

## ประสิทธิภาพของเจลผสมสารสกัดหยาบโนราในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค

จิตติมา ละอองจิตติรัตน์<sup>1</sup> ศศมล ผาสุข<sup>2</sup> ปุณยณูช นิลแสง<sup>3\*</sup>

Received : April 9, 2020

Revised : April 25, 2020

Accepted : April 28, 2020

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณภาพและประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เจลผสมสารสกัดหยาบโนราในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus epidermidis* TISTR 518, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Staphylococcus aureus* TISTR 2329, *Streptococcus mutans* DMST 14283 และ *Proteus vulgaris* DMST 557 สารสกัดหยาบจากส่วนใบและลำต้นโนรามาทำการทดสอบก่อนการตั้งตำรับ (Pre-formulation) เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ หลังจากนั้นพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลผสมสารสกัดหยาบโนรา และทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคด้วยวิธี Disc diffusion method รวมถึงทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ในสภาวะเร่ง (Heating cooling cycle method) ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดหยาบจากใบและลำต้นโนรามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) อยู่ระหว่าง 3.9 - 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus epidermidis* TISTR 518 ได้ดีที่สุดโดยมีค่า MIC เท่ากับ 3.90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้สารสกัดหยาบจากใบมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากลำต้น ผลการทดสอบก่อนการตั้งตำรับในภาวะเคี่ยวดแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบโนรามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบลดลงเมื่อเกิดปฏิกิริยา Acid hydrolysis และมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นในสภาวะ Alkaline hydrolysis เมื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลผสมสารสกัดหยาบจากใบโนราและเจลผสมสารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา พบว่าเจลทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* TISTR 518, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 2329 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบโนรามีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคผิวหนังได้ อย่างไรก็ตามเมื่อทดสอบผลิตภัณฑ์เจลในสภาวะเร่ง พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นและประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียลดลง

**คำสำคัญ:** การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โนรา ผลิตภัณฑ์เจล

<sup>1</sup> นักศึกษาปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตร์ศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี อีเมล: panda2001\_31@hotmail.com

<sup>2</sup> รองศาสตราจารย์ หลักสูตรวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมเพื่อการพัฒนา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี อีเมล: sasamol@vru.ac.th

<sup>3</sup> ผู้ช่วยศาสตราจารย์ หลักสูตรวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมเพื่อการพัฒนา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี อีเมล: poonyanuch@vru.ac.th

\* ผู้นิพนธ์หลัก อีเมล: Poonyanuch@vru.ac.th

## EFFICACY OF GEL MIXED THE CRUDE EXTRACT OF *HIPTAGE CANDICANS* HOOK.F. IN INHIBITING PATHOGENIC BACTERIA

Thitima La-ongthitirat<sup>1</sup> Sasamol Phasuk<sup>2</sup> Poonyanuch Nilsang<sup>3\*</sup>

### Abstract

This research aims to study the quality and efficacy of gel products mixed with *Hiptage candicans* Hook.f crude extracts in inhibiting pathogenic bacteria. There are five strains including *Staphylococcus epidermidis* TISTR 518, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Staphylococcus aureus* TISTR 2329, *Streptococcus mutans* D 14283 and *Proteus vulgaris* DMST 557. The crude extracts from leaves and stems of *Hiptage candicans* Hook.f are taken for pre-formulation study to find the minimal inhibitory concentration (MIC). After that, it developed into gel products and tested the antibacterial effect by the disc diffusion method as well as testing the stability of the gel products in accelerated conditions. The results showed that crude extracts from leaves and stems were effective in inhibiting all five strains of pathogenic bacteria, with the minimal inhibitory concentration between 3.9 -125 milligram per milliliters. Further, the crude extract of leaves and stems showed highest antimicrobial activity against *S. epidermidis* TISTR 518 with MIC = 3.90 mg/ml. In addition, it was found that the crude extract from leaves showed more effective in antimicrobial activity than crude extracts from stems. The results of pre-formulation tests in stress conditions showed that the crude extract of *Hiptage candicans* Hook.f was less effective in inhibiting tested bacteria when acid hydrolysis occurred and increased efficiency in alkaline hydrolysis. When developed as a gel product, gels mixed crude extracts from leaves and gels mixed with crude extracts from stems. It found that the two gels were well performing in inhibition of *S. epidermidis* TISTR 518, *S. aureus* TISTR 1466 and *S. aureus* TISTR 2329. These results indicating that the *Hiptage candicans* Hook.f crude extracts had promising potential to develop as a product to control bacteria that cause skin disease. However, when testing the gel product in accelerated conditions, it was found that increased pH and reduced antibacterial effectiveness.

**Keywords:** Antibacterial Activity, *Hiptage candicans* Hook.f., Gel product

---

<sup>1</sup>Master student, Science Education Program. Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University, Pathumtani, Thailand e-mail: panda2001\_31@hotmail.com

<sup>2</sup>Associate Professor, Science and Innovation for Development Program, Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University, Pathumtani, Thailand e-mail: sasamol@vru.ac.th

<sup>3</sup>Assistant Professor, Science and Innovation for Development Program., Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University, Pathumtani, Thailand e-mail: Poonyanuch@vru.ac.th

\* Corresponding author, e-mail: Poonyanuch@vru.ac.th

## บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีพืชสมุนไพรอยู่มากมาย ด้วยความหลากหลายทางชีวภาพพันธุ์พืชต่าง ๆ จึงทำให้มีการศึกษาและพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ มากมายจากพืชสมุนไพร พืชท้องถิ่น พืชพื้นบ้าน (สุนทรีย์ จินธรรม และคณะ, 2562) มีการนำพืชดังกล่าวมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร (ปณญช นิลแสง และจิตติมา กอหรั่งกุล, 2561) ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์แปรรูปต่าง ๆ (Nilsang, 2018) เพื่อเป็นส่งเสริมการเพิ่มมูลค่าพืชท้องถิ่น ก่อให้เกิดเศรษฐกิจหมุนเวียนในชุมชน ปัจจุบันการใช้สารสกัดจากธรรมชาติในเครื่องสำอางกำลังเป็นที่นิยม เนื่องจากมีการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่จำเป็นต่อร่างกาย และมีผลดีต่อสุขภาพ เช่น สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic) แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) และฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นต้น ทิฐิมา ภาคภูมิ และคณะ (2559) ได้กล่าวไว้ว่าพืชมากกว่า 3000 ชนิดรวมทั้งพืชสมุนไพรในประเทศไทยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบอยู่เป็นจำนวนมาก โดยถือว่ากลุ่มสารประกอบฟีนอลิกเป็น secondary metabolite ที่พบได้ในพืชแทบทุกชนิดมีฤทธิ์ในการทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรีย นอกจากนี้คุณสมบัติที่สำคัญของฟีนอลิกคือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ปัจจุบันจึงมีงานวิจัยมากมายที่นำพืชสมุนไพร พืชท้องถิ่นมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางหรือเวชสำอางที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

โนรา (*Hiptage candicans* Hook.f.) มีชื่อท้องถิ่นว่ากำลังช้างเผือก หรือควายเก่าแม่ จัดอยู่ในวงศ์ MILPIGHIACEAE เป็นไม้พุ่มเลื้อยโตไวพบได้ทั่วไปในแถบประเทศ อินเดีย พม่า จีน ภูมิภาคอินโดจีนและมาเลเซีย ในประเทศไทยพบได้ทุกภาค มักขึ้นตามป่าเบญจพรรณ ป่าดิบแล้ง ป่าดิบเขา และป่าดิบชื้นใกล้ชายฝั่งทะเล หรือเขาหินปูน ที่มีความสูงถึงประมาณ 2000 เมตรจากระดับน้ำทะเล ใบและดอกใช้แก้ไข้ แก้ร้อนใน อารมณ์อึกเสบ และโรคผิวหนัง เนื้อไม้ใช้เป็นยาอายุวัฒนะ บำรุงกำหนด จากคำบอกเล่าจากภูมิปัญญาชาวบ้าน จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้มีการนำเปลือกของต้นโนราไปเป็นส่วนผสมของยาลม ยาหอม ลดการอักเสบเยื่อตา ช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย ลดการอักเสบ มีฤทธิ์ต้านเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังช่วยในการสมานแผล นิยมนำมาตากแห้งแล้วนำไปต้มในน้ำเพื่อให้สตรีเพิ่งคลอดบุตรดื่มเพื่อเรียกน้ำนม หรือให้หัว ควายรับประทานตอนตั้งครรรภ์ ประเทศอินเดียถือว่าโนราเป็นพืชสมุนไพรที่สำคัญที่ใช้เป็นยารักษาโรคในศาสตร์อายุเวท (Meena et al., 2014) มีงานวิจัยพบว่าทั้งส่วนของ ราก ใบ และลำต้นโนรา มีสารจำพวกสารฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิกและสารจำพวกคอนเดนส์แทนนิน (Condensed tannin) ในปริมาณสูงซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถนำมาใช้เป็นประโยชน์ในการรักษาโรคต่าง ๆ รวมถึงช่วยเสริมสร้างโมโนไซต์ซึ่งเป็นเซลล์ที่ปกป้องร่างกายจากแบคทีเรียและไวรัสในหนูทดลอง (สุรางค์รัตน์ พันแสง และพวงผกา แก้วกรม, 2562) นอกจากนี้ Hsu et al. (2015) ได้ทำการศึกษาพบว่าเปลือกของต้นโนรามีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ และมีรายงานว่าสารสกัดจากใบโนรามีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง (Bhukya & Yellu, 2018) Murugan and Mohan (2011) และ La-ongthitirat et al. (2019) พบว่า สารสกัดจากใบและเปลือกของลำต้นโนรามีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรบบางชนิดได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Samonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus vulgaris* และ *Streptococcus mutans* จากข้อมูลดังกล่าว งานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบและลำต้นโนราในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรบบางสายพันธุ์ ทั้งนี้ต้องมีการศึกษาก่อนการตั้งตำรับเพื่อตรวจสอบคุณภาพของสารสกัดในสภาวะเครียดที่แตกต่างกันและปริมาณสาร

สกัดที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่าและเพิ่มโอกาสการพัฒนาพืชท้องถิ่นในการต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ชุมชนต่อไป

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาคุณภาพและประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบโนราในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในระดับห้องปฏิบัติการ (In vitro)

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. ตัวอย่างพืช

โนราหรือกำลังช้างเผือก (*Hiptage candicans* Hook.f.) ได้จากอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ส่วนที่ใช้ในการทดลองคือส่วนของใบและลำต้นที่มีอายุ 1 ปี

### 2. แบคทีเรียทดสอบ

แบคทีเรียก่อโรคที่ใช้เป็นเชื้อทดสอบในการวิจัยนี้มีทั้งหมด 5 สายพันธุ์ ประกอบด้วย เชื้อ *Staphylococcus epidermidis* TISTR518, *Staphylococcus aureus* TISTR1466 และ *Staphylococcus aureus* TISTR2329 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (วว.) *Streptococcus mutans* DMST14283 และ *Proteus vulgaris* DMST557 จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

### 3. การสกัดสารจากโนราโดยการหมัก

การสกัดสารจากโนราโดยวิธีการหมักดัดแปลงจากวิธีการของ ศศมล ฝาสุข และประเสริฐ มีรัตน์ (2557) ดังนี้ นำส่วนใบและส่วนลำต้นของโนรามาทากแดดให้แห้งและบดให้ละเอียด ชั่ง 3 กิโลกรัม นำไปแช่ด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3-7 วัน กรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1 (Whatman No.1) ทำการหมักซ้ำ 3 รอบ นำไประเหยแห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) และให้ทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งเยือกแข็งแบบสุญญากาศ (Freeze dry) จะได้สารสกัดโนราจากส่วนใบ และสารสกัดจากส่วนลำต้น นำสารสกัดที่ได้เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ในการผลิตเจลต่อไป

### 4. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจล

#### 4.1 การศึกษาก่อนการตั้งตำรับ (Pre-formulation study)

สารสกัดจากส่วนใบและส่วนลำต้นของโนราจากการศึกษาเบื้องต้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทั้ง 5 สายพันธุ์ (La-onghitirat et al., 2019) เมื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลก่อนการตั้งตำรับ สูตรต้องทำการทดสอบในภาวะเครียด (Forced degradation study or stress test) เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของสารสกัดในสถานะที่แตกต่างกันตามข้อกำหนดของ Thai FDA guideline (จุไรรัตน์ รักวาทิน, 2547) โดยทำการทดสอบดังนี้

4.1.1. Moisture hydrolysis ซึ่งสารสกัด 500 มิลลิกรัม ใส่หลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นลงไป 3 หยด นำไปเข้าตู้อบความร้อน 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ

4.1.2. Acid hydrolysis ซังสารสกัด 500 มิลลิกรัม ใส่หลอดทดลอง เติม 3N HCl 3 หยด นำไปเข้าตู้อบความร้อน 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ

4.1.3. Alkaline hydrolysis ซังสารสกัด 500 มิลลิกรัม ใส่หลอดทดลอง เติม 3 N NaOH 3 หยด นำไปเข้าตู้อบความร้อน 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปรับค่า pH ให้เป็นกลางด้วย HCl จากนั้นนำไปทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ

4.1.4. Temperature degradation ซังสารสกัด 500 มิลลิกรัม ใส่หลอดทดลอง นำไปเข้าตู้อบความร้อน 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ

4.1.5. Oxidation ซังสารสกัด 500 มิลลิกรัม ใส่หลอดทดลอง เติม 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 หยด นำไปเข้าตู้อบความร้อน 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ

#### 4.2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคจากสารสกัดหยาดต้นโนรา

นำสารสกัดที่มีฤทธิ์สูงสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคมารพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจล โดยการตั้งตำรับเจลดัดแปลงจากชนิดา อีระนันท์กุล และदनัย ศิริบรรจงโชค (2549) แสดงดังตารางที่ 1 เปรียบเทียบ 3 สูตร คือ สูตรที่ 1 สูตรควบคุม (ไม่มีสารสกัด) สูตรที่ 2 ผลิตภัณฑ์เจลผสมสารสกัดหยาดจากใบโนรา และ สูตรที่ 3 ผลิตภัณฑ์เจลผสมสารสกัดหยาดจากลำต้นโนรา ผลิตภัณฑ์เจลที่ได้บรรจุใส่ในขวดแก้วที่ปราศจากเชื้อ และนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและคุณภาพของเจลต่อไป

ตารางที่ 1 ตำรับสูตรเจล

| สารเคมี                       | %w/w              |
|-------------------------------|-------------------|
| 1. น้ำกลั่น (Distilled water) | 95.2              |
| 2. คาโบเมอร์ (Carbomer)       | 2.00              |
| 3. ต่าง (Triethanolamine)     | 1.00              |
| 4. ไกลแติน (Glydant L Plus)   | 0.50              |
| 5. น้ำหอม (Fragrance)         | 0.10              |
| 6. ทวิน 80 (Tween 80)         | 0.20              |
| 7. Herbal extract (Active)    | 16 เท่าของค่า MIC |

ที่มา: ดัดแปลงจาก ชนิดา อีระนันท์กุล และदनัย ศิริบรรจงโชค (2549)

### 5. คุณภาพของผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจากสารสกัดโนรา

#### 5.1 การทดสอบความคงตัวของการผลิตผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจากสารสกัดโนรา

การศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์เจลผสมสารสกัดหยาดโนราในสภาวะแบบเร่ง ด้วยวิธี Heating cooling cycle ตามวิธีการของสุธิตา ชาญวานิชกุล และคณะ (2562) โดยแบ่งผลิตภัณฑ์เจลใส่ขวดแก้วทึบแสงปิดฝาเก็บในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบ 6 รอบ จากนั้นทำการบันทึกผล ดูการ

เปลี่ยนแปลง สี การแยกชั้นของเนื้อเจล ค่า pH และประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทดสอบ

## 5.2 การทดสอบการปนเปื้อนทางจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เจลผสมสารสกัดหยาบโนรา

ทดสอบตามเกณฑ์มาตรฐานของประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย พ.ศ. 2559 ในการตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ ได้แก่ การตรวจหาปริมาณจำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตทั้งหมด (Total aerobic microbial count) การตรวจสอบจำนวนยีสต์และราทั้งหมด (Total combined yeasts and molds count) การตรวจหา *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium* spp. และ *Candida albicans* ตามวิธีการของฐิติมา ละอองฐิติรัตน์ (2562) ดัดแปลงจากตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

## 6. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบและผลิตภัณฑ์เจลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

### 6.1 การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ด้วยวิธี macro broth dilution method ดัดแปลงจากวิธีมาตรฐานของ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI., 2009) โดยใช้สารสกัดหยาบที่ได้จากลำต้นและใบโนรา ความเข้มข้นระหว่าง 0-500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการเจือจาง two-fold serial dilution สารสกัดหยาบความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยอาหาร Muller Hinton Broth (MHB) โดยให้ความเข้มข้น 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625, 7.812, 3.906, 1.953, 0.977, 0.489, 0.245, 0.123, 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบโดยทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy agar (TSA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง เชื้อเชื้อที่เจริญแล้วบนอาหาร TSA ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton broth (MHB) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำไปปรับความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard เติมเชื้อแบคทีเรียทดสอบที่ปรับความขุ่นแล้วลงในสารสกัดทุกความเข้มข้นหลอดละ 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ โดยสังเกตจากความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากลำต้นและใบโนราที่เชื้อแบคทีเรียไม่สามารถเจริญได้เป็นค่า MIC

### 6.2 การศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เจลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบจากลำต้นและใบโนราในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Disc diffusion method (CLSI., 2009) โดยใช้ก้านพันสำลีปราศจากเชื้อจุ่มไปในหลอดเลี้ยงแบคทีเรียทดสอบที่ปรับค่าความขุ่นให้เท่ากับ McFarland standard 0.5 นำมาป้ายลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Agar (MHA) ทั้งไว้ 5 นาที จากนั้นใช้ปากคีบคีบกระดาษกรองที่มีเนื้อเจลทั้งสามสูตรในปริมาณที่เท่ากัน มาวางบนผิวหน้าจานเพาะเชื้อ ได้แก่ เจลสูตรควบคุม เจลผสมสารสกัดหยาบลำต้นโนรา และเจลผสมจากสารสกัดหยาบจากใบโนรา ทำการทดสอบพร้อมแผ่นยาปฏิชีวนะ Clindamycin ความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวัดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใส (Inhibition zone) หน่วยเป็น มิลลิเมตร

## ผลการวิจัยและอภิปรายผล

### 1. ผลการศึกษาก่อนการตั้งตำรับ (Pre-formulation study)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดก่อนการตั้งตำรับสูตรเจลโดยการนำสารสกัดหยาบจากส่วนใบโนราและสารสกัดหยาบจากส่วนลำต้นโนรามาทดสอบในสภาวะเครียด เพื่อให้เป็นตามข้อกำหนดของมาตรฐาน Thai FDA guideline และเพื่อให้ทราบปริมาณสารสกัดที่เหมาะสมกับการเติมในผลิตภัณฑ์เจลและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย (พรเทพ เต็มรังษี, 2554) ผลการทดสอบดังตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากใบและลำต้นโนรามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบทั้ง 5 สายพันธุ์โดยพบว่าสารสกัดหยาบจากใบมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นต่อเชื้อ *S. aureus* TISTR1466 *S. aureus* TISTR2329 และ *P. vulgaris* DMST557 และมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* TISTR518 และ *S. mutans* DMST14283 เท่ากัน โดยพบว่าสารสกัดจากใบและลำต้นโนรามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* TISTR518 ได้ดีที่สุดในเมื่อพิจารณาจากค่า MIC ต่ำที่สุด (3.90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือ *S. aureus* ทั้งสองสายพันธุ์ *P. vulgaris* DMST557 และ *S. mutans* DMST14283 ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบโนรามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคทางผิวหนัง ได้แก่ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ดีกว่าเชื้อ *P. vulgaris* ซึ่งเป็นแบคทีเรียฉวยโอกาสที่พบในลำไส้ และ *S. mutans* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุ

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของสารสกัดก่อนการตั้งตำรับสูตรเจลที่มีปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

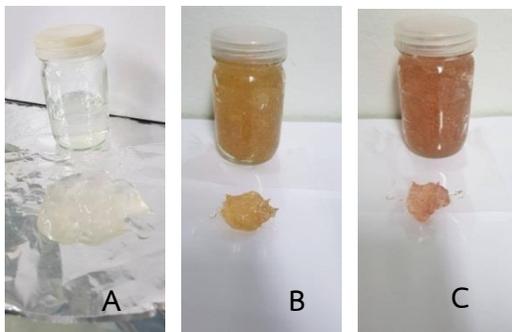
| สารสกัด<br>หยาบ | วิธีทดสอบ               | ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญ (MIC) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร |                               |                                   |                               |                               |
|-----------------|-------------------------|---|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                 |                         | <i>S. aureus</i><br>TISTR1466                                   | <i>S. aureus</i><br>TISTR2329 | <i>S. epidermidis</i><br>TISTR518 | <i>S. mutans</i><br>DMST14283 | <i>P. vulgaris</i><br>DMST557 |
| ใบโนรา          | MIC ก่อนทดสอบ           | 7.81  | 7.81                          | 3.90                              | 125                           | 62.5                          |
|                 | MIC หลังทดสอบ           |   |                               |                                   |                               |                               |
|                 | Moisture hydrolysis     | 3.90  | 3.90                          | 1.95                              | 250                           | 250                           |
|                 | Acid hydrolysis         | 31.25   | 31.25                         | 31.25                             | 250                           | 125                           |
|                 | Alkaline hydrolysis     | 3.90  | 3.90                          | 1.95                              | 62.5                          | 31.25                         |
|                 | Temperature degradation | 3.95  | 3.95                          | 3.95                              | 125                           | 125                           |
|                 | Oxidation               | 7.81  | 7.81                          | 3.90                              | 125                           | 125                           |
| ลำต้นโนรา       | MIC ก่อนทดสอบ           | 15.63   | 15.63                         | 3.90                              | 125                           | 125                           |
|                 | MIC หลังทดสอบ           |   |                               |                                   |                               |                               |
|                 | Moisture hydrolysis     | 7.81  | 7.81                          | 1.95                              | 250                           | 250                           |
|                 | Acid hydrolysis         | 15.63   | 15.63                         | 31.25                             | 250                           | 125                           |
|                 | Alkaline hydrolysis     | 7.81  | 7.81                          | 1.95                              | 62.5                          | 31.25                         |
|                 | Temperature degradation | 7.81  | 7.81                          | 3.95                              | 500                           | 500                           |
|                 | Oxidation               | 7.81  | 7.81                          | 3.90                              | 500                           | 500                           |

เมื่อนำสารสกัดหยาบมาทำการทดสอบสภาวะเครียดแต่ละสภาวะ เพื่อทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดหยาบโนรา ก่อนการนำไปตั้งตำรับสูตรเจล โดยวิธี Macro broth dilution method พบว่าการทดสอบในสภาวะ Acid hydrolysis ทำให้ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากใบในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ลดลง (ค่า MIC เพิ่มขึ้น) ในทางตรงกันข้าม Alkaline hydrolysis กลับทำให้ประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบเพิ่มขึ้น (MIC ลดลง) นอกจากนี้ Temperature degradation และ Moisture hydrolysis ในสารสกัดหยาบจากใบทำให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* TISTR1466 *S. aureus* TISTR2329 และ *S. epidermidis* TISTR518 ลดลง ในขณะที่ปฏิกิริยา Oxidation ไม่มีผลกับการเปลี่ยนแปลงค่า MIC จากสารสกัดหยาบจากใบโนรากับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ พรเทพ เต็มรังษี (2554) ซึ่งอธิบายว่าความเป็นกรดของสารที่เตรียมจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารสกัดในกลุ่มของ flavonoid ที่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพได้เมื่ออยู่ในสภาวะกรดหรือต่าง ในทางตรงกันข้าม ในสภาวะที่เป็นด่างกลับมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่มีการสร้างหนองเช่น *S. aureus*

สำหรับสารสกัดจากลำต้นโนรา พบว่า ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ *S. aureus* TISTR1466 *S. aureus* TISTR2329 และ *S. epidermidis* TISTR518 เป็นไปในทิศทางเดียวกับสารสกัดจากส่วนใบแต่มีค่า MIC ที่สูงกว่า ในขณะที่สภาวะ Acid hydrolysis ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า MIC ของเชื้อ *S. aureus* TISTR1466 *S. aureus* TISTR 2329 ผลการทดสอบในสภาวะเครียดของเชื้อ *P. vulgaris* DMST557 และ *S. mutans* DMST14283 จากสารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา พบว่า การทดสอบ Moisture hydrolysis, Acid hydrolysis, Temperature degradation และ Oxidation มีผลทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อลดลง จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเป็นกรดมีผลต่อฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ดังนั้นในการทำผลิตภัณฑ์เจล ต้องมีการ hydrolysis เพิ่มอุณหภูมิ ใช้สภาวะที่เป็นด่าง จึงทำให้ flavonoid สลายโมเลกุลและออกฤทธิ์ได้ดี จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดก่อนการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจล สรุปได้ว่าสารสกัดหยาบจากใบและลำต้นโนรา มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 5 สายพันธุ์ในทุกสภาวะทดสอบที่ค่า MIC เท่ากับ 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

## 2. ผลการศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์เจลผสมสารสกัดหยาบต้นโนรา

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากใบและลำต้นโนราพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค โดยทำการเปรียบเทียบ 3 สูตร สูตรที่ 1 คือเจลที่ไม่มีสารสกัด (สูตรควบคุม) สูตรที่ 2 เจลผสมสารสกัดหยาบจากใบโนรา และสูตรที่ 3 เจลผสมสารสกัดจากลำต้นโนรา ดังภาพที่ 1 จะเห็นได้ว่าเจลสูตรควบคุม (ภาพที่ 1A) จะไม่มีสี มีลักษณะเนื้อใส มีค่า pH เท่ากับ 7.00 ส่วนเนื้อเจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบจากใบโนราจะมีสีเขียวอ่อน (ภาพที่ 1B) ส่วนเจลที่มีส่วนผสมสารสกัดหยาบลำต้นโนราจะมีสีชมพูอ่อน (ภาพที่ 1C) โดยที่เจลผสมสารสกัดหยาบใบโนราจะมีสีอ่อนกว่าเจลผสมสารสกัดหยาบจากส่วนลำต้น เมื่อนำมาทดสอบการคงสภาพทางกายภาพและทางเคมี การปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในเครื่องสำอางตามประกาศมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข (2559) ก่อนและหลังจากสภาวะเร่ง ได้ผลดังตารางที่ 3



ภาพที่ 1 ผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบโนรา

A = สูตรควบคุม B = เจลจากสารสกัดหยาบใบโนรา C = เจลจากสารสกัดหยาบลำต้นโนรา

ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่า เนื้อเจลจากสารสกัดหยาบใบโนรา มีลักษณะใส หนืดเล็กน้อย และมีสีเขียวอ่อนของใบ วัดค่าความเป็นกรด-เบส มีค่า pH 6.75 ไม่พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เจล และ เนื้อเจลผสมสารสกัดหยาบลำต้นโนรา มีลักษณะใส หนืดเล็กน้อย และมีสีชมพูอ่อน วัดค่าความเป็นกรด-เบส มีค่า pH 6.75 ไม่พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เจลเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข (2559) ซึ่งระบุไว้ว่าห้ามผลิต หรือขายเครื่องสำอางที่ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ดังต่อไปนี้ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* และเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสมุนไพรต้องไม่พบ *Clostridium* spp. และจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ (Total aerobic plate count) ต้องไม่เกิน 1000 โคโลนีต่อกรัม หรือลูกบาศก์เซนติเมตร เมื่อนำผลิตภัณฑ์เจลไปทำการทดสอบในสภาวะเร่งด้วยวิธี heating cooling cycle method 6 รอบ พบว่าเนื้อเจลผสมสารสกัดหยาบใบโนรา มีลักษณะใส หนืดเล็กน้อย และมีสีเข้มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อทำการทดสอบโดยพินิจค่า pH เพิ่มขึ้นเป็น 7.81 ไม่พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์เช่นเดียวกับลักษณะทางกายภาพของเนื้อเจลผสมสารสกัดหยาบลำต้นโนราที่มีค่า pH เพิ่มขึ้นเป็น 8.00 ซึ่งค่า pH ที่เพิ่มขึ้นหลังจากสภาวะเร่งของผลิตภัณฑ์เจลทั้งสองชนิดอยู่ที่ 7.8-8.0 ซึ่งเป็นค่า pH ที่แตกต่างไม่เหมาะสมกับการเป็นผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับผิว ทั้งนี้ความแตกต่างจะทำให้เกราะปกป้องผิวตามธรรมชาติถูกทำลาย สูญเสียน้ำและผิวแห้งเสีย ทำให้ผิวบอบบาง แพ้ง่าย pH ที่เหมาะสมกับผิวควรอยู่ในช่วง 4-6 (Yogesh et al., 2012) ดังนั้นควรมีแนวทางในการปรับปรุงผลิตภัณฑ์ในด้านนี้ต่อไป

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เจลผสมสารสกัดหยาบโนรา

| การทดสอบ                      | เจลผสมสารสกัดหยาบ<br>จากใบโนรา       |  | เจลผสมสารสกัดหยาบ<br>จากลำต้นโนรา    |  | เกณฑ์<br>มาตรฐาน<br>กระทรวง<br>สาธารณสุข<br>พ.ศ. 2559 |
|-------------------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|--|---|
|                               | ก่อนสภาวะเร่ง                        | หลังสภาวะเร่ง  | ก่อนสภาวะเร่ง                        | หลังสภาวะเร่ง  |   |
| <b>ทางกายภาพ</b>              |                                      |  |                                      |  |   |
| ลักษณะเนื้อสัมผัส             | เนื้อเจลใส<br>มีความหนืด<br>เล็กน้อย | -เนื้อเจลขุ่นขึ้น<br>เล็กน้อยมีความ<br>หนืดเพิ่มขึ้น | เนื้อเจลใส<br>มีความหนืด<br>เล็กน้อย | เนื้อเจลขุ่นขึ้น<br>เล็กน้อย มีความ<br>หนืดเพิ่มขึ้น | ไม่ระบุ   |
| สีของเนื้อเจล                 | สีเขียวอ่อน                          | สีเข้มขึ้น   | สีชมพูอ่อน                           | สีเข้มขึ้น   |   |
| <b>ทางเคมี</b>                |                                      |  |                                      |  |   |
| ค่า กรด-เบส                   | 6.75                                 | 7.81   | 6.75                                 | 8.00   | ไม่ระบุ   |
| <b>ทางจุลชีววิทยา</b>         |                                      |  |                                      |  |   |
| จำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตทั้งหมด | ไม่พบ                                | ไม่พบ  | ไม่พบ                                | ไม่พบ  | ต้องไม่เกิน<br>1,000<br>โคโลนี/กรัม                   |
| จำนวนยีสต์และราทั้งหมด        | ไม่พบ                                | ไม่พบ  | ไม่พบ                                | ไม่พบ  | ต้องไม่เกิน<br>1,000<br>โคโลนี/กรัม                   |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | ไม่พบ                                | ไม่พบ  | ไม่พบ                                | ไม่พบ  | ต้องไม่พบ   |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ไม่พบ                                | ไม่พบ  | ไม่พบ                                | ไม่พบ  | ต้องไม่พบ   |
| <i>Clostridium spp.</i>       | ไม่พบ                                | ไม่พบ  | ไม่พบ                                | ไม่พบ  | ต้องไม่พบ   |
| <i>Candida albicans</i>       | ไม่พบ                                | ไม่พบ  | ไม่พบ                                | ไม่พบ  | ต้องไม่พบ   |

### 3. ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของผลิตภัณฑ์เจลผสมสารสกัดหยาบต้นโนรา

เมื่อนำผลิตภัณฑ์เจลที่ได้จากสารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรา มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคด้วยวิธี Disk Diffusion ก่อนและหลังจากทดสอบสภาวะเร่ง ได้ผลการวิจัยดังตารางที่ 4 และ 5

ผลการทดสอบในตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่า ผลิตภัณฑ์เจลผสมจากสารสกัดหยาบจากใบโนราก่อนนำไปทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดีที่สุด คือ *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *S. epidermidis* TISTR518, *P. vulgaris* DMST557 และ *S. mutans* DMST14283 ตามลำดับ (ภาพที่ 2) โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใส (Inhibition zone) เท่ากับ  $10.33 \pm 0.58$ ,  $10.33 \pm 0.58$ ,  $10.33 \pm 0.58$ ,  $9.67 \pm 0.58$ ,  $8.33 \pm 0.58$  มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อนำผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัด

หายาจากไบโอร่าที่ผ่านการทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียอีกครั้ง พบว่า ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสของเชื้อ *S. aureus* TISTR2329, *S. aureus* TISTR1466, *S. epidermidis* TISTR518, *P. vulgaris* DMST557 และ *S. mutans* DMST14283 มีค่าเท่ากับ  $7.43 \pm 0.58$ ,  $7.33 \pm 0.58$ ,  $7.33 \pm 0.58$ ,  $6.67 \pm 0.58$  และ  $6.60 \pm 0.11$  มิลลิเมตร ตามลำดับ

**ตารางที่ 4** ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เจลผสมสารสกัดหายาจากไบโอร่าต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ก่อนและหลังทดสอบสภาวะเร่ง

| แบคทีเรียก่อโรค                | เจลจากสารสกัดหายาไบโอร่า                           |                        |                |                            |
|--------------------------------|--|------------------------|----------------|----------------------------|
|                                | เส้นผ่าศูนย์กลางวงใส (Inhibition zone (มิลลิเมตร)) |                        |                |                            |
|                                | ก่อนทดสอบ<br>สภาวะเร่ง                             | หลังทดสอบ<br>สภาวะเร่ง | สูตร<br>ควบคุม | Antibiotics<br>Clindamycin |
| <i>S. aureus</i> TISTR1466     | $10.33 \pm 0.58^a$                                 | $7.33 \pm 0.58^b$      | -              | $23.67 \pm 0.58$           |
| <i>S. aureus</i> TISTR2329     | $10.33 \pm 0.58^a$                                 | $7.43 \pm 0.58^b$      | -              | $23.55 \pm 0.58$           |
| <i>S. epidermidis</i> TISTR518 | $10.33 \pm 0.58^a$                                 | $7.33 \pm 0.58^b$      | -              | $18.33 \pm 0.58$           |
| <i>S. mutans</i> DMST14283     | $8.33 \pm 0.58^a$                                  | $6.60 \pm 0.11^b$      | -              | $24.33 \pm 0.58$           |
| <i>P. vulgaris</i> DMST557     | $9.67 \pm 0.58^a$                                  | $6.67 \pm 0.58^b$      | -              | $20.33 \pm 0.58$           |

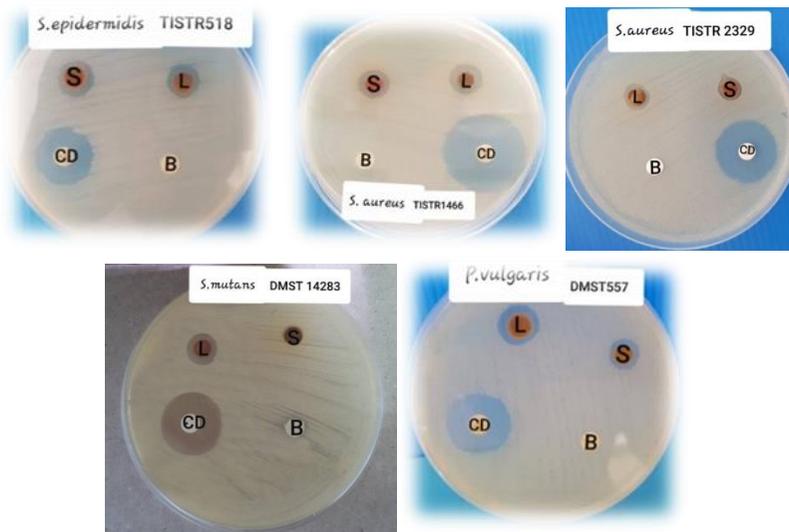
หมายเหตุ: - = ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้  
อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก (a,b) ที่แตกต่างในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ( $p \leq 0.05$ )

**ตารางที่ 5** ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เจลผสมสารสกัดหายาจากลำต้นโนร่าต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ก่อนและหลังทดสอบสภาวะเร่ง

| แบคทีเรียก่อโรค                | เจลจากสารสกัดหายาลำต้นโนร่า                        |                        |            |                            |
|--------------------------------|--|------------------------|------------|----------------------------|
|                                | เส้นผ่าศูนย์กลางวงใส (Inhibition zone (มิลลิเมตร)) |                        |            |                            |
|                                | ก่อนทดสอบ<br>สภาวะเร่ง                             | หลังทดสอบ<br>สภาวะเร่ง | สูตรควบคุม | Antibiotics<br>clindamycin |
| <i>S. aureus</i> TISTR1466     | $9.00 \pm 0.00^a$                                  | $6.57 \pm 0.51^b$      | -          | $23.67 \pm 0.58$           |
| <i>S. aureus</i> TISTR2329     | $9.00 \pm 0.58^a$                                  | $6.57 \pm 0.51^b$      | -          | $23.55 \pm 0.58$           |
| <i>S. epidermidis</i> TISTR518 | $10.33 \pm 0.58^a$                                 | $6.70 \pm 0.26^b$      | -          | $18.33 \pm 0.58$           |
| <i>S. mutans</i> DMST14283     | $6.33 \pm 0.58^a$                                  | $6.00 \pm 0.57^a$      | -          | $24.33 \pm 0.58$           |
| <i>P. vulgaris</i> DMST557     | $8.33 \pm 0.58^a$                                  | $6.33 \pm 0.58^b$      | -          | $20.33 \pm 0.58$           |

หมายเหตุ: - = ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้  
อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก (a,b) ที่แตกต่างในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ( $p \leq 0.05$ )

จากตารางที่ 5 แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบจากลำต้นโนรามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ พบว่าผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบจากลำต้นโนราก่อนนำไปทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังได้ดีที่สุด คือ *S. epidermidis* TISTR518, *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *P. vulgaris* DMST557 และ *S. mutans* DMST14283 โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางวงใส เท่ากับ  $10.33 \pm 0.58$ ,  $9.00 \pm 0.58$ ,  $9.00 \pm 0.00$ ,  $8.33 \pm 0.58$ ,  $6.33 \pm 0.58$  มิลลิเมตร เมื่อนำผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบจากลำต้นโนราที่ผ่านการทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด คือเชื้อ *S. epidermidis* TISTR518, *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *P. vulgaris* DMST557 และ *S. mutans* DMST14283 โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางวงใส เท่ากับ  $6.70 \pm 0.26$ ,  $6.57 \pm 0.51$ ,  $6.57 \pm 0.51$ ,  $6.33 \pm 0.58$  และ  $6.00 \pm 0.57$  มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งผลการทดสอบนี้แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคของผลิตภัณฑ์เจลหลังผ่านกระบวนการทดสอบสภาวะเร่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p \leq 0.05$  ยกเว้นเชื้อ *S. mutans* DMST14283 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความไม่เสถียรหรือการเสื่อมสภาพของสารสกัดหยาบที่เป็นส่วนผสมของเจล รวมถึงค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่อาจส่งผลกระทบต่อโครงสร้างของสารสกัดหยาบจากใบและลำต้นโนรา จึงทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของผลิตภัณฑ์เจลลดลงหลังจากทดสอบสภาวะเร่ง



ภาพที่ 2 ฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคของผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบโนราก่อนนำไปทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง โดยที่ L = เจลผสมสารสกัดหยาบจากใบโนรา, S = เจลผสมสารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา, B = เจลสูตรควบคุม, CD = ยา clindamycin

## สรุป

จากผลงานวิจัยนี้ พบว่า สารสกัดหยาบจากใบและลำต้นโนรา เมื่อนำไปทดสอบด้วยสภาวะเครียด พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ดี โดยที่สารสกัดหยาบจากส่วนใบมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบสูงกว่าสารสกัดหยาบจากลำต้น เมื่อนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลผสมสารสกัดหยาบจากใบ และเจลผสมสารสกัดหยาบจากลำต้น พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ก่อโรคทางผิวหนังได้ดี ได้แก่ *S. aureus* TISTR1466 *S. aureus* TISTR2329 และ *S. epidermidis* TISTR518 โดยประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* TISTR518 ดีที่สุด ผลวิจัยแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากใบและลำต้นโนรา มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ยับยั้งหรือควบคุมแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคผิวหนังได้ อย่างไรก็ตามเมื่อนำผลิตภัณฑ์เจลที่ได้ไปทดสอบในสภาวะเร่ง พบว่า ค่า pH เพิ่มขึ้นและประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบลดลง ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาเพื่อปรับปรุงให้ผลิตภัณฑ์เจลคงความเสถียรของสารสกัดไม่ให้เกิดการเสื่อมประสิทธิภาพในลำดับต่อไป

## ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของต้นโนราด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ขั้นสูงเพิ่มเติม
2. ควรศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์เพิ่มเติมเพื่อนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางเพื่อการรักษาโรคทางผิวหนังที่เกิดจากแบคทีเรียต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณนายสุพจน์ ละอองฐิติรัตน์ ในการให้ข้อมูลภูมิปัญญาชาวบ้านกับการนำสมุนไพรโนรามาใช้ ของชาวบ้านตำบลปลาเลา อ.เมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

## เอกสารอ้างอิง

- จุไรรัตน์ รัควาทิน. (2547). แนวทางการเสนอรายงานความคงสภาพของตำรับยา. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: กระทรวงสาธารณสุข.
- ชนิตา ธีระนันท์กุล และดนัย ศิริบรรจงโชค. (2549). การพัฒนาตำรับไฟโบรอินอิมัลเจลเพื่อการรักษาแผลที่มี การติดเชื้อ. เภสัชศาสตร์บัณฑิต. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- ฐิติมา ละอองฐิติรัตน์ (2562). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบ ต้นโนรา (*Hiptage candicans* Hook.f.). วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารบัณฑิต, มหาวิทยาลัยราชภัฏ วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์.
- ฐิติมา ภาคภูมิ, กัลยาภรณ์ จันตรี, และอรพิน โกมุติบาล. (2559). ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และสารต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดใบพลูเพื่อพัฒนาเป็นเครื่องสำอาง. วารสารวิจัย มสท สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 9(1): 1-20.
- ปุ่นยง นิลแสง, และจิตติมา กอหรั่งกุล. (2561). การพัฒนาการผลิตแบคทีเรียเซลล์ลูโลสจากน้ำสมุนไพร. วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 13(3): 123-134.

- พรเทพ เต็มรังษี. (2554). **ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรรตอเชื้อที่แยกจากแผลติดเชื้อ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย พ.ศ. 2559. (2559, 29 กุมภาพันธ์) **ราชกิจจานุเบกษา**. เล่ม 133 ตอนพิเศษ 73ง หน้า 20.
- ศศมล ผาสุข, และประเสริฐ มีรัตน์. (2557). พิษกึ่งเฉียบพลัน พิษเฉียบพลันและองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบจากใบสดแป๊ะตำปึง. **วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 9(2): 19-28.
- สุธิดา ชาญวานิชกุล, โอภาส วณิชชาวีระ, และพนิดา แสนประกอบ. (2562). การพัฒนาตำรับกันแดดจากสารสกัดหญ้าตีนตุ๊กแก. **Walailak Procedia**. 2019(3): 1-5.
- สุนทรี่ จินธรรม, จิรภัทร์ อัฐฐิติลป์เวท, และปิ่นณักรภัส ถกถกภัคดี. (2562). ภูมิปัญญาท้องถิ่นการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรในชุมชน ตำบลบ่อเงิน อำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี. **วารสารบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์**. 13(3): 137-148.
- สุรางค์รัตน์ พันแสง, และพวงพกา แก้วกรม. (2562). ฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกในส่วนต่าง ๆ ของต้นกำลังช้างเผือกและผลต่อลิโปไซด์และโมโนไซด์ในหนู. **วารสารนเรศวรพะเยา**. 12(1) : 10-12.
- Bhukya, B., R. & Yellu, N. R. (2018). Evaluation of anticancer activity of methanolic extract of *Hiptage benghalensis* (L.) Kurz on Cancer Cell Lines. **Pharmacognosy Research**. 10: 309-313.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2009). **Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standard-eighth edition**. CLSI documents M07-A8. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, Pa.
- Hsu, C. L., Fang, S. C., Huang, H. W., & Yen, G. C. (2015). Anti-inflammatory effects of triterpenes and steroid compounds isolated from the stem bark of *Hiptage benghalensis*, **Journal of Functional Foods**, 12: 420-427.
- La-onghitirat, T. Phasuk S., & Nilsang, P. (2019). **Antimicrobial activity of *Hiptage candicans* (Hook.f.) Sirirugsa crude extracts against human pathogens**. In the proceeding of the 3<sup>rd</sup> National and International Research conference 2019 (NIRC II 2019) February 1, 2019. Buriram Rajabhat University, Thailand. p 542-554.
- Meena, A. K., Meena J., Jadhav, A., & Padhi, M. M. (2014). A review on *Hiptage benghalensis* (Madhavilata) used as an Ayurvedic drug. **Asian Journal of Pharmacy and Technology**. 4 (1): 28-31.
- Murugan, M., & Mohan V.R. (2011). Evaluation of phytochemical analysis and antibacterial activity of *Bauhinia purpurea* L. and *Hiptage benghalensis* L. Kurz. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**. 1(9): 157-160.

- Nilsang, S. (2018). Effect of spray drying temperature on quality of instant herbal drinks. **Food and Applied Bioscience Journal**. 6 (special issue): 55-68.
- Yogesh, P., Jain, P., Khurana, N., Omray, L. K., Palit, S., & Gajbhiye, A. (2012). Formulation and characterization of Aloe Vera cosmetic herbal hydrogel. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. 4: 85-86.