

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อม
ที่มีผลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง

A Study of Efficiency the Mixed Extract of Pistia Stratics *Helianthus embolic* Linn.
In inhibit the Microorganisms Causing Dermatitis

ทิวินา ภาคภูมิ* และ กัลยาภรณ์ จันตรี

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อม ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนัง โดยทำการทดลองหาฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Candida albican* และ *Proteus vulgaris* ของสารสกัดสมุนไพรผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมในอัตราส่วน 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 และ 3:1 พบว่าอัตราส่วน 1:3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Candida albican* ได้ดีที่สุดโดยวัดค่า Inhibition zone เฉลี่ยได้ 25.33 มิลลิเมตร และ 24.22 มิลลิเมตร ตามลำดับ สำหรับ อัตราส่วน 3:1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Proteus vulgaris* ได้ดีที่สุด วัดค่า Inhibition zone เฉลี่ยได้ 24 มิลลิเมตร เมื่อนำอัตราส่วนของสารสกัดผสม 1:3 มาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 3 ชนิด พบว่า *Staphylococcus aureus* และ *Candida albican* มีค่าเท่ากับ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน *Proteus vulgaris* มีค่าเท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้น สารสกัดผสมระหว่างมะขามป้อมและจอก ควรจะเป็นทางเลือกใหม่ สำหรับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติในการ ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังในอนาคต

คำสำคัญ: จอก มะขามป้อม ความเข้มข้นต่ำสุดที่มีต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

Abstract

A study of efficiency the mixed of Pistia stratics and Helianthus embolic Linn. In the ratio 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 and 3:1 were prepare for testing the antibacterial effects of *Staphylococcus aureus*, *Candida albican* and *Proteus vulgaris*. The studies showed that the ratio 1:3 mixed extract had the highest efficiency in inhibiting the growth of *S. aureus* and *C. albican* with the MIC (Minimum Inhibition Concentration) and the average

* ผู้ประสานงานหลัก (Corresponding Author)
email: thi29th@hotmail.com

inhibition zone of 25.33 mm and 24.22 mm, respectively, whereas the ratio 1:3 mixed extract was the best for *P. vulgaris* with the MIC of 31.25 mg/ml and 24 mm. In conclusion, the mixed of *P. stratics* and *H. embolic* Linn should be the alternative product for the treatment of bacteria infection and further studies are recommend.

Keywords: *Pistia stratics*, *Helianthus embolic* Linn, Minimum Inhibition Concentration (MIC)

บทนำ

สมุนไพรเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สำคัญและเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีคุณค่าของประเทศอย่างหนึ่งที่ต้องส่งเสริมให้นำมาใช้เป็นประโยชน์มากยิ่งขึ้น ปัจจุบันในส่วนของภาครัฐและภาคเอกชนบางแห่งได้มีความพยายามเพื่อพัฒนาและส่งเสริมที่จะให้มีการนำเอาประโยชน์จากพืชสมุนไพรมาใช้ให้มากยิ่งขึ้น โดยนำมาประยุกต์ แปรรูป เพื่อสะดวกและง่ายแก่การนำมาใช้ เช่น ยารักษาโรค เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์บำรุงร่างกาย(พร้อมจิต ศรลัมพ์, 2535) ดังนั้นถ้าได้มีการนำความรู้จากพืชสมุนไพรพัฒนานักอย่างจริงจังและต่อเนื่องก็จะช่วยลดการนำเข้าสารเคมี และยารักษาโรคจากต่างประเทศลงได้ รวมทั้งยังเป็นการสานต่อมรดกทางปัญญาของคนโบราณให้คงอยู่และแพร่หลายต่อไป โดยปกติ ผิวหนังเมื่อแรกเกิด จะไม่มีเชื้อแบคทีเรีย ต่อมาจะมีเชื้อแบคทีเรียอาศัยโดยไม่ก่อให้เกิดโรค (สมาลี เหลืองสกุล, 2530) และตามส่วนต่างๆของร่างกายจะมีเชื้อแบคทีเรียไม่เหมือนกัน หากแบคทีเรียมีมากก็ทำให้เกิดโรค หรือบริเวณนั้นมีสภาพแวดล้อมที่ผิดปกติ เช่น อับชื้น เสียดสี มีบาดแผล ติดเชื้อรา เชื้อไวรัส หรือร่างกายอ่อนแอ สาเหตุดังกล่าวทำให้เกิดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังได้หากรักษาช้าอาจจะทำให้เสียชีวิตได้ (จันจิรา อินตรา และคณะ, 2542). ซึ่งการวินิจฉัยทำได้โดยประวัติการเจ็บป่วย และการนำน้ำเหลืองหรือหนองจากบริเวณผื่นมาย้อมสีและเพาะเชื้อเพื่อหาสาเหตุ การรักษาส่วนใหญ่จะตอบสนองดีต่อยาปฏิชีวนะชนิดรับประทาน ยาปฏิชีวนะมักจะไม่ค่อยได้ผลและยังอาจทำให้เกิดระคายเคืองต่อผื่นด้วย และอาจทั้งปัญหาสารตกค้าง จึงทำให้เกิดปัญหาในระยะยาวตามมาได้ ไม่ว่าจะเป็นการแพ้ หรือทำให้ผิวเสียสภาพเนื่องจากสารเคมี ปัจจุบันจึงมีการค้นหาวิธีธรรมชาติบำบัดเข้ามาในการรักษาผิวพรรณมากขึ้นเพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาที่จะเกิดขึ้นจากสารเคมี

มะขามป้อม เป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณเป็นสารต้านแบคทีเรียบางชนิดด้วยเช่นกัน ดังในตำรายาพื้นบ้านที่ใช้มะขามป้อมที่เป็นผลสด ในการละลายเสมหะ แก้ไอ ส่วนผลแห้ง นำมาเป็นยาฝาดสมาน แก้ท้องเสีย บิด ริดสีดวงทวาร ใบ แก้ผื่นคัน ผิวหนังมีน้ำเหลือง ซึ่งนอกจากนี้แล้วในผลของมะขามป้อมยังมีวิตามินซีสูงประมาณ 1-1.8% คาร์โบไฮเดรตหลายชนิดและยังมีสารเคมีที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ที่มีคุณค่าต่อการนำมาใช้ในการบำรุงผิวพรรณด้วย (jemjira ศรีสวนพันธุ์ และคณะ, 2548) จอกเป็นพืชสมุนไพรอีกชนิดหนึ่งที่มีสรรพคุณต้านแบคทีเรียบางชนิดด้วยเช่นเดียวกัน ดังในตำรายาพื้นบ้าน ที่ใช้ใบที่เจริญเต็มที่ และควรเก็บในหน้าร้อนถึงจะดี นำมาล้างให้สะอาดและตัดรากออกให้หมด ใช้รักษาโรคผิวหนังเปื่อย น้ำเหลืองเสีย บำรุงธาตุ ช่วยย่อยอาหาร ช่วยเพิ่มน้ำในร่างกาย (หทัยรัตน์ จำปีเรือง และคณะ, 2548)

ดังนั้น หากตำรับยาที่พัฒนาขึ้นมาจากวัตถุดิบในประเทศ สามารถใช้ได้กับตัวยาที่รักษาโรคผิวหนังได้แล้ว จะทำให้ประเทศไทยได้รับประโยชน์อย่างมาก คือ ได้รับตำรับยาที่มีประสิทธิภาพสูงและราคาถูก การพัฒนาใช้วัตถุดิบใน

ประเทศที่มีการผลิตในปริมาณมากเช่นแป้งที่มีแหล่งผลิตในประเทศมาทดแทนสารสำเร็จรูปที่ต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศ จะช่วยให้ประเทศไทยไม่ต้องเสียดุลทางเศรษฐกิจในเรื่องนี้และเป็นหนทางสู่การพึ่งตนเองในอนาคตอีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่ทรัพยากรในประเทศและก่อให้เกิดการสร้างงานให้กับเกษตรกรไทยอีกด้วย

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดสอบสารสกัดผสมสมุนไพรระหว่างจอกและมะขามป้อม ซึ่งมีฤทธิ์ต่อเชื้อจุลินทรีย์ ที่ทำให้เกิดโรคทางผิวหนัง เพื่อเป็นข้อมูลและเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สบู่เหลว

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อม
2. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่เหลวโดยผสมสารสกัดผสมระหว่าง จอกและมะขามป้อม

ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. สกัดสารจากใบจอกด้วยตัวทำละลาย เอทานอล (ethanol) และสกัดสารจากผลมะขามป้อมด้วยตัวทำละลาย เอธิลอะซิเตท (ethyl acetate) (Daryl, S., Paulson., 1999)
2. ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมต่อเชื้อก่อโรคผิวหนังด้วยวิธี agar diffusion test
3. หาค่าความเข้มข้นต่ำสุด MIC (Minimal Inhibition Concentration) ของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้ง การเจริญของเชื้อก่อโรคผิวหนังได้
4. ทดลองพัฒนาวิธีการผลิตสบู่เหลวจากสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อม

วิธีการทดลอง

1. การเก็บและการเตรียมพืชสมุนไพร

เก็บตัวอย่างจอกและมะขามป้อม โดยนำจอกมาตัดส่วนรากออกก่อนและนำเฉพาะส่วนใบของจอกส่วนผลของมะขามป้อมมาล้างทำความสะอาด แล้วนำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม หลังจากนั้นนำไปปั่นให้ละเอียดและ อบใน ตู้อบความร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนเก็บในภาชนะที่ปิดสนิท

2. วิธีการสกัด

2.1 นำจอกที่บดละเอียดแล้วมาสกัดด้วยวิธีแช่ยู่ (maceration) โดยใช้ เอทานอล เป็นตัวทำละลาย แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน (หทัยรัตน์ จำปีเรือง และคณะ, 2548)

2.2 นำมะขามป้อมที่บดละเอียดแล้วมาสกัดด้วย Soxhlet apparatus ขนาด 250 มิลลิเมตร โดยใช้ เอธิลอะซิเตท (ethyl acetate) เป็นตัวทำละลายและ ใช้เวลาในการสกัด 18 ชั่วโมง (เขมจิรา ศรีสวนพันธุ์ และคณะ, 2548)

2.3 เมื่อได้สารสกัดทั้ง 2 ชนิดแล้วนำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary evaporator

3. วิธีการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมที่มีต่อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังด้วยวิธี

Disc diffusion test

3.1 ทำการเตรียมสารสกัด ผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมให้ได้อัตราส่วนเป็น 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1

w/w ตามลำดับ

3.2 นำเชื้อแต่ละชนิด มาทำการ Subculture แต่ละชนิดดังนี้ *S. aureus* ใช้อาหาร tryptic soy agar (TSA), *C. albican* ใส่ลงในอาหาร yeast Malt agar (YMA) ส่วน *P. vulgaris* ใส่ลงในอาหาร Mueller Hinton (MU) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเวลา 18-24 ชั่วโมง

3.3 เลือก โคลนีเดี่ยว (Isolate colony) ที่มีลักษณะเหมือนกัน โดยใช้ loop และส่วนบนของ colony ใส่ในน้ำกลั่น แล้ววัดความขุ่นให้เท่ากับมาตรฐาน (Mac Farland No. 0.5) ด้วยเครื่อง spectrophotometer วัดค่าดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 625 nm.

3.4 ใช้ cotton swab จุ่มเชื้อที่ปรับความขุ่นแล้วมาทำการ กด swab ข้างหลอดเพื่อป้องกันการได้รับเชื้อที่มากเกินไป streak เชื้อลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละจานเลี้ยงเชื้อ (plates) ที่จะทดสอบเป็น 3 ระบายโดยแต่ละระบายให้หมุน plates ไป 60 องศา จากการทำให้ swab ครั้งแรก

3.5 วาง disc ที่เตรียมไว้ลงบน จานเลี้ยงเชื้อ (plates) ให้ครบ 4 จุด ตามด้วย การปิเปต (pipette) สารสกัดผสมที่หาอัตราส่วนไว้มา 50 ไมโครลิตรใส่ให้ครบ 3 จุดส่วนอีก 1 จุด จะใส่น้ำกลั่นแทนสารสกัดผสม จนครบ 3 ข้ำ หลังจากนั้นนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 18-24 ชั่วโมง

3.6 อ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณที่ถูกยับยั้ง (clear zone) เป็นมิลลิเมตร

4. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคผิวหนัง (MIC: Minimum Inhibition Concentration) (S. Karuppusamy. et al, 2009)

4.1 เตรียมหลอดทดลองขนาดกลาง ชุดละ 15 หลอด เขียนตัวเลข 1-15 กำกับไว้ที่หลอดทั้ง 3 ชุด

4.2 ใช้ไมโครปิเปต ดูดสารที่ต้องการทดสอบ (1,600 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร) ลงในหลอดที่ 2 จากนั้น ดูดจากหลอดที่ 2 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ต่อในหลอดที่ 3 ทำเช่นนี้จนถึงหลอดที่ 14 (เปลี่ยน tip ขนาด 1 มิลลิลิตร ทุกครั้งที่เปลี่ยนหลอด) จากนั้นดูดสารจากหลอดที่ 14 จำนวน 1 มิลลิลิตร ทิ้งไป

4.3 ถ่ายเชื้อก่อโรคผิวหนังที่เทียบความขุ่นแล้ว ลงในหลอดทดลองที่ 2-14 หลอดละ 1 มิลลิลิตร ส่วนหลอดที่ 1 เป็น negative control และหลอดสุดท้าย (หลอดที่ 15) เป็น positive control

4.4 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง บันทึกผลการทดลองลงในตาราง โดยหลอดแรกของความเข้มข้นต่ำสุดซึ่งมีลักษณะใส จะเป็นหลอดที่มีค่า MIC

5. การทำสบู่เหลวสมุนไพร (ฉันทพันธ์ ดันดินฤพงษ์ และคณะ, 2543) สูตรของสบู่เหลวสมุนไพรที่ใช้เตรียมในครั้งนี้คือ

	% w/w
1. Texapon SBN	35
2. Lauramide ME	5
3. Finquat CT	3
4. Cetiol HE	3
5. สารสกัดสมุนไพร	2 เท่าของค่า MIC
6. Alcohol	5-7
7. PEG40 hydrogenated castor oil	8-15
8. Paragon II	0.5
9. Purified water qs.	100

วิธีเตรียม

1. ผสมสารในข้อ 1-4 เข้าด้วยกัน
2. ชั่งสารสกัดสมุนไพร (crude extract) ละลายในแอลกอฮอล์แล้วเติม PEG 40
3. เทข้อ 2 ลงในข้อ 1
4. เติมน้ำส่วนหนึ่ง พร้อมกับเติม Paragon II
5. เติมน้ำที่เหลือ และปรับปริมาตรด้วยน้ำ

6. การทดสอบฤทธิ์ของสบู่เหลวสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Candida albican* และ *Proteus vulgaris*

ทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ (Larry McKane *et al.*, 1985) ของสบู่เหลวสมุนไพรที่เตรียมไว้เพื่อเปรียบเทียบกับสบู่เหลวพื้น (Control) Dettol (สบู่ยา) และ Protex (สบู่ระงับเชื้อ) ดังต่อไปนี้

1. ป้าย เชื้อที่ใช้ทดสอบแบบ 3-dimension
2. วาง disc ลงบนจานเพาะเชื้อ (plates) ให้ครบ 4 จุด แล้วทำ การปิเปต (pipette) สบู่เหลวมา 50

ไมโครลิตร

จุดที่ 1: สบู่พื้น (control)

จุดที่ 2: สบู่เหลวสมุนไพร

จุดที่ 3: Dettol (สบู่ยา)

จุดที่ 4: Protex (สบู่ระงับเชื้อ)

3. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
4. วัดขนาดของ zone of inhibition

ผลการศึกษา

1. ผลผลิตที่ได้จากการสกัดจอกโดยวิธีแช่เย็น และผลผลิตที่ได้จากการสกัดมะขามป้อมโดยเครื่อง Soxhlet

Apparatus

เมื่อสกัดจอกด้วยวิธีแช่เย็น ได้ปริมาณสารสกัดหยาบ และลักษณะของสารสกัดหยาบที่ได้ ตามตารางที่ 1 และ เมื่อสกัดมะขามป้อมโดยเครื่อง Soxhlet Apparatus ได้ปริมาณสารสกัดหยาบ และลักษณะของสารสกัดหยาบที่ได้ ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณและลักษณะของสารสกัดหยาบของจอกโดยวิธีการแช่เย็น และสารสกัดหยาบของมะขามป้อม โดยการสกัดโดยเครื่อง Soxhlet apparatus

ผลผลิต	ชนิดตัวทำละลาย	น้ำหนักเริ่มต้น ที่ใช้สกัด (กรัม)	น้ำหนักที่ได้	ลักษณะสารสกัด
สารสกัดหยาบจอก	Ethanol	250	4.42	ก่อนเหนียว สีน้ำตาลเข้ม
สารสกัดหยาบ มะขามป้อม	Ethyl acetate	250	3.38	ก่อนเหนียว สีเขียวเข้ม

2. ผลการวิเคราะห์ inhibition zone จากการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อม

ผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อดังกล่าว ผู้วิจัยได้วัดขนาดของ Inhibition zone ตามภาพประกอบที่ 1 ได้ผลตามตารางที่ 2

เมื่อพิจารณาอิทธิพลของอัตราส่วนระหว่างจอกและมะขามป้อมที่อัตราส่วนต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* พบว่าอัตราส่วนของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมที่ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้มากที่สุด คือ อัตราส่วนที่ 1:3

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยของ Inhibition zone ที่ได้จากการทดสอบผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อม (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

อัตราส่วนของสารสกัด ผสมระหว่าง จอกและมะขามป้อม	ขนาดของ Inhibition zone (mm.)			รวม	ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3			
1:1	24.66	23.66	25.33	73.65	24.55	0.85
1:2	18.33	21.66	26.00	66.00	22.00	3.84
1:3	25.00	25.00	26.00	76.00	25.33	0.58
2:1	24.00	21.66	25.00	70.66	23.55	1.71
3:1	23.00	22.66	25.66	71.32	23.77	1.64

3. ผลการวิเคราะห์ inhibition zone จากการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albican* ของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อม

ผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อดังกล่าว ผู้วิจัยได้วัดขนาดของ Inhibition zone ตามภาพประกอบที่ 2 ได้ผลตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยของ Inhibition zone ที่ได้จากการทดสอบผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albican* ของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อม (หน่วยเป็นมิลลิเมตร) อัตราส่วนของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อม

อัตราส่วนของสารสกัด ผสมระหว่าง จอกและมะขามป้อม	ขนาดของ Inhibition zone (mm.)			รวม	ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3			
1:1	19.66	20.00	19.66	59.32	19.77	0.19
1:2	21.00	22.00	23.33	66.33	22.11	1.69
1:3	23.33	24.33	25.00	72.66	24.22	0.84
2:1	22.00	23.00	23.66	68.66	22.88	0.83
3:1	24.00	23.00	25.00	72.00	24.00	1.00

เมื่อพิจารณาอิทธิพลของอัตราส่วนระหว่างจอกและมะขามป้อมที่อัตราส่วนต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albican* พบว่าอัตราส่วนของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมที่ยับยั้งเชื้อ *Candida albican* ได้มากที่สุด คือ อัตราส่วนที่ 1:3

4. ผลการวิเคราะห์ **inhibition zone** จากการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Proteus vulgaris* ของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อม

ผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อดังกล่าว ผู้วิจัยได้วัดขนาดของ Inhibition zone ตามภาพประกอบที่ 3 ได้ผลตามตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของ Inhibition zone ที่ได้จากการทดสอบผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Proteus vulgaris* ของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อม (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

อัตราส่วนของสารสกัด ผสมระหว่าง จอกและมะขามป้อม	ขนาดของ Inhibition zone (mm.)			รวม	ค่าเฉลี่ย	ค่า เบี่ยงเบน มาตรฐาน
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3			
1:1	11.66	12.00	14.33	37.99	12.66	1.45
1:2	10.33	10.33	12.00	32.66	10.88	0.96
1:3	19.00	18.33	19.33	56.66	18.88	0.51
2:1	21.66	22.33	24.66	68.65	22.88	1.57
3:1	22.33	23.00	26.66	72.00	24.00	2.33

ซึ่งเมื่อพิจารณาอิทธิพลของอัตราส่วนระหว่างจอกและมะขามป้อมที่อัตราส่วนต่างๆต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Proteus vulgaris* พบว่าอัตราส่วนของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมที่ยับยั้งเชื้อ *Proteus vulgaris* ได้มากที่สุด คือ อัตราส่วนที่ 3:1

5. ผลการหาค่า MIC (Minimum Inhibition Concentration) ของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อม

จากการทดสอบผลของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*, *C. albican* และ *P. vulgaris* ที่อัตราส่วน 1:3 ที่ละลายใน DMSO (dimethyl sulfoxide) โดยใช้ความเข้มข้นตามตารางที่ 5 โดยพบว่าสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* และ *Candida albican* ได้ดีที่สุด ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับ *Proteus vulgaris* ได้ที่ค่าเท่ากับ MIC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามตารางที่ 5 และตารางที่ 6 จากข้อมูลข้างต้นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิด ได้คือ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคผิวหนัง ใช้สารสกัดผสมในปริมาณที่น้อย นำมาทำการตั้งตำรับสบู์เหลว

ตารางที่ 5 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อม

ค่าความเข้มข้นของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อม (mg/ml)								
500	250	125	62.50	31.25	15.62	7.81	3.90	1.95

ตารางที่ 6 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคผิวหนัง

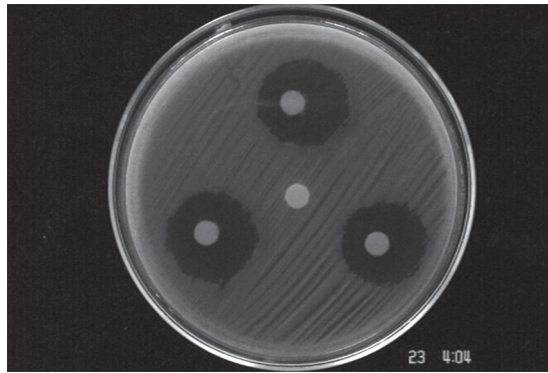
ชนิดของ เชื้อก่อโรคผิวหนัง	Minimum inhibition concentration: MIC (mg/ml)										
	ลำดับหลอด										
	1 NC	2 500	3 250	4 125	5 62.5	6 31.25	7 15.62	8 7.81	9 3.90	10 1.95	11 PC
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
<i>Candida albican</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
<i>Proteus vulgaris</i>	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+

หมายเหตุ NC (negative control) = อาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเดียว
 PC (positive control) = อาหารเลี้ยงเชื้อผสมกับเชื้อก่อโรคผิวหนังที่ทำการทดสอบ
 + (Positive) = สามารถ ยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคผิวหนังได้ (ใส)
 - (Negative) = ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคผิวหนังได้ (ขุ่น)

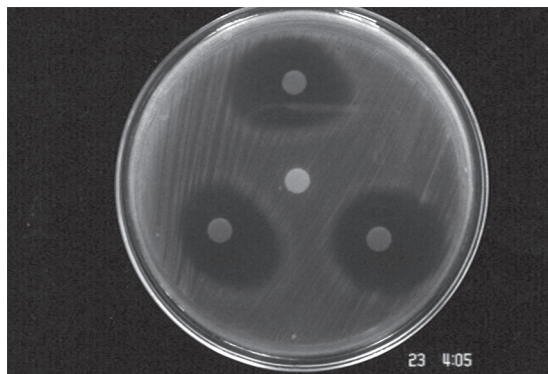
6. ผลการยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิดของผลิตภัณฑ์

เมื่อนำสบู์เหลวสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิด เปรียบเทียบกับสบู์เหลวพื้น Dettol (สบู์ยา) และ Protex (สบู์ระงับเชื้อ) ผลการทดลองเป็นไปตามรูปภาพที่ 8 สบู์เหลวสมุนไพรที่ได้มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อทั้ง 3 ชนิด ดีกว่าสบู์เหลวพื้น ทั้งนี้สบู์เหลวพื้นก็มีอำนาจในการต้านเชื้อ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการมีสารลดแรงตึงผิว เช่น Disodium laureth sulfosuccinate (Mackanate EL), Disodium cocamphodiacetate (Mackam AC) และ Sodium laureth sulfate (Texapon) ซึ่งอาจมีคุณสมบัติในการทำให้ cell wall ของเชื้อแตกได้ หรืออาจเป็นผลจากสารถนนอม ที่ใช้ในตำรับ

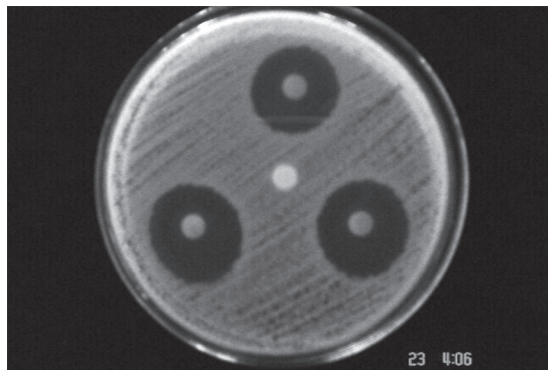
เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสบู์เหลวจากสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมกับสบู์เหลวที่จำหน่ายตามท้องตลาด พบว่า สบู์เหลวทั้ง 2 ชนิดนี้ มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อดีกว่า Dettol ที่เป็นสบู์ยา และ Protex ที่เป็นสบู์ระงับเชื้อ



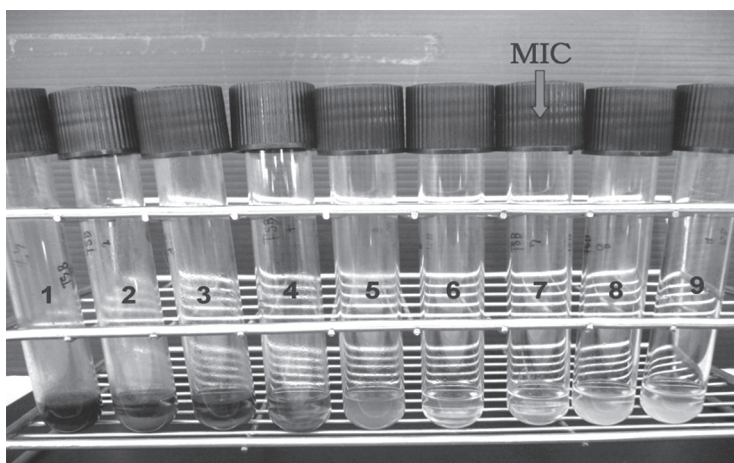
ภาพที่ 1ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมที่อัตราส่วน 1:3



ภาพที่ 2 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albican* ของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมที่อัตราส่วน 1:3



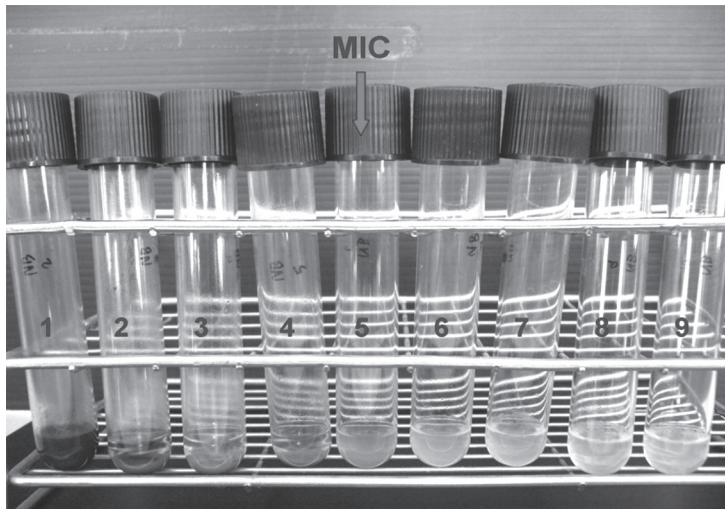
ภาพที่ 3 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Proteus vulgaris* ของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมที่อัตราส่วน 3:1



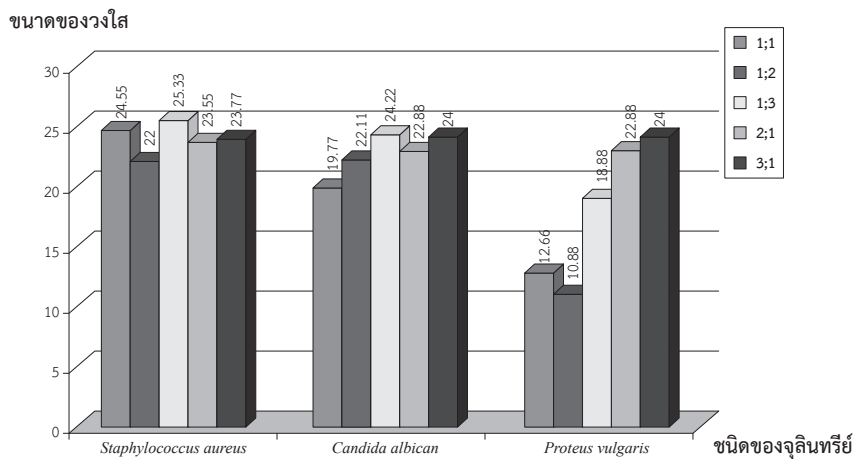
ภาพที่ 4 ประสิทธิภาพของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี broth dilution method โดยจากภาพสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้ออย่างชัดเจนได้ในหลอดที่ 7 ซึ่งมีความเข้มข้นของสารสกัด 7.81 mg/ml



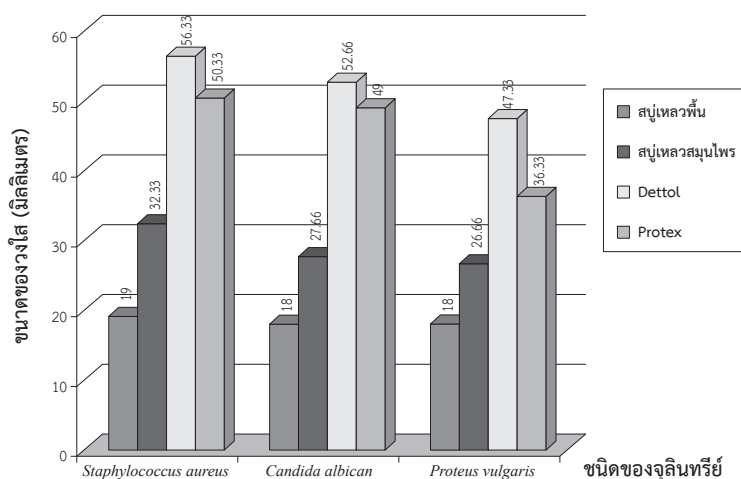
ภาพที่ 5 ประสิทธิภาพของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* ด้วยวิธี broth dilution method โดยจากภาพสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้ออย่างชัดเจนได้ในหลอดที่ 7 ซึ่งมีความเข้มข้นของสารสกัด 7.81 mg/ml



ภาพที่ 6 ประสิทธิภาพของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Proteus vulgaris* ด้วยวิธี broth dilution method โดยจากภาพสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้ออย่างชัดเจนได้ในหลอดที่ 5 ซึ่งมีความเข้มข้นของสารสกัด 31.25 mg/ml



ภาพที่ 7ฤทธิ์ของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Candida albican* และ *Proteus vulgaris* ที่อัตราส่วนที่ 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1



ภาพที่ 8ฤทธิ์ของสบู่เหลวต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Candida albican* และ *Proteus vulgaris*

สรุปผลการศึกษา

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคผิวหนัง 3 ชนิดคือ *Staphylococcus aureus*, *Candida albican* และ *Proteus vulgaris* โดยใช้สารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อม จอกสกัดด้วยวิธีแช่ขุ่ย (maceration) โดยใช้เอธานอล (ethanol) เป็นตัวทำละลาย และมะขามป้อมสกัดด้วย Soxhlet apparatus โดยใช้เอธิลอะซิเตต (ethyl acetate) เป็นตัวทำละลาย แล้วนำสารสกัดทั้ง 2 ชนิดไประเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary evaporator ผลที่ได้จอกมีปริมาณสารสกัดหยาบเท่ากับ 4.42 กรัม ลักษณะสารสกัดเป็นก้อนเหนียวสีน้ำตาลเข้ม ส่วนมะขามป้อมมีปริมาณสารสกัดหยาบเท่ากับ 3.38 กรัม ลักษณะสารสกัดเป็นก้อนเหนียวสีเขียวเข้ม จากนั้นจึงนำไปตรวจสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อด้วยวิธี Disc diffusion Test โดยนำสารผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมในอัตราส่วน 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1 w/w พบว่า ทุกอัตราส่วนมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคผิวหนังได้ทั้ง 3 ชนิด เมื่อพิจารณาอิทธิพลของอัตราส่วนระหว่างจอกและมะขามป้อมที่อัตราส่วนต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อพบว่าอัตราส่วนของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมอัตราส่วนที่ 1:3 สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Candida albican* ได้มากที่สุด ซึ่งวัดค่า Inhibition zone เฉลี่ยได้ 25.33 มิลลิเมตร, 24.28 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วน *Proteus vulgaris* สามารถยับยั้งได้ดีที่สุดที่อัตราส่วน 3: 1 วัดค่า Inhibition zone เฉลี่ยได้เท่ากับ 24 มิลลิเมตร ส่วนผลการทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดผสมที่ใช้ยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคผิวหนัง พบว่า ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Candida albican* มีค่า MIC เท่ากับ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน *Proteus vulgaris* มีค่า MIC 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาเตรียมเป็นสบู่เหลวสมุนไพร โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเป็นสองเท่าของค่า MIC ที่ได้มาผสมกับสาร Texapon SBN, Luramide ME, Finquat CT, Cetiol HE, Alcohol, PEG40, Paragon II แล้วทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Candida albican* และ *Proteus vulgaris* ด้วยวิธี disc diffusion test ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสบู่เหลวจากสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมกับสบู่เหลวพื้น (control) Dettol (สบู่ยา) และ Protex (สบู่ระงับเชื้อ) ที่จำหน่ายตามท้องตลาด พบว่า Dettol มีประสิทธิภาพ

ดีที่สุด รองลงมาเป็น Protex สบู่เหลวสมุนไพร และสบู่เหลวฟีนตามลำดับ ฉะนั้นเห็นว่า สบู่เหลวสมุนไพรมีประสิทธิภาพมากกว่าสบู่เหลวฟีนและมีประสิทธิภาพฆ่าเชื้อโรคได้ แม้ว่าจะมีประสิทธิภาพน้อยกว่า Dettol และ Protex แต่ไม่มีสารพิษตกค้างที่เป็นอันตรายต่อร่างกายและสิ่งแวดล้อม

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการทดลองปรับปรุงคุณสมบัติของสบู่เหลวสมุนไพร ให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ดื้อยาหรือดีกว่าสบู่ตามท้องตลาด
2. ควรพัฒนาสบู่เหลวสมุนไพรให้เป็นผลิตภัณฑ์สบู่ที่สะดวก ปลอดภัย และราคาถูกลงมาใช้ทดแทนยาปัจจุบัน
3. ควรทดสอบความพึงพอใจของผู้ใช้ผลิตภัณฑ์
4. ควรพัฒนาสูตรตำรับเพื่อสามารถผลิตในชั้นอุตสาหกรรมได้

เอกสารอ้างอิง

- เชมจิรา ศรีสวนพันธุ์และเอกรินทร์ แยมศรี. (2548). *การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดหยาบจากมะขามป้อม*. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต.
- ณัฐพันธุ์ ดันดินฤพงษ์, ตฤาภรณ์ ม่วงแดง. (2543). *การพัฒนาสบู่สมุนไพรต้านเชื้อ Propionibacterium acne*. คณะเภสัชศาสตร์ มหิดล.
- สุมาลี เหลืองสกุล. (2530). *ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดหนองของสารสกัดจากสมุนไพร 6 ชนิด*. การประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13, สงขลา
- หทัยรัตน์ จำปีเรือง และสุรีย์พร รื่นรมย์. (2548). *การสกัดหยาบจากจอก (Pistia stratiotes L.) ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคผิวหนัง*. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต.
- Daryl, S., Paulson. (1999). *Topical Antimicrobial Testing and Evaluation*. New York: Marcel Dekker Inc.
- Larry McKane & Judy Kandel. (1985). *Micro-Biology Essentials and Applications*. USA: McGraw-Hill Inc.
- S. Karuppusamy & K.M. Rajasekaran, (2009). *High Throughput Antibacterial Screening of Plant Extracts by Resazurin Redox with Special Reference to Medicinal Plants of Western Ghats*. India.

คณะผู้เขียน

อาจารย์ธิฐิมา ภาคภูมิ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

email: thi29th@hotmail.com

อาจารย์กัลยาภรณ์ จันตรี

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

email: kanlayaporn@yahoo.com