ผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 5 ชนิดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง

INHIBITORY EFFECT OF EXTRACTS FROM FIVE HERBS ON BACTERIAL SKIN DISEASE

มัทรี โพธิสุวรรณ
รุจิรา ทองเหลือดี
ศิโรรัตน์ ขอบบัวคลี่

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 5 ชนิดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง

INHIBITORY EFFECT OF EXTRACTS FROM FIVE HERBS ON BACTERIAL SKIN DISEASE

T149058

มัทรี โพธิสุวรรณ
รุจิรา ทองเหลือดี
ศิโรรัตน์ ขอบบัวคลี่

เลขหมู่ 149058
เลขทะเบียน
วัน,เดือน,ปี 27 ส.ค. 2560

b 12879904
i

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

INHIBITORY EFFECT OF EXTRACTS FROM FIVE HERBS ON BACTERIAL SKIN DISEASE

MATSEE POTHISUWAN
RUJIRA THONGLUEDEE
SIRORAT KOBBUAKLEE

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED 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	ผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 5 ชนิดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง Inhibitory Effect of Crude Extracts from Five Herbs on Bacterial Skin Disease
ชื่อนักศึกษา	นางสาวมัทรี โพธิสุวรรณ รหัสนักศึกษา 55051368 นางสาวรุจิรา ทองเหลือดี รหัสนักศึกษา 55051378 นางสาวศิโรรัตน์ ขอบบัวคลี่ รหัสนักศึกษา 55051400
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร.เยาวพา สุวัตถิ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.จิตติ ท่าไว ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.อุ่นเรือน เพชรวาลัย์ กรรมการ	
รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	
ดร.เยาวพา สุวัตถิ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 5 ชนิดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง
ชื่อนักศึกษา	นางสาวมัทรี โพธิสุวรรณ รหัสนักศึกษา 55051368
	นางสาวรุจิรา ทองเหลือดี รหัสนักศึกษา 55051378
	นางสาวศิโรรัตน์ ขอบบัวคลี่ รหัสนักศึกษา 55051400
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร.เยาวพา สุวัตถิ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นชัน ชาเขียว ทานาคา ใบฝรั่ง และเปลือกมังคุด ที่สกัดด้วยการหมักกับเอทานอล 95% ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 จากการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดีที่สุด มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งต่อเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228 เท่ากับ 4.40±0.08 มิลลิเมตร และบริเวณยังยั้งของเชื้อ *S. aureus* ATCC 6538 เท่ากับ 2.48±0.08 มิลลิเมตร ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228 เท่ากับ 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และต่อเชื้อ *S. aureus* ATCC 6538 เท่ากับ 50 และ 75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

คำสำคัญ : สมุนไพร, สารสกัดหยาบ, *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Inhibitory Effect of Crude Extracts from Five Herbs on Bacterial Skin Disease
Students	Miss Matsee Pothisuwan Student ID 55051368
	Miss Rujira Thongluedee Student ID 55051378
	Miss Sirorat Kobbuaklee Student ID 55051400
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

An inhibitory effect of crude extract from five herbs (turmeric, green tea, tanaka, guava leaf and mangosteen peel) on *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 was studied. Crude extract was done by maceration with 95% ethanol. The result showed that crude extract from mangosteen peel gave the highest inhibitory effect on the growth of both species with the average diameter of the clear zone against *Staphylococcus epidermidis* of 4.40±0.08 mm and against *Staphylococcus aureus* of 2.48±0.08 mm. Minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) of mangosteen peel on *Staphylococcus epidermidis* were 25 mg/ml and 50 mg/ml, respectively whereas MIC and MBC of *Staphylococcus aureus* were 50 mg/ml and MBC 75 mg/ml, respectiviely.

Keywords : Herb, Crude extract, *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความเมตตากรุณาเป็นอย่างยิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ให้คำแนะนำในการดำเนินการทดลองและการแก้ไขปัญหาต่างๆ ตลอดแนวทางในการทำโครงงานพิเศษฉบับนี้ และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ดร.เยาวพา สุวัตถิ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา และชี้แนะตลอดจนอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุ่นเรือน เพชรวัลย์ กรรมการสอบ ที่คอยให้คำปรึกษา และการแก้ไขปัญหาต่างๆ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.จิตติ ท่าไว ประธานกรรมการการสอบโครงงานพิเศษที่ให้คำชี้แนะในการแก้ไขให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ นายศักรินทร์ บุญล้ำ นางสาวณัฐพร มานะประดิษฐ์ และนางสาววาสินี ธรรมสถิต เจ้าหน้าที่ประจำศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกท่านที่ได้ให้คำปรึกษา ตลอดจนข้อชี้แนะในการทดลอง

ขอกราบขอบพระคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ใช้สถานที่ในการศึกษาหาความรู้และการทำโครงงานพิเศษตลอดจนให้การสนับสนุนด้านงบประมาณในการดำเนินงานและด้านเครื่องมืออุปกรณ์ต่างๆ

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ผู้มีพระคุณอย่างยิ่ง ที่ได้ให้ความรัก ให้ความช่วยเหลือทางด้านทุนทรัพย์ และคอยให้กำลังใจอย่างดีเสมอมา

มัทรี โพธิสุวรรณ
รุจิรา ทองเหลือดี
ศิโรรัตน์ ขอบบัวคลี่

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 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ปัจจัยการเกิดสิว	3
2.1.1 ความผิดปกติของต่อมไขมัน	3
2.1.2 ความผิดปกติของการสร้าง keratin	3
2.1.3 เชื้อแบคทีเรีย	4
2.1.4 การอักเสบของผิวหนัง	4
2.2 แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิวและโรคผิวหนัง	4
2.2.1 *Propionibacterium acnes*	4
2.2.2 *Staphylococcus aureus*	5
2.2.3 *Staphylococcus epidermidis*	6
2.3 สมุนไพร	7
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	8
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	11
3.1 เชื้อจุลินทรีย์ และสารเคมี	11
3.2 อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	12
3.3 สมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง	13
3.4 วิธีดำเนินการทดลอง	13
3.4.1 การสกัดสมุนไพร โดยการหมัก (Maceration)	13
3.4.2 การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Disc Diffusion	14
3.4.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4.4 การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าได้เชื้อ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ด้วยวิธี Broth Microdilution	15
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	17
4.1 ผลการสกัดสมุนไพรโดยการหมัก (Maceration)	17
4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disc Diffusion	17
4.3 ผลการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal Bactericidal Concentration, MBC)	20
4.4. วิจารณ์ผลการทดลอง	22
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	24
เอกสารอ้างอิง	25
ภาคผนวก ก สมุนไพร	32
ภาคผนวก ข วิธีการสกัด	42
ภาคผนวก ค การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์	46
ภาคผนวก ง การเตรียมสารละลาย McFarland standard เบอร์ 0.5	48
ภาคผนวก จ การเตรียมยาปฏิชีวนะ Dicloxacillin	50
ภาคผนวก ฉ ข้อมูลการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Minitab version 16.1.0	51
ภาคผนวก ช ผลการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal Bactericidal Concentration, MBC)	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	รายชื่อสมุนไพรอบแห้ง บดผงทั้ง 5 ชนิด ที่ใช้ในการทดลอง	13
3.2	แสดงความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพร และความเข้มข้นของ Dimethyl sulfoxide	16
4.1	แสดงปริมาณน้ำหนักแห้ง และร้อยละผลได้ (%yield) ของสารสกัดสมุนไพร 5 ชนิด ที่หมักด้วยเอทานอล 95%	17
4.2	แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) ของสารสกัดของสมุนไพร 5 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	18
4.3	แสดงค่า MIC และ MBC ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ต่อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของเชื้อ *Propionibacterium acnes*	5
2.2	แสดงลักษณะโคโลนีบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ *Propionibacterium acnes*	5
2.3	แสดงลักษณะโคโลนี และการเรียงตัวของเชื้อ *Staphylococcus aureus*	6
2.4	แสดงรูปร่าง การจัดเรียงเซลล์ และการย้อมติดสีของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis*	6
2.5	แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis*	7
4.1	แสดงบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 โดยสารสกัดสมุนไพร 5 ชนิดที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ยาปฏิชีวนะ Dicloxacillin เป็น positive control และเมทานอลเป็น negative control)	18
4.2	แสดงบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 โดยสารสกัดสมุนไพร 5 ชนิดที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ยาปฏิชีวนะ Dicloxacillin เป็น positive control และเมทานอลเป็น negative control)	19
4.3	แสดงผลการหาค่า MBC ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ที่ระดับความเข้มข้นในช่วง 100-0.39 มิลลิกรัมต่อลิตร	21
4.4	แสดงผลการหาค่า MBC ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดต่อเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ที่ระดับความเข้มข้นในช่วง 100-0.39 มิลลิกรัมต่อลิตร	21
ก-1	ขมิ้นชัน	32
ก-2	ชาเขียว	34
ก-3	ส่วนต่างๆของทานาคา	36
ก-4	ส่วนต่างๆของฝรั่ง	38
ก-5	โครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่แยกได้จากใบฝรั่ง	39
ก-6	มังคุด	40
ข-1	อุปกรณ์ที่ใช้ในการหมักแช่	42
ข-2	อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพอร์โคเลชัน	43
ข-3	Soxhlet extractor	44
ข-4	การกลั่นน้ำมันหอมระเหย ด้วยน้ำและไอน้ำ	44
ง-1	แสดงปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย McFarland standard และปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่เทียบได้	49
ง-2	Wickerham (Card) ใช้เป็นกระดาษพื้นหลังในการเปรียบเทียบความขุ่น	49
ช-1	Broth Microdilution ใน 96-Well Microplate ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ระดับความเข้มข้นในช่วง 100-0.39 มิลลิกรัมต่อลิตร กับเชื้อ *S. aureus* ATCC 6538	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
ช-2	Broth Microdilution ใน 96-Well Microplate ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด ที่ระดับความเข้มข้นในช่วง 100-0.39 มิลลิกรัมต่อลิตร กับเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

สิวจัดเป็นปัญหาโรคผิวหนังชนิดหนึ่งที่สามารถพบได้บริเวณใบหน้า หน้าอก และต้นแขนทั้งในเพศหญิงและเพศชาย โดยสามารถพบได้บ่อยในช่วงวัยรุ่นจนถึงวัยกลางคน (Rzany และ Kahl, 2006 ; Loveckova และ Havikova, 2002) ซึ่งมีผลต่อบุคลิกภาพรวมถึงความมั่นใจในการดำรงชีวิต จากสถิติของสถาบันโรคผิวหนังแห่งประเทศไทยได้ระบุว่าในช่วงปี พ.ศ. 2555-2557 สิวเป็นอาการทางผิวหนังที่ทำให้ผู้ป่วยเข้าพบแพทย์สูงเป็นอันดับ 2 ของจำนวนผู้ป่วยนอกทั้งหมดที่เข้ารักษาที่สถาบันโรคผิวหนัง (สถาบันโรคผิวหนัง, 2558) การเกิดสิวมีสาเหตุมาจากการอุดตันของรูขุมขนประกอบกับเชื้อจุลินทรีย์ในรูขุมขนที่กระตุ้นให้เกิดการอักเสบ ได้แก่ เชื้อ *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus aureus* โดยมี *P. acnes* เป็นเชื้อหลักในการก่อโรค ถึงแม้ว่า *S. epidermidis* และ *S. aureus* จะไม่ใช่สาเหตุหลัก แต่ก็มีส่วนในการกระตุ้นให้เกิดตุ่มหนองอันส่งผลทำให้เกิดการอักเสบของสิว การติดเชื้อและก่อให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อหรือเกิดแผล (Majeed และ Prakash, 2004 ; Leeming และคณะ, 1988)

การรักษาสิวปัจจุบันทำได้ง่าย โดยผู้ป่วยสามารถซื้อยามาทาเองหรือใช้บริการสถาบันเสริมความงามหรือคลีนิกต่างๆ โดยตัวยาที่นิยมมักเป็นยาในกลุ่มยาปฏิชีวนะ (antibiotic) เพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์บนผิวหนัง และป้องกันการอักเสบ แต่ยาปฏิชีวนะเหล่านี้อาจจะทำให้เชื้อจุลินทรีย์เกิดการดื้อยาได้ จากการศึกษาการดื้อยาของเชื้อ *P. acnes* และ *S. epidermidis* ที่แยกได้จากสิว พบว่าภายหลังการรักษาสิวด้วยยาปฏิชีวนะ erythromycin, roxithromycin และ clindamycin ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน เชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีการดื้อต่อยาที่เพิ่มขึ้น (Nishjima และคณะ, 2000)

ในปัจจุบันมีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาการใช้ประโยชน์จากพืช และสมุนไพรไทย โดยการนำมาสกัดด้วยวิธีต่างๆ เพื่อให้ได้สารสำคัญออกมา แล้วทดสอบฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ เพื่อนำมาใช้เป็นทางเลือกในการรักษาแทนยาสังเคราะห์ เนื่องจากสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติมีความปลอดภัยสูง ผลข้างเคียงน้อย และราคาถูก (Chomnawang และคณะ, 2005) ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรโดยคัดเลือกสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นชัน ชาเขียว ทานาคา ใบฝรั่ง และเปลือกมังคุด เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง *S. epidermidis* และ *S. aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 5 ชนิด ที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*
2) เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 5 ชนิดที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ทำการทดลองโดยการนำสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด มาสกัดด้วยเอทานอล 95% ให้ได้เป็นสารสกัดหยาบ เพื่อนำไปการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และปริมาณของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) สามารถนำสารสกัดหยาบที่ได้สมุนไพรไทยมาประยุกต์ใช้ เพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ
2) ลดการนำเข้ายาจากต่างประเทศ
3) เพิ่มทางเลือกในการรักษาโรคผิวหนังมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปัจจัยการเกิดสิว

สิวเกิดจากการอักเสบของต่อมไขมัน (sebaceous gland) ที่บริเวณรูขุมขน โดยมีลักษณะเป็นตุ่มนูน อาจเป็นตุ่มนูนแดง ตุ่มหนอง หรือตุ่มเนื้อลึกใต้ผิวหนัง ส่วนมากจะเกิดขึ้นกับผิวหนังบริเวณหน้า คอ หน้าอก แผ่นหลัง ไหล่ หรือ ต้นแขน (Chomnawang และคณะ, 2005) ในปัจจุบันมีศึกษาสาเหตุและปัจจัยต่างๆ ที่ก่อให้เกิดสิวและการอักเสบของสิว ซึ่งได้แก่ การขยายตัวของต่อมไขมันที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและมีการสร้างไขมันมากขึ้น การที่ท่อเปิดของต่อมไขมันมีเซลล์ผิวหนังหนามากกว่าปกติ รวมทั้งเซลล์ผิวหนังที่ตายไม่หลุดออกตามปกติ มีการอักเสบเกิดขึ้นเองทั้งในท่อเปิดและรอบๆท่อเปิดของต่อมไขมัน และการเพิ่มจำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* และปฏิกิริยาอิมมูนของร่างกายที่มีผลต่อเชื้อและทำให้เกิดการอักเสบมากขึ้น เป็นต้น (สุมนา และคณะ, 2555) ซึ่งปัจจัยต่างๆนี้มีผลต่อการเกิดสิว ได้แก่

2.1.1 ความผิดปกติของต่อมไขมัน

สิวอาจเกิดจากการทำงานที่ผิดปกติของต่อมไขมัน ที่ถูกควบคุมด้วยฮอร์โมนเพศชาย (Androgen) เช่น Testosterone และ Dehtdroepiandrosterone sulfate (DHEAS) ที่หลั่งจากอัณฑะและรังไข่ รวมถึงต่อมหมวกไต เมื่อระดับของฮอร์โมน Androgen ในร่างกายสูงขึ้นจะกระตุ้นให้ต่อมไขมันเกิดการขยายตัวและหลั่งไขมันออกมามากขึ้น โดย Testosterone จะเปลี่ยนไปเป็น Dihydrotestosterone โดยเอนไซม์ Iso-enzyme 5 α-reductase type 1 ซึ่งไขมัน (sebum) ที่หลั่งออกมาจะเป็นพวก triglyceride ที่ประกอบด้วย Wax Ester และ Squalene รวมทั้ง cholesterol และ cholesterolester โดยไขมัน (sebum) จะเคลื่อนไปตามท่อไขมันซึ่งจุลินทรีย์ที่อยู่ตามผิวหนังจะย่อยสลาย triglyceride โดยกระบวนการ Lipase hydrolysis ได้เป็นกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) และ glycerol ที่เป็นแหล่งอาหารของเชื้อ *P. acnes* (Chomnawang และคณะ, 2005)

2.1.2 ความผิดปกติของการสร้าง keratin

ความผิดปกติในการสร้าง keratin ของชั้นผิวหนัง มีผลทำให้เกิดการอุดตันของ keratin บริเวณต่อมไขมัน (exogenous free fatty acid) ซึ่งสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดสิวได้ โดยกรดไขมันอิสระที่สำคัญคือ linoleic acid เมื่อในสภาวะที่เกิดสิวนั้น ปริมาณของ linoleic acid อาจลดลง ในขณะที่ปริมาณของ peroxide จะเพิ่มขึ้น ซึ่ง peroxide นั้นเกิดจากการผลิตของ *P. acnes* ในต่อมไขมันและอาจมีผลต่อการเหนี่ยวนำให้มีการผลิต keratin มากกว่าปกติในต่อมไขมันด้วย (Chomnawang และคณะ, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 เชื้อแบคทีเรีย

การเกิดสิวมีสาเหตุมาจากการอุดตันของรูขุมขน ประกอบกับเชื้อจุลินทรีย์ในรูขุมขนกระตุ้นให้เกิดการอักเสบ ได้แก่ เชื้อ *P. acnes*, *S. epidermidis* และ *S. aureus* โดยมี *P. acnes* เป็นเชื้อหลักในการก่อโรค อาศัยอยู่ทั่วไปบริเวณต่อมไขมัน โดยเชื้อ *P. acnes* จะย่อยสลายไขมัน (sebum) จากต่อมไขมันให้เป็นกรดไขมันอิสระ โดยอาศัยเอนไซม์ lipase จากตัวของเชื้อเอง นอกจากนั้น *P. acnes* จะสร้างเอนไซม์ lipase แล้วยังผลิตเอนไซม์ชนิดอื่น เช่น protease, hyaluronidase และ chemotactic factor ซึ่งสารเหล่านี้จะไปกระตุ้นให้เกิดกระบวนการอักเสบได้ในขั้น (Majeed และPrakash, 2004)

2.1.4 การอักเสบของผิวหนัง

การอักเสบของผิวหนังเกิดจากการตอบสนองของร่างกายเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย ซึ่งเชื้อ *P. acnes* ก็ถือว่าเป็นสิ่งแปลกปลอมด้วย โดยที่เชื้อนี้เมื่อไปอยู่ที่บริเวณต่อมไขมันแล้วจะมีการสร้างสารพวก chemotactic factor ที่มีโมเลกุลต่ำ ซึ่งสารเหล่านี้จะเคลื่อนที่มาบริเวณ follicular epithelium และจะเป็นตัวดึงดูดให้ neutrophil มารอบๆ บริเวณที่เชื้อนั้นอยู่ เพื่อที่จะกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย โดยที่ neutrophil จะหลั่งเอนไซม์ lysosomal enzyme และอนุมูลอิสระ (Reactive Oxygen Species) ออกมา ซึ่งสารเหล่านี้นอกจากจะกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาแล้วก็ยังมีผลข้างเคียงในการก่อการอักเสบและทำลายเนื้อเยื่อบริเวณนั้นด้วย ส่วนกรดไขมันอิสระที่เกิดจากการย่อยสลาย triglyceride ของ *P. acnes* นั้นก็มีฤทธิ์เป็น cytotoxic และอาจส่งผลร่วมกับ chemotactic factor ทำให้เกิดการอักเสบมากขึ้นด้วย (Chomnawang และคณะ, 2005)

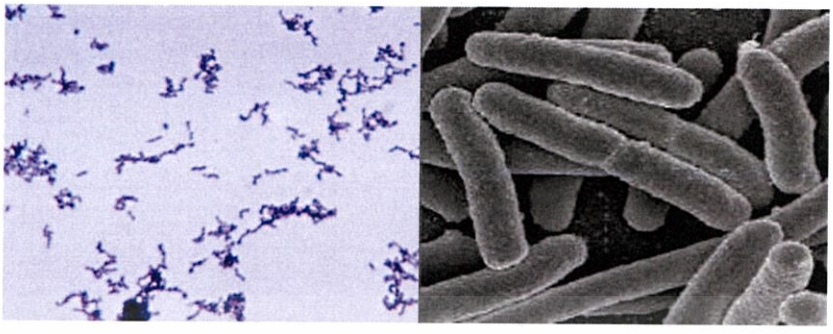
2.2 แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิวและโรคผิวหนัง

แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว ได้แก่ เชื้อ *P. acnes*, *S. aureus* และ *S. epidermidis* ซึ่งเป็นที่รู้จักว่าเป็นแบคทีเรียที่กระตุ้นการเกิดหนอง อันส่งผลให้เกิดการอักเสบของสิว (Chomnawang และคณะ, 2005)

2.2.1 *Propionibacterium acnes*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อน ขนาดเล็ก (รูปที่ 2.1) เจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ไม่สร้างสปอร์ เป็นเชื้อประจำถิ่น (normal flora) ที่ผิวหนังมนุษย์ โดยเฉพาะบริเวณที่มีไขมันมาก โดยเมื่อมนุษย์เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ จะพบเชื้อนี้ที่มีปริมาณมากถึง 10^5-10^7 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร ลักษณะโคโลนีเป็นโดมสีขาว (รูปที่ 2.2) เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 มิลลิเมตร เจริญบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีไขมัน ในสภาวะไม่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 3 วัน สามารถทำการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีต่างๆ เพื่อตรวจสอบยืนยันว่า เป็นเชื้อ *P. acnes* ซึ่งผลการตรวจสอบดีออกซีไรโบนิวคลีเอส (DNase) ให้ผลลบ การทดสอบ gelatinase, casein hydrolase และ indole ให้ผลบวก (Sharon และBernard, 1995 ; Nobble และWade, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



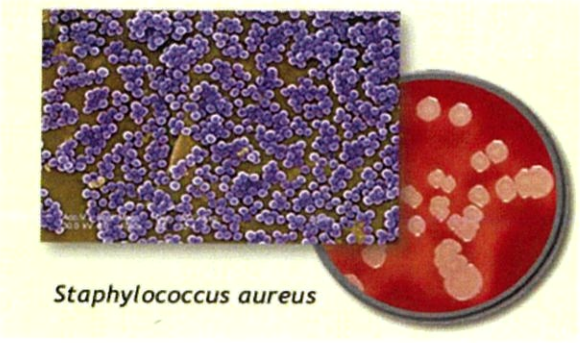
รูปที่ 2.1 แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของเชื้อ *Propionibacterium acnes*
(ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Propionibacterium_acnes,
https://www.linkedin.com/pulse/propionibacterium-acnes-prosthetic-valve-endocarditis-international)

รูปที่ 2.2 แสดงลักษณะโคโลนีบนจานเพาะเลี้ยงของเชื้อ *Propionibacterium acnes*
(ที่มา : https://www.pinterest.com/pin/474918723174623038/)

2.2.2 *Staphylococcus aureus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (รูปที่ 2.3) เซลล์มีเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 1 ไมโครเมตร มีลักษณะการเรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น หรือเป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ โคโลนีมีสีขาวจนถึงสีเหลืองทอง มีลักษณะเรียบ กลมนูน อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 37 องศาเซลเซียส สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) การทดสอบ catalase, coagulase และ thermostable nuclease ให้ผลบวก และสามารถใช้น้ำตาล mannitol ได้ (Brook และคณะ, 1995; Macfaddin, 2000) นอกจากนี้ยังสามารถมีชีวิตอยู่ได้เป็นระยะเวลานานในสภาพแห้ง และทนต่อความร้อน ซึ่งคุณสมบัตินี้ทำให้ *S. aureus* มีชีวิตอยู่ได้เกือบทุกสภาพแวดล้อมของร่างกายมนุษย์ เชื้อมีประมาณ 30-40% พบในโพรงจมูก นอกจากนี้ยังพบในเยื่อเมือกและผิวหนัง ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆ โดยทำให้เกิดฝีหนองเกือบจะทุกส่วนของร่างกาย ตั้งแต่ผิวหนัง ปอด กระดูก ไต และหัวใจ (Schlievert และ Peterson, 2007)

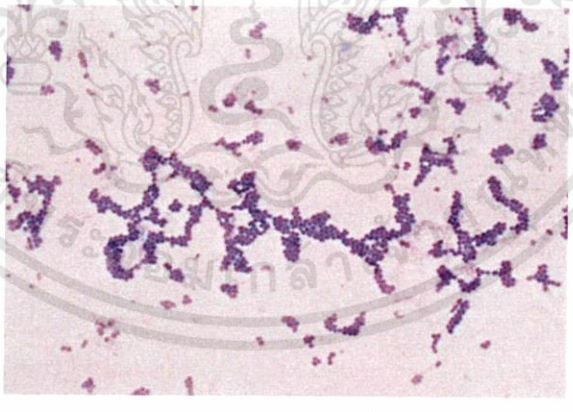
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 แสดงลักษณะโคโลนี และการเรียงตัวของเชื้อ *Staphylococcus aureus* (ที่มา : http://www.samaritanid.com/staphylococcus_aureus.html)

2.2.3 *Staphylococcus epidermidis*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม (รูปที่ 2.4) ขนาด 1 ไมโครเมตร อยู่ในวงศ์ *Staphylococcaceae* เรียงตัวคล้ายพวงองุ่น ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ (Macfaddin, 2000) โคโลนีบน Sheep blood agar 5% มีขนาดเล็กจนถึงปานกลาง สีเทาหรือขาว สร้างเมือกที่มีลักษณะเหนียว (รูปที่ 2.5) และเกาะติดผิวหน้าอาหารแข็ง ทดสอบ catalase ให้ผลบวก ทดสอบ coagulase ให้ผลลบ และไม่สามารถใช้น้ำตาล mannitol ได้ *S. epidermidis* เป็นจุลินทรีย์ประจำบนผิวหนังและเยื่อเมือกของมนุษย์ กระจายอยู่ทั่วไปเป็นจำนวนมากทั่วทั้งผิวของร่างกาย แต่ไม่ก่อโรคในคนที่มีสุขภาพแข็งแรง (Forbes และคณะ, 2002) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะมีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย (นิธิ, 2555)



รูปที่ 2.4 แสดงรูปร่าง การจัดเรียงเซลล์และการย้อมติดสีของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* (https://sites.google.com/site/biologicalproject2556/unit2/bio4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.5 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis*
(ที่มา : http://www.bacteriainphotos.com/staphylococcus_epidermidis_colony_morphology.html)

2.3 สมุนไพร

คำว่า สมุนไพร ตามพระราชบัญญัติยา หมายถึง ยาที่ได้จากพืช สัตว์ หรือแร่ ซึ่งยังไม่ได้มีการผสม ปรุง หรือเปลี่ยนสภาพ ตัวอย่างเช่น พืชก็ยังเป็นส่วนของ ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล และยังไม่ได้ผ่านขั้นตอนการแปรรูปใด ๆ แต่ในทางการค้าสมุนไพรมักจะถูกดัดแปลงในรูปต่าง ๆ เช่น ถูกหั่นให้เป็นชิ้นเล็กลง บดเป็นผงละเอียด หรืออัดเป็นแท่ง เพื่อให้สามารถนำมาใช้ปรุงหรือประกอบเป็นยารักษาโรคต่าง ๆ ใช้ในการส่งเสริมสุขภาพร่างกายได้ (รังสรรค์, 2545)

ในปัจจุบันพืชสมุนไพรจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สามารถใช้รักษาโรคบางชนิดและมีหลายประเทศที่นำสมุนไพรไทยไปเพาะปลูกเพื่อการค้า สมุนไพรหลายชนิดที่มีการส่งออกในรูปของวัตถุดิบ เช่น กระวาน ขมิ้นชัน เร่ว เปล้าน้อยและมะขามเปียก สำหรับสมุนไพรไทยที่มีศักยภาพ ได้แก่ มะขาม แขก กานพลู เทียนเกล็ดหอย ดองดึง เร่ว กระวาน ชะเอมเทศ ขมิ้น จันทร์เทศ ใบพลู พริกไทย ดีปลี และน้ำผึ้ง (รังสรรค์, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Rambir และคณะ (2002) พบว่าสารสกัดจากเหง้าของขมิ้นชันมีฤทธิ์เป็นในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่ฉวยโอกาส (opportunistic bacteria) เช่น *S. epidermidis* และ *S. aureus* นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*, *Psuedomonas aeruginosa* และ*Salmonella* Typhimurium ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้ด้วย เนื่องจากมีผลในการขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีนหรือเปปทิโดไกลเคน (peptidoglycan) บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรีย

Ungphaiboon และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเมทานอลจากขมิ้น โดยใช้วิธี disc diffusion และวิธี agar dilution พบว่าสารสกัดเมทานอลจากขมิ้นสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยมีค่า MIC (Minimal Inhibitory Concentration) เท่ากับ 128 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Yam และคณะ (1997) ได้ศึกษาสารสกัดหยาบ และองค์ประกอบของสารสกัดจากชา (*Camellia sinensis*) พบว่า สารสารสกัดชาที่สกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* (สายพันธุ์ methicillin resistance), *S. epidermidis* และ *Yersinia enterocolitica* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.28, 0.41 และ 0.41 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และมีค่า MBC เท่ากับ 0.41, 0.55 และ 0.83 41 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Nand และคณะ (2013) ศึกษาและพัฒนาเจลที่ในการรักษาสิวจากชาเขียว โดยใช้สารสกัดที่แตกต่างกัน ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเทอร์ ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล พบว่าสารสกัดจากชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *P. acnes* ด้วยวิธี Disc diffusion โดยมีบริเวณยับยั้งเชื้อ เท่ากับ 4.4±0.27, 7.8±0.16 และ 13.8±0.2 มิลลิเมตร ตามลำดับ

Perez และ Anesini (1994) พบว่า สารสกัดชาที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* เมื่อศึกษาด้วยวิธี agar-well diffusion

Nellipudi และคณะ (2015) ได้ศึกษาการลดไขมันจากสารที่แยกได้จากใบชาเขียว พบว่าสารสกัดใบชาเขียวที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ ได้แก่ น้ำ เอทานอล อะซีโตน เอทิลอะซีเตท และคลอโรฟอร์ม พบว่ามีค่าร้อยละผลได้ เท่ากับ 22.13 5.94 7.09 5.47 และ 5.92 ตามลำดับ

Latha และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากรากเปลือก ใบ และผลของทานาคา พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอลและเอทานอลให้ปริมาณสารสกัดสูงที่สุด (extractive value) และนอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบของทานาคามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis, Klebsilla pneumoniae, Aspergillus niger* และ *Mucor* sp.

Pandey และคณะ (2014) ศึกษาฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus, S. epidermidis, B. subtilis*) และแบคทีเรียแกรมลบ *Proteus mirabilis* ของสารสกัดจากผลและเปลือกต้นทานาคาด้วยวิธี agar well diffusion เมื่อเปรียบเทียบความสามารถของสารทั้ง 2 ชนิดในการต้านเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดจากผลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าสารสกัดจากเปลือกต้น แต่สารสกัดทั้ง 2 ชนิดไม่มีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ

Wangthong และคณะ (2010) ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือกทานาคาในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* พบว่าในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* มีค่า MIC เท่ากับค่า MBC คือ 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเชื้อ *E. coli* มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Bipul และคณะ (2013) ศึกษาสารสกัดจากใบฝรั่ง โดยเปรียบเทียบตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ เฮกเซน เมทานอล เอทานอล และน้ำ พบว่าสารสกัดที่สกัดจากเมทานอลและเอทานอล มีผลในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *B. cereus* และ *S. aureus* โดยสารสกัดจากเมทานอลมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 8.27 และ 12.3 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดจากเอทานอลมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 6.11 และ 11.0 มิลลิเมตรตามลำดับแต่สารสกัดทั้ง 4 ชนิด ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบพวก *E. coli* และ *S. enteritidis* ได้

Sanches และคณะ (2005) ได้ศึกษาผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ด้วยสารสกัดจากใบ ลำต้น เปลือก และรากของต้นฝรั่ง ที่สกัดด้วยเอทานอลกับน้ำ และน้ำ พบว่าสารสกัดจากเอทานอลกับน้ำ สามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำเพียงอย่างเดียว

Qa'dan และคณะ (2005) ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อสิว ได้แก่ *P. acnes*, *S. aureus* และ *S. epidermidis* ของสารสกัดจากใบฝรั่ง พบว่าสามารถใช้ประโยชน์ในการรักษาสิว เนื่องจากมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบได้

Mohamed และคณะ (2012) ได้ศึกษาสารสกัดเมทานอลจากใบฝรั่งในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดได้

Ifeanyichukwu และคณะ (2015) ศึกษาสารสกัดเอทานอลจากใบฝรั่ง พบว่ามีผลในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumonia*, และ *E. coli* ซึ่งมีบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 15-22 มิลลิเมตร

Nath และ Bhattacharjee (2015) ได้ศึกษาสารสกัดจากใบฝรั่ง โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พบว่าสารสกัดที่ได้จากน้ำ และอะซีโตน มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ได้ดีกว่าสารสกัดจากเมทานอล

Fernandes และคณะ (2014) พบว่าสารสกัดจากใบฝรั่งที่สกัดด้วยเอทานอล 70% ในรูปผง (Spray dried) สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 100 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

อุดมลักษณ์ และคณะ (2549) ได้ทำการศึกษาโดยนำเปลือกมังคุดสดและแห้งมาทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและการสกัดเปลือกมังคุดสดและแห้งแบบต่อเนื่องด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน อะซีโตน และ เมทานอล โดยใช้วิธีการสกัดเย็น (Maceration) และวิธีการสกัดร้อนด้วยเครื่อง Soxhlet extraction apparatus พบว่า การสกัดสารจากเปลือกมังคุดแห้งด้วยตัวทำละลายเอทานอลได้สารสกัดหยาบมากที่สุดคือ 26.59% จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 5 ชนิด คือ เชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis*, *S. aureus*, *P. acnes* เชื้อยีสต์ *Candida albicans* และเชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes* ด้วยวิธี disc diffusion พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดสดที่สกัดโดยวิธีการสกัดเย็นด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. acnes.* และ *T. mentagrophytes* ได้ดีที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ เท่ากับ 11.31, 9.29, 9.63 และ 7.50 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* และเมื่อนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดสดโดยวิธีการสกัดเย็นด้วยเอทานอลมาทดสอบหา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นต่ำสุดโดยวิธี agar dilution พบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดสดที่สกัดโดยวิธีการสกัดเย็นด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุด 128 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาได้แก่ *P. acnes* มีค่าความเข้มข้นต่ำสุด 256 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, *S. epidermidis* มีค่าความเข้มข้นต่ำสุด 4096 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ *T. mentagrophytes* มีค่าความเข้มข้นต่ำสุด 8192 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Iinuma และคณะ (1996) ได้ศึกษาการนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดมายับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* NIHJ 209p พบว่า α-mangostin ซึ่งเป็นอนุพันธุ์ของ Xanthone ที่แยกได้จากสารสกัด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 1.57-12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งดีกว่ายาปฏิชีวนะ vancomycin (3.13-6.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

วิสสุตา และคณะ (2558) ได้ศึกษาสารสกัดจากเปลือกผลไม้ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* มากกว่าเชื้อ *S. aureus* โดยใช้วิธี agar well diffusion มีบริเวณในการยับยั้ง เท่ากับ 17.0±0.33 และ 15.5±0.27 มิลลิเมตร ตามลำดับ และพบว่ามีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 625 และ 1250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากันทั้ง 2 สายพันธุ์

Chomnawang และคณะ (2005) ศึกษาสมุนไพร 19 ชนิดที่มีฤทธิ์ต่อต้านการอักเสบของสิว พบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* โดยมีค่าMIC และ MBC เท่ากับ 0.039 และ 0.156 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. acnes* มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.039 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากัน เนื่องจากสารสกัดจากเปลือกมังคุดมี α-mangostin นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากใบฝรั่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* และเชื้อ *P. acnes* ได้น้อยกว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุด โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 2.5 และ >5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากัน ตามลำดับ

สุคนธ์ และคณะ (2555) ได้ศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรียของเปลือกผลไม้ 5 ชนิด ได้แก่ ทุเรียนพันธุ์หมอนทอง มังคุดสุก ส้มเขียวหวาน กล้วยน้ำว้าดิบ และหมากสงดิบที่สกัดด้วยน้ำร้อน เอทานอลเข้มข้น 95% และอะซีโตน พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยอะซีโตนให้ประสิทธิภาพสูงที่สุดในการยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิดที่ทดสอบ (*S.* Typhimurium, *B. subtilis*, *E. coli* และ *S. aureus*) โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียน้อยกว่า 195.7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ เปลือกผลไม้ทุกชนิดที่ทำการศึกษาสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบและการใช้ DMSO ในการละลายสารสกัดเป็นชุดควบคุมพบว่าไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทุกชนิดที่ทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์ และสารเคมี

3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ ได้รับความอนุเคราะห์เชื้อที่ใช้ในการทดลองจากสถาบันวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม มีดังนี้

1. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
2. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. 95% Ethyl Alcohol (เอทานอล 95%, องค์การสุรา กรมสรรพสามิต)
2. Methyl Alcohol, Anhydrous (เมทานอล, Macron Fine Chemicals)
3. น้ำเกลือ (Normal Saline, GHP)
4. สารละลาย McFarland standard เบอร์ 0.5 (วิธีเตรียมแสดงในภาคผนวก ง)
5. Dimethyl sulfoxide 100% (DMSO, Amresco)

3.1.3 ยาปฏิชีวนะ (Antibiotic)

Dicloxacillin (GPO, วิธีเตรียมแสดงในภาคผนวก)

3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่

1. อาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Tryptic Soy Agar (TSA, Difco)
2. อาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Tryptic Soy Broth (TSB, Difco)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1 อุปกรณ์

1. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร (Erlenmeyer Flask, Pyrex)
2. บีกเกอร์ ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร (Beaker, Schott)
3. แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)
4. กระดาษอะลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminium Foil, Smart-R)
5. ปิเปตต์ ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร (Pipette, Merck)
6. กระบอกตวง ขนาด 100 มิลลิลิตร (Cylinder, Vitlab)
7. จานเพาะเลี้ยงเชื้อ ขนาด 90 และ 150 มิลลิเมตร (Petri Dish, Pyrex)
8. ขวดแก้วเล็ก (Vial)
9. ชุดกรองบุชเนอร์ (buchner funnel Set)
10. ลูปเขี่ยเชื้อ (Loop)
11. ตะเกียงแอลกอฮอล์
12. หลอดทดลอง (Test Tube, Pyrex)
13. เครื่องปั่นสาร (Vortex Mixer, Scientific Industries)
14. 96-Well Microplate
15. Micropipette ขนาด 200 ไมโครลิตร (Genex)
16. กระดาษกรอง เบอร์ 1 (Whatman)
17. กระดาษกรอง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (Whatman)
18. ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร (Duran, Schott)
19. กระบอกฉีดยา (Syringe)
20. ที่กรองสารสำหรับกระบอกฉีดยา ขนาด 0.45 ไมโครเมตร (Syringe Filter)
21. Eppendorf ขนาด 2 มิลลิลิตร
22. ดิจิตอลเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ (Digital Vernier Caliper, Mitutoyo)

3.2.2 เครื่องมือ

1. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ (Autoclave, Hirayama)
2. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Flow, M-tech)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ตู้บ่ม (Incubator, Binder)
4. ตู้อบลมร้อน (Hot Air oven, Memmert)
5. เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary Vacuum Evaporator, Heidolph)
6. โถดูดความชื้น (Desiccator, Schott)
7. เครื่องชั่ง (Balances, Sartorious)

3.3 สมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง

สมุนไพรที่ใช้ในการทดลองมีทั้งหมด 5 ชนิด ในรูปของสมุนไพรอบแห้ง และบดผง จากร้านจักรวรรดิ สมุนไพร ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 รายชื่อสมุนไพรอบแห้ง บดผงทั้ง 5 ชนิด ที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อสมุนไพร (ชื่อสามัญ)	ชื่อวิทยาศาสตร์
ขมิ้นชัน	*Curcuma longa* Linn.
ชาเขียว	*Camellia sinensis*
ทานาคา	*Hesperethusa crenulata* (Roxb.) Roem.
ใบฝรั่ง	*Psidium guajava* Linn.
เปลือกมังคุด	*Garcinia mangostana* Linn.

3.4 วิธีดำเนินการทดลอง

3.4.1 การสกัดสมุนไพร โดยการหมัก (Maceration)

นำสมุนไพรอบแห้ง บดผง ทั้ง 5 ชนิด จากร้านจักรวรรดิ สมุนไพร มาหมักในตัวทำละลาย คือ เอทานอล 95% ในอัตราส่วน 1 : 6 (น้ำหนัก : ปริมาตร) ในขวดรูปชมพู่ ปิดฝาให้สนิทด้วยกระดาษอะลูมิเนียมฟอยล์ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) จนได้สารสกัดมีลักษณะข้นเหนียว เรียกว่า สารสกัดหยาบ (Crude Extract) นำสารสกัดหยาบที่ได้ใส่ในขวดสีชา เก็บในโถดูดความชื้น เพื่อระเหยตัวทำละลายที่หลงเหลืออยู่ ชั่งน้ำหนักและคำนวณร้อยละผลได้ของสารสกัด (%Yield) ก่อนเก็บสารสกัดหยาบไว้ที่อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ทดสอบ (Phrompittayarut และคณะ, 2007)

$$\text{ร้อยละผลได้ (\%yield)} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้}}{\text{น้ำหนักของพืชบดละเอียดที่ใช้ในการสกัด}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดหยาบสมุนไพรแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดัดแปลงจาก สิริพร และคณะ (2539) โดยใช้เมทานอลละลายสารสกัดหยาบ จากนั้นกรองสารสกัดหยาบแต่ละชนิด กรองด้วยที่กรองสารสำหรับกระบอกฉีดยา ขนาด 0.45 ไมโครเมตร เพื่อกรองเชื้อจุลินทรีย์ออก เก็บสารสกัดหยาบทั้ง 5 ชนิดไว้ในขวดสีชา และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ทดสอบ

3.4.2 การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disc Diffusion

ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* ด้วยวิธี Disc Diffusion (Bauer และคณะ, 1966) ดังนี้

1) การเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 มาเลี้ยงบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เลือกโคโลนีเดี่ยวมาปรับความขุ่นในน้ำเกลือที่ฆ่าเชื้อแล้ว ให้มีความขุ่นเท่ากับสารละลาย McFarland Standard เบอร์ 0.5 มีปริมาณเชื้อประมาณ 1.5×10^{8} CFU/ml

2) การเตรียมแผ่นกระดาษกรองชุบสารสกัดหยาบ และชุดควบคุม

นำแผ่นกระดาษกรอง เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 6 มิลลิเมตร ที่ฆ่าเชื้อแล้วมาหยดสารสกัดหยาบของสมุนไพรแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และชุดควบคุมอย่างละ 20 ไมโครลิตรต่อแผ่น ในกรณีชุดควบคุมให้หยดยาปฏิชีวนะ Dicloxacillin เข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นตัวควบคุมเชิงบวก (Positive Control) และเมทานอลเป็นตัวควบคุมเชิงลบ (Negative Control) หยดสารทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อให้แผ่นกระดาษกรองซึมซับสารสกัดสมุนไพรทั้งหมด และให้ตัวทำละลายระเหยออกมากที่สุด

3) ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

นำไม้พันสำลีที่ฆ่าเชื้อแล้ว จุ่มสารละลายเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ โดยกดไม้พันสำลีที่ข้างหลอดให้พอหมาด ป้ายให้ทั่วลงผิวหน้าอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ทิ้งไว้ 3-5 นาที เพื่อให้ผิวหน้าอาหารแห้ง จากนั้นคีบแผ่นกระดาษกรองที่ชุบสารสกัดหยาบ รวมทั้งชุดควบคุมที่เตรียมไว้แล้ว วางตรงตำแหน่งที่กำหนดไว้บนผิวหน้าอาหาร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

4) การอ่านผล

วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition Zone) ที่ไม่มีแบคทีเรียขึ้นรอบแผ่นกระดาษกรองด้วยดิจิตอลเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ ทั้งในแนวตั้ง และแนวนอน รายงานผลเป็นหน่วยมิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบ มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำแนก 2 ทาง (Two-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Tukey ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรม Minitab Version 16.1.0 (ชัชวาล, 2542)

3.4.4 การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal inhibitory concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าได้เชื้อ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ด้วยวิธี Broth Microdilution

นำสารสกัดหยาบของสมุนไพรจากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่มีฤทธิ์การยับยั้งได้ดีที่สุดจากการวิเคราะห์ทางสถิติ มาทำการศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยดัดแปลงวิธีจาก CLSI (2012) ดังนี้

1) การเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 มาเลี้ยงบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เลือกโคโลนีเดี่ยวมาปรับความขุ่นในน้ำเกลือที่ฆ่าเชื้อแล้ว ให้มีความขุ่นเท่ากับสารละลาย McFarland Standard เบอร์ 0.5 ซึ่งมีปริมาณเชื้อประมาณ 1.5×10^{8} CFU/ml แล้วเจือจางสารละลายเชื้อด้วยอาหาร Tryptic Soy Broth (TSB) ในอัตราส่วน 1 : 150 เชื้อจะมีความเข้มข้นประมาณ 1×10^{6} CFU/ml จากนั้นนำมาเจือจางในอัตราส่วน 1: 2 เชื้อจะมีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 5×10^{5} CFU/ml

2) การเจือจางสารสกัดสมุนไพรแบบ Two-fold Dilution

เตรียมความเข้มข้นสมุนไพรให้อยู่ในช่วง 200-0.781 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ Dimethyl sulfoxide 100% ละลายสารสกัด จากนั้นเจือจางสารสกัดหยาบ ด้วยอาหาร Tryptic Soy Broth (TSB) โดยให้ความเข้มข้นของสารสกัดสูงสุดมีความเข้มข้นของ Dimethyl sulfoxide ไม่เกิน 16% แล้วกรองสารสกัดหยาบด้วยที่กรองสารสำหรับกระบอกฉีดยา ขนาด 0.45 ไมโครเมตร เพื่อกรองเชื้อจุลินทรีย์ออก ทำการเจือจางลงในหลอดทดลองที่ฆ่าเชื้อแล้ว 10 หลอด แบบ Two-fold Dilution ดังนั้น ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในแต่ละหลอดจะลดลง 2 เท่า และทำความเข้มข้นที่ 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเพิ่ม จากนั้นปิเปตต์สารละลายสมุนไพรแต่ละความเข้มข้น ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงใน แต่ละหลุม 96-Well Microplate ที่มีสารละลายเชื้อปริมาณ 100 ไมโครลิตรที่เตรียมไว้ ดังนั้น ความเข้มข้นของ Dimethyl sulfoxide (DMSO) สูงสุดในสารสกัดสมุนไพรจะเท่ากับ 8% ดังตารางที่ 3.2

ในการหาค่า MIC (Minimal Inhibitory Concentration) ทำหลุมชุดควบคุม ที่มี Dimethyl sulfoxide (DMSO) 8% กับสารละลายเชื้อ เป็นชุดควบคุมเชิงลบ (Negative Control) และอาหาร Tryptic Soy Broth (TSB) ที่ปราศจากเชื้อเป็นชุดควบคุมเชิงบวก (Positive Control)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 แสดงความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพร และความเข้มข้นของ Dimethyl sulfoxide

หลอดทดลอง/หลุมใน 96-Well Microplate	ความเข้มข้นสุดท้ายในหลอดทดลอง		ความเข้มข้นสุดท้ายใน 96-Well Microplate	
	ความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพร (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ความเข้มข้นของ Dimethyl sulfoxide (เปอร์เซ็นต์)	ความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพร (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ความเข้มข้นของ Dimethyl sulfoxide (เปอร์เซ็นต์)
1	200	16	100	8
2	150	12	75	6
3	100	8	50	4
4	50	4	25	2
5	25	2	12.5	1
6	12.5	1	6.25	0.5
7	6.25	0.5	3.125	0.25
8	3.125	0.25	1.562	0.125
9	1.562	0.125	0.781	0.062
10	0.781	0.062	0.390	0.031

หลังจากนั้นปิดฝา 96-Well Microplate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

3) การอ่านผล

สังเกตความขุ่นของสารละลายในหลุม โดยเปรียบเทียบกับหลุมชุดควบคุมนำสารละลายในหลุมที่ใส และไม่มีตะกอนไปทุกหลุมมา streak ลงบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตรอย streak จากหลุมที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่มีเชื้อเจริญ ให้ความเข้มข้นของหลุมนั้นเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) และรอย streak ของหลุมที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ ให้ความเข้มข้นของหลุมนั้นเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าได้เชื้อ (Minimal bactericidal concentration, MBC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการสกัดสมุนไพรโดยการหมัก (Maceration)

ผลจากการสกัดสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นชัน ชาเขียว ทานาคา ใบฝรั่ง และเปลือกมังคุด โดยวิธีการหมักด้วยเอทานอล 95% เมื่อระเหยตัวทำละลายออกจนได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะข้นหนืดและมีปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้แตกต่างกัน โดยชาเขียวให้ปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 27.4379 ของปริมาณสุมนไพรที่ใช้ รองลงมาคือ ใบฝรั่ง ขมิ้นชัน เปลือกมังคุด และทานาคา ให้ปริมาณสารสกัดหยาบคิดเป็นร้อยละ 22.8685, 15.5345, 10.0622 และ 0.9961 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้ง และร้อยละผลได้ (%yield) ของสารสกัดสมุนไพร 5 ชนิด ที่หมักด้วยเอทานอล 95%

สมุนไพร	น้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้ (กรัม)	ร้อยละผลได้ (%yield)
ขมิ้นชัน	15.5345	15.5345
ชาเขียว	41.1569	27.4379
ทานาคา	0.9961	0.9961
ใบฝรั่ง	34.3028	22.8685
เปลือกมังคุด	15.0933	10.0622

4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disc Diffusion

ผลจากการนำสารสกัดหยาบจากสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาทำการศึกษาฤทธิ์ของในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ด้วยวิธี Disc Diffusion โดยมียาปฏิชีวนะ Dicloxacillin ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) และเมทานอล 95% เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.1 และ 4.2

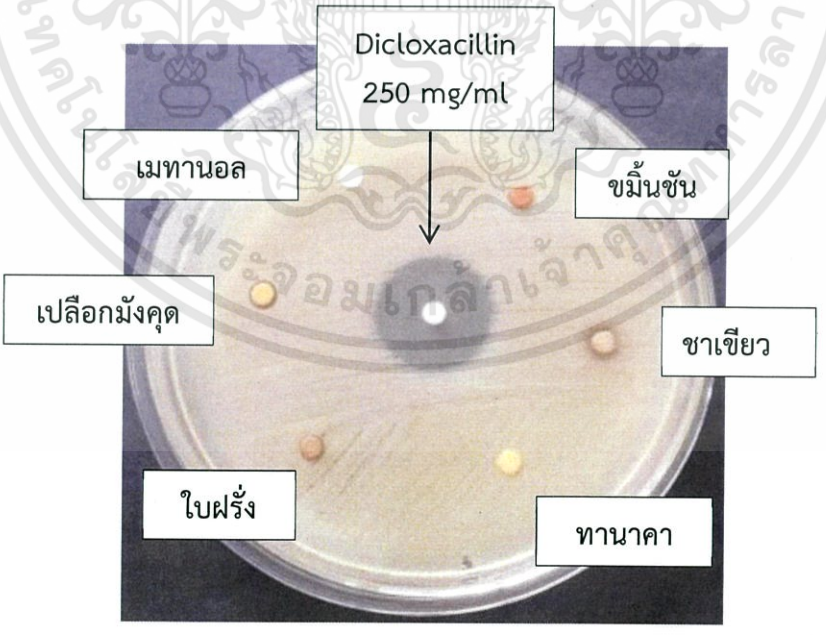
149058

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) สารสกัดของสมุนไพร 5 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

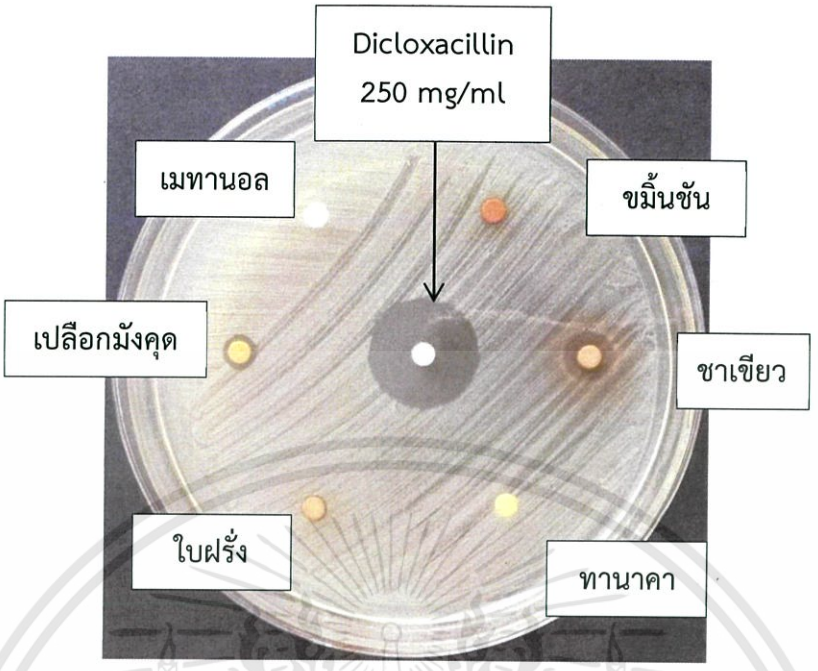
สมุนไพร	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)	
	Staphylococcus aureus ATCC 6538	*Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228
ขมิ้นชัน	0.65 ± 0.66^{ef}	0.00 ± 0.00^{f}
ชาเขียว	1.30 ± 0.30^{de}	1.98 ± 0.81^{d}
ทานาคา	0.00 ± 0.00^{f}	0.00 ± 0.00^{f}
ใบฝรั่ง	0.00 ± 0.00^{f}	1.33 ± 0.38^{de}
เปลือกมังคุด	2.48 ± 0.08^{d}	4.40 ± 0.08^{c}
เมทานอล 95 % (negative control)	0.00 ± 0.00^{f}	0.00 ± 0.00^{f}
Dicloxacillin 250 µg/ml (positive control)	21.82 ± 1.06^{b}	24.00 ± 0.33^{a}

หมายเหตุ : 1) ค่าที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) จากการทดลอง 3 ซ้ำ
2) ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P<0.05$



รูปที่ 4.1 แสดงบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 โดยสารสกัดสมุนไพร 5 ชนิดที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ยาปฏิชีวนะ Dicloxacillin เป็น positive control และเมทานอลเป็น negative control)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 โดยสารสกัดสมุนไพร 5 ชนิดที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ยาปฏิชีวนะ Dicloxacillin เป็น positive control และเมทานอลเป็น negative control)

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228 ได้ดีที่สุด โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 4.40 ± 0.08 มิลลิเมตร รองลงมาได้แก่ เปลือกมังคุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 6538 และสารสกัดหยาบจากชาเขียวและใบฝรั่งซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* รองลงมา (2.48±0.08 มิลลิเมตร) และใบฝรั่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* (1.33 ± 0.38 มิลลิเมตร) และชาเขียวมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* (1.30 ± 0.30 มิลลิเมตร) และ *S. aureus* (1.30 ± 0.30 มิลลิเมตร) สำหรับใบฝรั่งไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และทานาคาและขมิ้นชันไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 ชนิด แต่ผลของเปลือกมังคุดก็ยังต่ำกว่าผลของยาปฏิชีวนะ Dicloxacillin ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่เป็นตัวควบคุมเชิงบวก

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ได้ดีที่สุด จึงนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดไปทำการศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal Bactericidal Concentration, MBC) ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal Bactericidal Concentration, MBC)

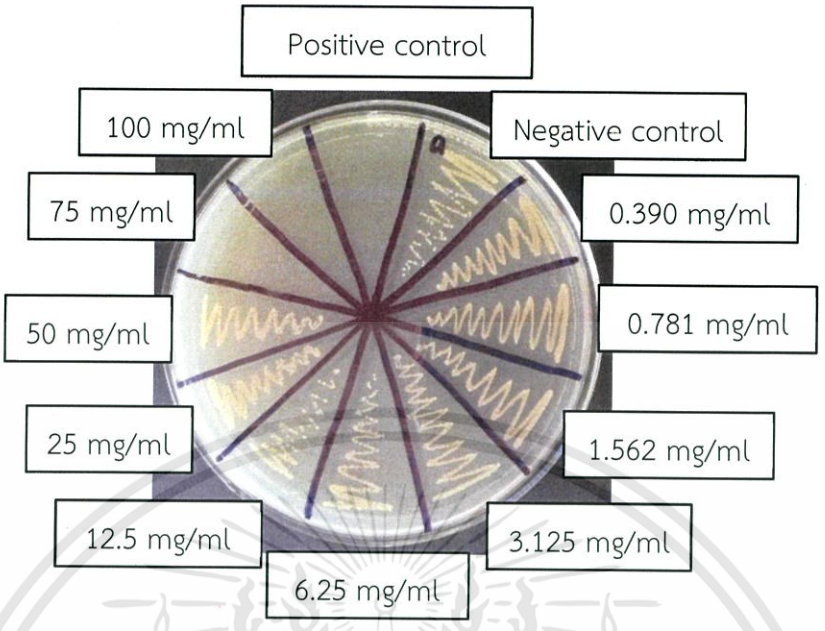
จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Disc Diffusion พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ได้ดีที่สุด จึงนำมาศึกษาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal Bactericidal Concentration, MBC) โดยใช้ Dimethyl sulfoxide 8% ในการละลายสารสกัด และเจือจางสารสกัดให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 100-0.39 มิลลิกรัมต่อลิตร และทดลองด้วยวิธี Broth Microdilution ใน 96-Well Microplate จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตความขุ่นของสารละลายเทียบกับหลุมชุดควบคุม โดยมี Dimethyl sulfoxide (DMSO) 8% กับสารละลายเชื้อ เป็นชุดควบคุมเชิงลบ (negative control) และอาหาร Tryptic Soy Broth (TSB) เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) พบว่าสารละลายในหลุมที่ 2-11 ซึ่งเป็นหลุมที่เจือจางความเข้มข้นของสารสกัดมีลักษณะขุ่น เนื่องจากสารสกัดเกิดการแยกชั้นกับสารละลายเชื้อ เกิดเป็นตะกอนขึ้น จึงทำการ streak สารละลายทุกหลุมลงบนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) เพื่อหาค่า MIC และค่า MBC จากผลการทดลองพบว่า เชื้อ *S. aureus* ATCC 6538 มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 50 และ 75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228 มีค่า MIC และมีค่า MBC เท่ากับ 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3 และ 4.4

ตารางที่ 4.3 แสดงค่า MIC และ MBC ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

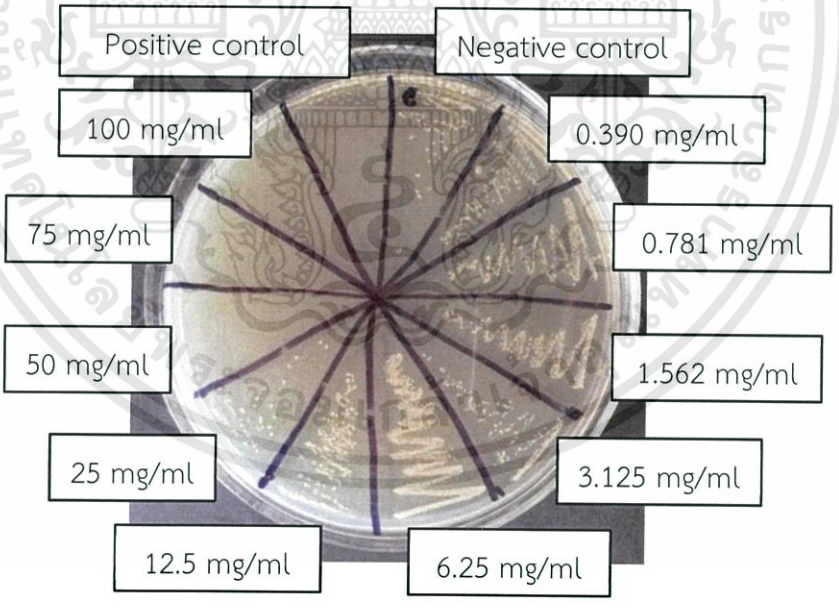
สมุนไพร	*Staphylococcus aureus* ATCC 6538		*Staphylococcus epidermidis* ATCC *12228*	
	MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	MBC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	MBC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
เปลือกมังคุด	50	75	25	50

หมายเหตุ : ค่าที่ได้ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 แสดงผลการหาค่า MBC ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ที่ระดับความเข้มข้นในช่วง 100-0.39 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.4 แสดงผลการหาค่า MBC ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดต่อเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ที่ระดับความเข้มข้นในช่วง 100-0.39 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 5 ชนิดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง 2 สายพันธุ์ โดยใช้เอทานอล 95% สกัดแบบ Maceration พบว่าชาเขียวให้ปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด โดยมีร้อยละผลได้ 27.4379 ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Nellipudi และคณะ ที่นำใบชาเขียวอบแห้งมาสกัดด้วยเอทานอล มีค่าร้อยละผลได้เท่ากับ 5.94 ปริมาณร้อยละผลได้ที่ต่างกันอาจเกิดจากอายุของสมุนไพร แหล่งเพาะปลูก วิธีการสกัด และความแตกต่างของลักษณะของสมุนไพรที่นำมาใช้สกัด (สมศักดิ์, 2556) เนื่องจากผู้ทดลองใช้ชาเขียวอบแห้งบดผง ซึ่งขนาดผงที่เล็กอาจช่วยเพิ่มพื้นที่ในการสัมผัสกับสารสกัดมากขึ้นจึงทำให้ได้สารสกัดปริมาณมากกว่า

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี Disc Diffusion พบว่าสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ได้ โดยยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228 (4.40 ± 0.08 มิลลิเมตร) มากกว่าเชื้อ *S. aureus* ATCC 6538 (2.48 ± 0.08 มิลลิเมตร) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ วิสสุตา และคณะ (2558) ที่ศึกษาสารสกัดจากเปลือกผลไม้ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* มากกว่าเชื้อ *S. aureus* โดยใช้วิธี agar well diffusion มีบริเวณในการยับยั้ง เท่ากับ 17.0±0.33 และ 15.5± 0.27 มิลลิเมตร ตามลำดับ และงานวิจัยของ Chomnawang และคณะ (2005) พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* และ *P. acnes* ได้ดี เนื่องจากสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีสาร α-mangostin

ผลการศึกษาสารสกัดจากใบชาเขียวพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Perez และ Anesini (1994) พบว่า สารสกัดชาที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* เมื่อศึกษาด้วยวิธี agar-well diffusion และงานวิจัยของ Nand และคณะ (2013) พบว่าสารสกัดจากชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *P. acnes* ด้วยวิธี Disc diffusion โดยมีบริเวณยับยั้งเชื้อ เท่ากับ 4.4±0.27, 7.8±0.16 และ 13.8±0.2 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ผลการศึกษาสารสกัดจากใบฝรั่งพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 เพียงเชื้อเดียว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chetia และคณะ (2014) ซึ่งศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบฝรั่งจากตัวทำละลายที่แตกต่างกัน โดยสารสกัดจากเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. epidermidis* แต่ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ส่วนงานวิจัยของ Chomnawang และคณะ (2005) พบว่าสารสกัดจากใบฝรั่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* และเชื้อ *P. acnes* ได้ด้วย และ Qa'dan และคณะ (2005) พบว่าสารสกัดจากใบฝรั่งมีประโยชน์ในการรักษาสิวได้ เนื่องจากมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ

จากงานวิจัยของ Niamsa และ Sittiwet (2009) ได้ทำการศึกษาการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดขมิ้นที่สกัดด้วยน้ำ พบว่าสารสกัดที่ได้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermis* ATCC 12228, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 และ *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 โดยมีค่า MIC (Minimal Inhibitory Concentration) อยู่ระหว่าง 4-16 กรัมต่อลิตรและ MBC (Minimal Bactericidal Concentration) อยู่ระหว่าง 16-32 กรัมต่อลิตร และงานวิจัยของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lawhavinit และคณะ (2010) ซึ่งศึกษาสารสกัดขมิ้นที่สกัดด้วยเฮกเซนและเอทานอลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในกุ้งและไก่ พบว่ามีสารเคอร์คูมินอยด์ (curcuminoid) ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus intermedius*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* และ *Edwardsiella tarda* ได้ จากการทดลองครั้งนี้ พบว่าสารสกัดจากขมิ้นชันมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 เพียงเชื้อเดียว อาจเกิดจากความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ในการทดลองน้อยเกินไป

ในงานวิจัยของ Pandey และคณะ (2014) ที่พบว่าสารสกัดจากผลและเปลือกของต้นทานาคาฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus, S. epidermidis, B. subtilis*) แต่ไม่มีผลในยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ (*Proteus mirabilis*) และงานวิจัยของ Wangthong และคณะ (2010) พบว่าสารสกัดจากเปลือกทานาคามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* แต่จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากทานาคา ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ ซึ่งอาจเกิดจากคุณภาพของสมุนไพร วิธีการสกัด และความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบและการใช้ Dimethyl Sulfoxide 8% (DMSO) เป็นชุดควบคุม พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์เช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุคนธ์ และคณะ (2555) ซึ่งศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรียของเปลือกผลไม้ 5 ชนิด และใช้ DMSO ซึ่งใช้ละลายสารสกัดเป็นชุดควบคุม พบว่าไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้

จากผลการทดลองพบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) พบว่า เชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 มีค่า MIC เท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 มีค่า MIC เท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 75 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งในงานวิจัยของวิสสุตา และคณะ (2558) พบว่าให้ผลในการยับยั้งเชื้อดีกว่า โดยพบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอลยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* และเชื้อ *S. aureus* โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 625 และ 1250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากันทั้ง 2 สายพันธุ์ ตามลำดับ เนื่องจากขั้นตอน ระยะเวลา และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดสารสกัดแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการสกัดสารสกัดหยาบจากสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ด้วยวิธีการหมักด้วยเอทานอล 95% พบว่า ชาเขียว ให้ปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด เมื่อคิดเป็นร้อยละผลได้ เปรียบเทียบกับน้ำหนักพืชแห้ง เมื่อนำสารสกัดหยาบจากสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ด้วยวิธี Disc Diffusion พบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุด มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบอื่น จึงนำมาศึกษาหาค่าระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่มีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) และระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal Bactericidal Concentration, MBC) ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ด้วยวิธี Broth Microdilution พบว่าเชื้อ *S. aureus* ATCC 6538 ต้องใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สูงกว่าเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228 จึงจะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ (75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ในขณะที่ระดับความเข้มข้นในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228 เท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและความเข้มข้นในการฆ่าเชื้อเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการเลือกใช้ตัวทำละลาย และวิธีในการสกัด เพื่อให้เหมาะสมกับสมุนไพรแต่ละชนิด
2. ควรมีการนำสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อไปศึกษาต่ออย่างละเอียดเพื่อค้นหาสารบริสุทธิ์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ
3. ปรับปรุง และพัฒนาวิธีการสกัด เพื่อให้เหมาะสมต่อการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น เครื่องสำอาง และยา เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

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

นันทวัน บุญยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2543. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน. กรุงเทพฯ : บริษัท ประชาชน จำกัด.

นิธิ ตั้งศิริทรัพย์. 2555. "การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมดิบต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อสิว และการติดเชื้อผิวหนังที่พบได้บ่อย." ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจิตวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร, พิทัย กาญบุตร และสาธร พรตระกูลพิพัฒน. 2551. "การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ." 91-101. ใน **ประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มข. ครั้งที่ 9 "สัตวแพทย์ทางเลือกวันนี้".** ขอนแก่น : คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พร้อมจิต ศรลัมพ์. 2555. **หน้าสวยด้วย "ทานาคาของเมียนม่าร์หรือกระแจะของไทย".** [Online]. Available : http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/knowledge /files/0122.pdf.

ภาคภูมิ พาณิชยูปการนันท์ และธวัช ปญโญแกว. 2548. **ชาเขียว...Green Tea.** [Online]. Available : http://pcog2.pharmacy.psu.ac.th/thi/Article/2548/05-48/greentea.pdf.

รอฮานี มะสาแม. 2559. **สมุนไพรขมิ้นชันกับสารเคอร์คิวมิน.** [Online]. Available : http://web.yru.ac.th/~dolah/notes/4902-1-48G13/SEMREP/Sb_404652023.doc.

รังสรรค์ ชุณหวรากรณ์. 2545. **โรคแห่งสมุนไพร.** [Online]. Available : http://www.angelfire.com/ri2/rangsan/important.html.

วิสสุตา คุ้มวงษา,ลลิตา ไพบูลย์ และ ปิยาภรณ์ สุภัคดำรงกุล. 2558. "ประสิทธิภาพของเจลล้างมือผสมสารสกัดจากเปลือกผลไม้ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค." วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. 1(2) : 66-81.

ศศิวิมล แสวงผล, เชฏฐ์ สาทรกิจ และทยา เจนจิตติกุล. 2546. สารานุกรมผลิตผลและผลิตภัณฑ์จากพืชในซุปเปอร์มาร์เก็ต ฉบับคอมพิวเตอร์. กรุงเทพฯ. : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

สถาบันโรคผิวหนัง. 2558. **กราฟสถิติโรคผู้ป่วยนอก 10 อันดับ และผู้ป่วยใน 5 อันดับเปรียบเทียบ 3 ปี (2555-2557) ของสถาบันโรคผิวหนัง.** [Online]. Available : http://58.137.211.174/news/myfile/938554bcc50f5d131_OPD-IPD-55-57.pdf.

สถาบันวิจัยและพัฒนาที่สูง. 2553. Guava *Psidium guajava* L. [Online]. Available : http://eherb.hrdi.or.th/search_result_details.php?herbariumID=881&name=Guava%20%5B3%5D.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

สมศักดิ์ นวลแก้ว. 2556. **การแยกสารสกัดเบื้องต้น.** [Online]. Available : http://www.kpi.msu.ac.th/upload/ag_tor_ref_byval/ag_16_in_1.2.1.2_17(2556).pdf.

สำนักการแพทย์ทางเลือก. 2550. "ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับน้ำมันหอมระเหย." ตำราวิชาการสุคนธบำบัด. กรุงเทพฯ : สำนักการแพทย์ทางเลือก.

สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. 2548. "การศึกษาวิจัยเศรษฐกิจสมุนไพรไทยกรณีขมิ้นชัน." กรุงเทพฯ : สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. เอกสารอัดสำเนา.

สิริพร สธนเสาวภาคย์, พรทิพย์ เจริญธรรมวัฒน์, มาลัย บุญรัตนกรกิจ และปทุมพร ฉิมเอนก. 2539. "ผลของเครื่องเทศและสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดใหม่ที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร" ในรายงานการประชุมฉบับสมบูรณ์ทุนอุดหนุนวิจัย ปี 2539. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. กรุงเทพฯ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุคนธ์ ตันติไพบูลย์วุฒิ, เทียนชัย น่วมเศรษฐี และเพชรลดา เดชายืนยง. 2555. "ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลไม้บางชนิด." *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น.* 17(6): 880-894.

สุดารัตน์ หอมหวล. 2559. **กระแจะ.** [Online]. Available : http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=6.

สุมนา จินดาพงษ์, สุมาลี ปานทอง และอรุณพร อิฐรัตน์. 2555. "การศึกษาฤทธิ์การต้านจุลชีพที่ก่อให้เกิดสิวของสารสกัดสมุนไพรในตำรับเบญจโลกวิเชียร." หน้า 57. ใน การประชุมเครือข่ายวิชาการบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

โสมนัส ศิริจารุกุล. 2550. "การศึกษาประสิทธิผลและผลข้างเคียงของขมิ้นชันเปรียบเทียบกับยา ranitidine ในผู้ป่วย Unincestigated dyspepsia." วิทยานิพนธ์เภสัชศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชกรรมคลินิก บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ, อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, ประภัสสร รักถาวร, สิริพร ศิริวรรณ และพจมาน พิศเพียงจันทร์. 2549. **การสกัดและการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

โอโมริ, มาซาชิ. 2554. **ผอม สวย ด้วยชาเขียว.** แปลจาก Nihon Cha Catechin Diet. โดย ศิรวี ทวีแสง ซาโคดะ. กรุงเทพฯ : เนชั่นบุ๊คส์.

Bauer, A.W., Kirby, M.M., Sherris, J.C. and Truck, M. 1996. "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method." *American Journal of Clinical Pathology*. 45 : 493-6.

Bipul, B., Kimberly, R., Fredrick, M., Dwayne, D. and Anand, Y. 2013. "Antimicrobial activities of leaf extracts of guava (*Psidium guajava* L.) on two gram-negative and gram-positive bacteria." *International Journal of Microbiology.* 10 : 1-7.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Brook, I., Frazier, E.H., Cox, M.E., and Yeager, J.K., 1995. "The aerobic and anaerobic microbiology of pustular acne lesions." *Anaerobe*. 1(6) : 305-7.

Chapin, K.C. and Lauderdale, T. 2003. "Reagents, stains, and media : bacteriology." 358. in Maurray, P.R. Baron, E.J. Jorgenson, J.H. Pfaller M.A. and Yolken R.H. **Manual of Clinical Microbiology** 8th ed. Washington, D.C. : ASM Press.

Chetia, J., Upadhyaya, S., Bora D.K and Saikia L.R. 2014. "Phenolic content, anti-oxidant and antimicrobial activity and nutritive value of young twig of *Psidium guagva* Linn. form dibrugarh, assam." *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2(2).

Chomnawang, M.T., Surassmo, S., Nukoolkarn, V.S. and Gritsanapan, W. 2005. "Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acne-inducing bacteria." *Journal of Ethnopharmacology*. 101(1-3) : 330-333.

CLSI. 2012. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard** 9th ed. CLSI document M07-A9. Wayne, PA : Clinical and Laboratory Standards Institute.

Feng, S. 2550. "มงกุฎของราชินี" ผลไม้เปลือกสีเข้ม โดดเด่นนามมังคุด ถึงยุคสู่ความงาม. [Online]. Available : http://www.oknation.net/blog/buzz/2007/04/25/entry-1.

Fernandes, M.R.V., Dias, A.L.T., Carvalho, R.R., Souza, C.R.F. and Oliveira, W.P. 2014. "Antioxidant and antimicrobial activities of *Psidium guajava* L. spray dried extracts." *Industrial Crops and Products*. 60 : 39-44.

Forbes, B.A., Sahm D.F. and Weissfeld A.S. 2002. **Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology**. 11th ed. Mosby : Missouri.

Garcia L. 2010. Preparation of Routine Media and Reagents Used in Antimicrobial Susceptibility Testing. 181-201. In **Clinical Microbiology Procedures Handbook** 3rd ed. Washington, D.C. : ASM Press.

Hui, W., Yang-Ji, D. and Hua-Can, S. 2010. "α-Glucosidase and α-Amylase inhibitory activities of guava leaves." *Food Chemistry*. 123 : 6-13.

Ifeanyichukwu, I., Chika, E., Emmanuel, N., Anthonia, O., Ngozi, A. and Agabus, N. 2015. "Preliminary investigation of the antibacterial activity of *Psidium guajava* extracts." *Eurapean Journal of Medicinal Plants*. 7(1) : 26-30.

Iinuma, M., Tosa, H., Tanaka, T., Asai, F., Kobayashi, Y., Shimano, R. and Miyauchi, K. 1996. "Antibacterial activity of xanthones from guttiferaeous plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*." *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 48(8) : 861-865.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Latha, K.V., Arumugasamy, K., and Manonmani, K., 2005. "Preliminary phytochemical and antimicrobial activities on the leaves of *Naringi crenulata* roxb." *Ancient Science of Life*. 25(2) : 53-56.

Lawhavinit, O., Kongkathip, N. and Kongkathip, B. 2010. "Antimicrobial activity of curcuminoids from *Curcuma longa* L. on pathogenic bacteria of shrimp and chicken." *Kasetsart Journal—Natural Science*. 44(3) : 364–371.

Leeming, J.P., Holland, K.T. and Cuncliffe, W.J. 1988. "The microbial colonization of inflamed acne vulgaris lesions." *Britsh Journal of Dermatology*. 118(2) : 203–208.

Loveckova, Y. and Havlikova, I. 2002. "A microbiological approach to acne vulgaris." *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 146 : 29–32.

Macfaddin, J.F. 2000. **Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria**. 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins : Philadelphia.

Majeed, M. and Prakash, L. 2004. "Fight acne and more: Effective natural approaches to skin care." *Cosmetics and Toiletries Manufature Worldwide*. 215-291.

Mohamed, I., Minhas, P.S., Fathima, K., Sahana, V.M. and Sowmya, C. 2012. "Antibacterial activity of leaves extract of guava (*Psidium guajava*)." *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 3 : 1–2.

Nand, P., Drabu, S. and Gupta, R.K. 2013. "Development and characterization of green tea loaded gel for the treatment of acne." *World Journal of Pharmaceutical Research*. 3(1) : 746-753.

Nath, A. and Bhattacharjee, M.K. 2015. **Antimicrobial activity of ethnobotanical plant *Psidium guajava***. [Online]. Available : http://biorxiv.org/content/early/2015/09/25/027615.article-info.

Nellipudi, K., Ramasubramania, R.R., Sreenivasulu, M., Lalitha, C.H. and Salma, S.K. 2015. "Anti-hyperlipidemic activity of chloroform fraction of *Camellia sinensis* leaf." *World Journal of Pharmaceutical Research*. 4(7) : 530-540.

Niamsa, N. and Sittiwet, C. 2009. "Antimicrobial activity of *Curcuma longa* aqueous extract." *Journal of Pharmacology and Toxicology*. 4(4) : 173–177.

Nishijima S., Kurokawa I., Katoh N. and Watanabe K. 2000. "The bacteriology of acne vulgaris and antimicrobial USA susceptibility of *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from acne lesions." *The Journal of Dermatology*. 27(5) : 318-323.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Nobble, W.C. and Wade, W.G. 1998. "*Propionibacterium, Bifidobacterium* and related organism." 519-521. in Gransden, W.R. **Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections.** 9th ed. London : Dunitz.

Pandey, S., Satpathy, G. and Gupta, R.K. 2014. "Evaluation of nutritional, phytochemical, antioxidant and antibacterial activity of exotic fruit *Limonia acidissima.*" *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 3(2) : 81-88.

Perez, C. and Anesini, C. 1994. "Antibacterial activity of alimentary plants against *Staphylococcus aureus* growth." *American Journal of Chinese Medicine*. 22(2) : 169-174.

Phrompittayarat, W., Putalun, W., Tanaka, H., Wittayaareekul, S., Jetiyanon, K. and Ingkaninan, K. 2007. "Determinationof saponin glycosides in Bacopa monnieri by RP HPLC." *Srinakharinwirot Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2(1) : 26-32.

Pongpan, N. 2015. **Plant extraction**. [Online]. Available : http://www.slideshare.net/NarongchaiPongpan/plant-extraction-4-04-2015.

Qa'dan, F., Thewaini, A., Ali, D.A., Afifi, R., Elkhawad, A. and Matalka, K.Z. 2005. "The antimicrobial activities of *Psidium guajava* and *Juglans regia* leaf extracts to acne-developing organisms." *American Journal of Chinese Medicine*. 33(2) : 197–204.

Rambir, S., Ramesh, C., Mridula, B. and Pratibha, M.L. 2002. "Antibacterial activity of *Curcuma longa* rhizome extract on pathogenic bacteria." *Current Science*. 83(6) : 737-740.

Rzany, B. and Kahl, C. 2006. "Epidemiologie of acne vulgaris." *Journal of the German Society of Dermatology*. 4(1) : 8-9.

Samuel, A.J., Kalusalingam, A., Chellappan, D.K., Gopinath, R., Radhamani, S., Husain, H.A., Muruganandham, V. and Promwichit, P. 2010. "Ethnomedical survey of plants used by the orang asli in kampong bawong, Perak, West Malaysia." *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 6(5) : 1-6.

Sanches, N.R., Cortez, D.A.G., Schiavini, M.S., Nakamura, C.V. and Filho, B. P. D. 2005. "An evaluation of antibacterial activities of *Psidium guajava* (L.)." *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 48(3) : 429-436.

Schlievert, P.M. and Peterson, M.L. 2007. "Staphylococci: abscesses and toxin-mediated diseases." 149-159. In Engleberg, N.C., DiRita, V. and Dermody, T.S. **Schaechter's Mechanisms of Microbial Disease.** 5th ed. Philadelphia : Lippincott Williams and Wilkins.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Sharon, L. and Bernard, J. 1995. "*Peptostreptococcus, Propionibacterium, Eubacterium* and other non-spore-forming anaerobic gram-positive bacteria." 578-599. In Murray, P.R. **Manual of Clinical microbiology**. 6th ed. Washington, D.C. : Academic press.

Ungphaiboon, S., Supavita, S.T., Singchangchai, P., Sungkarak, S., Rattanasuwan, P. and Itharat, A. 2005. "Study on antioxidant and antimicrobial activities of turmeric clear liquid soap for wound treatment of HIV patients." *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 27(2) : 269–578.

Wangthong, S., Palaga, T., Rengpipat, S., Wanichwecharungruang, S.P., Chanchaisak, P. and Heinrich, M. 2010. "Biological activities and safety of Thanaka (*Hesperethusa crenulata*) stem bark." *Journal of Ethnopharmacology*. 132(2) : 466-472.

Wickerham, L.J. 1951. **Taxonomy of Yeasts**. Washington, D.C. : United States Department of Agriculture.

Yam, T.S., Shah, S. and Hamilton-Miller, J.M. 1997. "Microbiological activity of whole and fractionated crude extracts of tea (*Camellia sinensis*), and of tea components." *FEMS Microbiology Letters*. 152(1) : 169-174.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
สมุนไพร

1.ขมิ้นชัน

รูปที่ ก-1 ขมิ้นชัน
(ที่มา : http://www.thaihof.org/sites/default/files/users/user-4/original/khminchan3.jpg)

1.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Curcuma longa* L.
: *Curcuma domestica* Valeton
ชื่อภาษาอังกฤษ : Turmeric
ชื่ออื่นๆ : ขมิ้น ขมิ้นแกง ขมิ้นหยอก ขี้มิ้น
วงศ์ : *Zingiberaceae*
ส่วนที่มีสรรพคุณทางยา : เหง้า

1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ขมิ้นชันเปนพืชลมลุกที่อยู่ในตระกูลเดียวกับขิงและไพร (*Zingiberaceae*) มีลำต นใต้ดินลักษณะเป็นเหง้า เนื้อเหง้ามีสีส้มและมีกลิ่นเฉพาะตัว ซึ่งมีทั้งเหง้าหลักรูปทรงไข่ที่เรียกว่าหัว และแขนงเหง้าหรือแง่งที่คล้ายทรงกระบอกหรือนิ้วมือ ส่วนลำต้นเหนือดินเป็นลำต้นเทียม ใบเดี่ยว รูปรีหรือรีแกมขอบขนานกว้าง 10-20 เซนติเมตร ยาว 30-70 เซนติเมตร ออกสลับถี่ 6-10 ต่อต้น กาบใบยาว 40-60 เซนติเมตร มีโคนใบสอบแคบและปลายใบแหลม ช่อดอกแทงออกจากเหง้าแทรก ขึ้นมาระหว่างก้านใบ รูปทรงกระบอก กลีบดอกสีเหลือกอ่อน (โสมนัส, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 คุณสมบัติ

เหง้า : เหง้ามีรสฝาดหวานเอียน แก้ไข้เรื้อรัง ผอมเหลือง แก้โรคผิวหนัง แก้เสมหะและโลหิต แก้ท้องร่วง สมานแผล แก้ธาตุพิการ ขับผายลม แก้ผื่นคัน ขับกลิ่น และส่งสกปรกในร่างกาย คุมธาตุ หยอดตาแก้ตาบวม ตาแดง รักษาแผลในกระเพาะอาหาร แก้ท้องร่วง

ผงขมิ้น : นำเหง้าแห้งมาบดเป็นผง สามารถนำมาเคี่ยวกับน้ำมันพืชรักษาแผลสดได้

ขมิ้นสด : สามารถใช้รักษาอาการเคล็ดขัดยอก ท้องร่วง แก้บิด

1.4 สารสำคัญ

เหง้าขมิ้นชันประกอบด้วยสารสำคัญประเภทเคอร์คูมินอยด์ซึ่งเป็นสารสีเหลือง ได้แก่ เคอร์คูมิน เดสเมทอกซีเคอร์คูมิน และบิสเดส เมทอกซีเคอร์คูมิน ส่วนน้ำมันหอมระเหยที่มีสีเหลืองอ่อนมีสารสำคัญคือ เทอร์เมอโรน และซิงจีเบอรีน นอกจากนี้ ยังมีสารกลุ่มเซสควิเทอร์ปีน และโมโนเทอร์ปีน อื่น ๆ อีกหลายชนิด ซึ่งต่างก็มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการกระตุ้นฤทธิ์ทางยาที่สำคัญคือ กระตุ้นการขับน้ำดี ทำให้การย่อยอาหารดีขึ้น ลดการบีบตัวของลำไส้ ต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร ลดการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ และต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา เป็นต้น (สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, 2548 ; รอฮานี, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ชาเขียว

รูปที่ ก-2 ชาเขียว
(http://mahosot.com/คาเทชิน-catechin-ชาเขียว-คืออะไร.html)

2.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์

ชื่อไทย : ชาเขียว
ชื่ออังกฤษ : Green tea
ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Camellia sinensis*
ชื่อวงศ์ : *Theacease*
ส่วนที่มีสรรพคุณทางยา : ใบ

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ชาเป็นไม้พุ่มหรือไม้ต้นขนาดเล็ก ใบเดี่ยว รูปรี โคนสอบ ปลายเว้าหรือเว้ากว้าง มักเป็นติ่งแหลมขนาดเล็ก ขอบใบหยักแบบจักฟันเลื่อยถี่ถึงจักฟันเลื่อยถี่และเว้าเป็นคลื่น ซี่ฟันโค้ง ปลายสีดำ เนื้อใบหนาเหมือนแผ่นหนัง ด้านหลังใบสีเขียวเข้มเป็นมัน ดอกตูมมีขนปกคลุม สีเขียวอ่อน ห้อยลง กลีบดอก 7-8 กลีบ สีขาว รูปไข่กว้างถึงรูปกึ่งทรงกลม ขอบงุ้ม เกสรเพศผู้ยาวได้ถึง 13 มิลลิเมตร โคนเชื่อมติดกัน รังไข่มีขนสีขาวปกคลุมหนาแน่น ผลแห้งแตกเป็น 3 แฉก มีเมล็ด 1-2 เมล็ด (ศศิวิมล และคณะ, 2546)

2.3 คุณสมบัติ

ใบชาเขียวมีคุณสมบัติในการช่วยลดความอ้วน, ลดไขมันในเลือดชนิดไตรกลีเซอไรด์, เส้นโลหิต, ช่วยทำให้เจริญอาหาร และช่วยบรรเทาอาการเมาจากเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ทำให้สร่างเมาได้เร็วขึ้น (โอโมริ, 2554)

2.4 สารสำคัญ

ชา มีสารแคทิชิน (Catechin) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ลดการอักเสบ และเพิ่มสามารถในการจดจำ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) ที่มีอยู่มากในตัวชา EGCG ซึ่งเป็นแคทิชิน ชนิดหนึ่งในชา มีฤทธิ์ในการลดความอ้วน ลดไตรกลีเซอไรด์ ลดคอเลสเตอรอล เพิ่มการใช้พลังงาน เพิ่มสันดาปไขมันในสัตว์ทดลอง ลดการดูดซึมไขมันในลำไส้ ลดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ไขมัน ลดการสะสมของไขมันหน้าท้อง คาเทชินเป็นสารเป็นสารที่อยู่ในกลุ่ม Polyphenols

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้เกิดสี กลิ่น และรสชาติของชา โดยฤดูการเพาะปลูกและการเก็บเกี่ยวจะมีผลต่อระดับของสารคาเทชิน ซึ่งในใบชาฤดูใบไม้ผลิจะมีสารคาเทชินประมาณ 12-13% ในขณะที่ชาในฤดูร้อนจะมีสารคาเทชินประมาณ 13-14% นอกจากนี้แล้วในใบชายังมีสารอื่นๆในกลุ่มของ Polyphenols ที่น่าสนใจอีก 4 ชนิด คือ เอพิแคเทชิน (epicatechin), เอพิกัลโลแคเทชิน (epigallocatechin; EGC), เอพิแคเทชินกัลเลต (epicatechin gallate) และ เอพิกัลโลแคเทชินกัลเลต (epigallocatechin gallate; EGCG) (ภาคภูมิ และธวัช, 2548)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ทานาคา

รูปที่ ก-3 ส่วนต่างๆของทานาคา
(ที่มา : http://frynn.com/%E0%B8%81%E0%B8%A3%E0%B8%B0%E0%B9%81%E0%B8%88%E0%B8%B0/)

3.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Hesperethusa crenulata* (Roxb.) Roem.
: *Naringi crenulata* (Romb.) Nicolson
ชื่ออื่นๆ : กระแจะ ตุมตัง พญายา พินิยา ฮางแกง (พร้อมจิต, 2559)
ชื่ออังกฤษ : Thanakha
ชื่อวงศ์ : *Rutaceae*
ส่วนที่มีสรรพคุณทางยา : เปลือก, เนื้อไม้

3.2 ลักษณะทางพฤษศาสตร์

ทานาคาเป็นไม้ยืนต้นในกลุ่มไม้ไม่ผลัดใบมีความสูง 8-15 เมตร พบมากในเขตป่าเบญจพรรณ ป่าดิบแล้ง ป่าเต็งที่สูงกว่าระดับน้ำทะเล 100-400 เมตร มีลำต้นตรง เปลือกไม้ขรุขระมีสีเทาอมขาวหรือขาวอมเหลือง กิ่งก้านแตกตั้งฉากกับลำต้น มีใบประกอบแบบขนนก เรียงสลับรูปวงรีแกมไข่กลับ ก้านใบแผ่เป็นปีก ช่อดอกเป็นกระจุก มีกลีบดอกสีขาวหรือสีเหลือง 4 กลีบ ออกที่ซอกใบประมาณเดือนมีนาคมถึงพฤษภาคม มีผลสดแบบแอปเปิลขนาดเล็ก ผลอ่อนมีสีเขียว ผิวมัน มีต่อมน้ำมันทั่วทั้งผล มีเนื้อบางๆห่อหุ้ม ขนาด 0.5-1 เซนติเมตร ผลแก่สีดำอมม่วง รสเปรียว มี 1-4 เมล็ด (สุดารัตน์, 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 คุณสมบัติ

ใบ : แก้ลมบ้าหมู

ราก : เป็นยาถ่าย

ผล : เป็นยาบำรุง

แก่น : ดองเหล้ากินแก้กษัย (การป่วยที่เกิดจากหลายสาเหตุ ทำให้ร่างกายเสื่อม โทรม ซูบผอม โลหิตจาง) โลหิตพิการ ดับพิษร้อน

3.4 สารสำคัญ

จากงานวิจัยต่างๆพบว่าทานาคามีสารประกอบทางเคมีจำนวนมาก ได้แก่ 2-Hydroxyquinoline,N-acetyl-N-methyltryptamine, 2-quimolone, Tanakinetanakamine, 4-Methoxy-1-methyl-2-quimolone, 7-Methoxy-6-(2,3-epoxy-6-methylbuthyl), Sitosterol, Suberosin, Arbutin, Suberenol, Coumarin และ Marmesin เป็นต้น โดยสารประกอบเหล่านี้สามารถพบได้ทั้งในเปลือกของรากและลำต้นของทานาคา (พร้อมจิต, 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ใบฝรั่ง

รูปที่ ก-4 ส่วนต่างๆของฝรั่ง
(ที่มา : http://bot.swu.ac.th/upload/meattree_document/1229062401.pdf)

4.1 **ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์**

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Psidium guajava* L.
ชื่ออังกฤษ : Guava
ชื่ออื่น : มะก้วย, มะปุ่น, ยามูมะจีน, สีดายะรง
ชื่อวงศ์ : *Myrtaceae*
ส่วนที่มีสรรพคุณทางยา : เปลือก, เนื้อไม้

4.2 **ลักษณะทางพฤกษศาสตร์**

ฝรั่งเป็นพืชในวงศ์ *Myrtaceae* ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกับชา ลักษณะทั่วไป ฝรั่งเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง มีใบเดี่ยวหนาและแข็งออกเป็นคู่ตรงกันข้าม บิดเล็กน้อย รูปใบรีปลายใบและโคนใบมน หลังใบจะมีขนอ่อนนุ่ม ท้องใบจะหยาบเห็นเส้นใบเป็นร่างแหชัดเจน พื้นใบมีสีเขียวอมเทา ยอดอ่อนมีขนอ่อนสั้นๆ ออกดอกตรงส่วนยอดของกิ่งก้านต้นช่อละ 2-3 ดอกสีขาว ผลดิบมีสีเขียว เมื่อสุกมีสีเขียวปนเหลือง เนื้อในสีขาว มีเมล็ดภายในมากสีน้ำตาลอ่อน

4.3 **คุณสมบัติ**

ใบ : แก้ท้องเสีย ท้องร่วง ท้องเดิน (ที่ไม่ใช่บิด หรืออหิวาตกโรค) เป็นยาห้ามเลือดในแผลสด ระงับกลิ่นปาก แก้ฝี เป็นยาล้างแผล ดูดหนองและถอนพิษบาดแผล แก้เหงือกบวม แก้พิษเรื้อรัง แก้ปวดเนื่องจากเล็บขบ แก้แพ้ยุง

ผลอ่อน : แก้ท้องเสีย ท้องร่วง ท้องเดิน ระงับกลิ่นปาก แก้บิดมูกเลือด มีไวตามินซีมาก เป็นกันหรือแก้โรคเลือดออกตามไรฟัน (ลักปิดลักเปิด) บำรุงเหงือกและฟัน บำรุงผิวพรรณ

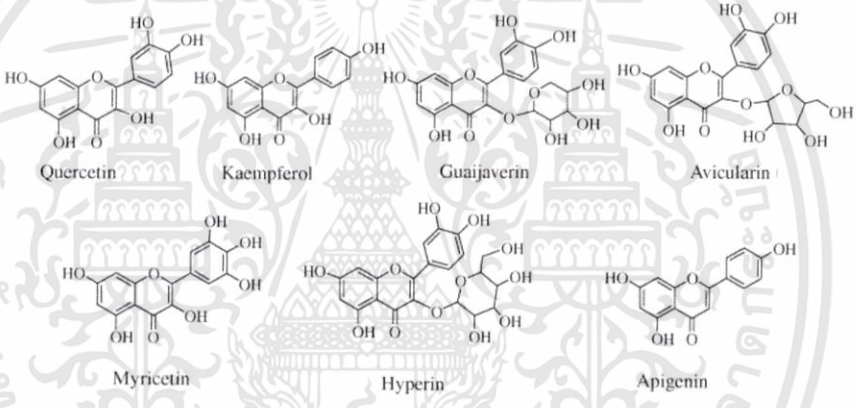
ผลสุก : มีสารเพ็กตินอยู่มาก ใช้รับประทานเป็นยาระบายได้

ราก : แก้น้ำเหลืองเสีย เป็นฝี แผลพุพอง แก้เลือดกำเดาไหล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 สารสำคัญ

สารที่พบในรากได้แก่ Arjunclic Acid และ Tannin ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ส่วนเปลือกต้นพบ Tannin เป็นองค์ประกอบหลักมากถึง 11-27% และยังพบ Luteic Acid, Gallic Acid, Lcucocyanidin และ Amritosidc ในส่วนแก่นของต้นพบสาร Amritoside, Gallic Acid และ Lcucocyanidin Oleanolic และในส่วนของใบพบสาร Acid Alcohols, Beta-sclincne, Caryophllene, Casuarinin,Oxalic, Pigment,Chlorophyll A, Chlorophll B, Triterpene, Quercetin, Guaijaverin, Psidiolic Acid Eugenol, Nerolidiol นอกจากนี้แล้วยังพบ Tannin ประเภท Catechin Tannin และ Hydrolysable Tannin (สถาบันวิจัยและพัฒนาที่สูง, 2553) และจากการทดลองของ Hui Wang และคณะ ทำการสกัดสารจากใบฝรั่งด้วยทำละลายที่ต่างชนิดกัน พบว่า สารสกัดที่สกัดได้โดยใช้เอทานอล 75% ได้แก่ Guaijaverin (35.6%), Avicularin (30.9%), Hyperin (18.0%), Quercetin (7.44%), Kaempferol (5.50%), Apigenin (1.97%) และ Myricetin



รูปที่ ก-5 โครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่แยกได้จากใบฝรั่ง
(ที่มา : https://161.246.22.23/content/image/,DanaInfo=.aasuCiqyFkmxKo10+1-s2.0-S030881461000381X-gr1.jpg)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. เปลือกมังคุด

รูปที่ ก-6 มังคุด

(ที่มา : http://www.ftiebusiness.com/shop/product-detail.php?id=116287&uid=44077)

5.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์

ชื่อไทย	:	มังคุด
ชื่อสามัญ(อังกฤษ)	:	Mangosteen
ชื่อทางวิทยาศาสตร์	:	*Garcinia mangostana* Linn.
วงศ์	:	*Guttiferae*
ส่วนที่มีสรรพคุณทางยา	:	เปลือกผล

5.2. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มังคุดเป็นไม้ยืนต้นสูง 10-12 เมตร มียางสีเหลืองทุกส่วนของต้น ใบเดี่ยวเรียงตรงข้าม รูปไข่หรือรูปวงรีแกมขอบขนานกว้าง 6-11 เซนติเมตร ยาว 15-25 เซนติเมตร เนื้อใบหนาและค่อนข้างเหนียวคล้ายหนัง หลังใบสีเขียวเข้มเป็นมัน ท้องใบสีอ่อนกว่า ดอกเดี่ยวหรือเป็นคู่ออกที่ซอกใบใกล้ปลายกิ่ง กลีบเลี้ยงสีเขียวอมเขียว กลีบดอกสีแดง มีผลสดค่อนข้างกลม (นันทวัน และอรนุช, 2543) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.5-2.5 นิ้ว พื้นผิวเปลือกเรียบเกลี้ยง เปลือกหนาแข็ง เมื่อแก่มีสีม่วงอมน้ำตาล ที่ปลายผลมียอดเกสรเพศเมียติดอยู่ แยกเป็น 4-7 แฉก ที่ขั้วผลมีกลีบเลี้ยง 4 กลีบติดอยู่ บริเวณใต้ผิวผลมีต่อมของน้ำยางอยู่มาก เปลือกผล มีรสฝาด ยางจากผลมีสีเหลือง มีรสฝาด

5.3. คุณสมบัติ

ในทางยาสมุนไพร ใช้เปลือกมังคุดตากแห้งต้มกับน้ำหรือย่างไฟ ฝนกับน้ำปูนใส แก้ท้องเสีย เปลือกแห้งฝนกับน้ำปูนใส ใช้รักษาอาการน้ำกัดเท้า แผลเปื่อย เปลือกมังคุด มีสารป้องกันเชื้อราเหมาะแก่การหมักปุ๋ย ชาวโอรังอัสลีในรัฐเประ มาเลเซียใช้เปลือกผลแห้งรักษาแผลเปิด (Samuel และคณะ, 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.4. สารสำคัญ

เปลือกของมังคุด ประกอบด้วยสารสำคัญ ได้แก่ สารแทนนิน ซึ่งมีฤทธิ์ฝาด ช่วยมานทำให้แผลหายเร็ว และสารแมงโกสติน ช่วยลดอาการอักเสบและมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนองได้ดี (Samuel และคณะ, 2010) ฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียมีประสิทธิภาพเทียบเท่ายาแวนโคไมซิน (Vancomycin) สารสกัดจากเปลือกมังคุดต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนอง (*Staphylococcus aureus*) เทียบเท่ากับน้ำยาฆ่าเชื้อโพวิโดนไอโอดีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
วิธีการสกัด

การสกัดแยกสารเบื้องต้น (สมศักดิ์, 2556)

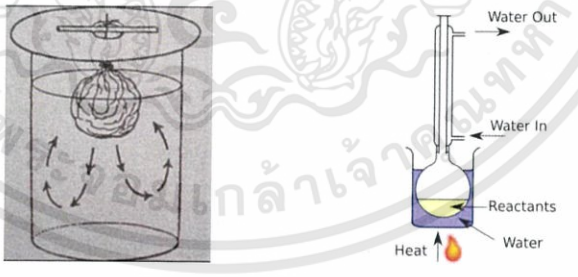
การสกัดสารจากสมุนไพรเป็นการแยกสารสำคัญที่ในสมุนไพรออกมา ในรูปของสารสกัดหยาบ โดยมีวิธีที่ใช้ในการสกัด ดังนี้

1) การหมักแช่ (Maceration)
2) เพอร์โคเลชัน (Percolation)
3) การสกัดแบบต่อเนื่อง (Continuous extraction)
4) การสกัดน้ำมันหอมระเหย (Extraction of volatile oil)

ในการสกัดสมุนไพรอาจทำได้หลายวิธี ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่ต้องการสกัด, คุณสมบัติทางกายภาพของสาร และชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ โดยมีหลักการเลือกคือ ตัวทำละลายที่ดีจะต้องสามารถสกัดสารที่ต้องการออกจากตัวอย่างได้ดี มีการระเหยในสภาวะที่เหมาะสม ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด ตัวทำละลายจะต้องไม่มีความเป็นพิษ หาได้ง่ายและราคาไม่สูง

1) การหมักแช่ (Maceration)

วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุด ซึ่งทำได้โดยการนำเอาสมุนไพรหมักกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด ทิ้งไว้เป็นเวลา 3-7 วัน อาจมีการเขย่าหรือคนร่วมด้วย (รูปที่ ข-1) แล้วทำการกรองเอาส่วนของเศษสมุนไพรออก ถ้าหากต้องการให้สารสำคัญถูกสกัดออกจากสมุนไพรจนหมดอาจต้องสกัดหลายครั้ง โดยนำเศษสมุนไพรที่เอาออกมาหมักด้วยตัวทำละลายใหม่ สารสกัดจะไม่ถูกความร้อน ทำให้โอกาสในการสลายตัวของสารสกัดลดลง แต่ข้อเสีย คือ จะสิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก



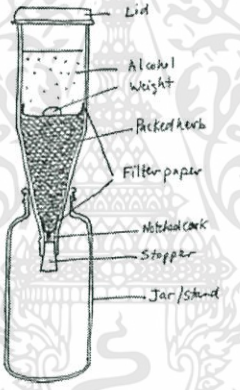
ก. Circularatory ข. Reflux Maceration

รูปที่ ข-1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการหมักแช่
(ที่มา : http://images.slideplayer.in.th/8/2107753/slides/slide_15.jpg และ https://upload.wikimedia.org/wikipedia/en/thumb/5/51/Reflux_labled.svg/668px-Reflux_labled.svg.png)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) **เพอร์โคเลชัน (Percolation)**

เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรโดยการปล่อยให้ตัวทำละลายไหลผ่านผงสมุนไพรอย่างช้าๆ (รูปที่ ข-2) พร้อมกับละลายเอาองค์ประกอบออกจากผงสมุนไพรออกมา โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า เพอร์โคเลเตอร์ (percolator) วิธีการทำ เริ่มจากนำผงสมุนไพรมาหมักกับตัวทำละลายก่อน 1 ชั่วโมง เพื่อให้สมุนไพรพองตัวเต็มที่แล้วค่อย ๆ บรรจุผงยาทีละชั้นลงในเพอร์โคเลเตอร์ ซึ่งมีลักษณะเป็นคอลัมน์ (column) ปลายเปิดทั้ง 2 ด้าน โดยด้านบนจะกว้างกว่าด้านล่าง เพื่อความสะดวกในการบรรจุผงสมุนไพร ที่ส่วนปลายด้านล่างสามารถปิดเปิดได้ เพื่อสามารถควบคุมอัตราการไหลของสารสกัดหรือเพอร์โคเลตจากเพอร์โคเลเตอร์ได้ เติมตัวทำละลายหรือน้ำยาสกัด (menstruum) ลงไปให้ระดับน้ำยาสกัดไหลผ่านผงสมุนไพรในอัตราเร็วที่พอเหมาะ พร้อมกับเติมน้ำยาสกัดใหม่ลงไปเรื่อย ๆ อย่าให้แห้ง เก็บเพอร์โคเลตจนการสกัดสมบูรณ์โดยการตรวจสอบเพอร์โคเลตส่วนสุดท้าย นำเพอร์โคเลตที่เก็บได้ทั้งหมดรวมกัน จากนั้นนำไปกรอง วิธีนี้จัดเป็นวิธีการสกัดที่ดีสำหรับการสกัดสารจากสมุนไพรแบบสมบูรณ์ และไม่ต้องใช้ความร้อน แต่ข้อเสีย คือ เปลืองน้ำยาสกัดและใช้เวลาในการสกัดนาน ดังนั้นจึงมีการดัดแปลงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารจะใช้เพอร์โคเลเตอร์ต่อกันหลายตัว และให้มีการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายเข้าหากัน



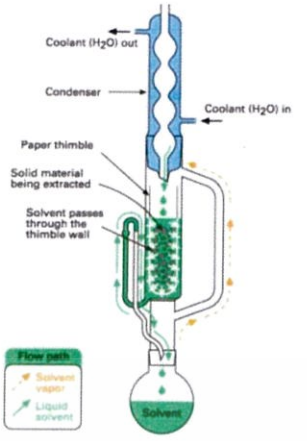
รูปที่ ข-2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพอร์โคเลชัน

(ที่มา : http://madisonherbalinstitute.org/wp-content/uploads/2014/01/percolator.png)

3) **การสกัดแบบต่อเนื่อง (Continuous extraction)**

เป็นวิธีการสกัดที่คล้ายกับวิธีเพอร์โคเลชัน แต่ต่างกันที่การสกัดแบบต่อเนื่องจะมีการอาศัยความร้อนเข้าช่วยในการสกัด (รูป ข-3) และอุปกรณ์ที่เรียกว่าซอกซ์เลตเอกซ์แทรกเตอร์ (soxhlet extractor) ซึ่งเป็นระบบปิด โดยตัวทำละลายจะต้องมีจุดเดือดต่ำ เมื่อตัวทำละลายใน flask สัมผัสความร้อนตัวทำละลายจะระเหยแล้วนำสารต่างๆออกจากตัวอย่างและกลั่นตัวลงมาจนถึงจุดหนึ่งตัวทำละลายจะไหลกลับลงสู่ flask ใหม่ด้วยวิธีกาลักน้ำ แล้วระเหยตัวขึ้นไปใหม่จนสกัดได้หมดจดในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข-3 Soxhlet extractor
(ที่มา : https://ainstrumental.wikispaces.com/file/view/SOXHLE~1.JPG/149458865/SOXHLE~1.JPG)

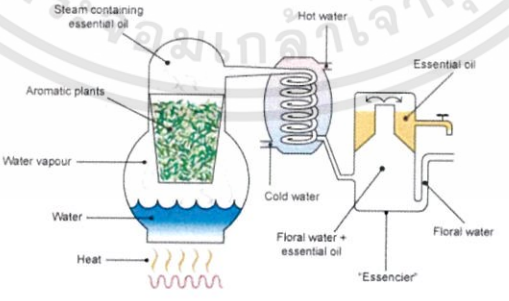
4) การสกัดน้ำมันหอมระเหย (Extraction of voltatile oil)

วิธีผลิตน้ำมันหอมระเหย

Steam distillation เป็นการกลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยไอน้ำ (รูป ข-4) วิธีนี้เหมาะกับพืชที่เก็บ สะสมน้ำมันหอมระเหยไว้ในขนต่อมน้ำมัน (glandular trichome) เช่น โหระพา สาระแน เป็นต้น หรือ ต่อมน้ำมัน (oil reservoir) เช่น เปลือก ผลส้ม ใบมะกรูด เป็นต้น

Hydrodistillation (Water distillation) คือการกลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยการต้มกับน้ำ วิธีนี้ใช้กับพืชซึ่งไม่ถูกทำลายเมื่อต้ม ทำ โดยการต้มพืชในน้ำในภาชนะที่ต่อกับ condenser น้ำมันจะระเหยไปพร้อมกับไอน้ำ แล้วกลั่นตัวพร้อมกับหยดน้ำลงใน ภาชนะ แล้วเกิดการแยกชั้น จนสามารถแยกน้ำมันออกมาได้

Water-steam distillation การกลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยน้ำและไอน้ำ วิธีนี้ใช้ได้กับพืชทุกชนิด โดยเฉพาะพวกที่อาจถูกทำลายได้ง่ายเมื่อถูกต้ม



รูปที่ ข-4 การกลั่นน้ำมันหอมระเหย ด้วยน้ำและไอน้ำ
(ที่มา : http://www.union-nature.com/img/distillation_ANG.jpg)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Destructive distillation การกลั่นทำลายวิธีนี้ใช้กับน้ำมันบางชนิด เช่น น้ำมันสน (Pine oil) โดยใช้ไม้สนสับเป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่ในภาชนะเหล็ก เผาด้วยอุณหภูมิสูง น้ำมันจะไหลออกมาจากเนื้อไม้และบางส่วนถูกความร้อนทำลาย วิธีนี้จะได้น้ำมันง่าย ไม่ยุ่งยาก แต่สีจะเข้ม คล้ำดำ

Mechanical Expression การบีบและคั้นสามารถใช้กับพืชที่มีต่อมน้ำมัน (oil gland) เช่น ผิวส้ม มะนาว วิธีนี้ ไม่ต้องใช้ความร้อน ไม่ทำให้เกิดการสลายตัว ค่าใช้จ่ายถูก แต่ทำให้เกิดการสูญเสียน้ำมันไปกับกาก ซึ่งการบีบคั้นอาจทำได้ 2 วิธี ได้แก่ การบีบคั้นด้วยแรงอัด และ การใช้วัสดุที่มีปลายแหลมแท่งที่ต่อมไขมัน (สำนักการแพทย์ทางเลือก, 2550)

การทำสารสกัดให้เข้มข้น (concentration) (Pongpan, 2015)

โดยปกติแล้วการสกัดหยาบจะได้ผลิตภัณฑ์ในปริมาณที่มาก ซึ่งประกอบด้วยสารสำคัญและตัวทำละลาย จึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อนนำไปใช้ต่อไปด้วยวิธีต่าง ๆ ดังนี้

การระเหย (free evaporation) เป็นการนำตัวทำละลายออกจากสารสกัด โดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (water bath) หรือแผ่นความร้อน (hot plate) ซึ่งวิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้ เนื่องจากอุณหภูมิสูงเกินไป และหากใช้สารละลายอินทรีย์ (organicsolvent) ในการสกัด การระเหยโดยให้ความร้อนโดยตรง (direct heat) บนแผ่นความร้อน อาจเกิดอันตรายได้ง่าย

การกลั่นในภาวะสุญญากาศ (distillstion in vacuo) เป็นอีกวิธีที่นิยมมากที่สุดเป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัดโดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ โดยใช้ พร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) ด้วยโรตารีอีวาโพเรเตอร์ (rotary evaporator) ซึ่งประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ 3 ส่วน คือ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบที่กลั่น (distillation flask) ส่วนคอนเดนเซอร์หรือส่วนควบแน่นไอสารละลาย (condenser) และภาชนะรองรับสารละลายหลังการกลั่น (receiving flask) โดยสารสกัดอย่างหยาบซึ่งบรรจุในภาชนะจะแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิได้และจะหมุน (rotary) ตลอดเวลาที่ทำงาน เพื่อให้มีการกระจายความร้อนอย่างทั่วถึงและสม่ำเสมอ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบนี้จะต่อเข้ากับส่วนควบแน่น ซึ่งมีระบบทำความเย็นหล่ออยู่ตลอดเวลา ปลายของส่วนควบแน่นจะมีภาชนะรองรับโดยทั้งระบบจะต่อเข้ากับระบบสุญญากาศ สารละลายที่ระเหยออกจากภาชนะบรรจุจะควบแน่นที่บริเวณคอนเดนเซอร์และหยดลงมาในภาชนะรองรับสารละลาย หลังการกลั่นซึ่งสารละลายดังกล่าวสามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์และนำกลับมาใช้ใหม่ได้

การทำให้แห้ง (drying) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัดจนแห้ง ได้สารสกัดออกมาในสภาพของแข็งหรือกึ่งของแข็ง มีหลายวิธี เช่น การใช้ความเย็น (lyophilizer หรือ freeze dryer) หรือการใช้ความร้อน (spray dryer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (ประสาทพร และคณะ, 2551)

เป็นวิธีการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Dilution Susceptibility Test จะเปนการทดสอบในเชิงปริมาณ เพราะสามารถทราบคาความเข้มขนของสารสกัดสมุนไพรที่ทำลายเชื้อได้ สามารถทดสอบได้ในอาหารทั้ง 2 แบบ คือ Broth Dilution Susceptibility Test และ Agar Dilution Susceptibility Test โดยมีหลักการคล้ายกัน คือเจือจางสารสกัดสมุนไพรในอาหารให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นใส่เชื้อลงในอาหารเหลว หรืออาหารแข็ง หลังจากการบ่ม สังเกตความขุ่นหรือใสของอาหารเหลว และมีหรือไม่มีเชื้อการเจริญขึ้นบนอาหารแข็ง

1) Broth Dilution Susceptibility Test

เป็นการทดสอบหาที่จะทำให้ทราบค่าการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าได้เชื้อ (Minimal Bactericidal Concentration, MBC) ของสมุนไพรนั้นๆ กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบ สามารถแบ่งเป็น Broth Macrodilution Test และ Broth Microdilution Test

Broth Macrodilution test ทำในหลอดทดลอง โดยทำการเจือจางสารสกัดสมุนไพร stock solution ดวยตัวเจือจาง หรือดวย broth ในลักษณะลดลงทุก 2 เทา (2-fold serial dilution) ไปเรื่อยๆ และตองมีหลอดควบคุมที่ไม่มีสารสกัดสมุนไพรดวย

Broth Microdilution Test ทำใน microtiter plate 96-well โดยเจือจาง stock solution ดวย broth แบบ 2-fold serial dilution มีหลุมควบคุมเป็น broth ที่ไมมีสารสกัดสมุนไพร ในแตละหลุมจะมีปริมาตรเทากับ 50 ไมโครลิตร จากนั้นใสเชื้อที่ปรับความเข้มข้นแลว (เชื้อประมาณ 10^5 CFU/มิลลิลิตร) 50 ไมโครลิตร ลงในแตละหลุมแลวปดฝากอนนำไปบม อานคา MIC โดยดูความขุนดวยตาเปลา หรือ อาจใชสารบางอยางที่สามารถบงชี้การเจริญของเชื้อไดเพื่อใหอานค่าไดง่ายขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหาค่า MBC ทำได้โดยนำ broth จากหลอดหรือหลุมที่ไม่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง ตรวจผลดูการเจริญเติบโตของเชื้อ ค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของยาปฏิชีวนะซึ่งสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ให้ลดลงไม่น้อยกว่า 99.9% ถือว่าเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (MBC)

2) Agar Dilution Susceptibility Test

Agar dilution test เป็นการทดสอบความไวของเชื้อแบบปริมาณวิเคราะห์โดยมีหลักการทดสอบคลายคลึงกับ Broth dilution method ต่างกันเพียงชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่านั้น กล่าวคือ ทำการทดสอบโดยการเจือจางสารทดสอบในอาหารวุ้นและถ่ายเชื้อลงบนผิวของอาหารวุ้น ข้อดีของวิธีนี้คือ สามารถทำการทดสอบเชื้อหลายชนิดบนอาหารเลี้ยงเชื้อจานเดียวกันได้ วิธีนี้สามารถหาค่า MIC ได้แต่ไม่สามารถหาค่า MLC ได้ค่า ความเข้มข้นของสารที่น้อยที่สุดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อเป็นค่า MIC

สำหรับแหล่งรองรับสมุนไพร (drug reservoir) ที่ใช้มักใช้เป็นกระดาษซับวงกลม (filter paper dish) หรืออาจเรียกว่า dish sensitivity test หรือ อาจเป็นหลุมที่เจาะลงในเนื้อ agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
การเตรียมสารละลาย McFarland standard เบอร์ 0.5

สารละลาย McFarland standard เบอร์ 0.5 ใช้เป็นความขุ่นมาตรฐานในการเปรียบเทียบสารละลายเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งสารละลาย McFarland standard เบอร์ 0.5 สามารถเทียบได้กับจำนวนแบคทีเรีย 1.5×10^8 CFU/ml (รูปที่ ง-1)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. $BaCl_2$
2. Conc.H_2SO_4
3. หลอดทดลอง
4. ปิเปตต์
5. ขวดปรับปริมาตร
6. เครื่องชั่ง

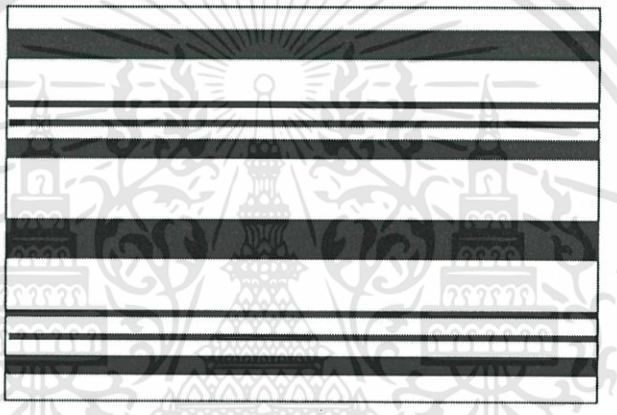
วิธีการเตรียม

1. ปิเปตต์ Conc.H_2SO_4 มา 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร
2. ชั่งสาร $BaCl_2$ 1 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร
3. นำสารละลายในข้อ 1 ปริมาตร 995 มิลลิลิตร และสารละลายข้อ 2 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร มาผสมและคนให้เข้ากัน ได้เป็นสารละลาย McFarland standard No. 0.5 นำมาบรรจุใส่หลอดทดลอง ปิดฝาให้สนิท เก็บในที่มืด อุณหภูมิ 2- 30 องศาเซลเซียส
4. ก่อนใช้งานต้องเขย่าเป็นเนื้อเดียวกัน เปรียบเทียบความขุ่นโดยใช้กระดาษ Wickerham Card (รูปที่ ง-2) และควรตรวจสอบความขุ่นทุกเดือน อายุการใช้งานสามารถใช้ได้นานถึง 6 เดือน (Garcia, 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Standard no.	Vol (ml)		No. of bacteria/ml (10^8) represented
	$BaCl_2 \cdot 2H_2O$ (1.175%)	H_2SO_4 (1%)	
0.5	0.5	99.5	1.5
1	1.0	99.0	3
2	2.0	98.0	6
3	3.0	97.0	9
4	4.0	96.0	12
5	5.0	95.0	15
6	6.0	94.0	18
7	7.0	93.0	21
8	8.0	92.0	24
9	9.0	91.0	27
10	10.0	90.0	30

รูปที่ ง-1 แสดงปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย McFarland standard และปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่เทียบได้ (Chapin and Lauderdale, 2003)



รูปที่ ง-2 Wickerham Card ใช้เป็นกระดาษพื้นหลังในการเปรียบเทียบความขุ่น (Wickerham, 1951)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ
การเตรียมยาปฏิชีวนะ Dicloxacillin

เตรียม Stock Solution ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

อุปกรณ์และสารเคมี

1. ยาปฏิชีวนะ Dicloxacillin
2. ขวด Vial
3. ปิเปตต์
4. เครื่องชั่ง
5. ช้อนตักสาร

วิธีการเตรียม

1. ชั่งยาปฏิชีวนะ Dicloxacillin 1 มิลลิกรัม
2. เติมด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ทีละเล็กน้อย เพื่อละลายยา
3. เก็บสารละลายยาไว้ในที่มืด อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส และปรับความเข้มข้นที่ต้องการก่อนใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ
ข้อมูลการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Minitab version 16.1.0

ผลการเปรียบเทียบทางสถิติของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งของสมุนไพร 5 ชนิด

General Linear Model: clear zone versus สมุนไพร, เชื้อ

Factor	Type	Levels	Values
สมุนไพร	fixed	7	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
เชื้อ	fixed	2	1, 2

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

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
สมุนไพร	6	2519.40	2519.40	419.90	2288.14	0.000
เชื้อ	1	6.33	6.33	6.33	34.47	0.000
สมุนไพร*เชื้อ	6	10.15	10.15	1.69	9.21	0.000
Error	28	5.14	5.14	0.18		
Total	41	2541.01				

S = 0.428383 R-Sq = 99.80% R-Sq(adj) = 99.70%

Unusual Observations for clear zone

Obs	clear zone	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	7.4000	6.6500	0.2473	0.7500	2.14 R
12	7.0500	7.9833	0.2473	-0.9333	-2.67 R
37	26.8500	27.8167	0.2473	-0.9667	-2.76 R
39	28.9500	27.8167	0.2473	1.1333	3.24 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

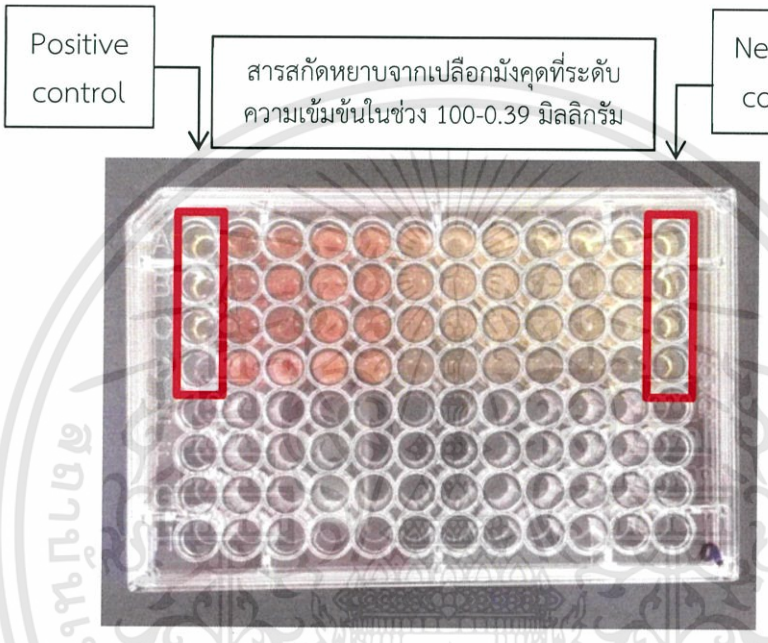
Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

สมุนไพร	เชื้อ	N	Mean	Grouping
7	2	3	24.0	A
7	1	3	21.8	B
5	2	3	4.4	C
5	1	3	2.5	D
2	2	3	2.0	D
4	2	3	1.3	D E
2	1	3	1.3	D E
1	1	3	0.7	E F
1	2	3	0.0	F
3	2	3	-0.0	F
3	1	3	-0.0	F
6	2	3	-0.0	F
6	1	3	-0.0	F
4	1	3	-0.0	F

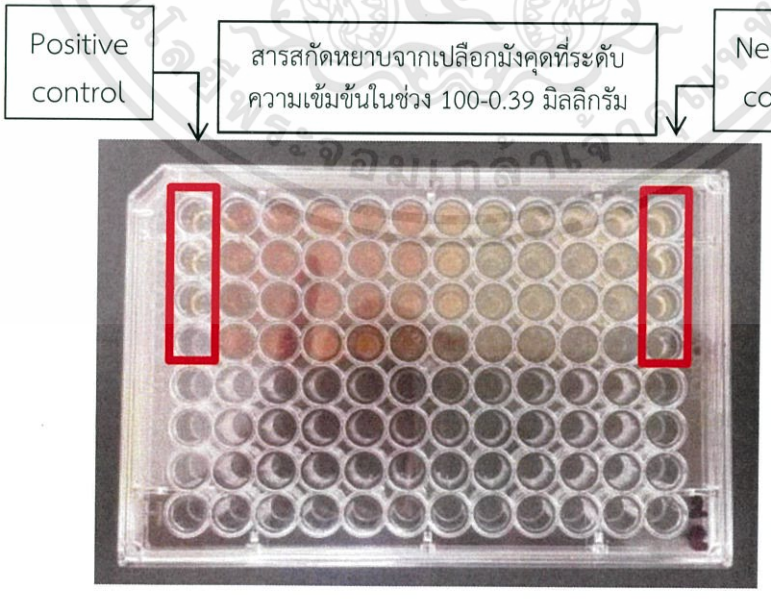
Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช
ผลการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal Bactericidal Concentration, MBC)



รูปที่ ช-1 Broth Microdilution ใน 96-Well Microplate ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ระดับความเข้มข้นในช่วง 100-0.39 มิลลิกรัมต่อลิตร กับเชื้อ *S. aureus* ATCC 6538



รูปที่ ช-2 Broth Microdilution ใน 96-Well Microplate ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ระดับความเข้มข้นในช่วง 100-0.39 มิลลิกรัมต่อลิตร กับเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้