บทที่ 5
อภิปรายผลการวิจัย

ในการศึกษาผลของสมุนไพร 21 ชนิด ต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อทางผิวหนัง 7 ชนิด ได้แก่ *E. coli* O157:H7, *P. acnes*, *Ps. aeruginosa*, *S. aureus*, MRSA, *S. epidermidis* และ *St. pyogenes* พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้จากใบยูคาลิปตัสมีปริมาณค่อนข้างน้อย อย่างไรก็ตาม ปริมาณและลักษณะน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้ในแต่ละครั้งอาจมีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ แหล่งที่ปลูก รวมถึงฤดูกาลและช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่างมากลั่นน้ำมันหอมระเหย สำหรับวุ้นจากว่านหางจระเข้ ยางฝิ่นต้น ยางพญาสัตบรรณ และยางหนุมานนั่งแท่น ที่กรีดได้นั้นมีลักษณะเป็นของเหลว มีสีที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของพืช (สมพร, 2525) ส่วนพืชที่เหลือจำนวน 18 ชนิด ถูกสกัดด้วยตัวทำลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่น และเอทานอล 95% เนื่องจากน้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายที่สามารถหาได้ง่ายและมีราคาถูกเหมาะสำหรับการสกัดสารมีขั้วที่สามารถละลายน้ำได้ แต่มีข้อจำกัดคือน้ำกลั่นสามารถละลายองค์ประกอบที่ไม่ต้องการออกมาได้มาก เช่น แป้งและน้ำตาล ซึ่งเป็นแหล่งอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้สารสกัดที่สกัดได้ไม่สามารถเก็บไว้ได้นานเกิดการบูดเสียหรือเสื่อมสภาพ ส่วนเอทานอล 95% เป็นตัวที่นิยมใช้ในการสกัดสารจากพืชสมุนไพร เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่ดี มีความจำเพาะ (selectivity) สูง แยกตัวทำละลายออกจากสารสกัดได้ง่าย และมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ จึงลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในสารสกัด ทำให้เก็บสารสกัดได้นานขึ้น แต่มีข้อเสียคือ มีราคาแพงและมีความพิษเป็นค่อนข้างสูงกว่าการใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย นอกจากนี้ยังสามารถระเหยและติดไฟได้ง่าย ซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้วิจัย (รัตนา, 2547) เนื่องจากพืชแต่ละชนิดอาจมีสารออกฤทธิ์ที่สามารถละลายในตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกัน ดังนั้นการสกัดอย่างเป็นขั้นตอนโดยใช้ตัวทำละลายหลายชนิด หรือการเติมกรด-ด่างลงไปเล็กน้อยในตัวทำละลาย เพื่อปรับความเป็นกรด-ด่างของตัวทำละลายให้เหมาะสมยิ่งขึ้น (วีณา, 2534) เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการศึกษาครั้งต่อไป เพื่อที่จะสามารถสกัดสารออกฤทธิ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดมาใช้ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

สารสกัดสมุนไพรที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด มีลักษณะที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและส่วนที่นำมาสกัด โดยสารสกัดจากเปลือกต้นและใบ มักมีสีเข้มหรืออาจมีสีเขียวของคลอโรฟิลล์ โดยเฉพาะสารสกัดสมุนไพรที่ใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายซึ่งสามารถละลายรงควัตถุ (pigment) ออกมาได้มากกว่าตัวทำละลายน้ำ การสกัดสารจากส่วนดอก

ของพืช สารสกัดที่ได้อาจมีสีน้ำตาล ส้ม หรือ สีแดง เพราะมีสีของ anthocyanin ติดออกมาด้วย (พิมพร, 2547)

เมื่อทดสอบน้ำมันหอมระเหยใบยูคาลิปตัส วุ้นจากว่านหางจระเข้ ยางฝิ่นต้น ยางพญาสัตบรรณ และยางหนุมานนั่งแท่น ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ 7 ชนิด ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่า น้ำมันหอมระเหยใบยูคาลิปตัส และยางฝิ่นต้น สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus*, MRSA และ *S. epidermidis* การที่น้ำมันหอมระเหยใบยูคาลิปตัส และยางฝิ่นต้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อดังกล่าว อาจเป็นผลมาจากการมีสารหลายชนิดเป็นองค์ประกอบอยู่ โดยสารที่ออกฤทธิ์อาจเป็นสารสำคัญเพียงตัวเดียว หรือสารหลายชนิดที่ออกฤทธิ์ร่วมกัน จากการศึกษาของ Daizy *et al.* (2008) พบว่าในน้ำมันยูคาลิปตัสนั้นมีสารหลายชนิดเป็นองค์ประกอบ เช่น 1,8-cineole, citronellal, citronellol, citronellyl acetate, p-cymene, eucamalol, limonene, linalool, α-pinene, β-terpinene, α-terpineol, alloocimene และ aromadendrene ซึ่งสามารถใช้กำจัด แมลง แบคทีเรีย รา ไส้เดือน วัชพืช และเห็บ เหา ได้ Sherry *et al.* (2001) พบว่าน้ำมันยูคาลิปตัสมีฤทธิ์ในการยับยั้ง methicillin-resistant *S. aureus* เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Trivedi and Hotchandani (2004) พบว่าน้ำมันยูคาลิปตัสสามารถยับยั้ง *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *E. coli* และ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยา tobramycin, gentamicin, amikacin, ciprofloxacin, chloramphenicol และ cefotaxime นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้ง herpes simplex virus ได้ (Schnizler *et al.*, 2001) อย่างไรก็ตาม สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันยูคาลิปตัสอาจให้ผลการยับยั้งที่แตกต่างกัน เนื่องจาก ชนิด ฤดูกาล สภาพดินฟ้าอากาศ อายุของใบที่นำมาสกัด ตลอดจนวิธีการที่ใช้ในการสกัดที่แตกต่างกัน (Brooker and Kleinig, 2006) ในส่วนของยางฝิ่นต้นพบว่าสามารถใช้รักษาแผล อักเสบเรื้อรัง และอาการปวดฟัน โดย Aiyelaagbe (2000) พบว่ารากของฝิ่นต้นที่สกัดด้วย hexane, ethyl acetate, chloroform และ methanol ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* และ *S. aureus* ได้ โดยพบกลุ่มสารสำคัญ ได้แก่ steroids, cardiac glycosides, saponins, tannins และ alkaloids

เมื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ 7 ชนิด โดยสารสกัดจากพืชสมุนไพรจำนวน 18 ชนิด ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่า สารสกัดจากดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95% และน้ำกลั่น ใบยูคาลิปตัส และเปลือกอบเชยไทยที่สกัดด้วยเอทานอล 95% สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้ทุกชนิด ในรายงานวิจัยของ Mahmoud (2005) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลูสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในช่องปาก โดยสารสำคัญของดอกกานพลู ประกอบด้วย biflorin, kaempferol, gallic acid, ellagic acid, 5,7-dihydroxy-2methychromone-8-C-β-D-glucopyranoside และ oleanolic acid โดยเฉพาะ oleanolic acid ใช้

เป็นส่วนประกอบของตัวยาต้านไวรัส HIV เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Trongtokit *et al.* (2005) พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากดอกกานพลูแห้ง สามารถใช้รักษา สิว หูด รอยแผลเป็น และขับไล่ยุง และปรสิต นอกจากนี้ ดอกกานพลูยังมีสรรพคุณใช้เป็นยาชาเฉพาะที่ ช่วยบรรเทาอาการปวดฟัน ช่วยขับลม และช่วยลดอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ (พิสุทธิพร, 2537) ส่วนใบยูคาลิปตัสพบสารสำคัญ คือ eucalyptol หรือ 1,8-cineole และ alpha pinene โดย 1,8-cineole มีคุณสมบัติต้าน *B. subtilis*, แบคทีเรียในลำไส้ และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนองบางชนิด (วันชัยและคณะ, 2551) นอกจากนี้ 1,8-cineole ยังมีผลช่วยลดการบีบตัวของลำไส้ ซึ่งเป็นสาเหตุของการปวดเกร็งได้ (Haginiwa *et al.*, 1984) ในงานวิจัยของ Babayi *et al.* (2004) พบว่าใบยูคาลิปตัสที่สกัดด้วยเมทานอล สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* และ *S. aureus* ATCC 103207 เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Ayepola and Adeniyi (2008) พบว่าใบยูคาลิปตัสที่สกัดด้วย เมทานอล และ dichloromethane สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis*, *Klebsiella* spp., *Ps. aeruginosa, S. aureus* และ *Sal. typhi* นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยของใบยูคาลิปตัสมีกลิ่นหอมสดชื่น ใช้สูดดม รักษาอาการหวัดคัดจมูก และใช้ไล่แมลง ส่วนเปลือกอบเชยไทยมีรายงานถึงสารที่เป็นองค์ประกอบสำคัญ คือ trans-anethole, 3-phenylpropenol, 1,8 cineole, trans-caryophyllene และ geraniol ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* 2812 1/2a, *Sal. typhimurium* SL 1344 และ *S. aureus* (Wang and Yang, 2009) ในส่วนสารสกัดจากพืชชนิดอื่นนั้นพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้เช่นกัน

สารสกัดด้วยน้ำ และเอทานอล 95% ของใบชุมเห็ดเทศ สามารถยับยั้งการเจริญของ *P. acnes*, *S. aureus,* MRSA และ *S. epidermidis* ได้ดี มีรายงานสารออกฤทธิ์ในใบชุมเห็ดเทศ เป็นสารจำพวก linalool, borneol, pentadecanal และ α-terpineol โดยสามารถยับยั้งการเจริญของ *P. acnes*, *E. coli, Proteus vulgaris* และ staphylococci (Hennebelle *et al.*, 2009) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Khan *et al.* (2001) พบว่าใบ ดอก ลำต้น และรากของชุมเห็ดเทศที่สกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *S. aureus*

สารสกัดด้วยน้ำและเอทานอล 95% ของใบมะกา และใบย่านางแดง สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus,* MRSA และ *S. epidermidis* ได้ดี ในใบมะกาพบสารออกฤทธิ์ friedelin, friedelan-3β-ol, β-sitosterol, stigmasterol และ campesterol (Boonyaratavej *at el.*, 1992) ส่วนใบย่านางแดงสารออกฤทธิ์ที่พบ คือ alkaloids, tannins, liganans, flavonoids และ anthocyanins ซึ่งเป็น

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

สารประกอบที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus*, *St. pyogenes* และ *Proteus mirabilis* (เพลินทิพย์, 2540)

สารสกัดด้วยน้ำของใบยาสูบสามารถยับยั้งการเจริญของ *P. acnes* และ *S. epidermidis* ได้ ในใบยาสูบมีรายงานของสารนิโคตินซึ่งมีพิษต่อมนุษย์และสัตว์ ดังนั้นควรศึกษาเชิงลึกถึงพิษของสารสกัดต่อมนุษย์ มีรายงานถึงสารสกัดกลุ่ม flavonoids และ alkaloids ในใบยาสูบ ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการเจริญของ *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Serratia marcescens* และ *B. subtilis* (Akinpelu and Oboutor, 2000)

สารสกัดด้วยเอทานอลของใบสาบเสือ และใบเสี้ยวดอกขาว สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus,* MRSA, *S. epidermidis* และ *St. pyogenes* ได้ ใบสาบเสือมีรายงานถึงสารออกฤทธิ์ในกลุ่ม steroids, alkaloids, flavonoids, tannins, lactones, diterpenes และ saponins ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม staphylococci (Prasad *et al.*, 2005; Iwu and Chiori, 1984) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Sukaya *et al.* 2009 พบว่า สาบเสือที่สกัดด้วยเมทานอล และ ethyl acetate สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli*, *S. aureus*, *Xanthomonas vesicatoria* และ *Ralstonia solanacearum* ส่วนใบเสี้ยวดอกขาวนั้นมีรายงานฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งหลายชนิด โดยมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น flavonone เป็นต้น (Rajkapoor *et al.*, 2006)

สารสกัดด้วยเอทานอลของใบสาบหมา สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้ทุกชนิด ยกเว้น *P. acnes* มีรายงานว่าใบสาบหมานั้นความเป็นพิษต่อตับของหนูทดลอง (Katoch *et al.*, 2000) สารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลของใบสาบหมา สามารถยับยั้งการเจริญของ *Proteus* spp., *Staphylococcus* spp., *S. aureus* และ *Ps. aeruginosa* (Bhattarai and Shrestha, 2009) สำหรับสารสกัดจากพืชสมุนไพรชนิดอื่น ที่ไม่แสดงผลการยับยั้งอาจเนื่องมาจาก

1. พืชสมุนไพรนั้น ไม่มีสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียหรืออาจมีในปริมาณที่น้อย ทำให้ไม่เห็นผล หรือเห็นไม่ชัดเจน

2. วิธีการสกัดสารออกจากพืชสมุนไพรไม่เหมาะสม ทำให้ไม่ได้สารที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ซึ่งวิธีการสกัดสารจากพืชสมุนไพรในปัจจุบันมีหลายวิธีและหลายขั้นตอน ซึ่งการจะเลือกใช้วิธีใดจะต้องพิจารณาปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความคงตัวของสารออกฤทธิ์ที่ต้องการสกัด หรือลักษณะและโครงสร้างของสาร เป็นต้น

3. ตัวทำละลายที่เลือกใช้ไม่สามารถละลายสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียออกมาได้ หรือละลายได้แต่มีปริมาณสารน้อยจนไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

ในการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยใบยูคาลิปตัส ยางฝิ่นต้น และสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ พบว่า สารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดสอบ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก *P. acnes*, *S. aureus*, MRSA, *S. epidermidis* และ *St. pyogenes* ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* O157:H7 และ *Ps. aeruginosa* ทั้งนี้อาจเนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีความซับซ้อนทางโครงสร้างของผนังเซลล์มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งแบคทีเรียแกรมลบมีเยื่อหุ้มเซลล์ 2 ชั้น โดยเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นในเป็นสาร phospholipid ขณะที่เยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกประกอบด้วย lipopolysaccharide โครงสร้างที่ไม่สมมาตรดังกล่าว ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกมีประโยชน์ในการช่วยป้องกันเซลล์และพัฒนาเป็นเชื้อที่ดื้อยาโดยอาศัยกลไกสำคัญ ได้แก่ การลดอัตราการผ่านของยาเข้าสู่เซลล์ การสร้างเอ็นไซม์เพื่อทำลายยาหรือทำให้ยาหมดฤทธิ์ การเปลี่ยนแปลงตำแหน่งเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยา การเลี่ยงขั้นตอนเมตาบอลิซึม และการขับยาออกนอกเซลล์ เป็นต้น (ภัทรชัย, 2549) จากรายงานวิจัยการศึกษาประสิทธิภาพของสมุนไพร ทั้งในประเทศและต่างประเทศ ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคที่ทดสอบด้วยวิธีเดียวกัน ได้แก่ สุชาดา และ สุรชัย (2546) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรไทย 5 ชนิด ประกอบด้วย พริก มะกรูด หอมแดง ขิง และ ขมิ้นขาวที่สกัดด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ ต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 2 ชนิด คือ *S. aureus* และ *Sal. typhi* โดยวิธี agar disc diffusion พบว่า มะกรูดและขมิ้นขาวที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งอยู่ในช่วง 13.5-22.0 มิลลิเมตร ปริชาติ (2551) ศึกษาผลของสารสกัดจากสมุนไพรไทย 14 ชนิดต่อการเจริญของ *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *S. aureus* และ *S. epidermidis* ด้วยวิธี agar disc diffusion และ broth dilution พบว่าสีฟันคนทาที่สกัดด้วยเอทานอล 95 % สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.06 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 0.49 และ 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ Dupont *et al.* (2005) ศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรท้องถิ่นของประเทศออสเตรเลีย จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Backhousia citridora*, *Anetholea anisata*, *Eucalyptus staigerana*, *Eu. olida* และ *Prostanthera incise* ซึ่งสกัดด้วย น้ำกลั่น, เอทานอล และ hexane ทดสอบกับแบคทีเรียก่อโรค

7 ชนิด คือ *Ent. faecalis*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Ps. aeruginosa*, *Sal. enteritidis*, *Sal. typhimurium* และ *S. aureus* โดยวิธี broth microdilution พบว่าสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ให้ผลยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 125-15.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยในครั้งนี้ คือ สารสกัดสมุนไพรส่วนใหญ่มีแนวโน้มยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ

ในการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อเซลล์เพาะเลี้ยง Green monkey kidney cell (GMK cell) ด้วยวิธี ของ Reed and Muench พบว่าสารสกัดที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยที่สุดคือ เปลือกพญาสัตบรรณที่สกัดด้วยน้ำกลั่น ซึ่งมีค่า CD_{50} เท่ากับ 20.095 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนดอกกานพลูที่สกัดด้วย 95% เอทานอล มีความเป็นพิษต่อเซลล์สูงสุด เท่ากับ 0.128 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงนี้เป็นค่าการชี้แนะถึงความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรที่มีต่อเซลล์เพาะเลี้ยงโดยตรง อย่างไรก็ตามในการนำไปใช้จริงนั้นสามารถใช้ได้มากกว่าความเข้มข้นของสารที่ CD_{50} เนื่องจากต้องคำนึงถึงกลไกการป้องกันและกำจัดสิ่งแปลกปลอมของเซลล์แบคทีเรียและเซลล์ในร่างกายผู้ใช้

จากการวิเคราะห์สารเคมีที่มีในสมุนไพรที่ให้ผลบวกจำนวน 10 ตัวอย่าง โดยใช้วิธี GC/MSD Scan และวิเคราะห์ 4-5 สารที่มีปริมาณสูงสุด โดยการเปรียบเทียบ retention time กับสารประกอบที่มีอยู่ในฐานข้อมูล จากนั้นจึงนำสารที่พบไปเปรียบเทียบกับสารประกอบที่มีอยู่ในฐานข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์ SciFider on Web เพื่อหารูปโครงสร้างและสูตรโครงสร้างของสารเคมีที่มีในสมุนไพรนั้น พบว่า สามารถวิเคราะห์สารได้เพียง 4-5 ชนิด เป็นสารที่มีปริมาณสูงสุดในสมุนไพรนั้น ซึ่งสารออกฤทธิ์ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคนั้นอาจไม่ได้อยู่ในสารที่วิเคราะห์ได้เนื่องจากสารมีปริมาณน้อยเกินไป ดังนั้นถ้าต้องการศึกษาในเชิงลึกว่าพืชสมุนไพรชนิดนั้นมีสารออกฤทธิ์เป็นสารชนิดใด อาจจะใช้วิธีการแยก fraction เพื่อแยกสารชนิดนั้นออกมาก่อน แล้วจึงวิเคราะห์ด้วยวิธี GC/MSD Scan เนื่องจากพืชสมุนไพรนั้นประกอบด้วยสารหลายชนิดอยู่รวมกัน จากการเปรียบเทียบกลุ่มสารที่พบในสมุนไพรโดยวิเคราะห์โดย GC/MSD Scan กับ กลุ่มสารที่พบในงานวิจัยอ้างอิงพบว่า กลุ่มสารที่พบแตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าในขั้นตอนการสกัดสารใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน และพันธุ์พืชที่นำมาใช้ในการสกัดหรือสภาพแวดล้อมของพืชที่ขึ้นอยู่มีความแตกต่างกันจึงทำให้ได้กลุ่มสารที่แตกต่างกัน

เมื่อนำสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ได้คัดเลือก 4 ชนิดได้แก่ กานพลู ยูคาลิปตัส สาบหมา และย่านางแดงที่สกัดด้วยเอทานอล โดยพิจารณาจากประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ และราคาต้นทุนของผลิตภัณฑ์ ผสมกับสารเคมีเพื่อสร้างตำรับครีมสมุนไพร รวมทั้งสิ้น 9 ตำรับ พบว่าทุกตำรับสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก *P. acnes, S. aureus*, MRSA, *S. epidermidis* และ *St. pyogenes* ได้ดี แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* O157:H7 และ *Ps. aeruginosa* ได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยสารสกัดจากพืชสมุนไพร ที่ส่วนใหญ่มีแนวโน้มยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ในการผสมสารสกัดสมุนไพรกับครีมพื้นฐานทั้ง 3 สูตร ได้แก่ ครีมพื้นฐานที่เตรียมขึ้นเอง ครีมเบส และโลชั่นเบส โดยเฉพาะครีมเบส และโลชั่นเบสซึ่งมีน้ำเป็นส่วนประกอบอยู่มาก เมื่อผสมสารสกัดลงไปทำให้เกิดปัญหาการไม่เข้ากันของสารเกิดการแยกชั้นระหว่างชั้นน้ำกับชั้นน้ำมัน เนื่องจากสารสกัดใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย จึงมีสภาพความเป็นขั้วน้อยกว่า ทำให้ยากต่อการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันในครีมพื้นฐานประเภทน้ำมันในน้ำ (พิมลพรรณ, 2533) อีกปัญหาหนึ่งที่พบ คือ สารสกัดจากพืชสมุนไพรที่สกัดได้ยังไม่บริสุทธิ์พอจึงทำให้ตำรับครีมสมุนไพรที่เตรียมได้นั้นมีลักษณะที่ไม่น่าใช้ เห็นได้จากคะแนนความพึงพอใจของอาสาสมัครที่อยู่ในระดับ ควรปรับปรุง ถึง พอใช้ โดยข้อเสนอแนะส่วนใหญ่อยากให้ปรับปรุงในเรื่องของความเป็นเนื้อเดียวกัน สี และกลิ่น อย่างไรก็ตาม หากมีการทำสารสกัดให้มีความบริสุทธิ์ หรือนำสารสกัดไปผ่าน column chromatography เพื่อกำจัดสี และกลิ่น การใส่สารแต่งกลิ่น เช่น menthol หรือ peppermint ลงไป อาจสามารถแก้ปัญหาได้ พร้อมทั้งทำให้ปริมาณสารสกัดที่เติมลงไปน้อยลง และง่ายต่อการปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ครีม

เมื่อนำตำรับครีมสมุนไพรที่เตรียมได้ไปทดสอบความคงตัว โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วัน พบว่า ตำรับครีมสมุนไพรมีความคงตัวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่วนที่อุณหภูมิ 30, 37 องศาเซลเซียส และ ที่สภาวะ heating - cooling cycle พบว่าครีมมีความคงตัวลดลง เกิดการแยกชั้น มีการเปลี่ยนแปลงของสี และมีกลิ่นหอมลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุจิตรา และสุพล (2544) พบว่าตำรับครีมที่ผสมสารสกัดชาเขียว และตำรับครีมที่ผสมสารสกัดมะเกี๋ยง หลังจากทดสอบเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง ครีมทุกตำรับมีความคงตัวดี แต่ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และที่สภาวะ heating - cooling cycle ครีมมีการแยกชั้นและมีการเปลี่ยนแปลงของสี เช่นเดียวกับงานวิจัยของ ศุภิศา และสมพักตร์ (2548) พบว่า ครีมที่

ผสมสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่ที่สกัดด้วยเอทานอล 95% และครีมผสมน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี่ หลังจากทดสอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และสภาวะ heating-cooling cycle ครีมมีความคงตัวลดลง นอกจากนี้ ยังพบว่าครีมที่ผสมน้ำมันหอมระเหยโรสแมรี่มีกลิ่นหอมลดลง

เมื่อทดสอบความเป็นพิษของตำรับครีมสมุนไพรต่อเซลล์เพาะเลี้ยง GMK cell พบว่ามีค่า CD_{50} ในระดับความเข้มข้นระหว่าง 0.0043-0.140 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งค่าที่ได้นี้เป็นเพียงแนวทางการเกิดพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงเท่านั้น แม้จะมีค่าค่อนข้างต่ำกว่าสารสกัดสมุนไพรทั้งนี้อาจเป็นผลมาจาก สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของครีมมีความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงค่อนข้างสูง แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อนำไปทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังของอาสาสมัครพบว่าไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ในทุกตำรับ