

เจลสมุนไพรสำหรับยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดสิว

Herbal Gel for Antimicrobial Activity on Acne-inducing Bacteria

นุสวดี พจนานุกิจ และ สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม

Nusavadee Pojananukij and Somjai Kajorncheap-pun-ngam

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการยับยั้ง *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยสารสกัดจากพืชสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก โดยนำสารสกัดทั้ง 3 ชนิดมาผสมกับเจลไคโตซานแล้วนำไปศึกษาการยับยั้งแบคทีเรีย ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่อยู่ในรูปเจลไคโตซานสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 25, 50 และ 200 mg/ml สำหรับสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก ตามลำดับ และเมื่อนำไปศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ พบว่าการปลดปล่อยสารแซนโทนจากสารสกัดเปลือกมังคุดที่อยู่ในรูปเจลไคโตซานมีการปลดปล่อยสารออกมา 77.5 % ภายในเวลา 8 ชั่วโมง ในขณะที่การปลดปล่อยสารเคอร์คูมินจากสารสกัดจากขมิ้นชันและสารเอเชียดิโคไซด์และกรดเอเชียดิจจากสารสกัดใบบัวบกจะปลดปล่อยสารเพียง 60 % ภายใน 8 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งแบคทีเรีย และการปลดปล่อยของสารสกัดที่อยู่ในรูปเจลไคโตซานจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่อยู่ในรูปเจลไคโตซาน ที่ความเข้มข้น 25 mg/ml มีความเหมาะสมในการนำไปใช้ยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อเกิดสิวมากกว่าสารสกัดจากขมิ้นชันและใบบัวบกที่อยู่ในรูปเจลไคโตซาน

คำสำคัญ : เจลสมุนไพร เปลือกมังคุด ขมิ้น ใบบัวบก ไคโตซาน

Abstract

This research aimed to study the antimicrobial activity of 3 herbal plants extract, namely Mangosteen crude, Turmeric and Gotu Kola, on *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus*. Each herbal extract was mixed with chitosan gel, then its antimicrobial activity on *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus* was determined. It was found that all 3 herbal extracts in chitosan gel form could inhibit *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus* at a minimum concentration of 25, 50 and 200 mg/ml for Mangosteen, Turmeric and Gotu Kola extracts, respectively. A released amount of

Xanthone extract, which was in chitosan gel form, was 77.5 % in 8 hours, while released amounts of Curcumin, Asiaticoside and Asiatic acid extract were 60 % in 8 hours. When comparing the antimicrobial activity and the extract release of three herbal chitosan gel, it was found that Mangosteen crude extract at concentration of 25 mg/ml was more suitable for antimicrobial activity of acne - inducing bacteria than Turmeric and Gota Kola extracts.

Keywords : herbal extract, antibacteria, chitosan

1. บทนำ

สารสกัดจากสมุนไพรของไทยมีมากมายหลายชนิดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย เช่น สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีสารออกฤทธิ์คือ แซนโทน (Xanthones) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* อันเป็นสาเหตุของการเกิดหนอง [1] และพบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดสดโดยวิธีการสกัดเย็นด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด ในขณะที่สารสกัดจากขมิ้นชันมีฤทธิ์ด้านการอักเสบที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยแบคทีเรียที่ทำให้เกิดสิว *Propionibacterium acnes* [2] นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากใบบัวบกมีสารสำคัญคือ เอเชียติโคไซด์ (Asiaticoside) กรดมาเดคาสสิก (Madecassic acid) มาเดคาสโซไซด์ (Madecassosid) กรดเอเชียติค (Asiatic acid) ซึ่งมีฤทธิ์ด้านการอักเสบ [3] และมีฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* ได้ [4] จากสรรพคุณของเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก ในแง่ของการช่วยยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและลดอาการอักเสบ จึงทำให้ผู้วิจัยเลือกสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดมาทำการสกัดแล้วผสมกับไคโตซาน เพื่อทำให้อยู่ในรูปของเจลแล้วนำสารสกัดที่อยู่ในรูปเจลมาศึกษาการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อเกิดสิว ได้แก่ *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* โดยไคโตซานจะทำหน้าที่เป็นตัวกลาง (Matrix) ในการควบคุมการปลดปล่อยสารสกัดออกสู่สิ่งแวดล้อม และยังเป็นตัวเร่งกระบวนการการรักษาบาดแผลและช่วยลดการเกิดรอยแผลเป็นและป้องกันไม่ให้แผลติดเชื้อได้อีกด้วย [5] นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าสารละลายไคโตซานในกรดอะซิติก 1% (v/v) เป็นสารที่มีแนวโน้มป้องกันและกำจัดเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชได้ [6] และยังพบว่าไคโตซานสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ด้วยความเข้มข้น 5, 10, 20 mg/ml [7] โดยไคโตซานเข้าไปทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียและไปขัดขวางการรวมกลุ่มของกรดอะมิโนในเซลล์แบคทีเรีย [8]

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ต้องการผลิตสารสกัดสมุนไพรที่อยู่ในรูปเจลไคโตซานเพื่อยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว โดยเน้นศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด (เปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก) ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อเกิดสิว รวมทั้งคุณสมบัติการปลดปล่อยสารสกัดที่อยู่ในรูปเจลไคโตซาน เป็นส่วนหนึ่งที่เน้นศึกษาในงานวิจัยนี้เช่นกัน ซึ่งผลจากงานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการ

พัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรไทยและได้ผลิตภัณฑ์สมุนไพรไทยที่ใช้งานได้สะดวกเหมาะสมกับการใช้งาน
ปัจจุบัน

2. วิธีดำเนินงาน

2.1 ขั้นตอนการสกัดสารจากสมุนไพร

1. การสกัดสารจากขมิ้นชัน

นำขมิ้นชันมาทำการหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วอบที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปบดด้วย Ball mill และนำไปร่อนด้วยตะแกรงร่อนขนาด 80 Mesh ต่อจากนั้นนำผงขมิ้นที่ได้มาปริมาณ 7 g ทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย 95 % เอทานอล ปริมาตร 250 ml ทำการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยวิธี Soxhlet extraction เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ต่อจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออก ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator; รุ่น R-205 บริษัท BÜCHI, Switzerland)

2. การสกัดสารจากเปลือกมังคุด

นำผงเปลือกมังคุดที่ทำการบดและร่อนให้มีขนาด 80 Mesh มา 1 kg ทำการสกัดแบบการหมัก (Maceration) ด้วย 95 % เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ปริมาตร 4 ลิตร เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำสารที่หมักได้มากรองแยกกากออกด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำสารละลายที่ได้มาทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) ต่อจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไประเหยเป็นผงแห้ง ด้วยเครื่องระเหยแห้ง (Freeze dry; รุ่น A mmA 1-16LS บริษัท GHRIST, USA)

3. การสกัดสารจากใบบัวบก

นำใบบัวบกที่ล้างน้ำมาปริมาณ 1 kg ทำการปั่นด้วยเครื่องปั่นและทำการหมัก (Maceration) ด้วยน้ำกลั่นปริมาณ 2 ลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทำการคั้นแยกกากออก นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และทำการระเหยเป็นผงแห้ง ด้วยเครื่องระเหยแห้ง

นำสารสกัดที่ได้ทั้ง 3 ชนิดไปวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC; รุ่น 1200 บริษัท Agilent Technologies, USA)

2.2 การเตรียมสารสกัดให้อยู่ในรูปของเจลไลโคซาน

1. เตรียมสารละลายไลโคซานที่ความเข้มข้น 1.34 % และ 2 % (w/v) โดยนำผงไลโคซาน (HPLC Grade; MW 50,000 -60,000; Fluka USA) มาละลายใน 1 % กรดอะซิติก (โดยปริมาตร) จากนั้นนำไปเข้าที่อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง เพื่อให้ไลโคซานละลายหมด ปรับ pH ของสารละลายไลโคซานให้ได้ 7.0 ด้วยสารละลาย 10 % NH_4OH (โดยปริมาตร)

2. เตรียมสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 100, 50 และ 25 mg/ml โดยใช้ 1 % Dimethyl sulfoxide (โดยปริมาตร) เป็นตัวทำละลาย สารสกัดจากขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 100 และ 50 mg/ml โดยใช้ 95 % เอทานอล เป็นตัวทำละลาย และสารสกัดจากใบบัวบกที่ความเข้มข้น 200 mg/ml โดยใช้ 1 % Dimethyl sulfoxide (โดยปริมาตร) เป็นตัวทำละลาย

3. นำเจลไคโตซานที่เตรียมได้ในข้อ 1 ผสมกับสารสกัดแต่ละชนิดที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยมีอัตราส่วนไคโตซานต่อสารสกัด คือ 10 g ต่อ 1 ml

2.3 การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* ของสารที่อยู่ในรูปของเจลไคโตซานด้วยวิธี Disc diffusion technique

การหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบกที่อยู่ในรูปเจลไคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยทำการเปิด 5 ไมโครลิตรของสารสกัดที่อยู่ในรูปเจลไคโตซานแต่ละความเข้มข้น (ความเข้มข้นจากข้อ 2.2) และเจลไคโตซาน (ความเข้มข้นคือ 1.34 % และ 2 % (w/v)) ลงบนกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ปราศจากเชื้อโดยไคโตซานทำหน้าที่เป็นตัวควบคุม (control) แล้ววางกระดาษกรองบนจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้เพาะเลี้ยง *Staphylococcus aureus* บน Mueller Hinton Agar (MHA) บ่มในภาวะที่มีออกซิเจน และสำหรับ *Propionibacterium acnes* เพาะเลี้ยงบน Tryptic Soy Agar (TSA) บ่มในภาวะที่ไม่มีออกซิเจน การบ่มเลี้ยงแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดจะบ่มภายใต้อุณหภูมิ 35 - 37 °C เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง แล้วทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ (inhibition zone) ที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยวัดหน่วยเป็นมิลลิเมตร

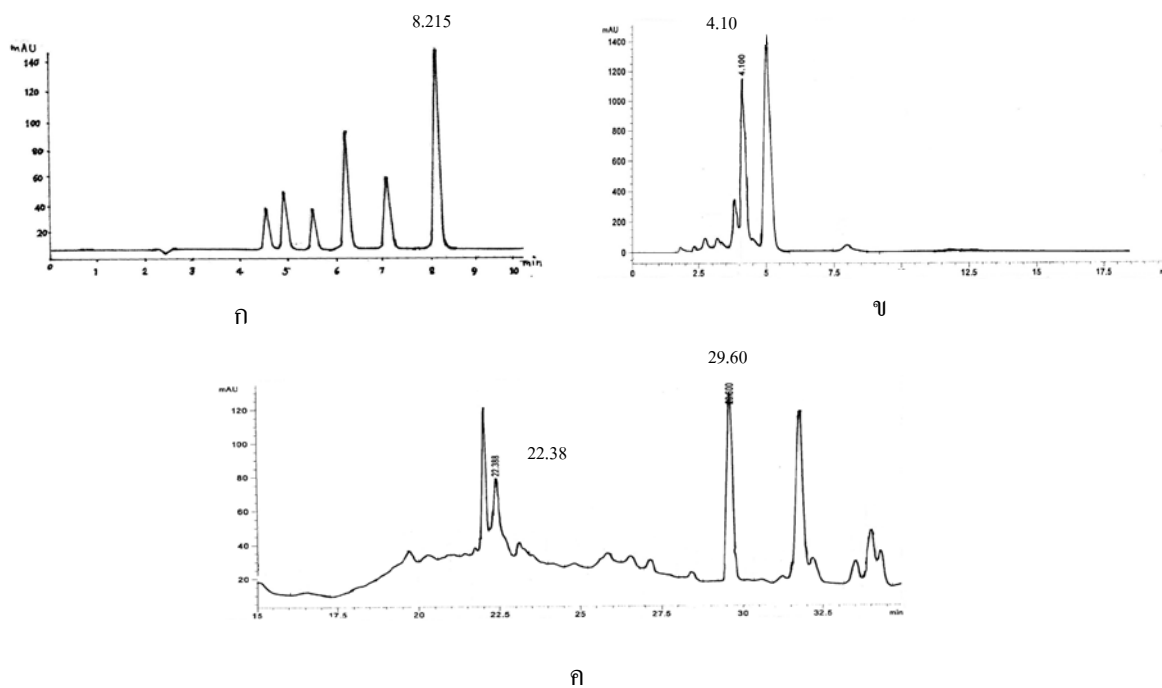
2.4 การทดสอบอัตราเร็วในการปลดปล่อยของสารสกัดที่อยู่ในรูปเจลไคโตซาน

ใช้เครื่องทดสอบการละลาย (Dissolution apparatus) ตามเกสซ์ตำรับของสหรัฐอเมริกา (Apparatus II, Paddle) โดยทำการทดสอบทั้งหมด 3 ชุด ดังนี้ ชุดที่ 1 คือ สารละลายของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชัน และใบบัวบกที่ไม่มีการเติมเจลไคโตซาน ชุดที่ 2 และ 3 คือ มีการเติมเจลไคโตซานให้กับสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชัน และใบบัวบก ที่มีความเข้มข้นของเจลไคโตซานเท่ากับ 1.34 % และ 2.00 % ตามลำดับ ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดที่ศึกษาจะใช้ความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดได้ โดยนำสารตัวอย่าง (ที่อยู่ในรูปเจลไคโตซาน) จำนวน 20 g ใส่ในตุ้มกลางคือ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ปริมาตร 900 ml ที่อุณหภูมิ 37 ± 0.5 °C และมีการหมุนของแกนหมุนโดยมีความเร็วรอบเท่ากับ 100 rpm ทำการสุ่มตัวอย่างที่เวลา 15 นาที 30 นาที 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 μm แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ ด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC)

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

3.1 ผลการสกัดสารจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก

จากการนำเปลือกมังคุด 1 kg มาทำการสกัดจะได้สารมีลักษณะเป็นผลึกผงสีม่วงเข้มปริมาณ 22.954 g ขมิ้นชัน 7 g เมื่อนำมาสกัดจะได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นน้ำมันผสมกับของเหลวสีเหลืองเข้มในปริมาณ 25 ml และใบบัวบก 1 kg เมื่อทำการสกัดจะได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นผงร่วนหยาบสีเขียวเข้มปริมาณ 21.362 g เมื่อวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสกัดพืชทั้ง 3 ชนิดด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC) แสดงดังกราฟจากรูปที่ 1 พบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีปริมาณสารแซนโทน (Xanthones) เท่ากับ 1.192 mg/g ของเปลือกมังคุด สารสกัดจากขมิ้นมีปริมาณสารเคอร์คูมิน (Curcumin) เท่ากับ 0.875 mg/g ของขมิ้นชัน และสารสกัดจากใบบัวบกมีปริมาณสารเอเชียติโคไซด์ (Asiaticoside) และกรดเอเชียติค (Asiatic acid) เท่ากับ 0.014 และ 0.096 mg/g ของใบบัวบกตามลำดับ



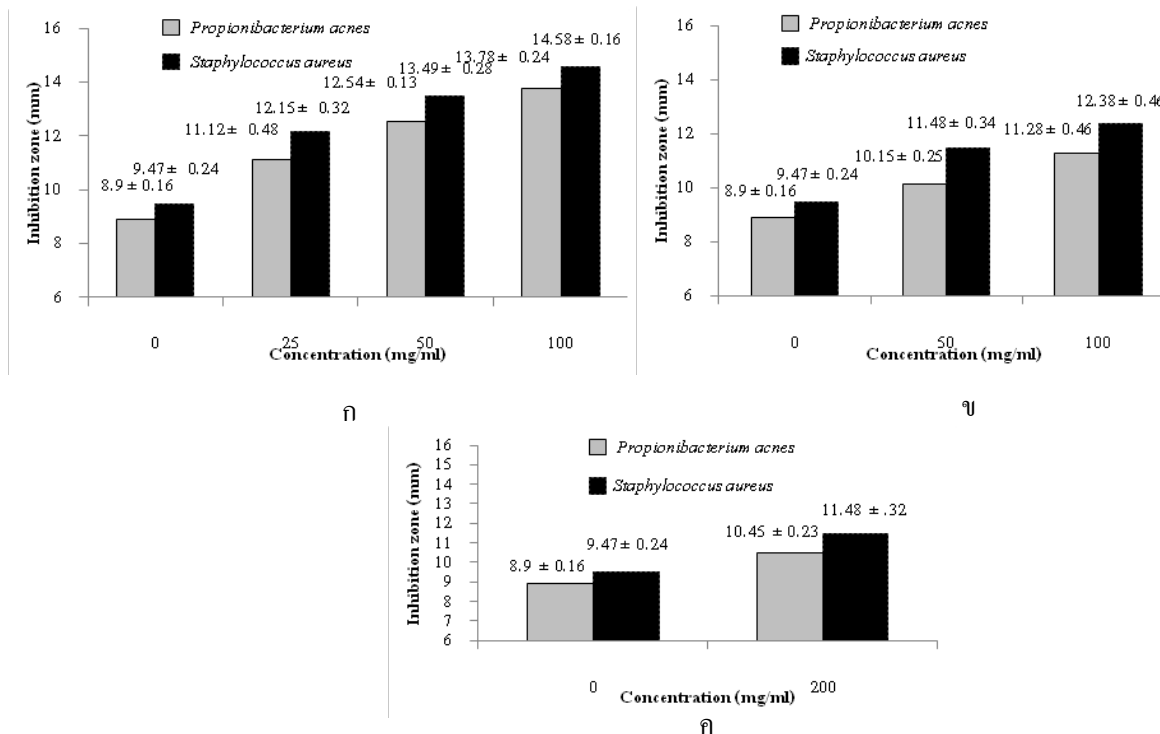
รูปที่ 1. โครมาโทแกรมของสารสกัด (ก) จากขมิ้นชันในสารละลาย 95% เมทานอล :C₁₈ Hypersil ODS :1 ml/min และเฟสเคลื่อนที่ 1% Acetic acid: Acetonitrile (45:55) :425 nm (ข) เปลือกมังคุด ในสารละลาย 95% เมทานอล: C₁₈ Hypersil :1 ml/min :5% Water in methanol :319 nm และ(ค) ใบบัวบกในสารละลาย 95% เมทานอล :C₁₈ Hypersil BDH :0.5 ml/: Acetonitrile: Water (20:80) :220 nm

3.2 ผลการทดสอบหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ของสารสกัดที่อยู่ในรูปของเจลไคโตซาน

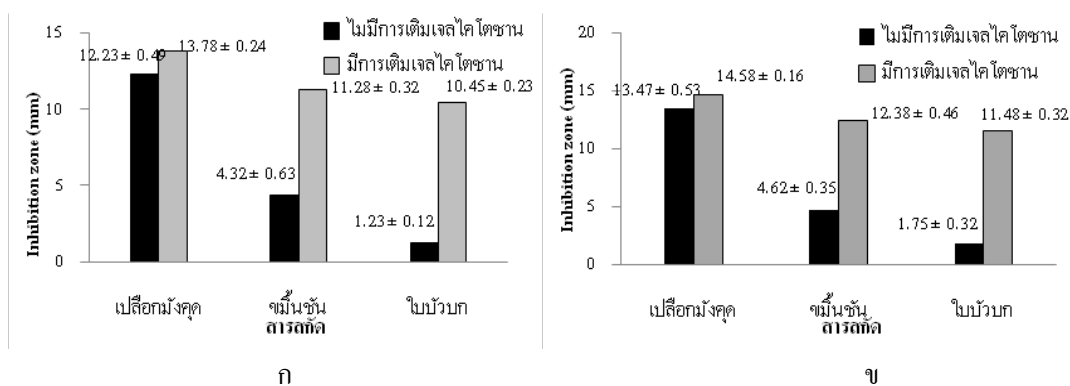
จากการศึกษางานวิจัยเบื้องต้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบกในการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) พบว่าค่า MBC ในการยับยั้ง *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก ที่ไม่ได้ผสมเจลไคโตซานมีค่าเท่ากับ 25, 50 และ 200 mg/ml ตามลำดับ จึงนำค่าความเข้มข้นดังกล่าวมาทำการศึกษาต่อในงานวิจัยครั้งนี้ โดยนำสารสกัดที่มีความเข้มข้นดังกล่าวมาผสมกับเจลไคโตซานที่มีความเข้มข้น 1.34 % และ 2 % (w/v) แล้วนำมาทดสอบหาบริเวณยับยั้งแบคทีเรีย (Inhibition zone) *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus*

ผลการทดลองบริเวณยับยั้งแบคทีเรีย (Inhibition zone) ของสารสกัดที่อยู่ในรูปของเจลไคโตซาน แสดงดังรูปที่ 2 ซึ่งพบว่าเจลไคโตซานที่ใช้เป็นตัวควบคุม (เจลไคโตซานที่ไม่มีสารสกัด) สามารถเกิดบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ได้เท่ากับ 9.86 mm ซึ่งสามารถยับยั้ง *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* และผลการยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ของการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าว ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่อยู่ในรูปเจลไคโตซานสามารถยับยั้งเชื้อได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด 25 mg/ml ในขณะที่สารสกัดจากขมิ้นชันมีความเข้มข้นที่ต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อได้ที่มีความเข้มข้น 50 mg/ml และสารสกัดจากใบบัวบกสามารถยับยั้งเชื้อได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด 200 mg/ml กล่าวได้ว่าสารสกัดแต่ละชนิดที่อยู่ในรูปเจลไคโตซานสามารถเกิดบริเวณยับยั้งเชื้อได้ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดค่าเดียวกันกับค่า MBC ของสารสกัดแต่ละชนิดที่ไม่ได้ผสมเจลไคโตซาน

เจลไคโตซานที่ใช้เป็นตัวควบคุมซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของ *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* ได้นั้น มีรายงานว่าไคโตซานทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียและขัดขวางการรวมกลุ่มของกรดอะมิโนภายในเซลล์แบคทีเรีย [6] จึงผลให้การยับยั้ง *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่ไม่มีการเติมเจลไคโตซาน และเจลไคโตซานสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่า *Propionibacterium acnes* เนื่องจากแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดมีลักษณะโครงสร้างผนังเซลล์ต่างกันจึงทำให้การเข้าไปทำลายของเจลไคโตซานเกิดขึ้นได้ไม่เท่ากันในเวลาเดียวกัน ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 2. การเปรียบเทียบบริเวณยับยั้งในการยับยั้งการเจริญของ *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดที่อยู่ในรูปของเจลไอโซซานที่ความเข้มข้นต่างๆ (ก) เปลือกมังกุด (ข) ขมิ้นชัน (ค) ใบบัวบก

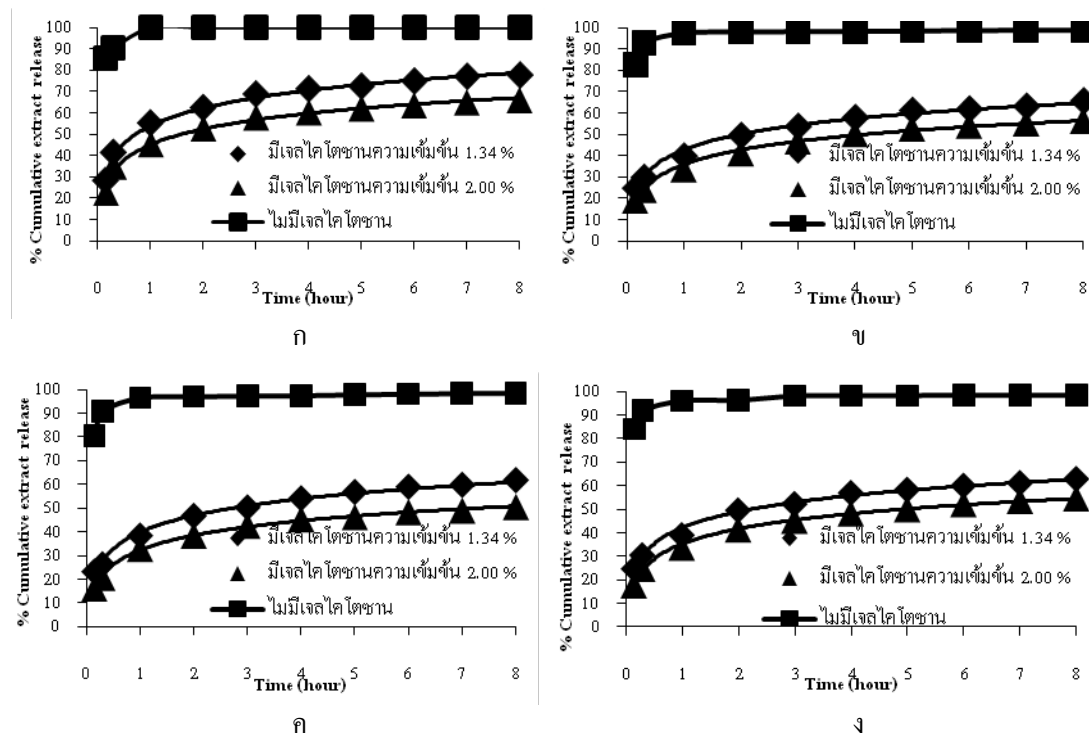


รูปที่ 3. เปรียบเทียบบริเวณยับยั้งการเจริญของสารสกัดจากเปลือกมังกุดและขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 100 mg/ml และสารสกัดจากใบบัวบกที่ความเข้มข้น 200 mg/ml ทั้งที่มีและไม่มีการเติมเจลไอโซซาน (ก) *Propionibacterium acnes* (ข) *Staphylococcus aureus*

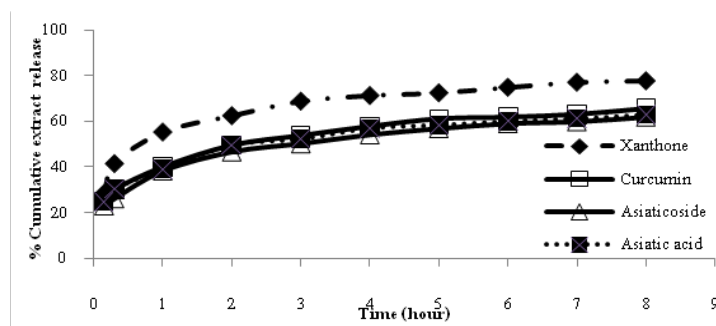
3.3 ผลการทดสอบอัตราเร็วในการปลดปล่อยของสารสกัดที่อยู่ในรูปเจลไคโตซาน

ผลการเปรียบเทียบการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ของสารแซนโทน สารเคอร์คูมิน สารเอเชียติโคไซด์และกรดเอเชียดิก ที่มีการเติมเจลไคโตซาน ที่ความเข้มข้น 1.34 % และ 2.00 % กับไม่มีการเติมเจลไคโตซาน แสดงในรูปที่ 4 จะเห็นว่าการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ของสารสกัดทั้ง 2 แบบ มีผลในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นปริมาณสารสะสมของสารออกฤทธิ์ที่ปลดปล่อยออกมาเพิ่มขึ้นตามเวลา

ในกรณีที่ไม่มีเจลไคโตซานสารออกฤทธิ์สามารถปลดปล่อยออกมาอย่างรวดเร็วใน 30 นาทีแรก ทำให้สารออกฤทธิ์ที่จะเข้าไปทำการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ศึกษาได้อย่างไม่มีประสิทธิภาพ เพราะสารออกฤทธิ์ที่ปลดปล่อยออกมามีปริมาณมากถึง 95 % ในช่วง 30 นาทีแรกเท่านั้น ทำให้ช่วงเวลาก่อนหน้านั้นเกินไปอาจทำให้ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้หมด เพราะช่วงเวลาของการฆ่าเชื้อ คือประมาณ 2 – 5 ชั่วโมงจึงจะสามารถฆ่าเชื้อได้หมด [9] ส่งผลให้สารออกฤทธิ์ไม่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อดังกล่าว และในกรณีที่มีการเติมเจลไคโตซาน พบว่าการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ออกมาประมาณ 50 - 60 % เกิดขึ้นภายใน เวลา 2 ชั่วโมง และจะค่อยๆ ปลดปล่อยออกมาอย่างต่อเนื่องภายในเวลา 8 ชั่วโมง จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเจลไคโตซานทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ในสารสกัดหรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือเป็นการนำไคโตซานมาใช้เป็นระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อย (Controlled release drug delivery systems) [10] ซึ่งสารออกฤทธิ์จะค่อยๆ ถูกปลดปล่อยออกมาจากระบบนำส่ง ทำให้ความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงเวลาของการฆ่าเชื้อตลอดเวลา ส่งผลให้สารออกฤทธิ์ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น แต่เจลไคโตซานที่ความเข้มข้น 1.34 % และ 2.00 % มีอัตราในการปลดปล่อยสารได้ไม่เท่ากัน กล่าวคือไคโตซานที่ความเข้มข้น 1.34 % มีการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ออกมาได้มากกว่าที่ความเข้มข้น 2.00 % ที่เวลาเดียวกัน ทั้งนี้เป็นเพราะว่าเจลไคโตซานที่มีความเข้มข้นมากกว่าจะสามารถเกิดพันธะกับโมเลกุลกับสารออกฤทธิ์ได้มากกว่าเจลไคโตซานที่มีความเข้มข้นน้อย ส่งผลให้มีการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์น้อยลง



รูปที่ 4. เปรียบเทียบการปลดปล่อยสารสกัดกรณีที่มีการเติมเจลาตินความเข้มข้นเท่ากับ 1.34 % และ 2.00 % กับกรณีที่ไม่มีการเติมเจลาตินที่เวลาต่างๆ กันในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 (ก) สารแซนโทนที่พบในสารสกัดจากเปลือกมังคุด (ข) สารเคอร์คูมินที่พบในสารสกัดจากขมิ้นชัน (ค) สารเอเชียติโคไซด์ที่พบในสารสกัดจากใบบัวบก (ง) กรดเอเชียติคที่พบในสารสกัดจากใบบัวบก



รูปที่ 5. เปรียบเทียบการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชัน และใบบัวบกที่อยู่ในรูปเจลาตินความเข้มข้นเท่ากับ 1.34 % ที่เวลาต่างๆ กัน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4

รูปที่ 5 แสดงการเปรียบเทียบการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชัน และใบบัวบกที่อยู่ในรูปเจลไคโตซานที่เวลาต่างๆ กัน ปริมาณสารแซนโทนที่ปลดปล่อยจากสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่อยู่ในรูปเจลไคโตซานจะถูกปลดปล่อยจากเจลไคโตซานออกมามากกว่า 60 % ภายใน เวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นการปลดปล่อยสารแซนโทนจะเป็นไปอย่างช้าๆ โดยสามารถปลดปล่อยสารแซนโทนออกมา 77.5 % ภายในเวลา 8 ชั่วโมง ทั้งนี้เป็นผลมาจากการที่ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่ชอบน้ำ (hydrophilic polymer) ซึ่งมีผลทำให้เกิดการบวมน้ำ คือสามารถเกิดการพองตัวทำให้มีการพองตัวอย่างรวดเร็วภายใน 30 นาทีแรก [8] ทำให้การปลดปล่อยสารแซนโทนออกมาปริมาณมากในช่วงแรก และจากนั้นเจลไคโตซานเกิดปฏิกิริยาการเชื่อมโยงระหว่างสายโซ่โพลีเมอร์ (Cross-linking) กับประจุฟอสเฟตในตัวกลาง ทำให้เจลไคโตซานมีลักษณะแข็งขึ้น การพองตัวลดลงส่งผลให้การปลดปล่อยสารแซนโทนลดลงด้วย ในขณะที่ปริมาณสารเคอร์คูมินที่ปลดปล่อยจากสารสกัดจากขมิ้นชันที่อยู่ในรูปเจลไคโตซาน และปริมาณสารเอเชิติกโคไซด์ และกรดเอเชิติกที่ปลดปล่อยจากสารสกัดจากใบบัวบกที่อยู่ในรูปเจลไคโตซาน จะถูกปลดปล่อยจากเจลไคโตซานออกมามากกว่า 50 % ภายในเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์จะเป็นไปอย่างช้าๆ โดยสามารถปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ออกมา 60 % ภายในเวลา 8 ชั่วโมง ทั้งนี้เป็นผลเช่นเดียวกับการปลดปล่อยสารแซนโทนที่ได้จากสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่อยู่ในรูปเจลไคโตซานข้างต้น

เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาในการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ที่ 8 ชั่วโมงเท่ากัน พบว่าการปลดปล่อยสารแซนโทนที่ได้จากสารสกัดเปลือกมังคุดที่อยู่ในรูปเจลไคโตซานมีปริมาณการปลดปล่อยมากที่สุดรองลงมาคือสารเคอร์คูมินที่ได้จากสารสกัดจากขมิ้นชันและสารเอเชิติกโคไซด์และกรดเอเชิติกที่ได้จากสารสกัดจากใบบัวบกที่อยู่ในรูปเจลไคโตซาน ทั้งนี้จะเป็นผลจากมวลโมเลกุลของสารแซนโทนที่มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 196.19 g/mol ซึ่งต่ำกว่ามวลโมเลกุลของสารเคอร์คูมิน สารเอเชิติกโคไซด์และกรดเอเชิติก ซึ่งมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 368.38, 488.70 และ 959.12 g/mol ตามลำดับ กล่าวคือสารที่มีมวลโมเลกุลต่ำจะมีการปลดปล่อยสารออกมามากกว่าสารที่มีมวลโมเลกุลสูงกว่า (อัตราการปลดปล่อยสารแปรผกผันกับมวลโมเลกุล) นอกจากนี้ความสามารถในการละลายน้ำที่ต่ำของสารเอเชิติกโคไซด์ กรดเอเชิติก และสารเคอร์คูมิน จึงทำให้ปริมาณสารที่ปลดปล่อยสู่ตัวกลางไม่ดีเท่ากับสารแซนโทน ซึ่งสามารถละลายในน้ำได้ดีกว่า

4. สรุปผลการวิจัย

ผลจากงานวิจัยนี้สามารถสรุปเป็นประเด็นที่สำคัญได้ดังนี้

4.1 สามารถสกัดสารแซนโทนได้ 1.192 mg/g ของเปลือกมังคุด สารเคอร์คูมิน เท่ากับ 0.875 mg/g ของขมิ้นชัน สารเอเชิติกโคไซด์และกรดเอเชิติก เท่ากับ 0.014 mg/g และ 0.096 mg/g ของใบบัวบกตามลำดับ

4.2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถเกิดบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ของ *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบกที่อยู่ในรูปเจลไคโตซาน คือที่ความเข้มข้น 25 mg/ml, 50 mg/ml และ 200 mg/ml ตามลำดับ

4.3 ไคโตซานมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียเชื้อ *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus*

4.4 การปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ของสารสกัดที่อยู่ในรูปเจลไคโตซาน พบว่าเมื่อครบเวลา 8 ชั่วโมง การปลดปล่อยสารแซนโทนที่ได้จากสารสกัดเปลือกมังคุดมีปริมาณการปลดปล่อยมากที่สุดรองลงมาคือสารเคอร์คูมินที่ได้จากสารสกัดจากขมิ้นชันและสารเอเชียติโกไซด์และกรดเอเชียติกที่ได้จากสารสกัดจากใบบัวบกตามลำดับ

4.5 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) พบว่าสารสกัดทั้งสามชนิดที่อยู่ในรูปของเจลไคโตซานไม่ส่งผลความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์ (human dermal fibroblast cell) ที่ใช้ในการทดสอบ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก กองทุนวิจัยคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

- [1] Sutabhaha, B., Dartrakoon, U., Furuya, T. and Nagumo, T., 1997. The Inhibitory Activities of Mangosteen's Pericarb Extract on Methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*. *Bull Chiang Mai Association Medical Sciences*, 30(1), 40-46.
- [2] Jain, A. and Basal, E., 2003. Inhibition of *Propionibacterium acnes* - Induced Mediators of Inflammation by Indian Herbs. *Phytomedicine*, 10, 34-38.
- [3] Vogel, H.G. and De Souza, N.J., 1990. Effect of Terpenoids Isolated from *Centella asiatica* on Granuloma Tissue. *Federal Republic of Germany*, 16(4), 285-298.
- [4] อารีรัตน์ ลออปักษา และ สุรัตนา อำนวยผล, 2531. การศึกษาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการติดเชื้อของระบบทางเดินหายใจ (ตอนที่ 1). *ไทยเภสัชสาร*, 13(1), 23-35.
- [5] ภาวดี เมระคานนท์, 2551. *ไคติน-ไคโตซาน*. ศูนย์เทคโนโลยีและวัสดุแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ กระทรวง วิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม.

- [6] พรพิมล สีคำ, 2549. ประสิทธิภาพของสารไคติน – ไคโตซานในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชบางชนิด และการผลิตสารไคติน-ไคโตซานจากเชื้อราในกลุ่ม *Zygomycetes*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- [7] วิสาดรี คงเจริญสุนทร และ จิราภรณ์ แก่นภักดี, 2545. ผลของไคโตซานในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC27854 *Salmonella group B*, และ *Salmonella group C*₂. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 7(1), 25-31.
- [8] สุชาดา วรรณชนะ, 2545. รายงานการวิจัยเรื่องศึกษาการปลดปล่อยและการซึมผ่านผิวหนัง จำลองของรูปแบบยาเตรียม (ฟิล์ม) methimazole สำหรับนำส่งยาทางผิวหนัง. ม.ป.ท. : ม.ป.พ.
- [9] ศุภยางค์ วรฤทธิคุณชัย และ หลิน กิจพิพิธ, 2548.ฤทธิ์ต้านเชื้อของสารสกัดสมุนไพรต่อ clinical isolates ของ methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*. วารสารสงขลานครินทร์, 27(ฉบับพิเศษ 2), 525-534.
- [10] น้อย เนียมสา และ มังกร ศรีสะอาด, 2552. การใช้ประโยชน์ฟิล์มไคโตซานเป็นระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อย. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 37(2), 147-156.