผลิต (% yield) = $\frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดที่ได้} \times 100}{\text{น้ำหนักของพืชบดละเอียดที่ใช้ในการสกัด}}$

1. เปลือกมังคุด (*Garcinia mangostana* L.)

ร้อยละผลผลิต (% yield) = $\frac{15.09 \text{ กรัม} \times 100}{150 \text{ กรัม}}$ = 10.06

2. ผลยอ (*Morinda citrifolia* L.)

ร้อยละผลผลิต (% yield) = $\frac{10.30 \text{ กรัม} \times 100}{100 \text{ กรัม}}$ = 10.30

3. ใบฝรั่ง (*Psidium guajava* L.)

ร้อยละผลผลิต (% yield) = $\frac{34.30 \text{ กรัม} \times 100}{150 \text{ กรัม}}$ = 22.87

4. ชาเขียว (*Camellia sinensis*)

ร้อยละผลผลิต (% yield) = $\frac{41.16 \text{ กรัม} \times 100}{150 \text{ กรัม}}$ = 27.44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การเตรียมสารสกัดสมุนไพร

สารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของการทดลองนี้ จะใช้ความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยมีวิธีการเตรียมสารสกัดสมุนไพรดังนี้

1. เปลือกมังคุด (*Garcinia mangostana* L.)

ชั่งสารสกัดหยาบของมังคุด 2.5 กรัม ละลายด้วยเมทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 100) แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 5 มิลลิลิตร แล้วใส่ในขวดแก้วสีชาขนาดเล็ก จากนั้นก่อนใช้ทดสอบก็นำมากรองด้วยตัวกรอง 0.45 ไมครอน เพื่อกรองเชื้อจุลินทรีย์ออก และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ทดสอบ

2. ผลยอ (*Morinda citrifolia* L.)

ชั่งสารสกัดหยาบของลูกยอ 2.5 กรัม ละลายด้วยเมทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 100) แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 5 มิลลิลิตร แล้วใส่ในขวดแก้วสีชาขนาดเล็ก จากนั้นก่อนใช้ทดสอบก็นำมากรองด้วยตัวกรอง 0.45 ไมครอน เพื่อกรองเชื้อจุลินทรีย์ออก และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ทดสอบ

3. ใบฝรั่ง (*Psidium guajava* L.)

ชั่งสารสกัดหยาบของใบฝรั่ง 2.5 กรัม ละลายด้วยเมทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 100) แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 5 มิลลิลิตร แล้วใส่ในขวดแก้วสีชาขนาดเล็ก จากนั้นก่อนใช้ทดสอบก็นำมากรองด้วยตัวกรอง 0.45 ไมครอน เพื่อกรองเชื้อจุลินทรีย์ออก และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ทดสอบ

4. ชาเขียว (*Camellia sinensis*)

ชั่งสารสกัดหยาบของชาเขียว 2.5 กรัม ละลายด้วยเมทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 100) แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 5 มิลลิลิตร แล้วใส่ในขวดแก้วสีชาขนาดเล็ก จากนั้นก่อนใช้ทดสอบก็นำมากรองด้วยตัวกรอง 0.45 ไมครอน เพื่อกรองเชื้อจุลินทรีย์ออก และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
ข้อมูลการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Minitab version 16

ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งของสมุนไพร 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 w/v

General Linear Model: clear zone versus สมุนไพร, เชื้อ

Factor	Type	Levels	Values
สมุนไพร	fixed	4	1, 2, 3, 4
เชื้อ	fixed	3	1, 2, 3

Analysis of Variance for clear zone, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
สมุนไพร	3	272.55	272.55	90.85	246.72	0.000
เชื้อ	2	272.36	272.36	136.18	369.82	0.000
สมุนไพร*เชื้อ	6	875.76	875.76	145.96	396.37	0.000
Error	24	8.84	8.84	0.37		
Total	35	1429.51				

S = 0.606827   R-Sq = 99.38%   R-Sq(adj) = 99.10%

Unusual Observations for clear zone

Obs	clear zone	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
14	8.0600	9.1367	0.3504	-1.0767	-2.17 R
25	12.1200	11.0833	0.3504	1.0367	2.09 R
34	15.9400	14.8467	0.3504	1.0933	2.21 R
36	13.7900	14.8467	0.3504	-1.0567	-2.13 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งของสมุนไพร 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 w/v (ต่อ)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

สมุนไพร	เชื้อ	N	Mean	Grouping
2	1	3	21.7833	A
4	3	3	14.8467	B
4	2	3	13.0633	B C
1	3	3	12.2400	C D
3	3	3	11.0833	D E
2	3	3	9.8433	E F
1	2	3	9.8133	E F
2	2	3	9.1367	F
3	2	3	8.2433	F
1	1	3	0.0000	G
4	1	3	-0.0000	G
3	1	3	-0.0000	G

Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้