

เปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก

นุศวดี พจนานุกิจ^{a*} และ สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม^b

Comparison of antimicrobial activity of Mangosteen crude, Turmeric and Gotu Kola extract

Nusavadee Pojanaukij^{a*} and Somjai Kajorncheappunngam^b

^aนักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

^bภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*Corresponding author. E-mail: nusavadee@hotmail.com

Received 19 March 2010; accepted 19 April 2010

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีเป็นการศึกษาการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Propionibacterium acnes* และเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 3 ชนิดได้แก่ สารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก พืชทั้ง 3 ชนิดจะถูกนำไปสกัดและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสารออกฤทธิ์ที่สกัดได้ ด้วยเทคนิค HPLC พบว่าสามารถสกัดสารแซนโทน (Xanthones) จากเปลือกมังคุดได้ 1.1929 mg/g ของเปลือกมังคุด สารเคอร์คูมิน (Curcumin) จากขมิ้นชันได้ 0.8753 mg/g ของขมิ้นชัน และสารเอเซียติโคไซด์ (Asiaticoside) กับกรดเอเซียติค (Asiatic acid) จากใบบัวบกได้ 0.0142 และ 0.0960 mg/g ของใบบัวบก ตามลำดับ จากการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก พบว่าบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีค่ามากกว่าสารสกัดจากขมิ้นชันและใบบัวบกที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากัน และการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก สำหรับเชื้อ *Propionibacterium acnes* มีค่าเท่ากับ 12.5, 25 และ 200 mg/ml ตามลำดับและเชื้อ *Staphylococcus aureus* มีค่าเท่ากับ 6.25, 12.5 และ 200 mg/ml ตามลำดับ และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก สำหรับเชื้อ *Propionibacterium acnes* มีค่าเท่ากับ 25, 50 และ 200 mg/ml ตามลำดับและเชื้อ *Staphylococcus aureus* มีค่าเท่ากับ 12.5, 25 และ 200 mg/ml ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดพบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดใช้ความเข้มข้นน้อยที่สุด (25 mg/ml) ในการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 ชนิด

คำสำคัญ: สารสกัดสมุนไพร การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย มังคุด ขมิ้นชัน ใบบัวบก *Staphylococcus aureus* *Propionibacterium acnes*

Abstract

This research work is a study of an antimicrobial activity test of 3 herbal plants extract, namely Mangosteen crude, Turmeric and Gotu Kola, on *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus*. These 3 herbal plants were extracted and analysed for the amount of important chemical specie by HPLC technique. The result showed that 1.1929 mg of xanthone/g of Mangosteen crude, 0.8753 mg of curcumin/g of Turmeric, 0.0142 mg of asiaticoside/g of Gotu Kola and 0.0960 mg of asiatic acid/g of Gotu Kola were extracted. The antimicrobial activity test was performed for each extracted chemical specie. It was found that, at the same extracting concentration, Mangosteen crude extract induced wider inhibition zone than the Turmeric and Gotu Kola extract. The Minimal inhibitory concentration (MIC) of Mangosteen crude extract, Turmeric and Gotu Kola extract to inhibit *Propionibacterium acnes* were 12.5, 25 and 200 mg/ml respectively and *Staphylococcus aureus* were 6.25, 12.5 and 200 mg/ml respectively. The Minimal bactericidal concentration (MBC) of Mangosteen crude extract, Turmeric extract and Gotu Kola extract to disinfect *Propionibacterium acnes* were 25, 50 and 200 mg/ml respectively and *Staphylococcus aureus* were 12.5, 25 and 200 mg/ml respectively. When comparing the effect of the 3 herbal plants extract on antimicrobial activity, it was shown that the Mangosteen crude extract could inhibit *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus* with the lowest concentration (25 mg/ml) among the three herbal plants extract.

Keywords: herbal extract, antibacterial, Mangosteen, Turmeric, Gotu Kola, *Staphylococcus aureus* *Propionibacterium acnes*

บทนำ

สารสกัดจากสมุนไพรของไทยมีมากมายหลายชนิดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เช่น สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีสารออกฤทธิ์คือ แซนโทน (Xanthones) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* อันเป็นสาเหตุของการเกิดหนอง (Sutabha et al., 1997) มีฤทธิ์ต้านการอักเสบได้เป็น 3 เท่าของแอสไพริน (ธวัชชัย และคณะ, 2536) และพบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดสดโดยวิธีการสกัดเย็นด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุด 128 µg/ml รองลงมาได้แก่ *Propionibacterium acnes* ค่าความเข้มข้นต่ำสุด 256 µg/ml (อุดมลักษณ์, 2549) ในขณะที่สารสกัดจากขมิ้นชันมีฤทธิ์ต้านการอักเสบที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยเชื้อที่ทำให้เกิดสิว *Propionibacterium acnes* (Jain & Basal, 2003) และยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบและเหง้าขมิ้นชันแสดงฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Propionibacterium acnes* โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (Minimum inhibition concentrations, MICs) เท่ากับ 15.62 และ 125 µg/ml ตามลำดับ (Rath Chandi et al., 2001) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากใบบวบก็มีสารสำคัญคือ เอเชียติโคไซด์ (Asiaticoside) กรดมาเดคาสสิก (Madecassic acid) มาเดคาสโซไซด์ (Madecassosid) กรดเอเชียติค (Asiatic acid) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Vogel and Souza, 1990) และสารสกัดที่ได้จากการสกัดใบบวบในส่วนที่อยู่เหนือดินด้วยน้ำร้อน มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ (อารรัตน์ และสุรัตน์, 2531) จากสรรพคุณของเปลือกมังคุด ขมิ้นชัน และใบบวบ ในแง่ของการช่วยยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและลดอาการอักเสบ จึงทำให้ผู้วิจัยเลือกสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดมาศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อเกิดสิวคือเชื้อ *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* โดยทำการสกัดสารจากเปลือกมังคุดด้วยวิธีการสกัดแบบการหมัก (Maceration) ตัวทำละลายคือ 95 % เอทานอล สารสกัดจากขมิ้นชันทำการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยวิธี Soxhlet extraction ตัวทำละลายคือ 95 % เอทานอล และสารสกัดจากใบบวบด้วยวิธีการสกัดแบบการหมัก (Maceration) ตัวทำละลายคือน้ำ แล้วทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด รวมทั้งหาปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดได้ ข้อมูลที่ได้จากผลการวิจัยนี้จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สำคัญและเป็นประโยชน์ในการนำไปใช้ในการพัฒนาวิจัยเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์เจลสมุนไพรเพื่อใช้ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิวต่อไป

วิธีการวิจัย

2.1 การเตรียมวัตถุดิบ

นำขมิ้นชันและเปลือกมังคุดล้างน้ำให้สะอาด นำมาหั่น

เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บดด้วย Ball mill และนำไปร่อนด้วยตะแกรงร่อนขนาด 80 Mesh ส่วนการเตรียมใบบวบก็เพื่อการสกัดนั้นให้นำใบบวบล้างน้ำให้สะอาด และนำมาแช่ด้วยด่างทับทิมเป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำอีกครั้งแล้วพักทิ้งไว้ให้แห้งตามธรรมชาติที่อุณหภูมิห้อง

2.2 ขั้นตอนการสกัดสารจากสมุนไพร

ทำการสกัดสมุนไพร 3 ชนิด คือ เปลือกมังคุด ขมิ้นชัน และใบบวบ ที่เตรียมได้จากข้อ 2.1 โดยทำการสกัดดังนี้

1. การสกัดสารจากขมิ้นชัน

นำผงขมิ้นชัน 7 g มาสกัดด้วย 95% เอทานอล ปริมาณ 250 ml ทำการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยวิธี Soxhlet extraction จากนั้นนำมาระเหยเอทานอลออกด้วย Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 45 - 47 °C จนได้สารสกัดของเหลวประมาณ 25 ml นำสารสกัดที่ได้เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °C

2. การสกัดสารจากเปลือกมังคุด

นำเปลือกมังคุดที่บดไว้แล้ว 1 kg มาสกัดแบบการหมัก (Maceration) ด้วย 95 % เอทานอล ปริมาณ 4 ลิตร เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นทำการกรองเพื่อแยกกากเปลือกมังคุดออก แล้วนำสารละลายที่ได้จากการกรองมาทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วย Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 45 - 47 °C แล้วนำมาทำเป็นผงแห้ง ด้วยเครื่อง Freeze dry นำผงที่ได้เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °C

3. การสกัดสารจากใบบวบ

นำใบบวบ 1 kg มาทำการปั่นด้วยเครื่องปั่นแล้วทำการหมัก (Maceration) ด้วยน้ำกลั่น 2 ลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วกรองเพื่อแยกกากใบบวบออก จากนั้นนำสารละลายที่กรองได้ มาทำเป็นผงแห้ง ด้วยเครื่อง Freeze dry นำผงที่ได้เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °C

นำสารสกัดที่ได้ทั้ง 3 ชนิดไปวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC)

2.3 การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) และ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ของสารที่ทำการสกัดได้

2.3.1 ขั้นตอนการเตรียมเชื้อ

เชื้อที่นำมาใช้ในการทดสอบคือเชื้อ *P. acnes* (ได้จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์) และเชื้อ *S. aureus* (ได้จากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น) นำเชื้อแบคทีเรียที่ทำการศึกษา (*P. acnes* และ *S. aureus*) มาทำการเจือจางโดยทำการเชื้อมาจำนวน 1 loop มาละลายใน 0.85 % NaCl ปริมาณ 9 ml แล้วทำการเจือจางเชื้อให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียในหลอดสุดท้ายเป็น 10^{-3} เท่าของหลอดแรก (ใช้ 0.85 % NaCl ปริมาณ 9 ml จำนวน 4 หลอด)

2.3.2 ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดได้ทั้งหมด 3 วิธี คือ

1. การทดสอบหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ด้วยวิธี Disc diffusion technique

การหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 300, 200 และ 100 mg/ml โดยใช้ 95% เอทานอล เป็นตัวทำละลายในสารสกัดจากขมิ้นชันและ Dimethyl Sulfoxide (DMSO) 1% (โดยปริมาตร) เป็นตัวทำละลายในสารสกัดจากเปลือกมังคุดและใบบัวบกแล้วทำการปิเปต 5 ไมโครลิตรของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น ตัวทำละลาย DMSO 1% (โดยปริมาตร) และ 95% เอทานอล ลงบนกระดาษกรองที่ปราศจากเชื้อ โดยกระดาษกรองมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร รวมทั้งหมด 5 ตำแหน่งโดยมีตัวทำละลาย 1% DMSO และ 95% เอทานอลบนกระดาษกรองทำหน้าที่เป็นตัวควบคุม (control) แล้ววางกระดาษกรองบนจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อ โดยเชื้อ

Staphylococcus aureus จะใช้ Mueller Hinton Agar (MHA) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มในสภาวะที่มีออกซิเจน และสำหรับเชื้อ *Propioni- bacterium acnes* อาหารเลี้ยงเชื้อคือ Tryptic Soy Agar (TSA) บ่มในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน การบ่มเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิดจะบ่มภายใต้อุณหภูมิ 35 - 37 °C เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง แล้วทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรีย (inhibition zone) ที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยวัดหน่วยเป็นมิลลิเมตร

2. การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของสารสกัดด้วยวิธี Broth dilution technique

การทดสอบหาค่า MIC ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และเชื้อ *Propionibacterium acnes* ของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดจะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อคือ Mueller Hinton Broth (MHB) สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ Tryptic Soy Broth (TSB) สำหรับเชื้อ *Propionibacterium acnes* โดยเริ่มต้นนำหลอดทดลอง ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อ จำนวน 10 หลอด ทำการดูดอาหารเลี้ยงเชื้อ (broth) ใส่ลงในหลอดที่ 2 - 10 หลอดละ 1 มิลลิตร แล้วดูดสารสกัดที่ต้องการศึกษา ลงในหลอดที่ 1 และ 2 หลอดละ 1 มิลลิตร ต่อจากนั้นดูดสารในหลอดที่ 2 จำนวน 1 มิลลิตร ใส่ลงในหลอดที่ 3 ทำซ้ำทำนองเดียวกันนี้ไปจนถึงหลอดที่ 9 สำหรับหลอดที่ 9 เมื่อผสมสารสกัดและอาหารเลี้ยงเชื้อเข้ากันได้แล้วดูดสารละลายทิ้งไป 1 มิลลิตร ส่วนหลอดที่ 10 จะมีแต่อาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียวไม่มีสารสกัด จึงใช้เป็น positive control จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบลงไปในทุกหลอด หลอดละ 1 มิลลิตร แล้ว นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อ โดยเชื้อ *Staphylococcus aureus* บ่มในสภาวะที่มีออกซิเจน และสำหรับ

เชื้อ *Propionibacterium acnes* บ่มในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน การบ่มเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิดจะบ่มภายใต้อุณหภูมิ 35 - 37 °C เป็นเวลา 16 - 18 ชั่วโมง การอ่านผลการหา MIC ให้สังเกตความขุ่นของเชื้อที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอดเปรียบเทียบกับ positive control

3. การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ของสารสกัดด้วยวิธี Agar dilution technique

จากค่า MIC สามารถนำมาหาค่า MBC ได้ โดยนำหลอดที่ไม่มีมีความขุ่นจากการทดสอบหาค่า MIC ไปเทและเกลี่ย (spread plate) ลงบนอาหาร MHA สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ TSA สำหรับเชื้อ *Propionibacterium acnes* การอ่านผลการหาค่า MBC หรือความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้คือ จะสังเกตไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

3.1. การสกัดสารจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก

จากการนำเปลือกมังคุด 1 kg เมื่อทำการสกัดจะได้สารมีลักษณะเป็นผลึกผงสีม่วงเข้มปริมาณ 22.954 g ขมิ้นชัน 7 g เมื่อนำมาสกัดจะได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นน้ำมันผสมกับของเหลวสีเหลืองเข้มในปริมาณ 25 ml และจากใบบัวบก 1 kg เมื่อทำการสกัดจะได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นผงร่วนหยาบสีเขียวเข้มปริมาณ 21.362 g เมื่อวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสกัดพืชทั้ง 3 ชนิดด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีปริมาณสารแซนโทน (Xanthones) เท่ากับ 1.1929 mg/g ของเปลือกมังคุด สารสกัดจากขมิ้นมีปริมาณสารเคอร์คูมิน (Curcumin) เท่ากับ 0.8753 mg/g ของขมิ้นชัน และสารสกัดจากใบบัวบกมีปริมาณสารเอเชียติโคไซด์ (Asiaticoside) และกรดเอเชียติค (Asiatic acid) เท่ากับ 0.0142 และ 0.0960 mg/g ของใบบัวบกตามลำดับ

จากการศึกษาผลของการสกัดสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ซึ่งทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่นและ 95% เอทานอล เนื่องจากน้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายที่หาได้ง่ายและราคาถูก เหมาะสมกับการสกัดสารมีขั้วที่สามารถละลายน้ำได้ แต่มีข้อจำกัดสำหรับสมุนไพรบางชนิดที่มีองค์ประกอบเป็นสารเมือก ซึ่งเป็น Complex polysaccharides ทำให้สารสกัดที่ได้มีลักษณะข้นเหนียว ยากต่อการแยกตัวทำละลายออกจากสารสกัดและการนำไปใช้ในการทดสอบ ตัวทำละลายอีกชนิด คือ 95% เอทานอล เป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสารจากพืชสมุนไพร เนื่องจากแยกตัวทำละลายออกจากสารสกัดได้ง่าย และสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในสารสกัด ทำให้เก็บสารสกัดได้นานขึ้น แต่มีราคาแพงและความเป็นพิษสูงกว่า การใช้น้ำเป็นตัวทำละลายสารสกัดสมุนไพรที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด มีลักษณะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับ

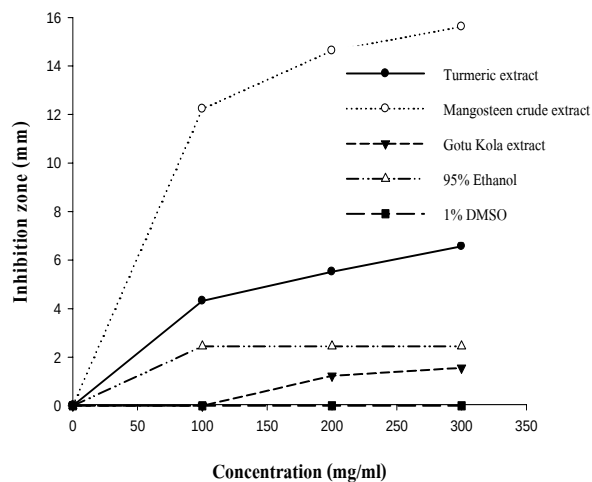
ชนิดของพืชและส่วนที่นำมาทำการสกัด โดยสารสกัดจากเปลือกต้น ใบ เหง้าและผล มักมีสีเข้มหรืออาจมีสีเขียวของคลอโรฟิลล์ โดยเฉพาะสารสกัดสมุนไพรที่ใช้ 95% เอทานอลเป็นตัวทำละลายซึ่งสามารถละลายสารสี (pigment) ออกมาได้มากกว่าตัวทำละลายน้ำ (พิมพร, 2547)

3.2 การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) และ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ของสารที่ทำการสกัด

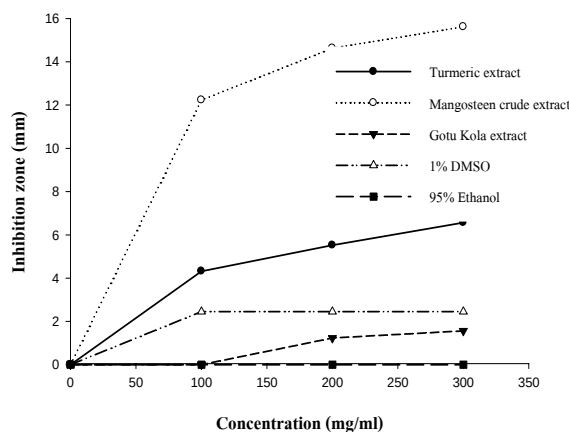
โดยมีผลการทดสอบทั้งหมด 3 วิธี ดังนี้

1. ผลการหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ของสารสกัดด้วยวิธี Disc diffusion tech- nique

ผลทดสอบการหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด แสดงดังภาพที่ 1-4 พบว่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. acnes* และเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชัน สามารถเกิดบริเวณยับยั้งเชื้อได้ทุกความเข้มข้น (300, 200, 100 mg/ml) ที่ทำการศึกษาใน ขณะที่สารสกัดจากใบบัวบกเกิดบริเวณยับยั้งเชื้อที่ความเข้มข้น 200 mg/ml ขึ้นไป



ภาพที่ 1 บริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *P. acnes* ของสารสกัดจากขมิ้นชัน เปลือกมังคุด และใบบัวบก



ภาพที่ 2 บริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากขมิ้นชัน เปลือกมังคุด และใบบัวบก

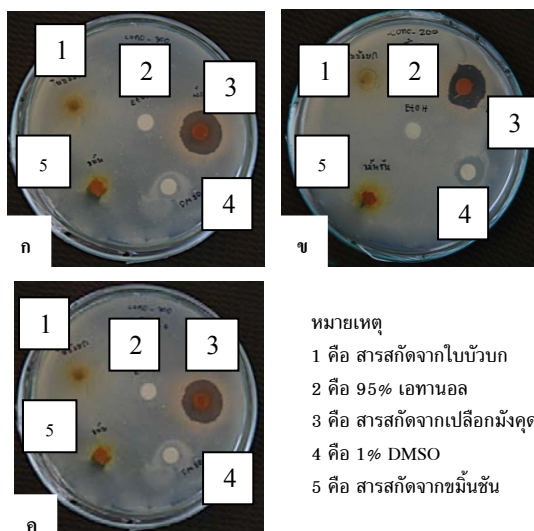
จากภาพที่ 1-4 แสดงให้เห็นว่าบริเวณยับยั้งเชื้อที่เกิดขึ้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีค่ามากกว่าสารสกัดจากขมิ้นชันและใบบัวบกที่ความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งมีผลจากหมู่ฟังก์ชัน และการจัดตัวของสารออกฤทธิ์ที่สกัดได้ กล่าวคือสารที่มีหมู่ฟังก์ชัน ketone จะทำให้การซึมผ่านของสารสกัดสู่อาหาร

เลี้ยงเชื้อได้มากกว่าสารที่ไม่มีหมู่ฟังก์ชัน ketone ซึ่งเป็นสารที่มีขั้วสามารถละลายน้ำได้ดี พบว่าสารแซนโทน เคอร์คูมิน เอเซียติโคไซด์ และกรดเอเซียติก มีสูตรโครงสร้างคือ

$C_{13}H_8O_2$ (9-oxo-xanthene diphenylene ketone oxide), $C_{21}H_{20}O_6$ (Curcumin diferuloyl methane), $C_{48}H_{78}O_{19}$ (9-

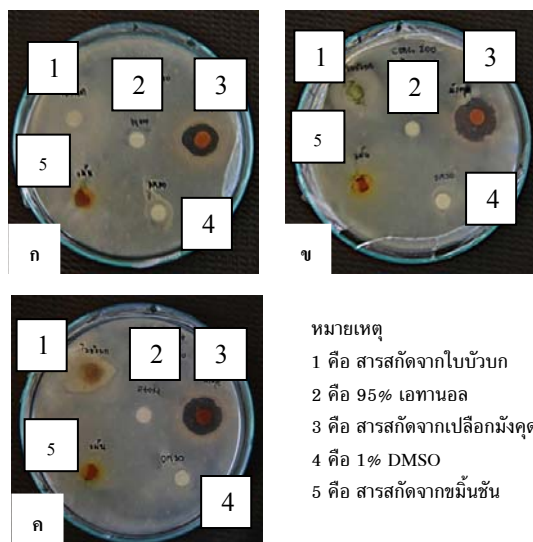
(hydroxymethyl)-1,2,6a,6b,9,12a-hexamethyl-2,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahydro-1H-picene-4a-carboxylate), $C_{48}H_{78}O_{20}$ ((2 α ,3 β ,4 α ,6 β)-2,3,6,23-tetrahydroxyurs-12-en-28-oate) ตามลำดับ ดังนั้น สารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุดซึ่งมีหมู่ฟังก์ชัน ketone จึงทำให้เกิดบริเวณยับยั้งเชื้อได้มากกว่าสารสกัดจากขมิ้นชันและ

ใบบัวบก และอีกประการหนึ่งสารสกัดชนิดเดียวกันที่มีปริมาณความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่าความเข้มข้นที่สูงกว่าจะเกิดบริเวณยับยั้งเชื้อได้มากกว่าความเข้มข้นน้อย ทำให้ทราบว่าบริเวณยับยั้งเชื้อแปรผันตรงกับปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดทั้งเชื้อ *P. acnes* และเชื้อ *S. aureus*



ภาพที่ 3 บริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) ของเชื้อ *P. acnes* ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและ ใบบัวบก ที่ความเข้มข้นต่าง

(ก) 100 mg/ml (ข) 200 mg/ml (ค) 300 mg/ml โดยมี 95 % เอทานอล และ 1 % DMSO เป็นตัวควบคุม



ภาพที่ 4 บริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) ของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและ ใบบัวบก ที่ความเข้มข้นต่างๆ (ก) 100 mg/ml (ข) 200 mg/ml (ค) 300 mg/ml โดยมี 95 % เอทานอล และ 1 % DMSO เป็นตัวควบคุม

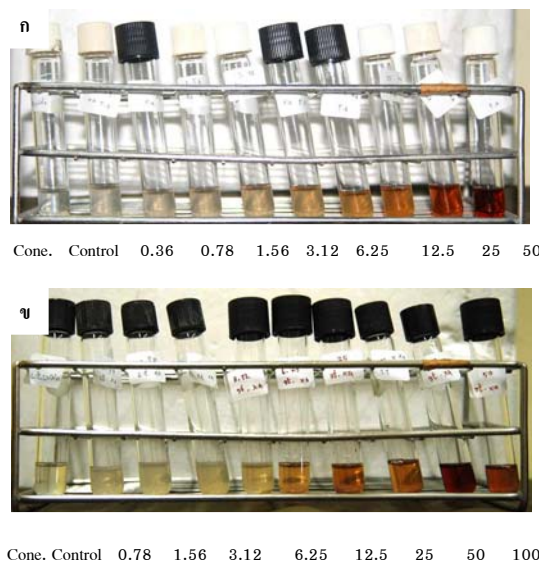
2. ผลทดสอบการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของสารสกัดด้วยวิธี Broth dilution technique จากผลการหาค่าบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ซึ่ง

เป็นการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้น เป็นการบอกได้เพียงคร่าวๆ ว่า สารสกัดนั้นมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้หรือไม่ ดังนั้นขั้นตอนนี้จึงเป็นการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชัน และใบ

บวบก โดยการศึกษาหาค่า MIC ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด และขมิ้นชันเริ่มต้นศึกษาที่ค่าความเข้มข้นสูงสุด 100 mg/ml ในขณะที่สารสกัดจากใบบวบกเริ่มต้นศึกษาที่ค่าความเข้มข้นสูงสุด 200 mg/ml

จากผลการทดสอบสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้มีลักษณะคือ มีการตกตะกอนของเชื้ออยู่ก้นหลอดและสารละลายด้านบนมีลักษณะใส แสดงให้เห็นว่าสารสกัดนั้นสามารถยับยั้งเชื้อได้ แต่ถ้าพบว่าสารละลายมีลักษณะขุ่น แสดงว่ามีการเจริญเติบโตของเชื้อ ความเข้มข้นต่ำสุดนั้นคือความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (คือ มีการตกตะกอนของเชื้ออยู่ก้นหลอดและสารละลายด้านบนมีลักษณะใส) ในหลอดแรกที่ปรากฏเป็นค่าต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (ค่า MIC) พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 12.5 mg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. acnes* และที่ความเข้มข้น 6.25 mg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ แสดงดังภาพที่ 5 ซึ่งสารสกัดจากเปลือกมังคุดเป็นสารสกัดที่มีความเข้มข้นต่ำสุดในสารสกัดพืชทั้ง 3 ชนิดที่ทำการศึกษา โดยที่สารสกัดจากขมิ้นชันและใบบวบกต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงกว่าในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. acnes* และ *S. aureus* กล่าวคือสารสกัดจากขมิ้นชันต้องใช้ความเข้มข้นที่ต่ำสุดที่ 25 และ 12.5 mg/ml ในการยับยั้งเชื้อ *P. acnes* และ *S. aureus* ตามลำดับแสดงดังภาพที่ 6 และสารสกัดจากใบบวบกต้องใช้ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 200 mg/ml จึงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. acnes* และ *S. aureus* แสดงดังภาพที่ 7

ความสามารถในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดแต่ละชนิดไม่เท่ากัน ทั้งนี้เป็นผลจากปัจจัย 2 ปัจจัยคือ ปริมาณสารออกฤทธิ์ในสารสกัดที่มีปริมาณที่ไม่เท่ากัน คือสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีปริมาณสารแซนโทนมากที่สุด เท่ากับ 1.1929 mg/g ของเปลือกมังคุด ซึ่งมีปริมาณสารออกฤทธิ์มากกว่าสารสกัดจากขมิ้นชันซึ่งมีปริมาณ เคอร์คูมิน 0.8753 mg/g ของขมิ้นชัน และใบบวบกมีปริมาณเอเชียติโคไซด์ กับกรดเอเชียติค เท่ากับ 0.0142 และ 0.096 mg/g ของใบบวบก ตามลำดับ และอีกปัจจัยคือคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้แตกต่างกัน พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดและขมิ้นชันมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้มากกว่าสารสกัดจากใบบวบก เพราะสารแซนโทน (จากสารสกัดเปลือกมังคุด) และสารเคอร์คูมิน (จากสารสกัดขมิ้นชัน) จะทำหน้าที่ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนองและมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (ธวัชชัย เชื้อประไพศิลป์, 2536 ; สุภาภรณ์ คำแก่นคุณ, 2538) เพียงอย่างเดียวแต่ในขณะที่เอเชียติโคไซด์ กับ กรดเอเชียติค (จากสารสกัดใบบวบก) มีฤทธิ์ด้านการอักเสบ (Vogel and Souza, 1990) และมีฤทธิ์สมานแผลโดยเร่งการสร้างเนื้อเยื่อเพิ่มปริมาณคอลลาเจนที่เป็นโครงสร้างของผิวหนังต่อการหายของรอยแผลเป็น (Maquart, 1999) ทำให้การเข้าไปทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดได้ไม่เท่ากัน



ภาพที่ 5 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากเปลือกมังคุด
(ก) เชื้อ *P. acnes* (ข) เชื้อ *S. aureus*



Cone. Control 0.36 0.78 1.56 3.12 6.25 12.5 25 50



Cone. Control 0.36 0.78 1.56 3.12 6.25 12.5 25 50

ภาพที่ 6 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากขมิ้นชัน
(ก) เชื้อ *P. acnes* (ข) เชื้อ *S. aureus*



Cone. Control 0.78 1.56 3.12 6.25 12.5 25 50 100 200



ภาพที่ 7 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากใบบัวบก
(ก) เชื้อ *P. acnes* (ข) เชื้อ *S. aureus*

ดังนั้นสารสกัดจากเปลือกมังคุดนั้นสามารถยับยั้งเชื้อ *P. acnes* และ *S. aureus* ได้ดีที่สุดที่ในสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 12.5 และ 6.25 mg/ml ตามลำดับ

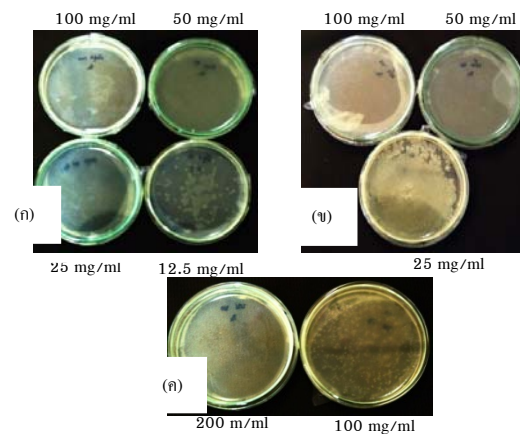
3. ผลทดสอบการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ของสารสกัดด้วยวิธี Agar dilution technique

เมื่อนำผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) ที่ได้ข้างต้นของสารสกัดจาก

ตารางที่ 1 ค่า MBC ของสารสกัดจากพืช 3 ชนิดในการยับยั้งการเจริญของ เชื้อ *P. acnes* และ *S. aureus*

extract	MIC of <i>P. acnes</i> (mg/ml)	MIC of <i>S. aureus</i> (mg/ml)	MBC of <i>P. acnes</i> (mg/ml)	MBC of <i>S. aureus</i> (mg/ml)
Mangosteen crude	12.5	6.25	25	12.5
Turmeric	25	12.5	50	25
Gotu Kola Herbal	200	200	200	200

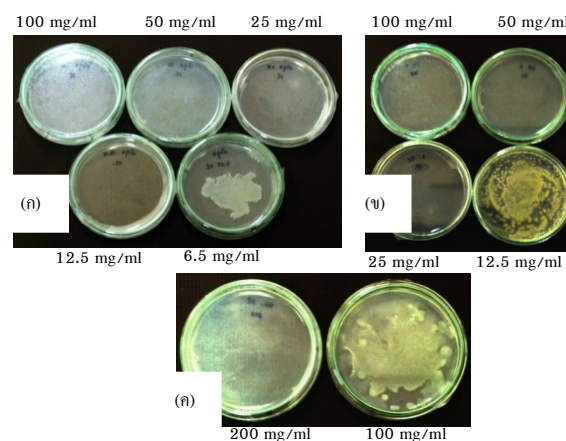
เปลือกมังคุด ขมิ้นชัน และใบบัวบก ในการยับยั้งเชื้อ *P. acnes* และ *S. aureus* มาทำการศึกษาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) พบว่า ค่า MBC ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก ในการยับยั้งเชื้อ *P. acnes* มีค่าเท่ากับ 25, 50 และ 200 mg/ml ตามลำดับ และค่า MBC ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* มีค่าเท่ากับ 12.5, 25 และ 200 mg/ml ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 8-9



ภาพที่ 8 MBC ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *P. acnes* (ก) สารสกัดจากเปลือกมังคุด (ข) สารสกัดจากขมิ้นชัน (ค) สารสกัดจากใบบัวบก

ค่า MBC คือค่าที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ จากภาพที่ 8-9 ค่า MBC ของสารสกัดที่ทำการศึกษาก็จะปรากฏผลว่าไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อและค่าความเข้มข้นที่ต่ำกว่าค่า MBC จะปรากฏผลว่ามีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียเป็นจุดสีขาวเล็กๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว จากภาพที่ 8(ก) และ 9(ก) แสดงให้เห็นว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ฆ่าเชื้อ *P. acnes* และ *S. aureus* ได้คือที่ความเข้มข้นที่ 25 mg/ml และ 12.5 mg/ml ตาม

ลำดับ (เชื้อไม่เจริญเติบโต) และจากภาพที่ 8(ข) และ 9(ข) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากขมิ้นชันที่ฆ่าเชื้อ *P. acnes* และ *S. aureus* ได้คือที่ความเข้มข้นที่ 50 mg/ml และ 25 mg/ml ตามลำดับ (เชื้อไม่เจริญเติบโต) และท้ายที่สุดจากภาพที่ 8(ค) และ 9(ค) ค่าความเข้มข้นต่ำสุด ของสารสกัดจากใบบัวบกสามารถฆ่าเชื้อ *P. acnes* และ *S. aureus* ได้คือที่ความเข้มข้น 200 mg/ml (เชื้อไม่เจริญเติบโต)



ภาพที่ 9 MBC ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *S. aureus* (ก) สารสกัดจากเปลือกมังคุด (ข) สารสกัดจากขมิ้นชัน (ค) สารสกัดจากใบบัวบก

ตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าค่า MBC จะมีค่ามากกว่าค่า MIC เสมอในการฆ่าเชื้อทั้ง 2 ชนิด (แบคทีเรียแกรมบวก) ทั้งนี้เพราะการฆ่าเชื้อแบคทีเรียนั้นจะต้องใช้ความเข้มข้นของสารสกัดมากกว่าการยับยั้งเชื้อเสมอในทุกสารสกัดที่ทำการศึกษา

สรุปผลการวิจัย

จากการสกัดเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก พบว่าสามารถสกัดสารออกฤทธิ์แซนโทน (Xanthones) จากเปลือกมังคุดได้มากที่สุด เท่ากับ 1.1929 mg/g ของเปลือกมังคุด สามารถสกัดสารเคอร์คูมิน (Curcumin) จากขมิ้นชันได้เท่ากับ 0.8753 mg/g ของขมิ้นชัน และสุดท้ายคือสามารถสกัดสาร

จากใบบัวบกคือสารเอเชียติโคไซด์ (Asiaticoside) และกรดเอเชียติก (Asiatic acid) ได้เท่ากับ 0.0142 และ 0.0960 mg/g ของใบบัวบกตามลำดับ ผลจากการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ สรุปลงได้ว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุดรองลงมาได้แก่ขมิ้นชัน และใบบัวบกตามลำดับ โดย สารสกัดจากเปลือกมังคุดใช้ความเข้มข้นน้อยที่สุดคือที่ความเข้มข้น 25 mg/ml ในการฆ่าเชื้อ *Propionibacterium acnes* และที่ความเข้มข้น 12.5 mg/ml สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ซึ่งเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดสิว ดังนั้นข้อมูลจากงานวิจัยนี้จึงมีประโยชน์ในการนำไปพัฒนาการผลิตเจลสมุนไพรในการยับยั้งการเกิดสิวต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก กองทุนวิจัยคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

ธวัชชัย เชื้อประไพศิลป์, สุพจิต สุขกันตะ และ พัฒน ทวีโภค. (2536). ประโยชน์ของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในทางการแพทย์. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 19.

สุภาภรณ์ คำแกนคุณ. (2538). การยับยั้งแบคทีเรียก่อสิวโดยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ. วิทยานิพนธ์ปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พิมพ์พร ลิลาพรพิสิฐ. (2547). เครื่องสำอางธรรมชาติผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหน้า. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

อารีรัตน์ ลออปักษาและสุรัตน์ อำนวยผล. (2531). การศึกษาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการติดเชื้อของระบบทางเดินหายใจ (ตอนที่ 1). ไทยเภสัชสาร, 13(1), 23-35.

อุดมลักษณ์ สุขอิตตะ, อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, ประภัสสร รักถาวร และ สิริพร ศิริวรรณ. (2549). การสกัดและการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ค้นเมื่อ วันที่ 18 ธันวาคม 2551, จาก https://pindex.ku.ac.th/file_research/11_073_P205.pdf

Jain, A. & Basal, E. (2003). Inhibition of *Propionibacterium acnes*-induced mediators of inflammation by Indian

herbs. *Phytomedicine*, 10, 34-8.

Rath Chandi, C., Dash, S. K., Mishra, R. K. & Charyulu, J. K. (2001). Anti *E. coli* activity of turmeric (*Curcuma longa* L.) essential oil. *Indian Drugs*, 38, 106-111.

Maquart, FX., Chastang, F., & Simeon, A. (1999). Triterpenes from *Centella asiatica* stimulate extracellular matrix accumulation in rat experimental wounds. *Eur J Dermatol*, 9(4), 289-96.

Sutabhaha, B., Dartrakoon, U., Furuya, T., & Nagumo, T. (1997). The inhibitory activities of mangosteen's pericarp extract on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci*, 30(1), 40-6.

Vogel, HG. & De Souza, N.J. (1990). Effect of terpenoids isolated from *Centella asiatica* on granuloma tissue. Hoechst A.-G., Frankfurt /Main, Fed Rep Ger, 16(4), 285-98.