นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาความคงตัวและฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดจากตำรับสมุนไพรไทยในการต้านเชื้อจุลชีพที่ก่อโรคบนผิวหนัง

ซาฟาวี มะแม[1] นัสรีย์ แวมะ[1] มูฮำหมัดเปาซี คาเร็ง[1] อนัส เบ็ญจมาตร[1]
ศิริรัตน์ ศรีรักษา[1] และพิรุณรัตน์ แซ่ลิ้ม[1*]

[1]สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาการสุขภาพและการกีฬา มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง

*ผู้นิพนธ์ที่ให้การติดต่อ E-mail: pirunrat.s@tsu.ac.th

Received date: February 13, 2022; Revised date: February 23, 2022; Accepted date: June 22, 2022

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความคงตัวและศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคบนผิวหนังของสารสกัดจากตำรับสมุนไพรไทยรักษาโรคผิวหนัง การเตรียมตำรับสมุนไพรนั้นจะใช้วิธีการเตรียมโดยการตั้งตำรับยาตามศาสตร์ทางการแพทย์แผนไทย ซึ่งประกอบด้วยตัวยาตรง ตัวยาช่วย ตัวยาประกอบ ตัวยาชูกลิ่น ชูรสและแต่งสี สมุนไพรในตำรับต้องเป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์โดยตรงในการรักษาโรคผิวหนัง เมื่อได้สูตรตำรับสมุนไพรแล้วก็นำมาสกัดสารสำคัญด้วยวิธีการสกัดโดยใช้เครื่องไมโครเวฟ (Microwave-assisted extraction; MAE) และใช้ตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Green solvent) ได้แก่ น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ อีกทั้งน้ำมันมะพร้าวนั้นยังมีฤทธิ์ในการบำรุงผิวพรรณรวมถึงรักษาโรคผิวหนังอีกด้วย จากนั้นนำสารสกัดจากตำรับสมุนไพรที่ได้ไปศึกษาความคงตัวในสภาวะต่าง ๆ และศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพที่ก่อโรคบนผิวหนังด้วยวิธี Agar dilution ที่ระดับความเข้มข้น 0.0025-5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากตำรับสมุนไพรมีความคงตัวดีเมื่อเก็บในภาชนะที่ปิดมิดชิด ป้องกันแสงที่อุณหภูมิห้อง และสารสกัดนี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 และ *Propionibacterium acnes* DMST 14916 รวมถึงเชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes* DMST 19735, *Candida albicans* ATCC 10231 มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ต้านเชื้อ (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) เท่ากับ 5, 0.5, 0.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ผลการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการนำสารสกัดจากตำรับยาสมุนไพรสูตรนี้ไปต่อยอดพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มีความคงตัวที่ดีสำหรับรักษาการติดเชื้อราและแบคทีเรียบริเวณผิวหนัง และอาจจะต่อยอดไปถึงการศึกษาประสิทธิผลของผลิตภัณฑ์สมุนไพรในผู้ป่วยที่มีปัญหาโรคผิวหนังที่เกิดจากเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: ตำรับสมุนไพรไทย ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ ความคงตัว

Original Article

Stability evaluation and screening of the extract from Thai herbal formulations for antimicrobial activity against pathogens causing skin diseases

Safavee Mamae[1], Nasree Waema[1], Muhammadpaosee Kareng[1], Anas Benchamat[1], Sirirat Sriraksa[1] and Pirunrat Sae-Lim[1*]

[1]Department of Thai Traditional Medicine Faculty of Health Sciences and Sports Thaksin University Phatthalung

*Corresponding Author E-mail: pirunrat.s@tsu.ac.th

Abstract

The objective of this study was to study on stability and the antifungal and antibacterial activity against pathogens causing skin diseases of the extract from Thai herbal formulations for treating skin diseases. The preparation of herbal formulas was based on the method of preparation of medicinal formulas according to Thai Traditional Medicine. The medicinal formulas consist of direct drug, auxiliary drug, supporting drug, and flavored drug. There were active compounds that act on the effect of treating skin diseases in Thai herbal formulation.When the herbal formula was obtained, the active compounds were then extracted by using Microwave-assisted extraction (MAE) method and using organic coconut oil as a green solvent, which is an environmentally friendly solvent. In addition, the coconut oil nourish the skin and treat the skin diseases as well. The extracts from the herbal formulas were then evaluated for stability on different conditions and studied for the antimicrobial activity against pathogens causing skin diseases with agar dilution method at concentrations of 0.0025 to 5 mg/ml. The results showed that the extract was stable when it was kept in a well-closed container, protected from light, and stored at 30±2°C. Furthermore, it was active against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Propionibacterium acnes* DMST 14916, *Trichophyton mentagrophytes* DMST 19735, and *Candida albicans* ATCC 10231, at minimum inhibitory concentrations (MIC) of 5, 0.5, 0.5 and 5 mg/ml, respectively. The results of this study can be used as a preliminary information for the development of this herbal formula to a Thai herbal product that was good stability for treating skin infections caused by fungi and bacteria. Moreover, it may be extended to study the effectiveness of herbal products in patients with skin disease caused by fungi and bacteria in the future.

Keywords: Thai herbal formulation, Antimicrobial activity, Stability

บทนำ

พืชผักสมุนไพรจัดเป็นผลิตผลที่ได้จากธรรมชาติ มนุษย์ตั้งแต่ยุคโบราณมีการนำสิ่งเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ ไม่ว่าจะเป็นอาหาร ยาชูกำลัง หรือยารักษาโรค[1] และมีการใช้พืชผักสมุนไพรสืบต่อกันมาเรื่อย ๆ จนถึงมนุษย์ยุคปัจจุบัน ในปัจจุบันนี้ยารักษาโรคส่วนใหญ่เป็นยาที่สังเคราะห์ขึ้นมา มีสารเคมีเป็นส่วนประกอบหรือใช้สารเคมีอันตรายเข้ามาเกี่ยวข้องในกรรมวิธีการผลิต สิ่งเหล่านี้อาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ตามมา สำหรับในประเทศไทยนั้นมีการนำเข้ายาแผนปัจจุบันจากต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ซึ่งยาเหล่านั้นมีราคาค่อนข้างสูง แต่ประเทศไทยมีสิ่งที่ล้ำค่าสามารถทดแทนการใช้และการนำเข้ายาเคมีเหล่านี้ได้ สิ่งนั้นคือพืชผักสมุนไพรไทยชนิดต่าง ๆ ที่สามารถหาได้ง่ายในท้องถิ่น อีกทั้งในพืชสมุนไพรยังมีสารสำคัญมากมายหลากหลายชนิดที่ออกฤทธิ์ในการรักษาโรคต่าง ๆ ได้ หากเรานำพืชผักสมุนไพรในท้องถิ่นมาใช้ให้เกิดประโยชน์ตามแบบแผนการแพทย์แผนไทยสมัยก่อนได้ ประชาชนก็จะเห็นคุณค่าและกลับมาดำรงชีวิตใกล้ชิดธรรมชาติยิ่งขึ้น ถือว่าเป็นการอนุรักษ์มรดกไทย เกิดความภูมิใจในวัฒนธรรมของไทยที่สามารถนำอาหารจากพืชผักสมุนไพรไทยมาใช้เป็นยาสำหรับรักษาโรคต่าง ๆ

ยาสมุนไพรไทยเป็นยาที่ปรุงขึ้นจากพืช สัตว์ แร่ธาตุ จากวัตถุที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ[2] ซึ่งไม่ได้สกัดเอาเฉพาะสารสำคัญ จึงทำให้มีส่วนที่เป็นมวลกากใยเจือปนอยู่ในยาสมุนไพรจำนวนมาก ดังนั้นการตั้งตำรับยาสมุนไพรไทยจึงมีการกำหนดให้ใช้สมุนไพรที่มีปริมาณค่อนข้างมาก และประกอบด้วยสมุนไพรหลายชนิดรวมกัน[3] อย่างไรก็ตามโครงสร้างของยาไทยสามารถแบ่งย่อยตามสรรพคุณความแรงของตัวยาออกเป็นส่วน ๆ ได้แก่ ตัวยาตรง ตัวยาช่วย ตัวยาประกอบ ตัวยาชูรส ชูกลิ่นและแต่งสี[4] ทั้ง 4 ประการนี้เป็นหัวใจหลักของการตั้งตำรับยาซึ่งยังเป็นที่นิยมใช้กันอยู่ในปัจจุบัน และเพื่อความปลอดภัยในการตั้งตำรับยาจึงนิยมใช้สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐานมาประกอบในตำรับยาสมุนไพรอีกด้วย[5]

โรคผิวหนังเป็นโรคที่พบได้บ่อยในทุกเพศและทุกวัย ส่วนใหญ่มักจะมีสาเหตุเกิดจากเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย[6] เชื้อทั้งสองกลุ่มนี้มักก่อให้เกิดโรคผิวหนังที่รักษาได้ค่อนข้างยาก เช่น กลาก ผื่นคัน ฝีหนอง โรคพุพองและสิว มักจะพบตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย โรคกลาก (Dermatophytosis) เป็นโรคผิวหนังที่เกิดจากเชื้อราในกลุ่มเดอร์มาโตไฟต์ (Dermatophytes) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อราในสกุล Trichophyton (*Trichophyton mentagrophytes* พบได้มาก)[7] พบได้บ่อยที่สุดประมาณร้อยละ 20-25% หรือ 1 ใน 4 ของประชากรโลก[8] กลากมีลักษณะผื่นเป็นวงแหวน อาจมีตุ่มแดงหรือตุ่มน้ำพุพองร่วม มีอาการคันและสามารถแพร่กระจายได้ง่าย นอกจากนี้เชื้อราบางชนิดอาจก่อให้เกิดผื่นแดง คัน ลามเป็นวงเล็ก ๆ คล้ายกลาก อาทิเช่น การติดเชื้อรา *Candida albicans* มักทำให้เกิดผื่นและอาการคันบริเวณข้อพับ ซอกคอ บางครั้งพบรูขุมขนอักเสบและตุ่มหนองร่วมด้วย[9] การติดเชื้อเหล่านี้มักใช้ระยะเวลาในการรักษาค่อนข้างนาน

ในส่วนของเชื้อแบคทีเรียที่มีชื่อเรียกว่า *Staphylococcus aureus* หรือที่นิยมเรียกสั้น ๆ ว่าเชื้อ "Staph" เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบบริเวณผิวหนังและภายในโพรงจมูกของบุคคลทั่วไป บางครั้งเชื้อนี้ก่อให้เกิดโรคและพบว่าเป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่ผิวหนังได้บ่อยที่สุดในบรรดาเชื้อก่อโรคทั้งหลาย[10] โรคฝีหนอง พุพอง เป็นโรคที่พบได้บ่อย เกิดจากเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางการแพทย์ หากเกิดการอักเสบที่ผิวหนังเนื่องจากการติดเชื้อตัวนี้ จะทำให้เกิดเป็นฝีหนอง (Abscess) บริเวณผิวหนังรวมถึงบริเวณเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังได้ด้วย ซึ่งเชื้อแบคทีเรียจากรอยโรคนี้อาจมีการแพร่กระจายเข้าสู่เส้นเลือดไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย จึงทำให้ *S. aureus* สามารถก่อโรคติดเชื้อตามระบบต่าง ๆ ของร่างกายได้ ซึ่งถือว่าเป็นแบคทีเรียที่อันตรายตัวหนึ่ง[11] นอกจากนี้ยังมี

เชื้อแบคทีเรียที่สำคัญที่ก่อให้เกิดการอักเสบบริเวณรูขุมขนทำให้เกิดสิวอักเสบ ได้แก่ เชื้อ *Propionibacterium acnes* ซึ่งเป็นเชื้อที่พบได้บ่อยเช่นกัน

โรคกลาก ผื่นคัน ตุ่มหนอง ฝีหนอง แผลพุพอง และสิวมักจะแสดงรอยโรคบนผิวหนังอย่างชัดเจน รวมถึงก่อให้เกิดอาการคันในบริเวณที่เป็น ทำให้รู้สึกน่ารำคาญจนต้องเกาเพื่อระงับอาการคัน หากเมื่อเกาแล้วก็อาจทำให้เกิดรอยเกาหรือเกิดเป็นแผลเปิดขนาดเล็กและลุกลามให้ติดเชื้ออื่น ๆ ตามมา อาจก่อให้เกิดตุ่มหนอง มีอาการปวดแสบปวดร้อนได้ อาการเหล่านี้ทำให้เกิดความไม่สุขสบายตัวและมีผลต่อคุณภาพชีวิตของการใช้ชีวิตในสังคมได้ ประชาชนในท้องถิ่นส่วนใหญ่จึงมักจะหาวิธีการรักษาด้วยตัวเอง หรือรักษากับหมอพื้นบ้าน รวมถึงแพทย์แผนไทย ในปัจจุบันนี้มีการศึกษาฤทธิ์การต้านจุลชีพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรมากขึ้น[12-14] ดังนั้นจากที่กล่าวมาข้างต้น ผู้วิจัยจึงมุ่งศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคบนผิวหนังของสารสกัดจากตำรับสมุนไพรไทยในท้องถิ่น โดยใช้วิธีการสกัดสารด้วยเครื่องไมโครเวฟ (Microwave-Assisted Extraction; MAE)[15] ซึ่งเป็นการสกัดที่ประหยัดพลังงาน ประหยัดเวลา ไม่ก่อให้เกิดมลพิษอีกทั้งใช้ตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Green solvent)[16] เมื่อสกัดเสร็จไม่ต้องเสียเวลาระเหยตัวทำละลาย สามารถนำสารสกัดที่ได้มาใช้ได้เลย เป็นการลดขั้นตอนในการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร และสารสกัดที่ใช้วิธีการสกัดนี้ มีความคงตัวดีกว่าการสกัดรูปแบบอื่น ๆ และได้สารสำคัญออกมาในปริมาณสูง[17] อีกทั้งข้อมูลเบื้องต้นที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปต่อยอดพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรที่มีความคงตัวดีสำหรับรักษาผู้ป่วยที่มีปัญหาโรคผิวหนังที่เกิดจากเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียได้ในอนาคต

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาความคงตัวและฤทธิ์เบื้องต้นในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคบนผิวหนัง *S. Aureus* และ *P. acnes* และฤทธิ์การต้านเชื้อราที่ก่อโรคบนผิวหนัง *T. mentagrophytes* และ *C. albicans* ของสารสกัดจากตำรับสมุนไพรในท้องถิ่น

ระเบียบวิธีศึกษา

1. พืชสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษา

ประกอบด้วยสมุนไพรในท้องถิ่นที่มีฤทธิ์รักษาโรคผิวหนัง 9 ชนิด ได้แก่

1.1 เหงือกปลาหมอ (*Acanthus ebracteatus* Vahl.)[18]

1.2 พญายอ (*Clinacanthus nutans* (Burm. f) Lindau.)[13]

1.3 เปลือกมังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.)[14]

1.4 น้ำมันขันธ์ (*Paranephelium Macrophyllum* King.)[19]

1.5 พลู (*Piper betle*)[17,20]

1.6 เบญกานี (*Quercus infectoria* G. Olivier.)[21]

1.7 บัวบก (*Centella asiatica*)[22]

1.8 สาบเสือ (*Eupatorium odoratum* L.)[23]

1.9 กำมะถัน (Sulphur)[24]

และใช้ตัวทำละลายจากธรรมชาติ 1 ชนิด ได้แก่ น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

สมุนไพรทุกชนิดได้มาจากหมอพื้นบ้านในท้องถิ่นจังหวัดพัทลุง ซึ่งสูตรตำรับที่จะใช้ได้ตั้งตำรับยาโดยใช้หลักการตั้งตำรับยาไทย ตามตำราแพทย์แผนโบราณทั่วไป สาขาเภสัชกรรม[2] ซึ่งใช้อัตราส่วนระหว่างตัวยาตรง ตัวยาช่วย ตัวยาคุม เท่ากับ 3:2:1 แสดงดังตารางที่ 1 ดังนี้

1. ตัวยาตรง เป็นตัวยาที่จะใช้รักษาอาการหลัก โรคนั้น ๆ แต่การป่วยไข้แต่ละครั้ง ไม่ได้เกิดมีเฉพาะอาการเดียวหรือโรคเดียวบางทีอาจจะมีโรคเดียว แต่เป็นธรรมดาเมื่อป่วยไข้ร่างกายอ่อนแอ อาจเกิดอาการหรือโรคอื่นแทรกตามมาได้ หลักการแพทย์ของไทย จึงได้จัดให้มีตัวยาที่มีสรรพคุณหลักเข้ามาประกอบในส่วนนี้ด้วย เรียกว่าตัวยาตรง ซึ่งประกอบด้วย ใบเหงือกปลาหมอ ใบพญายอ และเปลือกมังคุด หนักอย่างละ 3 บาท (ชั่งยาไทย)

2. ตัวยาช่วย เป็นตัวยาที่มุ่งหมายเพื่อใช้รักษาโรคแทรกโรคตาม หรือในกรณีที่มีอาการของโรคหลายโรคด้วยกัน ก็จัดไว้รักษาอาการรองลงมา ยาช่วยจะต้องเข้ามาช่วยเสริมฤทธิ์ตัวยาตรง มีสรรพคุณไม่ขัดกันหรือทำลายฤทธิ์ตัวยาตรง ในตำรับนี้ประกอบด้วย ใบพลู ผลเบญกานี ใบบัวบก ใบสาบเสือ และน้ำมันขันธ์ หนักอย่างละ 2 บาท (ชั่งยาไทย)

3. ตัวยาคุม หรือยาประกอบ เป็นตัวยาที่คุมกำลังหรือคุมฤทธิ์ของยาตัวอื่นให้เป็นไปด้วยดี หรือป้องกันโรคตามหรือเสริมในส่วนที่ควรแก้ไขเพิ่มเติม ให้ยามีสรรพคุณสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และสรรพคุณยาต้องไม่ขัดกันกับตัวยาตรงและยาช่วย ในตำรับนี้ประกอบด้วย กำมะถันเหลือง หนัก 1 บาท (ชั่งยาไทย)

4. ตัวยาชูรส ชูกลิ่น และแต่งสี คือ ตัวยาที่นำมาปรุงแต่งเพื่อให้ยาขนานนั้น ๆ น่ารับประทาน เพื่อให้ง่ายแก่การใช้ยาและสรรพคุณต้องไม่ขัดกับยาตัวอื่น ๆ ในตำรับนี้เป็นสารสกัดเพื่อนำไปเป็นส่วนประกอบของยาทาบริเวณผิวหนัง อีกทั้งกลิ่นที่ได้มีความเป็นกลิ่นธรรมชาติของน้ำมันมะพร้าวและสมุนไพรทั้ง 9 ชนิด รวมถึงมีสีสันสวยงามตามธรรมชาติ ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องมีตัวยาชูรส ชูกลิ่น และแต่งสี

เนื่องด้วยตำรับยาสมุนไพรนี้ตั้งตำรับขึ้นมาใหม่ตามศาสตร์การแพทย์แผนไทย จึงได้มีการตรวจสอบความถูกต้องจากนายสวาท จันทร์แดง ครูภูมิปัญญาพื้นบ้านด้านสมุนไพรและแพทย์แผนไทย จังหวัดพัทลุงเป็นผู้ทรงคุณวุฒิในการตรวจสอบ และเห็นชอบถึงการตั้งตำรับนี้ว่าเป็นไปตามศาสตร์การแพทย์แผนไทย

2. การเตรียมสารสกัดจากตำรับสมุนไพรสกัดสมุนไพรด้วยวิธีสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ (MAE)

โดยการเตรียมสมุนไพรตามตำรับสมุนไพรที่ตั้งตำรับไว้ มาล้างทำความสะอาด อบให้แห้งด้วยตู้อบสมุนไพรที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสมุนไพรที่แห้งแล้วไปบดผง ผ่านแร่งและนำไปชั่งน้ำหนักผงสมุนไพรตามสูตรตำรับ ได้แก่ ตัวยาตรง ประกอบด้วย ใบเหงือกปลาหมอ ใบพญายอ และเปลือกมังคุด หนักอย่างละ 45 กรัม ตัวยาช่วย ประกอบด้วย ใบพลู ผลเบญกานี ใบบัวบก ใบสาบเสือ และน้ำมันขันธ์ หนักอย่างละ 30 กรัม ตัวยาคุม ประกอบด้วย กำมะถันเหลือง หนัก 15 กรัม ใส่รวมกันลงในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร แล้วใส่น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ 600 มิลลิลิตร คนผงสมุนไพรกับน้ำมันมะพร้าวให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำมาสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ โดยใช้กำลังไฟสูงสุดที่ 800 วัตต์ ตั้งเวลาสกัดไว้ 2 นาที และสกัดซ้ำประมาณ 5 รอบ โดยแต่ละรอบหยุดพักแล้วคนเป็นเวลา 30 วินาที[25] จนสารสกัดถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดที่ 145-150 องศาเซลเซียส กรองสารสกัดด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรองหยาบและกระดาษกรองละเอียดอีกครั้ง จะได้สารสกัดที่ไม่มีตะกอน นำสารที่สกัดได้ไปทดลองในขั้นตอนต่อไป

3. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและความคงตัวของสารสกัดจากตำรับสมุนไพร

นำสารสกัดจากตำรับสมุนไพรที่สกัดได้ มาประเมินความคงตัวในสภาวะต่าง ๆ ได้แก่ แสงสว่าง อุณหภูมิและสภาวะอุณหภูมิสูงและต่ำสลับกัน โดยสังเกตลักษณะทางกายภาพของสารสกัด ได้แก่ สี กลิ่น การแยกชั้นของ

สารสกัดรวมถึงวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง เพื่อทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ ซึ่งจะประเมินความคงตัวระยะเวลา 4 เดือน ดังนี้

3.1 ผลของแสงที่มีต่อสารสกัดจากตำรับสมุนไพร

ตวงสารสกัดจากตำรับสมุนไพร 50 มิลลิลิตรต่อหนึ่งขวดภาชนะ ขวดแรกเก็บไว้ในภาชนะใส ปิดมิดชิด วางไว้ให้โดนแสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 36 วัตต์ (วางภาชนะห่างหลอดไฟประมาณ 40 เซนติเมตร) ขวดที่สองเก็บไว้ในภาชนะทึบแสง ปิดมิดชิด วางไว้ในที่ป้องกันแสง โดยทั้ง 2 ขวดเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 4 เดือน

3.2 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อสารสกัดจากตำรับสมุนไพร

ตวงสารสกัดจากตำรับสมุนไพร 50 มิลลิลิตรต่อหนึ่งขวดภาชนะ ทั้งสองขวดเก็บในภาชนะทึบแสง ปิดมิดชิด ขวดแรกเก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ขวดที่สองเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 4 เดือน

3.3 ผลของอุณหภูมิสูงและต่ำสลับกัน (Freeze-thaw cycle) ที่มีต่อสารสกัดจากตำรับสมุนไพร

ตวงสารสกัดจากตำรับสมุนไพร 50 มิลลิลิตรต่อหนึ่งขวดภาชนะ เก็บในภาชนะทึบแสง ปิดมิดชิด เก็บไวในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาเก็บในตู้อบ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำเช่นนี้ไปเรื่อย ๆ จนครบ 6 รอบ

สังเกตลักษณะทางกายภาพและวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของสารสกัดทุกสภาวะ การทดสอบกระทำซ้ำ 3 ครั้ง

4. การศึกษาฤทธิการต้านเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากตำรับสมุนไพร

ทดสอบด้วยวิธี Agar dilution ดัดแปลงวิธีการของ CLSI M7-A4 (2006)[26], CLSI M2-A9 (2006)[27], Sutter, Vl *et.al* (1980)[28], Yoshida, T *et.at* (1997)[29] และ Therese, KL *et.al.* (2006)[30]

4.1 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ บ่มเพาะเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบในอาหารเพาะหัวเชื้อเริ่มต้นตามชนิดของจุลินทรีย์ บ่มเพาะเชื้อจุลินทรีย์ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *T. mentagrophytes* DMST 19735, *C. albicans* ATCC 10231 และ *S. aureus* ATCC 6538 ภายใต้สภาวะเจริญแบบใช้อากาศที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน ตามลำดับ และบ่มเพาะเชื้อ *P. acnes* DMST 14916 ภายใต้สภาวะเจริญแบบใช้อากาศที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาบ่มเพาะนำเชื้อมาปรับปริมาณให้ได้เทียบเท่ากับ 0.5 McFarland standard ด้วยอาการเพาะหัวเชื้อเริ่มต้น

4.2 เตรียมจานอาหารเลี้ยงเชื้อทดสอบ ปริมาตรรวม 10 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วยอาหารทดสอบตามชนิดของจุลินทรีย์และตัวอย่างสารสกัดจากตำรับสมุนไพรที่เตรียมให้มีความเข้มข้นตั้งต้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ซึ่งมีความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดจากตำรับสมุนไพรในจานอาหารเลี้ยงเชื้อทดสอบจำนวน 6 ความเข้มข้น เท่ากับ 0.0025, 0.00625, 0.0125, 0.05, 0.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วางไว้ให้อาหารทดสอบในจานอาหารแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง และเตรียมจานอาหารเลี้ยงเชื้อของกลุ่มควบคุมประกอบด้วยอาหารตามตามชนิดของจุลินทรีย์ ปริมาณ 10 มิลลิลิตร การทดสอบกระทำจำนวน 3 ซ้ำต่อเชื้อทดสอบ

4.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 2 สายพันธุ์ของตัวอย่างสารสกัดจากตำรับสมุนไพร ด้วยวิธี Agar dilution ทำ Spot inoculation บนจานอาหารทดสอบโดยไปเปตต์หัวเชื้อจุลินทรีย์ ปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร แตะบนผิวหน้าของอาหารทดสอบ (ปริมาณเชื้อสุดท้ายในจานอาหารทดสอบ เท่ากับ 1x10 โคโลนีต่อมิลลิลิตร)

ปล่อยให้สารละลายเชื้อที่ผิวหน้าอาหารจนแข็งซึมลงไปหมดในแต่ละจานอาหารทดสอบ บ่มเพาะจานอาหารทดสอบแต่ละสายพันธุ์ กระทำ 3 ซ้ำ เมื่อครบระยะเวลากำหนด ตรวจสอบและบันทึกผลทดสอบ การไม่พบการเจริญของเชื้อทดสอบบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ค่าความเข้มข้นที่ไม่พบการเจริญของเชื้อทดสอบเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของตัวอย่างทดสอบที่สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ (Minimum Inhibitory Concentrations; MICs)

ผลการศึกษา

1. การสกัดสารจากตำรับสมุนไพรโดยวิธีการสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ (MAE)

จากการสกัดสารจากตำรับสมุนไพรที่ตั้งตำรับไว้ ประกอบด้วย ใบเหงือกปลาหมอ ใบพญายอ และเปลือกมังคุด หนักอย่างละ 45 กรัม ใบพลู ผลเบญกานี ใบบัวบก ใบสาบเสือ และน้ำมันขันธ์ หนักอย่างละ 30 กรัม กำมะถันเหลือง หนัก 15 กรัม ใส่รวมกันลงในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร สกัดโดยใช้น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ 600 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลาย ด้วยวิธีสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ โดยใช้กำลังไฟสูงสุดที่ 800 วัตต์ ตั้งเวลาสกัดไว้ 2 นาที และสกัดซ้ำประมาณ 5 รอบ อุณหภูมิของสารสกัดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 148 องศาเซลเซียส และเมื่อนำไปกรอง ได้สารสกัดในรูปแบบน้ำมัน 253 มิลลิลิตร มีลักษณะหนืดเล็กน้อย สีเขียวเข้ม ไม่มีตะกอน

2. คุณสมบัติทางกายภาพและความคงตัวของสารสกัดจากตำรับสมุนไพร

จากการประเมินความคงตัวของสารสกัดจากตำรับสมุนไพรระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าสารสกัดที่เก็บในสภาวะป้องกันแสงที่อุณหภูมิห้อง ไม่มีความเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น การแยกชั้น การตกตะกอน และความหนืด ค่าความเป็นกรด-ด่าง ลดลงเล็กน้อย pH จาก 5.63 เป็น 5.50 สารสกัดที่เก็บไว้ในสภาวะโดนแสงนั้น สี กลิ่น และความหนืดไม่มีการเปลี่ยนแปลง ไม่พบการแยกชั้น แต่พบการตกตะกอนเล็กน้อย ค่าความเป็นกรด-ด่าง เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่วนสารสกัดที่เก็บไว้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น การแยกชั้นหรือตกตะกอน แต่สารสกัดจะมีความหนืดและจับตัวเป็นไขเล็กน้อย ค่าความเป็นกรด-ด่าง ไม่เปลี่ยนแปลง สำหรับสารสกัดที่ทดสอบในสภาวะอุณหภูมิสูงและต่ำสลับกัน เมื่อทดสอบครบ 6 รอบ พบว่าสีของสารสกัดเปลี่ยนจากสีเขียวเข้มเป็นสีเขียวน้ำตาล มีกลิ่นเหม็นหืนเล็กน้อย มีการแยกชั้นของตัวทำละลาย และมีการตกตะกอนของสารสกัด รวมถึงสารสกัดมีความเหลวมาก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ลดลงมากกว่าสภาวะอื่น (ดังตารางที่ 2)

3. ฤทธิ์ต้านเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากตำรับสมุนไพร

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 6538, *P. acnes* DMST 14916 เชื้อรา *T. Mentagrophytes* DMST 19735 และ *C. albicans* ATCC 10231 ของสารสกัดจากตำรับสมุนไพร ด้วยวิธี Agar dilution ที่ระดับความเข้มข้น 0.0025, 0.00625, 0.0125, 0.05, 0.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ไม่พบการเจริญของเชื้อรา *T. mentagrophytes* DMST 19735 บนอาหารทดสอบ SDA ที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากตำรับสมุนไพร 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่พบการเจริญของเชื้อรา *C. albicans* ATCC 10231 บนอาหารทดสอบ SDA ที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากตำรับสมุนไพร 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. Aureus* ATCC 6538 บนอาหารทดสอบ TSA ที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากตำรับสมุนไพร 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* DMST 14916 บนอาหารทดสอบ BA ที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากตำรับสมุนไพร 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ดังตารางที่ 3)

อภิปรายผล

1. การสกัดสารจากตำรับสมุนไพรสกัดสมุนไพรด้วยวิธีสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ (MAE)

จากการสกัดสารจากตำรับสมุนไพรที่ตั้งตำรับไว้ สกัดโดยใช้น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ 600 มิลลิลิตร ด้วยวิธีสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ โดยใช้กำลังไฟสูงสุดที่ 800 วัตต์ ตั้งเวลาสกัดไว้ 2 นาที และสกัดซ้ำประมาณ 5 รอบ อุณหภูมิของสารสกัดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 148 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ พิรุณรัตน์ แซ่ลิ้ม และคณะ (2562)[21] พบว่าการสกัดสารด้วยวิธีการสกัดไมโครเวฟ โดยใช้น้ำมันเป็นตัวทำละลาย อุณภูมิที่เหมาะสมในการสกัดอยู่ระหว่าง 145-150 องศาเซลเซียส การสกัดสารด้วยวิธีการนี้ ไม่ทำให้สารสำคัญสลายตัว เนื่องจากเป็นการใช้คลื่นไมโครเวฟสกัด โดยคลื่นไมโครเวฟเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่จะเปลี่ยนไปเป็นความร้อนโดยการทำให้อนุภาคหรือโมเลกุลที่มีขั้วเสียดสีกันและเกิดความร้อนขึ้นผลต่อเซลล์พืชและเกิดการสกัดออกมาของสารสำคัญได้มาก สอดคล้องกับงานวิจัยของ Curko Natka และคณะ[31] พบว่าการสกัดสารจากสมุนไพรด้วยวิธีวิธีสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ (MAE) สกัดสารกลุ่มฟีนอลิกจากเปลือกองุ่นได้สารสกัดในปริมาณสูงและสารที่ได้ไม่เสื่อมสภาพ การสกัดสารจากผงสมุนไพรโดยใช้น้ำมัน จะได้สารสกัดในรูปแบบน้ำมันที่มีปริมาณลดลง เนื่องจากผงสมุนไพรมีความฟู[21] จึงเกิดการดูดน้ำมันเข้าไปในผงยา ทำให้ได้สารสกัดเพียง 253 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นสารสกัดที่เข้มข้น และไม่จำเป็นต้องระเหยตัวทำละลายออก สามารถนำมาใช้ได้หลังจากสกัดทันที สอดคล้องกับงานวิจัยของ พิรุณรัตน์ แซ่ลิ้ม และคณะ (2562)[21] พบว่าปริมาณสารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วยน้ำมัน จะได้สารสกัดปริมาณลดลงเกินกว่า 50% เมื่อเทียบกับตัวทำละลายเอทานอล

2. คุณสมบัติทางกายภาพและความคงตัวของสารสกัดจากตำรับสมุนไพร

จากการประเมินความคงตัวของสารสกัดจากตำรับสมุนไพรระยะเวลา 16 สัปดาห์ ได้ผลการศึกษาว่า แสงมีผลต่อความคงตัวของสารสกัดเล็กน้อย โดยแสงมีผลทำให้สารสกัดเกิดการตกตะกอนและเกิดการสลายตัวของสารสำคัญเนื่องจากแสงกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน สอดคล้องกับงานวิจัยของสุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์และคณะ[32] พบว่าสารสกัดที่เก็บในที่มืดมีความคงตัวดีกว่าสารสกัดที่เก็บในที่โดนแสง

สำหรับปัจจัยในเรื่องอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาสารสกัด ในการวิจัยครั้งนี้พบว่าการเก็บสารสกัดในอุณหภูมิห้อง มีความเหมาะสมมากว่าการเก็บในที่เย็นหรือที่อุณหภูมิที่ลดลง เนื่องจากความเย็นส่งผลให้สารสกัดในรูปแบบน้ำมันเกิดความหนืดและจับตัวเป็นไข ในการวิจัยนี้ใช้น้ำมันมะพร้าวเป็นตัวทำละลาย ซึ่งน้ำมันมะพร้าวประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวในปริมาณมาก ทำให้เกิดการจับตัวเป็นไขในที่อุณหภูมิต่ำ และมีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส[33] สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chang และคณะ[34] ที่พบว่าการเก็บสารสกัดที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส มีความคงตัวดีกว่าการเก็บสารสกัดที่อุณหภูมิสูง ในส่วนของปัจจัยในสภาวะเร่ง เป็นการเก็บสารสกัดในที่ ๆ เปลี่ยนแปลงอุณหภูมิฉับพลันโดยใช้อุณหภูมิสูงและต่ำสลับกัน ทำให้สารสกัดไม่มีความคงตัว มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ และมีค่า pH ที่ลดลงจากเดิม เนื่องจากเกิดการเสื่อมสภาพและสลายตัวของสารสกัด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Shoosanglertwijit และคณะ[35] ได้ศึกษาพบว่ายาเตรียมมีความคงตัวทางกายภาพเมื่อเก็บยาที่อุณหภูมิ 4±2°C, อุณหภูมิห้อง (30±2°C) และเมื่อเก็บยาในอุณหภูมิสูงมีการสลายตัวของยาได้ง่ายทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของยาเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม และงานวิจัยของปัถยา รุจิแสวง และคณะ[36] ได้ศึกษาความคงตัวของสูตรตำรับโทนเนอร์จากสารสกัดเปลือกต้นแก้วมังกร พบว่าหลังจากการทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Freeze-thaw cycle จะพบว่าปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญมีความคงตัวเหลืออยู่น้อยกว่า 90% และ

มีค่า pH ที่ลดลง แสดงให้เห็นว่าการเก็บสารที่อุณหภูมิสูงต่ำสลับกัน เป็นการเร่งให้สารเกิดการสลายตัว ทำให้ความคงตัวลดน้อยลง

3. ฤทธิ์ต้านเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากตำรับสมุนไพร

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ได้ผลการศึกษาว่าสารสกัดจากตำรับสมุนไพรมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 6538, *P. acnes* DMST 14916 เชื้อรา *T. Mentagrophytes* DMST 19735 และ *C. albicans* ATCC 10231 มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ต้านเชื้อ (MIC) เท่ากับ 5, 0.5, 0.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยที่เชื้อรา *T. Mentagrophytes* เป็นเชื้อก่อโรคเชื้อราที่ผิวหนังทำให้เกิดโรคกลาก *C. albicans* ก่อให้เกิดอาการอักเสบ คัน เป็นตุ่มผื่นบริเวณผิวหนัง ในส่วนของเชื้อ *S. aureus* เป็นเชื้อก่อโรคที่ทำให้เกิดฝีหนองและโรคพุพอง (Impetigo) และ *P. acnes* ก่อให้เกิดสิวอักเสบ ผลการต้านเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดตำรับสมุนไพรที่ได้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบแต่ละชนิดได้ไม่แตกต่างกันมาก สามารถอนุมานเบื้องต้นได้ว่าตำรับสมุนไพรนี้มีฤทธิ์เบื้องต้นในการต้านเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคผิวหนังที่ความเข้มข้นในช่วง 0.5-5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆ ที่ได้มีการทำการศึกษามาก่อนหน้าถึงการใช้สารสกัดจากสมุนไพรเดี่ยวที่เป็นส่วนประกอบของตำรับทุกตัวล้วนแล้วแต่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพที่ก่อโรคบนผิวหนังทั้งสิ้น ดังแสดงในตารางที่ 1

ข้อสรุป

จากการศึกษาความคงตัวและฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพก่อโรคผิวหนังของสารสกัดจากตำรับสมุนไพร พบว่าสารสกัดจากตำรับสมุนไพรมีความคงตัวดีเมื่อเก็บในภาชนะที่ปิดมิดชิด ป้องกันแสง ที่อุณหภูมิห้อง รวมถึงมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมสำหรับการใช้บนผิวหนัง และมีประสิทธิผลในการยับยั้งเชื้อก่อโรคบนผิวหนังได้ดี สามารถนำสารสกัดที่ได้นี้ไปพัฒนาต่อยอดให้อยู่ในรูปแบบผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มีความคงตัว การกระจายตัว และดูดซึมทางผิวหนังที่ดีสำหรับรักษาการติดเชื้อราและแบคทีเรียบริเวณผิวหนังได้ และอาจจะต่อยอดไปถึงการศึกษาประสิทธิผลของผลิตภัณฑ์สมุนไพรในผู้ป่วยที่มีปัญหาโรคผิวหนังที่เกิดจากเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียต่อไปในอนาคต เป็นการช่วยส่งเสริมการใช้สมุนไพรในท้องถิ่นแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อก่อโรคผิวหนังต่าง ๆ ก่อให้เกิดประโยชน์ในวงการแพทย์ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณบุคลากรและนิสิตสาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาการสุขภาพและการกีฬา มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง และการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุน จากคณะวิทยาการสุขภาพและการกีฬา มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง และทุนสนับสนุนจากโครงการ Smart Start Idea by GSB Startup

ตาราง ภาพ และแผนภาพ

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของสมุนไพรในตำรับยารักษาโรคผิวหนัง และฤทธิ์รักษาโรคทางผิวหนัง

สมุนไพร		ส่วนที่ใช้	รายละเอียด		
ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อพื้นเมือง		ปริมาณ (กรัม)	หน้าที่	ฤทธิ์รักษาโรคทางผิวหนัง
1. *Acanthus ebracteatus* Vahl.	เหงือกปลาหมอ	ใบ	45	ตัวยาตรง	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*[18]
2. *Clinacanthus nutans* (Burm. f) Lindau.	พญายอ	ใบ	45	ตัวยาตรง	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ[13]
3. *Garcinia mangostana* Linn.	มังคุด	เปลือก	45	ตัวยาตรง	มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย[14]
4. *Paranephelium Macrophyllum* King.	ขัน	น้ำมันจากเมล็ด	30	ตัวยาช่วย	ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังคือเชื้อยีสต์ *C. albicans*[19]
5. *Piper betle*	พลู	ใบ	30	ตัวยาช่วย	มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* และ *Escherichia coli*[17,20]
6. *Quercus infectoria* G. Olivier.	เบญกานี	ผล	30	ตัวยาช่วย	ฤทธิ์ในการต้านเชื้อ MRSA[21]
7. *Centella asiatica*	บัวบก	ใบ	30	ตัวยาช่วย	มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและต้านเชื้อรา มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์สมานแผล[22]
8. *Eupatorium odoratum* L.	สาบเสือ	ใบ	30	ตัวยาช่วย	ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ *S. aureus*[23]
9. Sulphur	กำมะถันเหลือง	-	15	ตัวยาคุม	ฤทธิ์ฆ่าเชื้อรา[24]

ตารางที่ 2 ผลการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและความคงตัวของสารสกัดจากตำรับสมุนไพร

สภาวะที่ศึกษาความคงตัว		ลักษณะทางกายภาพ					
		สี	กลิ่น	การแยกชั้น/ตกตะกอน	ความหนืด	ค่า pH (Mean±SD)	
						สัปดาห์ 0	สัปดาห์ 16
แสง	โดนแสง	NC	NC	ไม่แยกชั้นตกตะกอนเล็กน้อย	เหลวมากขึ้น		5.17±0.24
	ป้องกันแสง	NC	NC	NC	NC		5.50±0.41
อุณหภูมิ	4 °C	NC	NC	NC	หนืดจับตัวเป็นไขเล็กน้อย	5.63±0.43	5.67±0.24
	30 °C	NC	NC	NC	NC		5.50±0.41
สลับอุณหภูมิสูงต่ำ	4 °C 48 h. สลับ 45 °C 48 h.	สีซีดเล็กน้อย	เหม็นหืนเล็กน้อย	แยกชั้นเล็กน้อยตกตะกอน	เหลวมาก		4.83±0.62

หมายเหตุ NC = No Change หมายถึง ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

ตารางที่ 3 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentrations: MICs) ของสารสกัดตำรับสมุนไพร

ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ	ช่วงความเข้มข้น (มก./มล.)	ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) (Mean±SD)			
		S. aureus	*P. acnes*	*T. mentagrophyte*	*C. albicans*
สารสกัดตำรับสมุนไพร	0.0025-5	5±0.00	0.5±0.00	0.5±0.00	5±0.00
Gentamicin	0.0025-5	0.013±0.00	NT	NT	NT
Clindamycin	0.0025-5	NT	0.006±0.00	NT	NT
Terbinafine	0.0025-5	NT	NT	0.003±0.00	NT
Fluconazole	0.0025-5	NT	NT	NT	0.003±0.00
กลุ่มควบคุม	-	G	G	G	G

หมายเหตุ NT = Not test หมายถึง ไม่ได้ทดสอบ

G = Growth หมายถึง พบการเจริญของเชื้อทดสอบในอาหารทดสอบ

กลุ่มควบคุม หมายถึง Positive control: อาหารทดสอบตามชนิดของจุลินทรีย์ผสมกับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

1. มณฑา ลิมปิยประพันธ์. (2554). **การผลิตพืชสมุนไพร**. กรุงเทพฯ: ซีเอ็ดยูเคชั่น.
2. กองการประกอบโรคศิลปะ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข. (ม.ป.ป.). **ตำราแพทย์แผนโบราณทั่วไป สาขาเภสัชกรรม.**
3. คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล. (2565). **สมุนไพร**. ค้นเมื่อ 11 พฤษภาคม 2565, จาก https://www.rama.mahidol.ac.th/poisoncenter/th/pois-cov/Herbal
4. กลุ่มงานวิชาการเภสัชกรรมแผนไทย. (ม.ป.ป.). **หลักการและข้อปฏิบัติของเภสัชกรรมแผนไทย**. สถาบันการแพทย์แผนไทย
5. อรมณี ประจวบจินดา, อินทัช ศักดิ์ภักดีเจริญ, ผกากรอง ทองดียิ่ง และ สุมาลี ปานทอง. (2020). สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐานที่ช่วยรักษาอาการแพ้อักเสบของผิวหนังจากแมลงสัตว์กัดต่อย. **วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก**. 18(3), 604-615.
6. ปิยะรัตน์ ธัญนิพัทธ์, เพ็ญวดี พัฒนปรีชากุล, สุขุม เจียมตน. (2560). รายงานผู้ป่วยโรคผิวหนังอักเสบ Superficial granulomatous pyoderma ในผู้ป่วย IgA monoclonal gammopathy, **Thai Journal of Dermatology**. 33(3), 231–238.
7. นงลักษณ์ สุขวาณิชย์ศิลป์. (2564). **ยารักษาโรคเชื้อราที่เล็บ**. ค้นเมื่อ 11 พฤษภาคม 2565, จาก https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/582/service-knowledge-article.php
8. Vena, GA., Chieco, P., Posa, F., Garofalo, A., Bosco, A., & Cassano, N. (2012) Epidemiology of dermatophytoses: retrospective analysis from 2005 to 2010 and comparison with previous data from 1975. **New Microbiol**. 35(2), 207-213
9. พรพรรณ ภูมิรัตน์, วิทวัส ตันหยง และ นัฏฐเนศวร์ ลับเลิศลบ. (2013). เชื้อราทางการแพทย์. **วารสารการแพทย์และวิทยาศาสตร์สุขภาพ.** 20(2), 31-44.
10. สำนักงานเลขานุการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2547). **เชื้อแบคทีเรีย MRSA**. ค้นเมื่อ 11 พฤษภาคม 2565, จาก http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/
11. ภัทรชัย กีรติสิน. (2552). **ตำราวิทยาแบคทีเรียทางการแพทย์.** กรุงเทพฯ: คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
12. มาลัย ทวีโชคิภัทร์. (2546). ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราของพืชสมุนไพรบางชนิด. **เวชสารคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ**. 10(2), 59–65.
13. Ariful, A., Sahena, F., Kashif, G., Abdul, H., Abdul, S. J., Alfi, K., & Zaidul, I. S. (2016). *Clinacanthus nutans*: A review of the medicinal uses, pharmacology and phytochemistry. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**. 9(4), 402-409.
14. Tatiya-Aphiradee, N., Chatuphonprasert, W., & Jarukamjorn, K. (2016). In vivo antibacterial activity of *Garcinia mangostana* pericarp extract against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a mouse superficial skin infection model. **Pharmaceutical Biology.** 54(11), 2606-2615.

15. ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม. (2563). **หลักการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
16. อารีรัตน์ ซื่อดี. (2560). การใช้คลื่นไมโครเวฟสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 11(1), 1–14.
17. เกศสุคนธ์ มณีวรรณ และ นิตยา คอนสาร. (2561). การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบพลูด้วยคลื่นไมโครเวฟ. **วารสารแก่นเกษตร**. 46(1), 1230–1235.
18. Sittiwet, C., Niamsa, N., & Puangpronpitag, D. (2009). Antimicrobial Activity of *Acanthus ebracteatus* Vahl. Aqueous Extract: The Potential for Skin Infection Treatment. **International Journal of Biological Chemistry**. 3(2), 95-98.
19. สวาท จันทร์แดง. (2563). **น้ำมันขันธ์** (แผ่นพับ). มหาวิทยาลัยทักษิณ.
20 กนกอร สมบัติ และ ธีรทัศน์ สุดสาย. (2560). **ฤทธิ์สมานแผลของสารสกัดจากใบพลู**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต.
21. Chusri, S., & Voravuthikunchai, SP. (2011). Damage of staphylococcal cytoplasmic membrane by *Quercus infectoria* G. Olivier and its components. **Letters in Applied Microbiology**. 52(6), 565-572.
22. จันทรพร ทองเอกแก้ว. (2556). บัวบก: สมุนไพรมากคุณประโยชน์ *Centella asiatica* (Linn.) Urban: A Very Useful Herb. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี**. 15(3), 70-75.
23. Sirinthipaporn, A., & Jiraungkoorskul, W. (2017). Wound Healing Property Review of Siam Weed, *Chromolaena odorata*. **Pharmacognosy reviews.** 11(21), 35–38.
24. จินดาพร ภูริพัฒนาวงษ์. (2539). **กำมะถันเหลือง**. เภสัชเวทกับตำรายาแผนโบราณ. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.
25. Pirunrat Sae-Lim, Supreeya Yuenyongsawad, & Pharkphoom Panichayupakaranant. (2019). Chamuangone-Enriched *Garcinia cowa* Leaf Extract with Rice Bran Oil: Extraction and Cytotoxic Activity against Cancer Cells. **Pharmacognosy Magazine**. 15(61), 183-188.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLS). (2006). **M7-A4 Methods for Dilution Antimicrobial Streethay Tags For Bacteria That Grow Aerobically: Approved Guideline – Seventh Edition**. USA: Pa**.**
27. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLS). (2006). **M2-A9 Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests Approved Guideline Ninth Edition**. USA Wayne: Pa.
28. Sutter, V. L., Citron, D. M., & Finegold, S. M. (1980). Susceptibility testing of anaerobes in: Suter, VL editor. **Anaerobic Bacteriology Manual,** 3rded, USA: The C.V.Mosby Co. 67-77.
29. Yoshida, T., Jono, K., & Okonogi, K. (1997). Modified agar dilution susceptibility testing method for determining In Vitro activities of antifungal agents, including azole compounds. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 41(6), 1349-1351.

30. Therese, KL., Bagyalakshmi, R., Madhavan, HN., & Deepa, P. (2006). In-vitro susceptibility testing by agar dilution method to determine the minimum inhibitory concentrations of amphotericin B, fluconazole and ketoconazole against ocular fungal isolates Indian. **Journal of Medical Microbiology**. 24(4), 273-279.
31. Curko, N., Kelsin, K., Dragovic-Uzelac, V., et al. (2019). Microwave-assisted extraction of different groups of phenolic compounds from grape skin pomaces: modeling and optimization. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**. 69, 235–246.
32. สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์, ศักดิ์ชัย ชูโชติ และ ดุสิต เอื้ออำนวย. (2556). ผลของระยะเวลา แสง และอุณหภูมิในการเก็บรักษาสารสกัด จากไซยาโนแบคทีเรีย *Phormidium angustissimum* ต่อความสามารถในการยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดเขียวกวางตุ้ง. **วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.** 41(4), 973-984.
33. Sue, C. (2008). **Chapter 7 - Composition of essential oils and other materials, Essential Chemistry for Aromatherapy (Second Edition).** Churchill Livingstone: 123-229.
34. Chang, Q., Zuo, Z., Chow, M.S.S., & Ho, W.K.K. (2005). Effect of storage temperature on phenolics stability in hawthorn (Crataegus pinnatifida var. major) fruits and a hawthorn drink. **Food Chemistry.** 38: 91-98.
35. Shoosanglertwijit, J., Kaewnopparat, S., Yongmaitreesakul, B., Pattayananthavej, S., & Kaewnopparat, N. (2011). Physical, chemical and microbiological stability of extemporaneous furosemide suspensions. **Asian Biomedicine Journal.** 5(5): 681-686.
36. ปัถยา รุจิแสวง, ศุภาพิชญ์ สิงห์ประเสริฐ, เพชรพงศ์ เพชรี, นวลศรี นิวัติศัยวงศ์ และ อารีรัตน์ ซื่อดี. (2563). การศึกษาการตั้งสูตรตำรับโทนเนอร์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเปลือกต้นแก้วมังกร. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.** 14(2), 220-236.