การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา (*Hiptage candicans* Hook.f.)

ฐิติมา ละอองฐิติรัตน์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา
บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี
พ.ศ. 2562

DEVELOPMENT OF GEL FOR ANTIMICROBIAL ACTIVITY CAUSING SKIN DISEASE FROM *Hiptage candicans* Hook.f. CRUDE EXTRACT

THITIMA LA-ONGTHITIRAT

A THESIS SUMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN SCIENCE EDUCATION
GRADUATE SCHOOL
VALAYA ALONGKORN RAJABHAT UNIVERSITY
UNDER THE ROYAL PATRONAGE PATHUM THANI
2019

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา (*Hiptage candicans* Hook.f.)
ชื่อนักศึกษา	ฐิติมา ละอองฐิติรัตน์
รหัสประจำตัว	58B54670102
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตรศึกษา

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

..... ประธาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปุณยนุช นิลแสง)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธาน

(รองศาสตราจารย์ ดร.สิตา ทิศาดลดิลก)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัณณ์รภัส ถกลภักดี)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข)

..... กรรมการและเลขานุการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปุณยนุช นิลแสง)

..... ผู้ทรงคุณวุฒิ

(อาจารย์ ดร.วรางคณา จิตตชุ่ม)

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีร์ธนิกษ์ ศิริโวหาร)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 20 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา (*Hiptage candicans* Hook.f.)
ชื่อนักศึกษา	ฐิติมา ละอองฐิติรัตน์
รหัสประจำตัว	58B54670102
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตรศึกษา
ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปุณยนุช นิลแสง
กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) หาปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนินทั้งหมด และหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรา 2) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดหยาบจากใบและลำต้นโนรา 3) พัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังที่ดีที่สุด และศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจล 4) ศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจล และ 5) ถ่ายทอดความรู้ที่ได้จากงานวิจัยสู่ชุมชนโดยจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ ผู้วิจัยทำการเตรียมสารสกัดหยาบโดยใช้ส่วนของใบและลำต้นโนรา นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% นำสารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรามาหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณแทนนินทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetric และหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay จากนั้นนำไปสารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรามาศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง ด้วยวิธี Disk Diffusion หาปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ด้วยวิธี Macro Broth Dilution Method นำสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังที่ดีที่สุดนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจล ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจล ด้วยวิธี Heating Cooling 6 Cycle Method และนำผลิตภัณฑ์เจลที่ได้มาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง นำผลงานวิจัยที่ได้ถ่ายทอดสู่ชุมชนโดยการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ โดยใช้ชุดฝึกอบรมที่ได้ผ่านการหาคุณภาพโดยการหาค่าดัชนีความสอดคล้องโดยผู้ทรงคุณวุฒิ นำไปจัดการอบรมให้กับชุมชน จำนวน 30 คน ทำการเปรียบเทียบความรู้ก่อนและหลังอบรมโดยใช้การทดสอบค่าที และประเมินความพึงพอใจในการเข้าร่วมการอบรมโดยใช้ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการศึกษาพบว่า

1) สารสกัดหยาบจากส่วนใบและลำต้นโนรามีปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมด เท่ากับ 178.98±0.21 และ 127.82±0.77 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/กรัมของสารสกัดหยาบ ตามลำดับ ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 270.15±0.49 และ 439.95±0.28 มิลลิกรัมของรูทิน/กรัมของสารสกัดหยาบ ตามลำดับ ปริมาณแทนนินทั้งหมด เท่ากับ 200.58±0.37 และ 133.44±0.58 มิลลิกรัมของกรดแทนนิก/กรัมของสารสกัดหยาบ ตามลำดับ สารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่า EC_{50} ซึ่งมีค่าเท่ากับ 132.84 และ 271.67 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

2) เมื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง ด้วยวิธี Disk Diffusion พบว่า สารสกัดหยาบใบโนราสามารถยับยั้งเชื้อได้ 5 ชนิด ได้แก่ *S. epidermidis* TISTR518 (13±0.00 มม.), *P. vulgaris* DMST557 (12.67±0.58 มม.), *S.aureus* TISTR2329 (12.33±0.58 มม.), *S. aureus* TISTR1466 (12±0.00 มม.) และ *S. mutans* DMST14283 (9.67±0.58 มม.) และสารสกัดหยาบลำต้นโนราสามารถยับยั้งเชื้อได้ 5 ชนิด ได้แก่ *S. epidermidis* TISTR518 (11.67 ± 0.58 มม.), *S. aureus* TISTR1466 (11.33 ± 0.58 มม.), *S. aureus* TISTR2329 (11.33 ± 0.58 มม.), *P. vulgaris* DMST557 (10.33 ± 0.58 มม.), และ *S. mutans* DMST14283 (6.67 ± 0.58 มม.) ซึ่งสารสกัดหยาบจากใบมีประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคดีกว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และสารสกัดหยาบทั้ง 2 ส่วน ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. acnes* DMST14916, *P. aeruginosa* TISTR781 และ *C. albicans* TISTR5554 เมื่อนำสารสกัดหยาบจากใบและลำต้นโนรามาหาปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ และหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า สารสกัดหยาบจากใบโนรามีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทั้ง 5 ชนิด ดีกว่าสารสกัดหยาบส่วนลำต้นโนราเนื่องจากมีปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และมีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่า จึงเลือกสารสกัดหยาบจากใบโนรามาพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลต่อไป

3) นำสารสกัดหยาบจากใบโนรามาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งการเจริญเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง นำผลิตภัณฑ์เจลมาหาคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพ พบว่า เนื้อเจลมีสีเขียวอ่อน ลักษณะเนื้อของเจลใสรวมเป็นเนื้อเดียวกัน มีค่า pH 6.75 โดยไม่พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เจล เมื่อนำมาทดสอบทดสอบความเสถียรของผลิตภัณฑ์ พบว่า ผลิตภัณฑ์เจล มีสีเข้มขึ้น มีค่า pH เพิ่มขึ้น และไม่พบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์

4) เมื่อนำผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบใบโนรามาหาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง พบว่า ผลิตภัณฑ์เจลมีประสิทธิภาพฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังลดลง ดังนี้ เชื้อ *S. epidermidis* TISTR518 (10.33 ± 0.58 มม.), *P. vulgaris* DMST557 (9.67 ± 0.58 มม.), *S. aureus* TISTR2329 (10.33 ± 0.58 มม.), *S. aureus* TISTR1466 (10.33 ± 0.58 มม.) และ *S. mutans* DMST14283 (8.33 ± 0.58 มม.) และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

5) การจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการให้กับชุมชน โดยใช้ชุดอบรมเชิงปฏิบัติการ พบว่า มีค่าดัชนีความสอดคล้อง เท่ากับ 0.97 และเมื่อนำไปจัดอบรม พบว่า หลังอบรมผู้เข้าร่วมอบรมมีความรู้สูงกว่าก่อนอบรมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 นอกจากนี้ยังพบว่า ผลประเมินความพึงพอใจในการอบรมอยู่ในระดับพึงพอใจมาก ($\overline{X}$ = 4.69, S.D. = 0.59)

คำสำคัญ : ต้นโนรา ผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเจริญของจุลินทรีย์

Thesis Title	Development of Gel for Antimicrobial Activity Causing Skin Disease from *Hiptage candicans* Hook.f. Crude Extract
Student	Thitima La-ongthitirat
Student ID	58B54670102
Degree	Master of Science
Field of Study	Science Education
Thesis Advisor	Assistant Professor Dr.Poonyanuch Nilsang
Thesis Co-Advisor	Associate Professor Dr.Sasamol Phasuk

ABSTRACT

The objectives of this research were to 1) analyze the total phenolic, flavonoid and tannin contents and anti-oxidant activity in the crude extract from the stems and leaves of *Hiptage candicans* Hook.f., 2) study the antimicrobial activity of the crude extract on skin pathogens, 3) develop a gel to counter microbial activity causing skin disease containing elements of the better crude extracts as well as study the stability of its chemical-physical properties and its microbiological contamination, 4 study the antimicrobial activity of the gel products in the laboratory, and 5) transfer the knowledge to communities through training workshops. The stems and leaves of *Hiptage candicans* Hook.f. were extracted using 95% ethanol to investigate the total phenolics. The total tannin content was determined using the Folin-Ciocalteu method while the total flavonoid content was determined using the aluminum chloride colorimetric method. The anti-oxidant activity was determined using the DPPH radical scavenging assay method. The screening of the antimicrobial activity of the extracts was conducted using a disc diffusion method. The minimum inhibition concentration and the minimum bactericidal concentration of the extracts were determined using the macro broth dilution method. The development of gel for antimicrobial activity causing skin disease using crude extracts from the stems and leaves of *Hiptage candicans* Hook.f. was formulated and tested for antimicrobial activity against skin pathogens using the macro broth dilution method. The gel's physical and chemical stability was tested using the heating cooling 6 cycle method. The microbiological contamination of the gel was also investigated. Finally, the knowledge was transferred to the community through 30 people as a research sample through workshop training. The quality of the training tools was determined using the index of congruence. Mean, standard deviation and t-test were used to evaluate the knowledge presented in the pre-test and post-test after the training.

The results revealed that:

1) The crude extracts of the leaves and stems of *Hiptage candicans* Hook.f. were found to have total phenolic contents of 178.98±0.21 and 127.82±0.77 mg of GAE/gram of extract, respectively. Total flavonoid contents were found to be 270.15±0.49 and 439.95±0.28 mg of ruitn/gram of extract, respectively. In addition the total tannin contents were 200.58±0.37 and 133.44±0.58 mg of tannic acid/gram of extract, respectively. The leaf

crude extracts showed a higher anti-oxidant activity than stem crude extracted EC_{50} with 132.84 and 271.67 µg./ml., respectively.

2) The screening of the antimicrobial activity of the extracts was conducted using the disc diffusion method. The results showed that the leaf crude extracts had antimicrobial activity and were effective against five stains of skin pathogen, namely *S. epidermidis* TISTR518 (13.00±0.00 mm.), *P. vulgaris* DMST557 (12.67±0.58 mm.), *S. aureus* TISTR2329 (12.33±0.58 mm.), *S. aureus* TISTR1466 (12±0.00 mm.) and *S. mutans* DMST14283 (9.67±0.58 mm.). Meanwhile, the stem crude extracts were also effective against the five stains of skin pathogen, namely *S. epidermidis* TISTR518 (11.67 ± 0.58 mm.), *S. aureus* TISTR1466 (11.33 ± 0.58 mm.), *S. aureus* TISTR2329 (11.33 ± 0.58 mm.), *P. vulgaris* DMST557 (10.33 ± 0.58 mm.), and *S. mutans* DMST14283 (6.67 ± 0.58 mm.). The leaf crude extracts were found to have more effects on microbial activity than the stem crude extracts at a statistically significant level ($p \leq 0.05$). However, both crude extracts did not show any antimicrobial activity against *P. acnes* DMST14916, *P. aeruginosa* TISTR781 and *C. albicans* TISTR5554. Additionally, the minimum inhibition concentration and the minimum bactericidal concentration of the crude extracts were determined. The results showed that the leaf crude extracts had more effects on microbial activity than the stem crude extracts. Finally, the leaf crude extracts were selected to produce the gel to counter microbial activity causing skin disease due to their lower minimum inhibition concentration and minimum bactericidal concentration.

3) The leaf crude extracts was developed as gel to fight microbial activity causing skin disease. It was found that the gels containing leaf crude extracts were light green. The gel was slightly acidic with a pH of 6.75, whereas there was no bacteria or fungi contamination. The physical-chemical stability revealed that the gel's color turned dark. Its pH value also increased, but no bacteria or fungi contamination.

4) The antimicrobial gel against skin pathogens was tested using the disc diffusion method. The gel using leaf crude extracts was found to be effective against S. *epidermidis* TISTR518 (10.33±0.58 mm.), *P. vulgaris* DMST557 (9.67±0.58 mm.), *S. aureus* TISTR2329 (10.33±0.58 mm.), *S. aureus* TISTR1466 (10.33±0.58 mm.) and *S. mutans* DMST14283 (8.33±0.58 mm.) at the statistically significant level of 0.05.

5) The training workshop with the index of congruence of 0.97, revealed an increase in knowledge of participants at the statistically significant level of 0.05. In addition, satisfaction with the training was found to be at the highest level. ($\overline{X}$ = 4.69, S.D.= 0.59).

Keywords: *Hiptage candicans* Hook.f., Gel for Anti-Microbial Activity Causing Skin Disease, Minimum Inhibition Concentration

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จด้วยความกรุณาจากบุคคลหลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณทุกท่านเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ โดยเฉพาะผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปุณยนุช นิลแสง ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.ศศมล ผาสุข ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำปรึกษา เสนอความคิดเห็น ชี้แนะแนวทางอันเป็นประโยชน์ในการทำวิจัยมาโดยตลอด ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณประธานและกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.สิตา ทิศาดลดิลก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัณณ์รภัส ถกลภักดี อาจารย์ ดร.วรางคณา จิตตชุ่ม และผู้ทรงคุณวุฒิ รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงษ์ แสง-ชูโต รองศาสตราจารย์ ดร.วิลาส พุ่มพิมล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ เพ็งพัด ที่ให้ความกรุณาตรวจสอบเอกสารงานวิจัยและเอกสารประกอบการอบรมเพื่อให้งานวิจัยฉบับนี้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์อิสรา นามตาปี อาจารย์ประจำศูนย์ภาษา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี ที่ให้ความช่วยเหลือตรวจทานบทคัดย่อภาษาอังกฤษในครั้งนี้ ให้เป็นไปตามหลักของการเขียนที่ถูกต้องของงานวิจัยฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณนายสุพจน์ ละอองฐิติรัตน์ ในการให้ข้อมูลภูมิปัญญาชาวบ้านกับการนำสมุนไพรโนรามาใช้ ของชาวบ้านตำบลป่าเลา ตลอดจนนำสมุนไพรโนรามาใช้ในการทำการศึกษาวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์ ประจำศูนย์วิทยาศาสตร์ นางสาวอนัญญา นาคหัสดีย์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนการสอนทักษะการใช้เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์และอำนวยความสะดวกตลอดการทำวิจัยฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ ศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณครอบครัวละอองฐิติรัตน์ อันได้แก่ บิดา มารดา และพี่ชายที่เป็นเสมือนแรงผลักดัน คอยให้คำปรึกษา ให้กำลังใจ ตลอดระยะเวลาที่ผู้วิจัยทำวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

คุณูปการจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ขอมอบคุณงามความดีทั้งหลาย เพื่อตอบแทนแด่บิดา มารดา ครู อาจารย์ ทุกท่านที่ให้ความเมตตา อบรม สั่งสอนและให้ความรู้เพื่อเป็นผลให้มีกำลังใจในการจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้

ฐิติมา ละอองฐิติรัตน์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญภาพ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 กรอบแนวคิดในการวิจัย	3
1.4 สมมติฐานของการวิจัย	4
1.5 ขอบเขตของการวิจัย	4
1.6 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย	4
1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับต้นโนรา	6
2.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับพฤกษเคมี	8
2.3 ความรู้เกี่ยวกับโรคผิวหนังติดเชื้อจากจุลินทรีย์	12
2.4 ความรู้เกี่ยวกับการทดสอบความไวของฤทธิ์การต้านจุลชีพของจุลินทรีย์	22
2.5 ความรู้เกี่ยวกับผลิตภัณฑ์เจล	24
2.6 ความรู้เกี่ยวกับการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง	26
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	27
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	30
3.1 การสำรวจข้อมูลพื้นฐาน	32
3.2 การวางแผนการทดลอง	32
3.3 การทดลองในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์	32
3.4 วิธีการทดลองและการถ่ายทอดความรู้จากการวิจัย	34
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	48
4.1 ผลการสกัดสารสกัดหยายจากใบโนราและลำต้นโนรา	49
4.2 ผลการศึกษาหาคุณสมบัติทางเคมีบางชนิดในสารสกัดหยาบต้นโนรา	49
4.3 ผลการศึกษาการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา	53

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.4 ผลการศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลรักษาเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง จากสารสกัดต้นโนรา..... 58
4.5 ผลการศึกษาการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อ จุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา..... 64
4.6 ผลการเผยแพร่ผลงานวิจัยสู่ชุมชนโดยจัดอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบ ใบโนรา..... 69
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ..... 71
5.1 สรุปผลการวิจัย..... 71
5.2 อภิปรายผล..... 74
5.2 ข้อเสนอแนะ..... 75
บรรณานุกรม..... 76
ภาคผนวก..... 83
ภาคผนวก ก รายชื่อและหนังสือเชิญผู้ทรงคุณวุฒิตรวจสอบเครื่องมือ และผลการประเมินค่าดัชนีความสอดคล้องของแบบทดสอบ (IOC) ในการวัดผลสัมฤทธิ์..... 84
ภาคผนวก ข โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการเผยแพร่และถ่ายทอดองค์ความรู้..... 91
ภาคผนวก ค ผลการจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การพัฒนาผลิตเจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบใบโนรา..... 120
ภาคผนวก ง ผลวิเคราะห์การทดลองและทางสถิติการทดสอบการทดลอง..... 125
ภาคผนวก จ วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ..... 129
ภาคผนวก ฉ ประกาศกระทรวงสาธารณสุข..... 136
ประวัติผู้วิจัย..... 138

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

3.1 ตารางแสดงขั้นตอนการเติมสารละลายเพื่อทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay..... 37
3.2 ตารางแสดงปริมาณตำรับสูตรเจล..... 42
4.1 ผลน้ำหนักของสารสกัดหยาบต้นโนราที่สกัดได้..... 49
4.2 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากส่วนของใบและลำต้นโนรา 49
4.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนของใบและลำต้นโนรา.... 50
4.4 ปริมาณแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนของใบและลำต้นโนรา..... 51
4.5 ผลการหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH Radical Scavenging Assay 52
4.6 ผลฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนราโดยวิธี Disk Diffusion..... 54
4.7 ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์..... 56
4.8 ประสิทธิภาพของสารสกัดก่อนการตั้งตำรับสูตรเจลที่มีปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ 59
4.9 การทดสอบการคงสภาพทางกายภาพและทางเคมี และการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เจล..... 62
4.10 ผลการทดสอบการคงสภาพทางกายภาพและทางเคมี และการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เจลหลังทดสอบสภาวะเร่ง..... 63
4.11 ประสิทธิภาพของเจลที่มีฤทธิ์การยับยั้งจุลินทร์ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดใบโนรา..... 65
4.12 ประสิทธิภาพของเจลที่มีฤทธิ์การยับยั้งจุลินทร์ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดลำต้นโนรา..... 66
4.13 ผลการทดสอบความรู้ก่อนและหลังการอบรมเชิงปฏิบัติเผยแพร่ความรู้..... 69

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.1	กรอบแนวคิดในการวิจัย	3
2.1	ลักษณะต้นและใบโนรา	7
2.2	ลักษณะดอกของต้นโนรา	7
2.3	ลักษณะผลของต้นโนรา	8
2.4	โครงสร้างของแทนนิน	9
2.5	โครงสร้างของไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนิน (แกลโลแทนนิน)	10
2.6	โครงสร้างของคอนเดนส์แทนนิน	10
2.7	โครงสร้างประเภทฟลาโวนอยด์	11
2.8	ลักษณะ *Staphylococcus* spp	12
2.9	ลักษณะ *Staphylococcus aureus*	13
2.10	ลักษณะผู้ป่วยเป็นโรคฝีฝักบัว	14
2.11	ลักษณะ *Staphylococcus epidermidis* บนอาหาร TSB	15
2.12	ลักษณะเซลล์ *Propionibacterium acnes* บนอาหาร Blood agar	15
2.13	การก่อโรคของ *P. acnes*	16
2.14	ผู้ป่วยเป็นสิวอักเสบจากเชื้อ *P. acnes*	17
2.15	ลักษณะเซลล์ *Pseudomonas aeruginosa*	17
2.16	ลักษณะการติดเชื้อ *P. aeruginosa* บริเวณเล็บเท้า	18
2.17	ลักษณะโคโลนี *Candida albicans* บนอาหาร SDA	20
2.18	ลักษณะเคลื่อนที่ของเชื้อ *Proteus vulgaris* บนอาหาร Blood agar	21
2.19	ลักษณะโคโลนีของ *Streptococcus mutans* บนอาหาร Blood agar	21
2.20	วิธีทำ Broth dilution method	23
2.21	วิธีทำ Agar dilution method	23
2.22	วิธีทำ Diffusion method test	24
2.23	ลักษณะเนื้อเจลแบบไฮโดรเจล	25
2.24	แสดงลักษณะเนื้อเจลแบบโอลิโอเจล	25
3.1	แผนผังแสดงการดำเนินการวิจัย	31
4.1	กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิค	50
4.2	กราฟมาตรฐานสารละลายรูทิน	50
4.3	กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิก	51
4.4	ปริมาณสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50% (EC_{50}) ของสารสกัดหยาบส่วนใบและลำต้นโนราเทียบกับสารมาตรฐาน BHA และ BHT	53

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.5	ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา โดยวิธี Disk Diffusion L = สารสกัดหยาบจากใบโนรา, S = สารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา, D = DMSO, CD = ยา clindamycin, K = ยา ketoconazole.....	55
4.6	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S.epidermidis* TISTR518 ของสารสกัดหยาบใบโนรา.....	57
4.7	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. epidermidis* TISTR518 ของสารสกัดหยาบลำต้นโนรา.....	57
4.8	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S.aureus* TISTR1466 ของสารสกัดหยาบใบโนรา.....	57
4.9	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S.aureus* TISTR1466 ของสารสกัดหยาบลำต้นโนรา.....	58
4.10	A เจลจากสารสกัดหยาบใบโนรา B เจลจากสารสกัดหยาบลำต้นโนรา C เบสเจล	61
4.11	เนื้อเจลจากสารสกัดหยาบต้นโนราหลังจากทดสอบภายใต้สภาวะเร่งด้วยวิธี heating cooling cycle method.....	64
4.12	ฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบต้นโนราก่อนนำไปทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง โดยวิธี Disk Diffusion L = เจลสารสกัดหยาบจากใบโนรา, S = เจลสารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา, B = เบสเจล, CD = ยา clindamycin.....	67
4.13	ฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบต้นโนราหลังนำไปทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง โดยวิธี Disk Diffusion L = เจลสารสกัดหยาบจากใบโนรา, S = เจลสารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา, B = เบสเจล, CD = ยา clindamycin.....	68

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันอุณหภูมิเฉลี่ยของโลกในปัจจุบันมีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อย ๆ จึงส่งผลต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ มากขึ้น สิ่งมีชีวิตจึงต้องมีการปรับตัวเองเพื่อให้สามารถดำรงชีวิตให้ได้ในสภาวะอุณหภูมิที่สูงขึ้น การทำกิจกรรมกลางแจ้งและกิจกรรมต่าง ๆ ในสภาพอากาศที่ร้อนนั้นส่งผลต่อการดำรงชีวิตเป็นอย่างมาก มีคราบเหงื่อ คราบไคล ไหลออกตามรูขุมขนของผิวหนัง ก่อให้เกิดการสะสมของจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง

จุลินทรีย์ประจำถิ่นผิวหนัง (Normal Flora) ผิวหนังของมนุษย์เป็นปราการด่านแรกของร่างกายที่เชื้อจุลินทรีย์ภายนอกจะได้เจอ โดยปกติแล้ว เชื้อจุลินทรีย์จะไม่สามารถทะลุผ่านผิวหนังไปได้เนื่องจากฤทธิ์ความเป็นกรดของเหงื่อ นอกเสียจาก ว่าจะเกิดบาดแผลขึ้นเชื้อจึงจะเข้าไปได้ เชื้อประจำถิ่นผิวหนังมีความสามารถในการเจริญเติบโตในสภาวะที่เป็นกรดของเหงื่อได้โดยการอาศัยการย่อยกรดอะมิโนและสารจำพวกไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) ที่มาจากคราบไคลและผิวหนังชั้นนอก (Epidermis) หรือชั้นหนังกำพร้า ในต่อมไขมันและต่อมเหงื่อลึกลงไปในผิวหนังชั้นใน (Dermis) ซึ่งมีจุลินทรีย์บางพวกที่ ไม่ต้องการใช้ออกซิเจนในกระบวนการสลายสารอาหารระดับเซลล์ โดยปกติแล้วจะไม่ก่อโรคใด ๆ แต่มีการวิจัยรองรับว่าเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดสิว เชื้อประจำถิ่นผิวหนังทั่วไปจะเป็นพวก *Staphylococcus* spp. *Candida albicans* และพวก *Propionibacterium acnes* ปกติแล้วเชื้อประจำถิ่นจะมีความสัมพันธ์กับผู้อาศัยแบบอิงอาศัย (Commensalism) คือเชื้อจุลินทรีย์จะได้รับประโยชน์จากผู้อาศัย (Host) โดยที่ผู้อาศัยไม่ได้รับหรือเสียประโยชน์อะไรเลยแต่ในบางชนิดอาจมีความสัมพันธ์แบบภาวะพึ่งพากันอาศัย (Mutualism) คือ ได้ประโยชน์กันทั้งสองฝ่าย ในบางครั้งหากภูมิคุ้มกันของผู้ให้อาศัยต่ำลง เชื้อประจำถิ่นบางชนิดอาจก่อโรคให้กับผู้ให้อาศัยได้ เราจะเรียกเชื้อพวกนี้ว่า เชื้อฉวยโอกาส (Opportunistic Pathogens)

วิธีการป้องกันเชื้อโรคที่ดีทางหนึ่ง คือ การชำระผิวให้สะอาดและแห้งโดยใช้ผลิตภัณฑ์สบู่เหลวหรือน้ำยาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติสามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่จำหน่ายทั่วไปมักมีการเติมสารเคมีที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้ผู้บริโภคอาจเกิดการแพ้สารเคมี หรือเกิดสารตกค้างในร่างกาย หากแต่มีการนำสารสกัดสมุนไพรมาใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จะช่วยในการลดการใช้สารเคมี ทำให้ผู้ที่มีผิวแพ้ง่ายสามารถเกิดผดผื่นแพ้ได้ สมุนไพรบ้านในประเทศไทยนั้นมีสารบางชนิดที่มีฤทธิ์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อเกิดโรคผิวหนังได้ เช่น ขมิ้น ต้นหญ้าหมอน้อย ต้นฟักแม้ว มะนาว ต้นโนรา เป็นต้น หากแต่การนำสมุนไพรเหล่านั้นมาทำการคั้นสด ๆ และพอกไปที่ผิวโดยตรงนั้นเมื่อสารสกัดแห้งลงอาจทำให้ผิวหนังบริเวณนั้นแห้งตึง และอาจเกิดสีตามธรรมชาติของสารสกัดนั้น ๆ ทำให้ไม่สามารถออกไปดำเนินชีวิตกลางแจ้งได้

จากการสำรวจสมุนไพรท้องถิ่นในจังหวัดเพชรบูรณ์ พบว่าภูมิปัญญาชาวบ้าน นิยมนำลำต้นของต้นโนราหรือต้นควายเก้าแม่ (*Hiptage candicans* (Hook.f.)) ซึ่งเป็นชื่อท้องถิ่นนิยมนำมาตากแห้งแล้วนำไปต้มในน้ำเพื่อให้สตรีเพิ่งคลอดบุตรดื่มเพื่อเรียกน้ำนมให้ไหลมากขึ้น แม้กระทั่ง วัว

และกระบือที่กำลังตั้งท้องแก่ใกล้คลอดก็กินใบสด ๆ เช่นกัน และเปลือกของต้นสามารถนำไปเป็นส่วนผสมของยาลม ยาหอม ลดการอักเสบเยื่อบุตา ช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย ลดการอักเสบ มีฤทธิ์ต้านเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย และช่วยในการสมานแผล มีงานวิจัยต้นโนราพบว่า มีสารจำพวกสารฟลาวาโนน (flavanone) สารฟลาโวนอล (flavonol) และสารจำพวกคอนเดนส์แทนนิน (condensed tannin) ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถนำมาใช้เป็นประโยชน์ในการรักษาโรคภัยต่าง ๆ (สุรางค์รัตน์ พันแสง และคนอื่นๆ, 2560)

ในปัจจุบันต้นโนราจัดเป็นต้นไม้ที่หายาก เนื่องจากเป็นไม้พุ่มเลื้อยโตไว และรบกวนต่อการเจริญเติบโตของพืชเศรษฐกิจ ทำให้ชาวเกษตรกรตัด เผาทำลายมากกว่า และเกษตรกรขาดความรู้ถึงประโยชน์ของต้นไม้ชนิดนี้ จึงทำให้ผู้ทำวิจัยสนใจในการทำต้นโนรามาทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนราเพื่อเป็นการหาผลิตภัณฑ์ที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากธรรมชาติ และเป็นการส่งเสริมอนุรักษ์พันธุ์พืชอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อหาปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนินทั้งหมด และหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรา

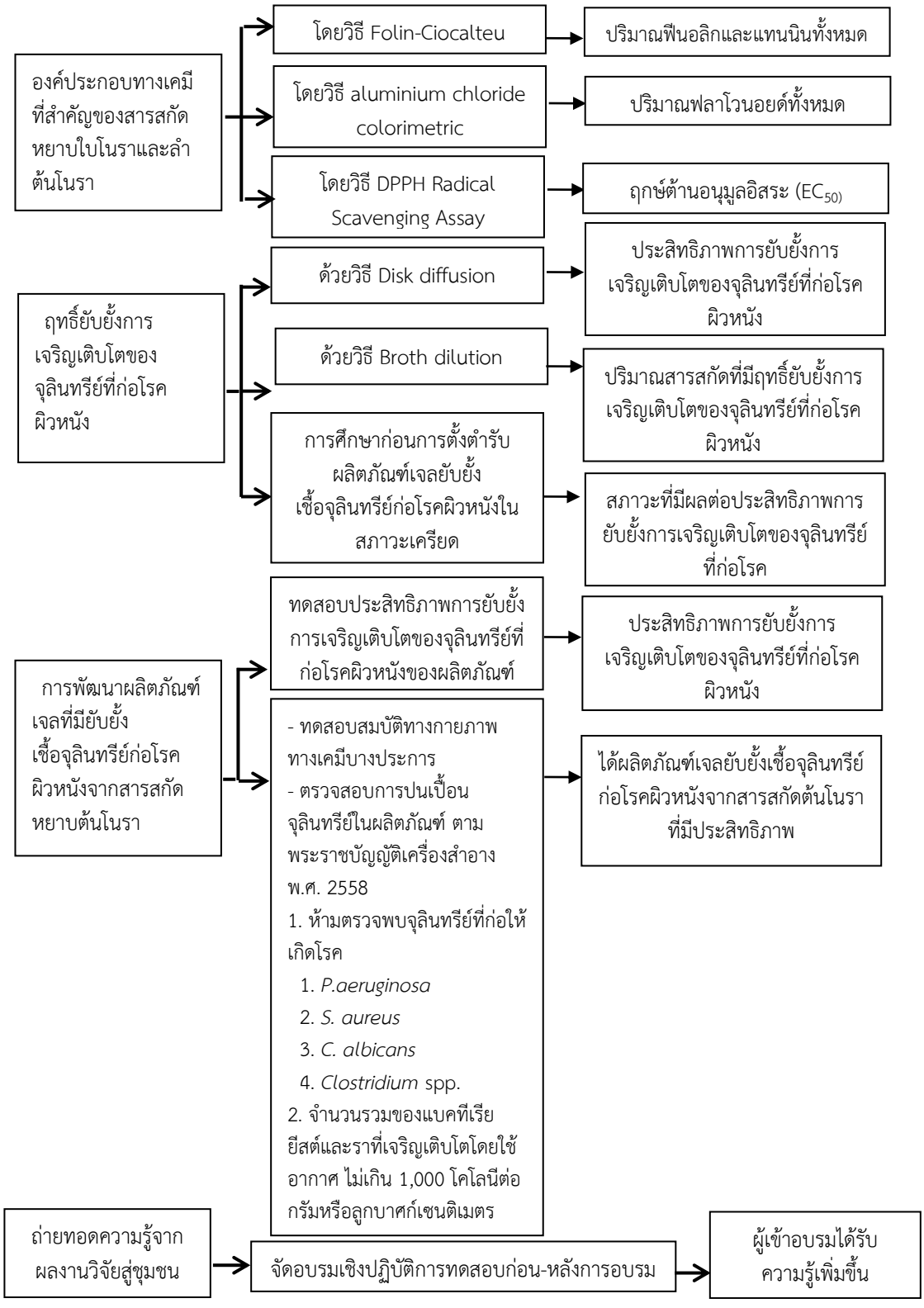
1.2.2 เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดหยาบจากลำต้นและใบโนรา

1.2.3 เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังที่ดีที่สุดและคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจล

1.2.4 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจล

12.5 เพื่อถ่ายทอดความรู้ที่ได้จากงานวิจัยสู่ชุมชนโดยจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ พัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

1.3 กรอบแนวคิดในการวิจัย



ภาพที่ 1.1 กรอบแนวคิดในการวิจัย

1.4 สมมติฐานของการวิจัย

1.4.1 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดหยาบจากต้นโนรา

ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากลำต้นและใบโนราสามารถยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* TISTR5554, *Staphylococcus aureus* TISTR1466, *Staphylococcus aureus* TISTR 2329, *Staphylococcus epidermidis* TISTR518, *Propionibacterium acnes* DMST14916, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR781, *Proteus vulgaris* DMST557 และ *Streptococcus mutans* DMST14283 ซึ่งเป็นเชื้อที่ก่อโรคผิวหนังได้

1.4.2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังที่ดีที่สุดต้นโนรา

ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจลที่ได้จากสารสกัดหยาบต้นโนรา

1.5 ขอบเขตของการวิจัย

1.5.1 พืชที่ใช้ในการศึกษาวิจัยนี้ คือ ต้นโนรา (*Hiptage candicans* (Hook.f.)) ซึ่งอยู่ในวงศ์ Malpighiaceae ใช้ลำต้นโนราที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-10 เซนติเมตร และใบแก่สีเขียวเข้ม ที่มีขนาดความกว้าง 4-6 เซนติเมตร โดยนำมาพึงแดดให้แห้ง และบดให้ละเอียด นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล จากตำบลป่าเลา อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

1.5.2 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ ปริมาณแทนนินทั้งหมด และหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรา

1.5.3 ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบจากใบและลำต้นโนรา ได้แก่ *เชื้อ C. albicans* TISTR5554, *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *S. epidermidis* TISTR518, *P. acnes* DMST14916, *P. aeruginosa* TISTR781, *P. vulgaris* DMST557 และ *S. mutans* DMST14283

1.5.4 จัดการอบรมเชิงปฏิบัติการให้กับชุมชน ตำบลชีน้ำร้าย อำเภออินทร์บุรี จังหวัดสิงห์บุรี จำนวนผู้เข้าร่วมอบรม 30 คน

1.6 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

1.6.1 สารสกัดหยาบจากใบและลำต้นโนรา หมายถึง สารสกัดที่ได้จากการนำส่วนของใบและลำต้นโนรามาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% นำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศและนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบเยือกแข็งจะได้สารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรา

1.6.2 ผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง หมายถึง ของผสมที่มีลักษณะกึ่งแข็งคล้ายวุ้น สามารถกักโมเลกุลของน้ำไว้ภายในเนื้อสัมผัสได้ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง

1.6.3 จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง หมายถึง แบคทีเรีย ได้แก่ *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *S. epidermidis* TISTR518, *P. acnes* DMST14916, *P. aeruginosa* TISTR781,

P. vulgaris DMST557 และ *S. mutans* DMST1428 และยีสต์ *C. albicans* TISTR5554 ที่มีฤทธิ์ก่อโรคผิวหนัง

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.7.1 ได้ทราบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังของสกัดหยาบจากใบและลำต้นโนรา

1.7.2 สามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

1.7.3 สามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มาจากธรรมชาติในรูปแบบของเครื่องสำอาง และส่งเสริมให้มีการปลูกต้นโนราเพื่อเพิ่มรายได้

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การทำวิจัย เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา (*Hiptage candicans* (Hook.F.)) ได้ทำการศึกษาค้นคว้าเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อประกอบการดำเนินการทางวิจัยตามลำดับดังนี้

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับต้นโนรา
2.2 ความรู้เกี่ยวกับพฤกษเคมี
2.3 ความรู้เกี่ยวกับโรคผิวหนังติดเชื้อจากจุลินทรีย์
2.4 ความรู้เกี่ยวกับการทดสอบความไวของฤทธิ์การต้านจุลชีพของจุลินทรีย์
2.5 ความรู้เกี่ยวกับผลิตภัณฑ์เจล
2.6 ความรู้เกี่ยวกับการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับต้นโนรา (*Hiptage candicans* (Hook.f.))

ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name) : *Hiptage candicans* (Hook.f)
ชื่อท้องถิ่นอื่น ๆ (Other name) : กำลังช้างเผือก (ภาคเหนือ) กะลังจ่าง (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) พญาช้างเผือก (แพร่) ควายเก้าแม่ (เพชรบูรณ์)
วงศ์ (Family) : Malpighiaceae

สามารถพบได้ตั้งแต่ประเทศอินเดีย จีน มาเลเซีย รวมถึงประเทศไทย ซึ่งในประเทศไทยจะพบได้ทุกภาค โดยจะขึ้นตามป่าผลัดใบ ป่าดิบเขา และป่าชายหาด ตั้งแต่ระดับใกล้น้ำทะเลไปจนถึง 2,000 เมตร เคยถูกจัดเป็น *Hiptage benghalensis* (L.) Kurz sub sp. *candicans* (Hook. f) Sirirugsa แต่ปัจจุบันได้แยกสถานะออกมาเป็น *Hiptage candicans* (Hook.f) (Chen & Funston, 1997)

2.1.1 ลักษณะของลำต้นและใบโนรา

ต้นโนราเป็น ไม้เถาหรือไม้พุ่มรอเลื้อย เถาเป็นสีเขียว ลักษณะกลมเกลี้ยง เนื้อไม้แข็ง ลำต้นแตกกิ่งก้านเล็กและห้อยลง) ทรงต้นมีรูปร่างไม่แน่นอน

ลักษณะใบเป็นรูปรีถึงรูปใบหอก หรือแกมรูปไข่ ยาว 5-18 เซนติเมตร. ใบเป็นใบเดี่ยวออกเรียงตรงข้าม โคนใบสอบ ส่วนขอบใบเรียบ ใบมีขนาดกว้างประมาณ 4-6 เซนติเมตร และยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร แผ่นใบด้านบนเกลี้ยง ส่วนท้องใบมีขน มีต่อมเล็ก ๆ อยู่ใกล้ฐานใบ ก้านใบยาว 0.3-1.3 เซนติเมตร แผ่นใบด้านล่างมีขนสั้นนุ่ม

ภาพที่ 2.1 ลักษณะต้นและใบโนรา

2.1.2 ลักษณะดอกและเมล็ดโนรา

ดอกโนรา จะออกดอกเป็นช่อตามซอกใบและปลายกิ่ง ช่อดอกยาวประมาณ 9-22 เซนติเมตร ดอกเป็นสีขาวหรือสีชมพูอ่อน กลางดอกเป็นสีเหลือง มีกลีบดอก 5 กลีบ มีขนาดไม่เท่ากัน กลีบดอกมักยู่ยี่ ดอกมีเกสรเพศผู้จำนวน 10 ก้าน และมี 1 ก้าน ที่ยาวเป็นพิเศษ ส่วนกลีบเลี้ยงหรือกลีบรองดอกมี 5 กลีบโคนเชื่อมติดกัน มีกลีบหนึ่งมีต่อมนูน ดอกจะบานอยู่ได้ประมาณ 3-4 วันแล้วก็โรย โดยจะออกดอกในช่วงช่วงฤดูหนาวคือ ช่วงเดือนธันวาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ ก้านช่อสั้นหรือยาวได้ถึง 4 เซนติเมตร ก้านดอกยาว 0.8-2 เซนติเมตร ขยายในผล มีข้อประมาณกึ่งกลางก้านดอก กลีบเลี้ยงรูปไข่ ยาวประมาณ 2.5 มิลลิเมตร มี 1 กลีบ ที่มีต่อมยาว 2-4 มิลลิเมตร เรียวจรดก้านดอก มีเกสรเพศผู้อันยาวยาวประมาณ 1.2 เซนติเมตร อันสั้นยาว 3-6 มิลลิเมตร ก้านเกสรเพศเมียยาวประมาณ 1 เซนติเมตร

ผลมีขนสั้นคล้ายไหม มีปีก 3 ปีก ปีกกลางรูปขอบขนาน ยาว 3-6 เซนติเมตร ปีกข้างยาว 1.5-3 เซนติเมตร มีสันนูนหรือมีปีกด้านหลังสั้น ๆ ยาว 5-8 มิลลิเมตร

ภาพที่ 2.2 ลักษณะดอกของต้นโนรา

ภาพที่ 2.3 ลักษณะผลของต้นโนรา

ต้นโนราจัดเป็นสมุนไพรที่จัดได้ว่าเป็นยาอายุวัฒนะ สามารถนำแก่นและเปลือกต้นมาทำเป็นยาบำรุงกำลังได้ ช่วยให้เจริญอาหาร แก้อาการอ่อนเพลีย รักษาแผลสด และโรคผิวหนังได้ (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2557)

จากการสำรวจสมุนไพรท้องถิ่นในจังหวัดเพชรบูรณ์ พบว่า ภูมิปัญญาชาวบ้าน นิยมนำลำต้นของต้นโนราหรือต้นควายเก้าแม่ ซึ่งเป็นชื่อท้องถิ่นมาตากแห้งแล้วนำไปต้มในน้ำเพื่อให้สตรีเพิ่งคลอดบุตรดื่มเพื่อเรียกน้ำนมให้ไหลมากขึ้น แม้กระทั่ง วัว และกระบือที่กำลังตั้งท้องแก่ใกล้คลอดก็กินใบสดเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่า เปลือกของต้นสามารถนำไปเป็นส่วนผสมของยาลม ยาหอม เป็นยาบำรุงโลหิต แก่นมีรสร้อนขื่น ช่วยบำรุงธาตุในร่างกาย ช่วยทำให้เจริญอาหาร ช่วยแก้อาการก่อนเพลีย ใช้ตำพอกใช้รักษาแผลสด ใบมีรสร้อนขื่น ใช้เป็นยาแก้โรคผิวหนัง (วีระชัย ณ นคร, 2557)

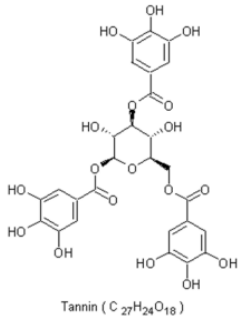
2.2 ความรู้เกี่ยวพฤกษเคมี (phytochemistry)

พฤกษเคมี คือ องค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบเฉพาะในพืช โดยสารกลุ่มนี้อาจเป็นสารที่ทำให้พืชนั้น ๆ มีสี กลิ่น หรือ รสชาติที่เป็นลักษณะเฉพาะตัว อีกทั้งสารแต่ละตัวมีหน้าที่ต่างกันในกลไกของพืชและเป็นต้นกำเนิดของสีของพืชนั้น ๆ สารพฤกษเคมีเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นสารที่ต่อต้านอนุมูลอิสระ โดยสารพฤกษเคมีหลายชนิดมีฤทธิ์ต่อต้านส่งเสริมระบบภูมคุ้มกันและต้านการอักเสบตลอดจนมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง กลุ่มสารสำคัญ ได้แก่

2.2.1 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เป็นสารที่สามารถพบได้ในพืชทั่วไป โครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) อย่างน้อยหนึ่งหมู่หรือมากกว่า สามารถละลายน้ำได้สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด มีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันซึ่งกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบจะเป็นสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoids) นอกจากนี้ ยังมีสารประกอบต่าง ๆ เช่น ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenyl propanoid) และโพลีฟีนอลิก (polyphenolic) ซึ่งได้แก่ ลิกนิน (licnin) และแทนนิน (tannin) (อัญชนา เจนวิถีสุข, 2544)

2.2.2 สารประกอบแทนนิน (tannin) จัดเป็นสารประกอบจำพวกฟีนอลิกที่มีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นจำนวนมาก มีโมเลกุลขนาดใหญ่และโครงสร้างที่ซับซ้อนมีสถานะเป็นกรดอ่อน รสฝาด จึงเป็น

สารให้ความฝาดในพืช พบได้ในส่วนของเปลือก ผล ใบ แก่นไม้ แทนนินมีคุณสมบัติตกตะกอนโปรตีน ทำให้หนังสัตว์ไม่เน่าเปื่อย (พีรศักดิ์ วรสุนทโรสถ และคนอื่น ๆ, 2544) ส่วนใหญ่แล้วแทนนินจะพบได้ในพืชหลายชนิด สารแทนนินบางประเภทมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียบางชนิดได้ เช่น สารทีโอแกลลิน (theogallin) กรดแกลลิก (gallic acid) และกรดแอลลาจิก (ellagic acid) นอกจากนี้ สารละลายแทนนินยังมีความสามารถในการตกตะกอนโลหะหนักบางชนิด เช่น เหล็ก ตะกั่ว และสังกะสีได้ (Amelot, et al, 2007) การเกิดปฏิกิริยา พบว่า เมื่อไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนินทำปฏิกิริยากับเกลือของเฟอร์ริก เช่น เฟอร์ริกคลอไรด์ จะให้ตะกอนสีน้ำเงิน-ดำ ส่วนสารคอนเดนส์แทนนินจะตกตะกอนสีน้ำตาล-เขียว (Naczyk & Shahidi, 2004) แทนนินแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

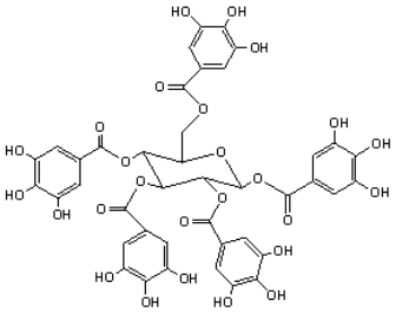


ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของแทนนิน
ที่มา : Connell,O.J.E. (2000). Food Chemistry. **NIZO Food Research**. University College, Cork, Ireland: Product Technology Department, 93-98.

2.2.2.1 ไฮโดรไลเซเบอ แทนนิน (Hydrolyzable tannins) เป็นกลุ่มแทนนินที่ประกอบด้วยโครงสร้างของสาร 2 กลุ่ม คือ ส่วนที่จัดเป็นสารจำพวกน้ำตาล ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส สารจำพวกประกอบโพลีออล และส่วนที่เป็นสารกรดฟีนอลิก ได้แก่ กรดแกลลิก กรดเฮกซะไฮดรอกซิลไดฟีนิก อนุพันธ์ของ HHDP และทั้งนี้องค์ประกอบส่วนมากจะพบกรดฟีนอลเป็นส่วนมากกว่าน้ำตาล สามารถแบ่งออกเป็นชนิดย่อยได้ 2 ชนิด คือ

– แกลโลแทนนิน (Gallotannins) เป็นสารที่ประกอบด้วยกรดแกลลิกซึ่งเชื่อมต่อกับน้ำตาลด้วยพันธะเอสเทอร์ เมื่อสลายตัวจะได้กรดแกลลิก และน้ำตาลกลูโคส พบในพืช ได้แก่ ต้นโกศน้ำเต้า ต้นกานพลู ต้นกุหลาบแดง

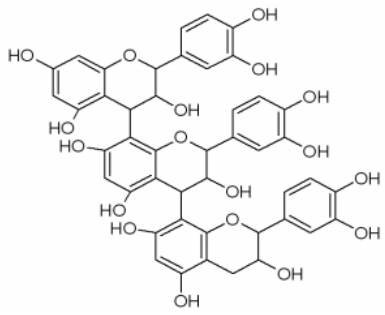
– แอลลาจิกแทนนิน (Ellagitannins) เป็นชนิดที่ประกอบด้วยโครงสร้างของกรดเฮกซะไฮดรอกซิไดฟีนิก (Hexahydroxydiphenic acid) เช่น กรดซิบิวลิก และกรดไฮโดรเฮกซะไฮ-ดรอกซิไดฟีนิกที่รวมอยู่กับน้ำตาลแอลลาจิกแทนนิน เมื่อสลายตัวจะได้กรดเฮกซะไฮดรอกซิไดฟีนิก และเกิดปฏิกิริยาที่ได้กรดแอลลาจิกตามมา พบได้ในพืช เช่น ผลทับทิม ผลสมอไทย ต้นโอ๊ค ต้นยูคาลิปตัส เป็นต้น (Naczyk & Shahidi, 2004)



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างของไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนิน (แกลโลแทนนิน)

ที่มา : ขนิษฐา แพบขุนทด, ปนิดา เย็นใจ และศิริพร แตะกระโทก. (2558). **การศึกษาสารแทนนินจากส่วนต่าง ๆ ของทับทิม.** ครุศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา.

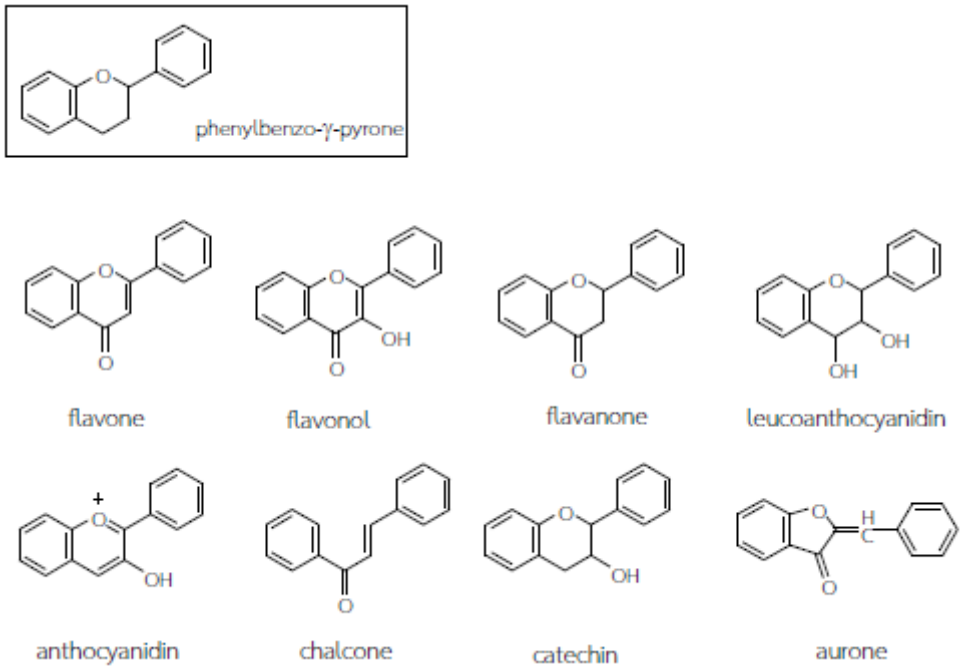
2.2.2.2 คอนเดนส์แทนนิน (condensed tannins) หรือมีอีกชื่อ คือ โปรแอนโทรไซยานิดิน (proanthocyanidins) เป็นกลุ่มของสารประกอบพอลีฟีนอลที่มีความซับซ้อน และสลายตัวด้วยน้ำยากกว่ากลุ่มไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนิน โครงสร้างพอลีฟีนอลในกลุ่มนี้ เป็นอนุพันธ์ของสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ พืชที่เป็นแหล่งของคอนเดนส์แทนนิน ได้แก่ บริเวณเปลือกไม้อบเชย เปลือกไม้ชินโคนา เปลือกต้นหลิว เปลือกต้นโอ๊ค เปลือกผลโกโก้ เปลือก และใบชา เป็นต้น สารประกอบกลุ่มนี้เมื่อน้ำมาต้มกับกรด หรือทำปฏิกิริยากับเอนไซม์จะได้สารประกอบพอร์ลิเมอร์ ไม่สามารถละลายน้ำเรียกว่า โฟบาฟิน (phobaphenes) หรือแทนนินแดง (tannin red) จึงเรียกสาร กลุ่มนี้ว่า โฟบาแทนนิน (phobatannins) เมื่อนำสารประกอบกลุ่มนี้ มาทำการกลั่นแบบแห้ง จะได้สารประกอบที่เป็นสาร แคทีคอล แทนนิน (catechol tannins) สารในกลุ่มคอนเดนส์แทนนินประกอบไปด้วยหมู่ไฮดรอกซีอิสระ 2 หมู่ เมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์จะให้สีเขียว (ฤทัยรัตน์ น้อยคนดี, 2551)



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างของคอนเดนส์แทนนิน

ที่มา : ขนิษฐา แพบขุนทด, ปนิดา เย็นใจ และศิริพร แตะกระโทก. (2558). **การศึกษาสารแทนนินจากส่วนต่าง ๆ ของทับทิม.** ครุศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา.

2.2.3 ฟลาโวนอยด์ (flavonol) เป็นสารพฤกษเคมีในกลุ่มของพอลิฟีนอล (Polyphenol) สามารถพบและเจอได้ในเม็ดสีของพืช ผัก ธัญพืช และผลไม้ ซึ่งสีเฉพาะทางพฤษเคมีของฟลาโวนอยด์แล้วจะเป็นสีม่วง น้ำเงินเข้มและดำ มีโครงสร้างหลัก ได้แก่ ฟีนิลเบนซิล-แกมมา-ไพโรน (C_6-C_3-C_6) พบทั่วไปในพืชต่าง ๆ ยกเว้น สาหร่าย แบคทีเรีย รา รวมทั้งแมลงบางชนิด สารฟลาโวนอยด์ ประเภทแชลโคนฟลาโวน ฟลาโวนอล ฟลาวาโนน ออโรน (aurone) แอนโธไซยานิดิน (anthocyanin) ลิวโคแอนโธไซยานิดิน (leucoanthocyanin) และคาทีชิน (Catechin) ดังภาพที่ 2.7 สารจำพวกฟลาโว-นอยด์ จะมีสารประกอบหลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) อย่างเช่น จำพวก ฟลาโวน (Flavone) และคาเทชิน (Catechin) โดยจะสามารถป้องกันไม่ให้เซลล์หรือเนื้อเยื่อในร่างกายของเราเสื่อมหรือถูกทำลาย นอกจากนั้นฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ยังเป็นสารเริ่มตั้งต้นสำหรับปฏิกิริยา enzymatic browning ได้จึงทำให้เกิดสีที่ไม่พึงประสงค์ในอาหาร (วิภพ สุทธนะ, 2556)



ภาพที่ 2.7 ประเภทฟลาโวนอยด์

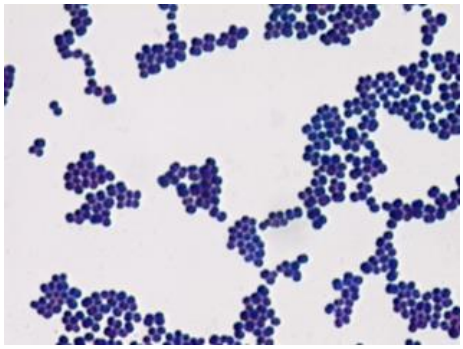
ที่มา : Shan, B., Cai, Y. Z., Sun, M. and Corke, H., (2005). Antioxidant capacity of spice extracts Supacity and characterization of their phenolic constituents. **Journal of Agricultural and food chemistry**. 53(20), 7749-7759.

2.3 ความรู้เกี่ยวโรคผิวหนังติดเชื้อจากจุลินทรีย์

เมื่อผิวหนังอักเสบมักเกิดการติดเชื้อที่ชั้นหนังกำพร้า (epidermis) และหนังแท้ (dermis) บางครั้งอาจลุกลามไปถึงชั้นของพังผืด (fascia) ด้านบนด้วย การอักเสบที่เกิดขึ้นมักไม่รุนแรงถึงขั้นทำให้เกิดเนื้อตาย (necrosis)

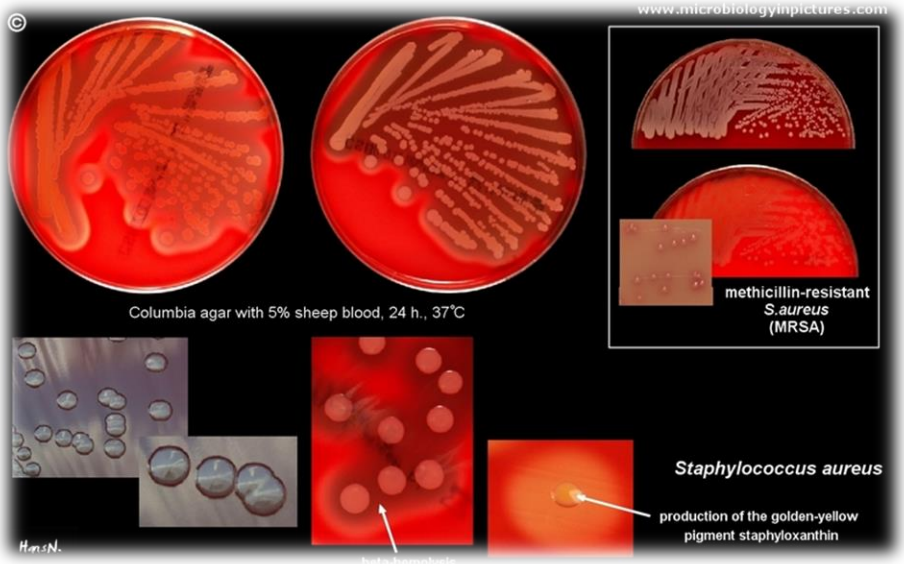
2.3.1 การติดเชื้อจากกลุ่มของ *Staphylococcus* spp.

Staphylococcus spp. จัดอยู่ในวงค์ Micrococcaceae ตระกูล *Staphylococcus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะรูปร่างกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น หรือเป็นคู่ หรือเป็นสายสั้น ๆ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ เซลล์มีเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่าง 0.5-1.5 ไมโครเมตร และโคโลนีมีสีเหลืองหรือสีทองเป็นแบคทีเรียแกรมบวกบางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษที่เป็นโปรตีนซึ่งทนต่อความร้อนได้ดี แต่จากอาหารเหลวอาจเห็นเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้น มีบางสายพันธุ์สร้างแคปซูลหรือเมือก (slime) ช่วยให้เชื้อเพิ่มความรุนแรงในการก่อโรค เชื้ออายุน้อยติดสีแกรมบวกเมื่ออายุมากขึ้นติดสีแกรมลบ และเป็นสาเหตุให้เกิดอาการเจ็บป่วยในมนุษย์ (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2552)



ภาพที่ 2.8 ลักษณะ *Staphylococcus* spp.
ที่มา : Pinterest. (2562). ***Staphylococcus aureus***. สืบค้นจาก www.pinterest.com/pin/506232814336214438/.

2.3.1.1 *Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อโรคที่สำคัญในโรงพยาบาลและในชุมชนซึ่งจะมีชีวิตอยู่ในอากาศ ฝุ่นละออง ขยะมูลฝอย น้ำ อาหาร และนม หรืออาหารที่บรรจุเสร็จ และเชื้อนี้ยังเจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศที่มีออกซิเจน ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตคือ 35-40 องศาเซลเซียส โดยจะพบอยู่ตามทางเดินหายใจ ลำคอ หรือ เส้นผมและผิวหนังถึง 50% หรือมากกว่านี้ในคนที่มีสุขภาพดี และอาจพบเชื้อชนิดนี้ 60-80% แต่ถ้าผิวหนังเกิดรอยบาดแผลหรือถลอกหรือได้รับการผ่าตัด เชื้อนี้จะบุกรุกเข้าเนื้อเยื่อชั้นใน โดยต้านทานต่อยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษา โดยเฉพาะเกิดการดื้อยาเพนิซิลลิน (penicillin) และเมธิซิลลิน (methicillin)



ภาพที่ 2.9 ลักษณะ *Staphylococcus aureus*

ที่มา : Larry, M., Bush , M. D., FACP and Charles E. (2019, June). *Staphylococcus aureus* Infections. **Schmidt College of Medicine**, Florida Atlantic University. Retrieved from https://www.msdmanuals.com/home/infections/bacterial-infections-gram-positive-bacteria/staphylococcus-aureus-infections#.

ลักษณะของการก่อโรค

1. การติดเชื้อที่ผิวหนัง

การติดเชื้อ *S. aureus* ทำให้เกิดฝี อาจเกิดที่ส่วนใดของร่างกายก็ได้ ส่วนใหญ่เกิดที่ผิวหนัง ซึ่งเริ่มต้นจากการติดเชื้อที่ต่อมน้ำมันบริเวณที่เกิดฝีจะเกิดการอักเสบ มีการสะสมเม็ดเลือดขาว เกิดการตายของเนื้อเยื่อ เมื่อฝีเจริญเต็มที่บริเวณเนื้อเยื่อที่ตายจะเต็มไปด้วยเม็ดเลือดขาวที่ตายแล้วรวมทั้งแบคทีเรียที่เม็ดเลือดขาวไปกิน

2. ฝีและฝีฝักบัว (furuncles and carbuncles)

การติดเชื้อมักเกิดที่ผิวหนัง โดยเกิดที่ผิวหนังชั้นนอกทำให้เกิดการอักเสบ เช่น รูขุมขนอักเสบ เชื้อจะแพร่กระจายเข้าเนื้อเยื่อใต้หนังทำให้เกิดหนองกลายเป็นฝี (boil, furuncle) ส่วนฝีฝักบัว (carbuncle) ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับฝี แต่จะมีจำนวนมากกว่าและแพร่กระจายลึกลงในเนื้อเยื่อเส้นใย (fibrous tissue) ฝีฝักบัวมักเกิดที่คอหรือหลังส่วนบนซึ่งมีผิวหนังหนากว่า รูขุมขนอักเสบมักไม่ค่อยเจ็บแต่เมื่อการติดเชื้อแพร่กระจายลึกลงในเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังจะเกิดการอักเสบและฝีจะอ่อนนุ่ม ฝีส่วนใหญ่จะหายเองได้ใน 3-5 วัน โดยหนองจะไหลออกมา ความเจ็บปวดลดลงและหายไปเอง แต่ก็อาจติดเชื้อซ้ำในบริเวณใกล้ ๆ อีก

ภาพที่ 2.10 ลักษณะผู้ป่วยเป็นโรคฝีฝักบัว
ที่มา : ihealthblogger. (2562). **โรคฝีฝักบัว**. Retricred from www.ihealthblogger.com, howshealth.com, byebyedoctor.com, dermaamin.com

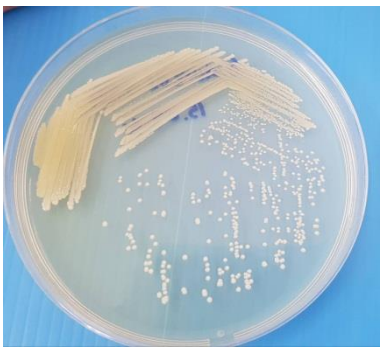
3. โรคผิวหนังเป็นตุ่มพุพอง (impetigo)

เด็กทารกแรกเกิดมักเกิดจากการติดเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเกิดเป็นตุ่มมีหนอง หรือตุ่มพุพอง นอกจากนี้ยังพบในเด็กเล็ก ซึ่งมักเกิดรอบจมูก โดยเกิดเป็นตุ่มหนองแข็งห่อหุ้มอยู่บนผิวหนัง เมื่อสิ่งห่อหุ้มหลุดลอกออก จะเหลือแต่ผิวหนังที่เยิ้มแดง โรคนี้ติดต่อได้ง่าย เช่น ตามสถานรับเลี้ยงเด็กและในโรงเรียน

4. โรคผิวหนังหลุดลอก (scalded skin syndrome)

โรคผิวหนังหลุดลอกเป็นโรค หรือมีชื่อว่าโรค 4S หรือ Staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS) ที่เกิดผิวหนังชั้นหนังกำพร้าจะแยกออกและหลุดลอกออกกลายเป็นผิวหนังที่มีขอบม้วน และเห็นผิวหนังข้างใต้เป็นมันเยิ้ม จะมีอาการเจ็บปวดมาก ผิวหนังร้อนแดงและมีเลือดคั่ง พื้นที่ผิวหนังส่วนใหญ่มีการลอกออกเป็นเกล็ดหรือเป็นสะเก็ดโรคนี้มักพบในเด็กแรกเกิดและเด็กอายุต่ำกว่า 4 ปี ในผู้ใหญ่ไม่ค่อยเกิดยกเว้นผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันถูกกดไว้

2.3.1.2 *Staphylococcus epidermidis* มีลักษณะโคโลนีขนาดเล็ก สีขาว สามารถเจริญได้ทั้งภาวะที่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อยเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นแบคทีเรียที่พบได้บ่อยที่สุดในกลุ่มที่ไม่สร้าง coagulase พบเป็นเชื้อประจำถิ่น (normal flora) บริเวณผิวหนัง โพรงจมูก รูหู และทางเดินปัสสาวะส่วนปลาย การใช้สายยางหรือท่อที่สอดเข้าไปในร่างกายเพื่อเอาของเหลวออกมา (catheters) และอวัยวะเทียม (prosthesis) กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น จึงทำให้เกิดการก่อการติดเชื้อในโรงพยาบาลมากขึ้น ยากต่อการรักษา และมีการดื้อยาที่ไม่แน่นอนซึ่งต่างกับเชื้อ *S. aureus* ที่พบว่าการดื้อยาต่อกลุ่มยา penicilinase-resistant penicillin มากกว่า ในการรักษาจึงจำเป็นต้องมีการใช้ผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะประกอบการวินิจฉัย (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2552)



ภาพที่ 2.11 ลักษณะโคโลนี *Staphylococcus epidermidis* บนอาหาร TSB

2.3.2 การติดเชื้อ *Propionibacterium acnes*

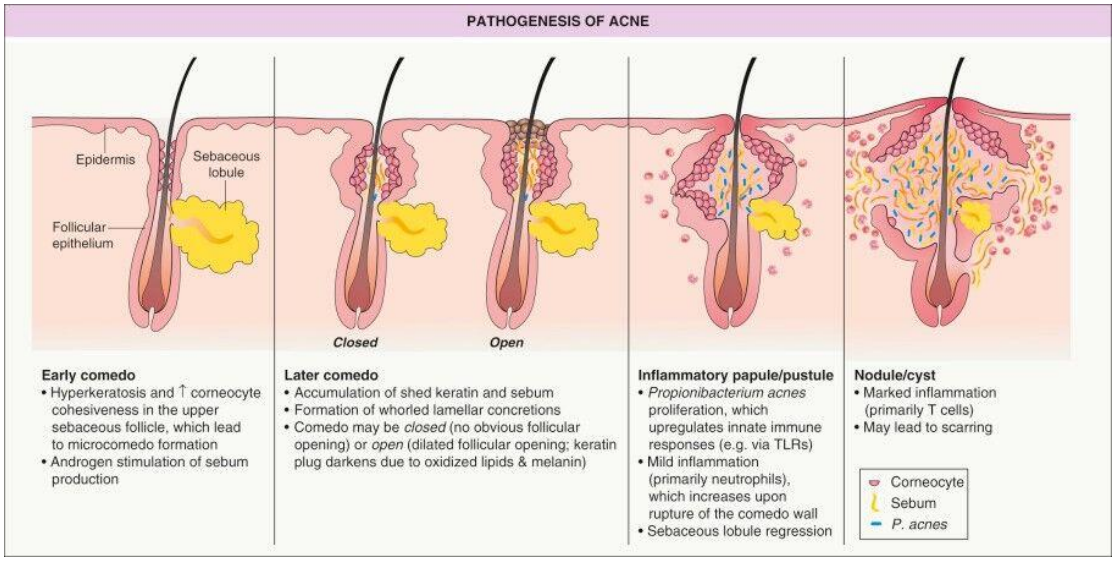
P. acnes เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เจริญเติบโตในสภาวะไร้ออกซิเจน (anaerobes) เชื้อนี้อาจพบเป็นรูปไข่ แท่งสั้น หัวท้ายของเซลล์มีขนาดโตไม่เท่ากัน (Club shaped) ซึ่งไม่เคลื่อนที่เดิมจัดอยู่ในสกุล Corynebacterium เพราะเนื่องจากเซลล์มีรูปร่างคล้าย diphteroid ปัจจุบันจัดอยู่ในสกุล *Propionibacterium* เนื่องจากพบว่าลักษณะโครงสร้าง ส่วนประกอบของผนังเซลล์ และ DNA ตลอด ทั้งให้ผลผลิตของเมทาบอลิซึมเป็นกรดโพรพิโอนิค และกรดอะซีติก ซึ่งแตกต่างจาก Corynebacterium สลายน้ำตาลส่วนใหญ่ได้กรดโพรพิโอนิค และกรดอะซิติก และมีการผลิตเอนไซม์แคทาเลส (นันทนา อรุณฤกษ์, 2538)

ภาพที่ 2.12 ลักษณะโคโลนี *Propionibacterium acnes* บนอาหาร Blood agar

ที่มา : Roselin, P. M., Shailaja, R. and Dasetty S. (2016). Isolation and Molecular Characterization of acne causing Propionibacterium acnes. **International Journal of Scientific and Research Publications**, 6(6), 811.

1. ลักษณะของการก่อโรค

P. acnes เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในรูขุมขน ในระยะแรกที่เริ่มเกิดหัวสิวมักจะตรวจไม่พบ แต่ในระยะท้าย ๆ หรือระยะที่มีการอักเสบจะตรวจพบแบคทีเรียชนิดนี้ได้ทุกราย ผลการศึกษาวิจัยระยะหลังมานี้ เพิ่งจะพบว่าแบคทีเรียชนิดนี้จะกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดขาวสองชนิด คือ โมโนไซส์และนิวโตรฟิล (Monocyte and Neutrophil) ทำให้เกิดการหลั่งโปรตีนออกมาซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการอักเสบขึ้น และถ้าร่างกายมีแอนติบอดีต่อ *P. acnes* มากจะทำให้มีความรุนแรงในการเกิดสิวตามไปด้วย โดยที่รูขุมขนจะขับโปรตีนและไขมันบริเวณรูขุมขนออกมา จนเป็นก้อนเกิดการอุดตันเรียนกว่า คอมิโดน (comedone) สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าเห็นเป็นสีขาว จากนั้นเชื้อ *P. acnes* เข้ามาย่อยไขมันบริเวณข้างต้น ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมัน จึงเกิดการรบกวนผิวหนังจึงเกิดการอักเสบบวมแดงขึ้น และบางครั้งอาจทำให้เกิดเยื่อบุหัวใจอักเสบ เมื่อหัวสิวแตก อาจทำให้มีรอยแผลเป็นสีดำได้



ภาพที่ 2.13 การก่อโรคของ *P. acnes*
ที่มา : Zaenglein, A. L., and Thiboutot, D.M. (2011). **Dermatology**. Published. 545-559

2. การรักษา

วิธีทั่วไปที่ใช้ในการรักษาโรคสิว ได้แก่ การใช้ยาปฏิชีวนะ เช่น สารเรตินอยด์ (retinoid) เตตร้าซัยคลิน (tetracycline) อิริโทรมัยซิน (erythromycin) แมคโคไรค์ (macrolide) และคลินดามัยซิน (clindamycin)

ภาพที่ 2.14 ผู้ป่วยเป็นสิวอักเสบจากเชื้อ *P. acnes*
ที่มา : ประวิตร พิศาลบุตร. (2551, มกราคม). **โรคสิวในเวชปฏิบัติ (Acne in Clinical Practice). วารสารคลินิก** เล่มที่ 277 สืบค้นจาก https://www.doctor.or.th/clinic/detail/6867

2.3.3 การติดเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa จัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะรูปร่างเป็นแท่ง เจริญเติบโตในสภาวะใช้ออกซิเจน (aerobic) เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Pseudomonadaceae สามารถเคลื่อนที่ได้โดย ซึ่งมีแฟลเจลล่า (flagella) 1 เส้น ที่ติดอยู่ตรงหัว ปกติแบคทีเรียชนิดนี้จะพบในดิน น้ำ ขยะ หรือในพืช และเป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้คน *Pseudomonas aeruginosa* สามารถทำให้เกิดโรคในคนได้ รวมทั้งสัตว์ แมลงและต้นไม้

ภาพที่ 2.15 ลักษณะเซลล์ *Pseudomonas aeruginosa*
ที่มา : Kenneth,T. (2012). ***Pseudomonas aeruginosa***. Retriered from http:// www.textbookofbacteriology.net

Pseudomonas aeruginosa จัดเป็นเชื้อโรคฉวยโอกาสจะมีการติดเชื้อกับผู้ที่ภูมิคุ้มกันต่ำหรือป่วยมาก ๆ หรือผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาล ซึ่ง *P. aeruginosa* เป็นสาเหตุอันดับสองในการทำให้เกิดโรคปอดบวมในโรงพยาบาล และเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ในการก่อให้เกิดโรคปอดบวมในห้อง ICU โรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* เนื่องจากเชื้อสามารถแพร่กระจายภายในโรงพยาบาล

โดยบุคลากรเป็นพาหนะนำเชื้อ อุปกรณ์รักษาทางการแพทย์ ผิวหนัง น้ำยาฆ่าเชื้อ และอาหาร โรคติดเชื้อนี้เป็นปัญหาที่รุนแรงมากในโรงพยาบาลมากเนื่องจาก ผู้ป่วยซึ่งมีอาการหนักอยู่แล้วจะเสียชีวิตเนื่องจากโรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* เนื่องจากดื้อต่อยาปฏิชีวนะมาก ทำให้ยากต่อการรักษา

ภาพที่ 2.16 ลักษณะการติดเชื้อ *P. aeruginosa* บริเวณเล็บเท้า
ที่มา : Vikram, C. (2016). **Ayurvedic Treatment For Pseudomonas Aeruginosa Infection**. Retriered from https://www.alwaysayurveda.net/2016/08/pseudomonas-aeruginosa-infection-ayurvedic-treatment.html

1. ลักษณะของการก่อโรค

P. aeruginosa สามารถติดเชื้อได้หลายระบบในร่างกายเนื่องจากมีหลายปัจจัยในการก่อให้เกิด เช่น ความสามารถในการเกาะยึดติดกับเยื่อบุผิว ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ สร้างโปรตีนที่มาทำลายเนื้อเยื่อ และมีการ protective outer coat ซึ่งสามารถทำให้เกิดการติดเชื้อได้ในหลายส่วนของร่างกาย

1.1) การเกิดการติดเชื้อที่หัวใจ และกระแสเลือด *P. aeruginosa* ซึ่งจัดเป็นสาเหตุอันดับที่ 4 ในการก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในกระแสเลือด การติดเชื้อในกระแสเลือดมักจะเกิดกับผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือด และผู้ที่ติดเชื้อในบริเวณอื่นของร่างกาย จะมีการติดเชื้อที่ลิ้นหัวใจในผู้ติดยาที่ฉีดยาเข้าเส้นเลือดดำหรือผู้ที่ใช้ลิ้นหัวใจเทียม

1.2) การติดเชื้อบริเวณกระดูกและข้อต่อ หากเกิดการติดเชื้อในส่วนนี้อาจเกิดจากการบาดเจ็บหรือมีการแพร่กระจายของเชื้อมาจาก เนื้อเยื่อบริเวณอื่นหรือการติดเชื้อในกระแสเลือด ซึ่งผู้ป่วยโรคเบาหวาน ผู้ติดยาที่ฉีดยาเข้าเส้นเลือดดำ หรือติดเชื้อในกระแสเลือดจะมีความเสี่ยงในการติดเชื้อที่กระดูกและข้อต่อ

1.3) การติดเชื้อที่ระบบประสาทส่วนกลาง *P. aeruginosa* จะทำให้เกิดโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ซึ่งอาจเกิดจากการที่สมองได้รับบาดเจ็บจากการผ่าตัด จากการแพร่กระจายจากส่วนของของร่างกาย หรือจากการติดเชื้อในกระแสเลือด

1.4) ส่วนสำหรับการติดเชื้อที่ตาและหู เชื้อ *P.aeruginosa* จะก่อให้เกิดการติดเชื้อที่บริเวณหูส่วนนอกที่เรียกว่า “swimmer’s ear” ซึ่งโรคนี้สามารถหายได้เอง แบคทีเรียจะก่อให้เกิดอาการที่รุนแรงในผู้สูงอายุ ซึ่งนำไปสู่ปัญหาด้านการได้ยิน ใบหน้าเป็นอัมพาตหรือเสียชีวิต ส่วนการ

ติดเชื้อที่ตามักเกิดจากการได้รับบาดเจ็บ ซึ่งจะทำให้เกิดรอยแผลเป็นที่กระจกตาซึ่งจะทำให้ตาบอดในที่สุด ปัจจัยที่มีผลในการทำให้เกิดความเสี่ยงในการติดเชื้อที่ตารวมถึงการใส่ซอฟท์คอนแทคเลนส์ การใช้ยาตาที่มี corticosteroid มีอาการโคม่า ถูกไฟไหม้รุนแรง หรือรักษาตัวอยู่ในห้อง ICU

1.5) ติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ ติดได้จากการใช้เครื่องทางการแพทย์หรือการผ่าตัด

1.6) การติดเชื้อที่ปอด เป็นปัจจัยที่มีผลในการทำให้เกิดความเสี่ยงในการติดเชื้อที่ปอด ได้แก่ โรคปอดเรื้อรัง ภูมิคุ้มกันต่ำ ใช้ยาปฏิชีวนะ และผู้ป่วยหัวใจล้มเหลว

1.7) การติดเชื้อที่ผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน คนสุขภาพดีก็สามารถติดเชื้อได้ จากการอาบน้ำหรือเล่นน้ำในสระว่ายน้ำ hot tubs ที่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่ ซึ่งการติดเชื้อ *Pseudomonas* บริเวณผิวหนังนี้มักจะเกิดการสับสนกับโรคอีสุกอีใสและจะเกิดอาการรุนแรงได้กับผู้ที่เชื้อในกระแสเลือดร่วมด้วย *Pseudomonas aeruginosa* เป็นสาเหตุอันดับสองในการก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในบาดแผลไฟไหม้ในผู้ป่วยที่ พักรักษาตัวที่โรงพยาบาล

2. วิธีการรักษา

เนื่องจาก *P. aeruginosa* มีการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ดังนั้นในการรักษาจึงนิยมให้ยาปฏิชีวนะสองตัวร่วมกัน โรคติดเชื้อจาก Pseudomonas มักรักษาโดยการให้ยาร่วมกัน เช่น ยา ceftazidine, ciprofloxacinimipenem, gentamicin, tobramycin, ticarcillin-clavulonate, piperacillin-tazobactam ให้โดยฉีดเข้าเส้นเลือดดำหรือรับประทาน เป็นเวลา 2- 6 สัปดาห์ ถ้าเป็นการรักษาตาควรจะต้องใช้ยาหยอดตา

2.3.4 การติดเชื้อ *Candida albicans*

C. albicans จัดอยู่ในกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์/รา เซลล์เดียว (unicellular) คือ พวกยีสต์ (yeast) มักจะพบลักษณะเซลล์รูปร่างกลม ทรงขวด และไม่มีเส้นใย อยู่ในจีนัส Candida ซึ่งมีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (eukaryotic cell) และพบว่าส่วนมากมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศด้วยการแตกหน่อ (budding) แต่บางชนิดอาจขยายพันธ์แบบอาศัยเพศด้วยการสร้างสปอร์ ซึ่งมีชื่อเรียกว่า แอสโคสปอร์ (ascospore) หรือ เบสิดิโอสปอร์ (basidiospore) โดยพบได้ตามเยื่อเมือกที่มีอยู่ ในระบบทางเดินอาหาร (เช่น ช่องปาก คอหอยส่วนปาก หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร) ที่อวัยวะเพศหญิง (เช่น ช่องคลอด/เชื้อราในช่องคลอด) และที่อวัยวะเพศชาย (องคชาติ) ซึ่งในภาวะร่างกายมีภูมิคุ้มกันต้านทานโรค/ภูมิคุ้มกัน/ภูมิต้านทานปกติ ยีสต์กลุ่มนี้จะไม่ก่อโรค แต่ถ้าสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป เช่น อวัยวะนั้นมีการอับชื้น หรือร่างกายมีภูมิคุ้มกันผิดปกติ เช่น ต่ำลง ยีสต์นี้จะมีความรุนแรงขึ้น/เจริญเติบโตในปริมาณมากเกินปกติ จนก่อให้เกิดเป็นโรคขึ้นได้ ที่เรียกว่า “โรคแคนดิไดอะซิส (Candidiasis)”

ภาพที่ 2.17 ลักษณะโคโลนี *Candida albicans* บนอาหาร SDA

1. ลักษณะของการก่อโรค

1.1) การติดเชื้อ *C. albicans* เฉพาะที่บริเวณเยื่อเมือก ซึ่งจะเป็นการติดเชื้อในลักษณะเฉพาะที่ เช่น ในช่องปาก (เชื้อราช่องปาก) ในคอหอยส่วนปาก ในหลอดอาหาร ในช่องคลอด หรือที่อวัยวะเพศชาย อาการที่พบได้ของเชื้อรานี้ที่เยื่อเมือก เช่น บริเวณที่ติดเชื้อ/รอยโรค จะเห็นเป็นปื้นสีขาวข้น ผิวเรียบเป็นมัน ลักษณะเหมือนไขนม จับอยู่บนเนื้อเยื่อ รอบ ๆ เนื้อเยื่อนั้นจะมีลักษณะแดง เจ็บ แสบ คัน (โดยเฉพาะกรณีติดเชื้อที่ช่องคลอด) และอาจเห็นเป็นแผลปริแตก นอกจากนั้นอาการทั่วไปที่พบร่วมด้วยได้ คือ เบื่ออาหาร อาจรู้สึกอ่อนเพลีย ซึ่งการติดเชื้อลักษณะนี้ อาการมักไม่รุนแรง แพทย์มักรักษาโรคให้หายได้

1.2) การติดเชื้อในกระแสเลือด เป็นการติดเชื้อแคนดิดาที่รุนแรงจนอาจเป็นสาเหตุให้เสียชีวิตได้ และสามารถตรวจพบเชื้อรานี้ได้ในกระแสเลือด (Fungemia) กรณีนี้ อาจพบมีการติดเชื้อที่ หัวใจ สมอง ตับ ไต ร่วมด้วย ผู้ป่วยจะมีอาการไข้สูง อ่อนเพลียมาก และมีอาการต่าง ๆ จากการทำงานผิดปกติของอวัยวะต่าง ๆ ขึ้นกับว่ามีการอักเสบติดเชื้อที่อวัยวะใด เช่น กล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ สมองอักเสบ ไตอักเสบ ตับอักเสบ มักพบในคนที่มีภูมิคุ้มกันต้านทานโรคต่ำมาก

1.3) การติดเชื้อจากการใช้ยาปฏิชีวนะ โดยเกิดจากยาปฏิชีวนะฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่รวมถึงเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น ส่งผลให้ร่างกายเสียสมดุลระหว่างเชื้อโรคชนิดต่าง ๆ เชื้อราจึงเจริญเติบโตเกินปกติจนก่อโรคได้ ซึ่งอาการที่เกิดขึ้นอาจเป็นในลักษณะ การติดเชื้อเฉพาะที่ในบริเวณเยื่อเมือก หรือการติดเชื้อในกระแสโลหิตก็ได้ ขึ้นกับภูมิคุ้มกันต้านทานโรคของร่างกาย

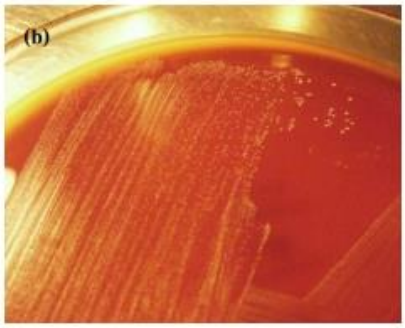
2.3.5 การติดเชื้อ *Proteus vulgaris*

P. vulgaris จัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae มีลักษณะเป็นเซลล์แท่งสั้น มีขนาดเล็ก 0.5 x 1.5 µm สามารถเจริญได้ทั้งในภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) เคลื่อนที่ด้วยแฟลเจลลาที่อยู่รอบตัว (peritrichous flagella) และสามารถสร้างร่องรอยการเจริญเติบโต (swarm) ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ในดิน น้ำและพืช นอกจากนี้ยังพบเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ของคนและสัตว์ เป็นเชื้อโรคฉวยโอกาส

ภาพที่ 2.18 ลักษณะการเคลื่อนที่ของเชื้อ *Proteus vulgaris* บนอาหาร Blood agar
ที่มา : Sahil, B. (2018, May). ***Proteus vulgaris*** Retriered from https://paramedicsworld.com/proteus-vulgaris/morphology-culture-characteristics-of-proteus-vulgaris/medical-paramedical-studynotes

2.3.6 การติดเชื้อ *Streptococcus mutans*

S. mutans จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก (gram positive) มีลักษณะเซลล์รูปร่างกลม (cocci) เรียงต่อกันเป็นสาย มีขนาด 0.5-0.75 ไมโครเมตร เป็นแบคทีเรียประจำถิ่น ในช่องปาก ถ้าเลี้ยงในอาหารที่มีความเป็นกรดเซลล์จะมีรูปร่างเป็นแท่งสั้น ๆ สามารถเจริญได้ในที่มีทั้งออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญเติบโตได้สูงสุดที่ 45 องศาเซลเซียส และต่ำสุดที่ 10 องศาเซลเซียส (Sneath,et al., 1986) *S. mutans* ก่อให้เกิดโรคฟันผุในมนุษย์เนื่องจากเชื้อสามารถสร้าง extracellular polysaccharide (EPS) มี 2 แบบ คือ แบบละลายน้ำและไม่ละลายน้ำได้ ทำให้เกิดเป็นคราบจุลินทรีย์ (biofilm) ที่ผิวฟัน และยังสามารถสร้างกรดจากการย่อยน้ำตาล ผิวฟันจึงทำให้ฟันผุ (Loesche, 2007)



ภาพที่ 2.19 ลักษณะโคโลนีของ *Streptococcus mutans* บนอาหาร Blood agar
ที่มา : ศิริลักษณ์ หอมละเอียด. (2557). **ฤทธิ์ยับยั้งไบโอฟิล์มของเชื้อ *Streptococcus mutans* จากสารสกัดใบกระทู**. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 2

2.4 ความรู้เกี่ยวกับการทดสอบความไวของฤทธิ์การต้านจุลชีพของจุลินทรีย์

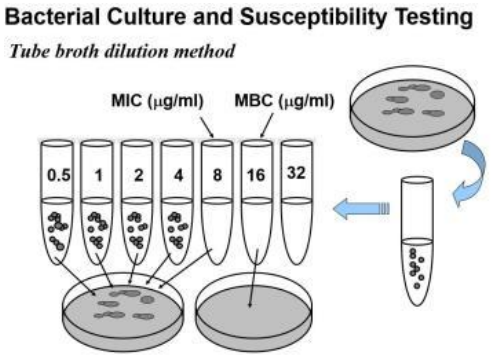
การทดสอบความไวของฤทธิ์การต้านจุลชีพของจุลินทรีย์ คือ การทดสอบความสามารถในการต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ โดยทั่วไปทำการศึกษาในระดับหลอดทดลอง (in vitro) ซึ่งมีวิธีการ 2 วิธี คือ วิธีการเจือจางยาปฏิชีวนะหรือสารทดสอบ (Dilution method test) และการวางตัวยาปฏิชีวนะหรือสารทดสอบให้ซึมเข้าสู่อาหารเลี้ยงเชื้อ (Diffusion method test) ซึ่งในการทดสอบเลือกใช้วิธีใดนั้นต้องคำนึงถึง การใช้อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบ อุณหภูมิที่เหมาะสม และชนิดเชื้อจุลินทรีย์เชื้อจุลินทรีย์ (เสน่ห์ แก้วนพรัตน์, 2545)

2.4.1 วิธีการเจือจางยาปฏิชีวนะหรือสารทดสอบ (Dilution method test)

การทำการทดสอบฤทธิ์การต้านจุลชีพด้วยวิธีการเจือจางยาปฏิชีวนะหรือสารทดสอบ (Dilution method test) วิธีนี้เป็นการทดสอบความไวของฤทธิ์การต้านจุลชีพของจุลินทรีย์ที่ได้ผลการทดสอบในเชิงปริมาณ เพราะสามารถทราบค่าความเข้มข้นของยาที่สามารถทำลายเชื้อได้ นิยมใช้ทดสอบเชื้อที่เจริญได้ช้า ใช้ในการทดสอบยืนยันผลวิธีการวางตัวยาปฏิชีวนะหรือสารทดสอบให้ซึมเข้าสู่อาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้ความไวปานกลางหรือดื้อยา และใช้ในการทดสอบความไวของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้อากาศในการเจริญเติบโตหลักการโดยทั่วไปของวิธีทดสอบคือ การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีสารทดสอบที่เจือจางในปริมาณต่าง ๆ ผสมอยู่ด้วย วิธีนี้สามารถบอกค่าความเข้มข้นของสารที่ยับยั้งและทำลายเชื้อได้ การทดสอบวิธีนี้แบ่งออกเป็น การเจือจางในอาหารเหลว (Broth dilution method) และการเจือจางในอาหารแข็ง Agar dilution method

2.4.1.1 การเจือจางในอาหารเหลว (Broth dilution method)

การเจือจางในอาหารเหลว เป็นการทดสอบหาความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ โดยวิธีนี้เป็นวิธีที่ละเอียดวิธีหนึ่ง การทดสอบนี้ทำให้ทราบปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) และสามารทราบปริมาณความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบได้ทั้งหมด (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) ของยาปฏิชีวนะนั้น ๆ กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบ หลักการโดยทั่วไปของวิธีนี้คือ เลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวซึ่งมียาปฏิชีวนะในปริมาณต่าง ๆ กันผสมอยู่ และสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อในอาหารที่เลี้ยงเชื้อซึ่งมียาปฏิชีวนะในปริมาณต่าง ๆ กัน การทดสอบหาความไวของเชื้อจุลินทรีย์ต่อยาปฏิชีวนะโดยวิธีเจือจางสารในอาหารเหลว (broth dilution method) นี้สามารถทำได้ทั้งใช้สารปริมาณมาก (macro broth dilution method) และใช้สารปริมาณน้อย (micro broth dilution method) ตรวจผลโดยดูการเจริญของเชื้อ ค่าความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่เชื้อไม่เจริญถือว่าเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ MIC (Minimum Inhibitory Concentration) การหาค่า MBC ทำได้โดยนำผลการทดสอบจากอาหารเหลว จากหลอดที่ดูแล้วว่าไม่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง ตรวจผลดูการเจริญเติบโตของเชื้อ ค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของยาปฏิชีวนะซึ่งสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ให้ลดลงไม่น้อยกว่า 99.9% ถือว่าเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) (Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI], 2009)



ภาพที่ 2.20 วิธีทำ Broth dilution method

ที่มา : Studyblue. (2019). **Broth dilution method** สืบค้นจาก https://www.studyblue.com/notes/note/n/rational-antibiotic-use/deck/15843527.

2.4.1.2 การเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution method)

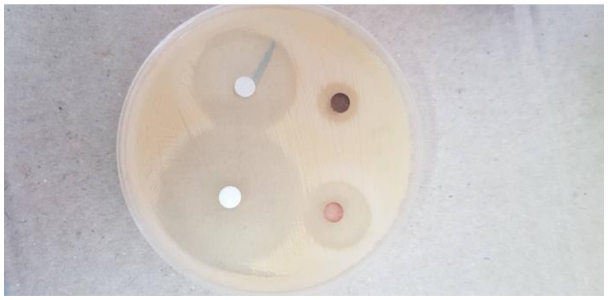
การเจือจางในอาหารแข็ง เป็นวิธีมาตรฐานในการทดสอบความไวของเชื้อแบบปริมาณการวิเคราะห์โดยมีหลักการทดสอบคล้ายคลึงกับการเจือจางในอาหารเหลว (Broth dilution method) ต่างกันเพียงชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่านั้น การทดสอบโดยการเจือจางสารทดสอบในอาหารวุ้น และถ่ายเชื้อลงบนผิวของอาหารวุ้น เป็นวิธีที่เหมาะสมกับการทดลองเชื้อจำนวนมาก ข้อดีของวิธีนี้คือ สามารถทำการทดสอบเชื้อหลายชนิดบนอาหารจานเดียวกันได้ วิธีนี้สามารถหาค่า MIC ได้ แต่ไม่สามารถหาค่า MBC ได้ สามารถตรวจผลโดยดูการเจริญของเชื้อ ค่าความเข้มข้นของสารที่เชื้อไม่เจริญถือว่าเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ MIC (Minimum Inhibitory Concentration)

ภาพที่ 2.21 วิธีทำ Agar dilution method

ที่มา : วลัยลักษณ์ เมธาภัทร. (2559). Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity. **Journal of Pharmaceutical Analysis**. 6, 71–79.

2.4.2 วิธีการทดสอบให้สารซึมเข้าสู่อาหารเลี้ยงเชื้อ (Diffusion method test)

วิธีการทดสอบให้สารซึมเข้าสู่อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากเป็นวิธีซึ่งสามารถปฏิบัติง่ายสะดวก และรวดเร็ว รวมทั้งสามารถให้ผลที่แน่นอนและถูกต้อง วิธีการทดสอบที่ใช้กันอย่างแพร่หลายที่สุด คือการวางกระดาษชุมยารีสารทดสอบ (disc diffusion method test (Kirby-Bauer)) การทดสอบเป็นการทดสอบเชิงคุณภาพเท่านั้น วิธีนี้ใช้หลักการแพรโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เติมลงบนกระดาษกรอง (filter paper disc) ซึ่งวางบนผิวหนาอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไดเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ใช้ในการตรวจสอบไว จะแพรจากจุดเริ่มต้นไปในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นเมื่อระยะทางที่สารแพรออกไปเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นของสารนั้นจะลดลงทำให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้นของสาร ณ จุดต่าง ๆ กันรอบแผ่นกระดาษกรอง ในขณะเดียวกันจุลินทรียบนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไมถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ ณ ความเข้มข้นของสารที่จุดใดๆ (ไกลกระดาษกรอง) ก็จะเจริญและเพิ่มจำนวนขึ้นจนเห็นไดชัด แต่บริเวณใกล้กระดาษกรองซึ่งมีความเข้มข้นของสารมากพอที่จะยับยั้งเชื้อได จะไมมีการเจริญของเชื้อให้เห็นจึงเกิดเป็นโซนใส (inhibition zone) ขึ้น อัตราการแพรของสารออกฤทธิ์นั้นไปในอาหารเลี้ยงเชื้อมีต่อขนาดเสนผานศูนย์กลางของโซนใส ซึ่งจะบอกถึงความสามารถของสารที่นำมาทดสอบ ว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้ มากนอยเพียงใด ผลการยับยั้ง จุลินทรีย์วัดไดจากขนาดของโซนใสโดยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสจะแปรผกผันกับค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย (Minimal Inhibitory Concentration หรือ MIC) (วลัยลักษณ์ เมธาภัทร, 2559)



ภาพที่ 2.22 วิธีทำ Diffusion method test

2.5 ความรู้เกี่ยวกับผลิตภัณฑ์เจล

เจล คือ ผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อสัมผัสลักษณะเป็นกึ่งแข็งกึ่งเหลวโดยสารก่อตัวนั้นมีโครงสร้างเป็นตาข่าย จึงสามารถกักเก็บโมเลกุลของน้ำได้ องค์ประกอบส่วนใหญ่มีสารที่ทำหน้าที่เพิ่มความเหนียวหรือกึ่งแข็ง ได้แก่ สารจำพวกโพลีเมอร์ เช่น สารเพคติน (pectin) กรดอัลจินิค (alginic acid) เมทิล-เซลลูโคส (methy cellulose) คาร์โบพอล (carbopal) เป็นต้น ซึ่งโพลีเมอร์บางชนิดละลายในน้ำดีบางชนิดไม่ละลายในน้ำแต่สามารถพองตัวในน้ำได้ดีจึงทำให้เจลมีความหนืดมากขึ้น ข้อดีของเจล คือ เมื่อเวลาทาบนผิวหนังจะลดความเหนียวบนผิวหนัง แห้งง่าย และทิ้งตัวเป็นฟิล์มบาง ๆ บนผิวหนัง

ในขณะที่จะค่อย ๆ ปล่อยตัวยาออกมา เจลสามารถแบ่งตามชนิดของตัวกลางของเหลวที่ใช้ ออกเป็น 2 ชนิด คือ ไฮโดรเจล(Hydrogel) และ โอลิโอเจล (Oleogels)

2.5.1 ไฮโดรเจล

ไฮโดรเจล (Hydrogel) เป็นผลิตภัณฑ์เจลที่นิยมผลิตในทางเภสัชกรรม มีตัวกลางเป็นน้ำ สารก่อเจลทางธรรมชาติที่นิยมใช้ ได้แก่ กัม คาราจีแนน เพกติน ไคโตซาน เป็นต้น สารก่อเนื้อเจลกึ่งสังเคราะห์ที่ใช้ ได้แก่ อนุพันธ์ของเซลลูโลส และ สารก่อเจลสังเคราะห์ที่ใช้ ได้แก่ คาร์โบเมอร์ เจลชนิดนี้สามารถเพิ่มให้เจลมีคุณสมบัติตามที่ต้องการได้ เช่น ต้องเก็บความชื้น เพื่อป้องกันการระเหยเร็วเกิน เติม โพรพิลีนกลัยคอล กลีเซอรีน ต้องการเพิ่มความคงตัว เช่น เติมสารต้านออกซิเดชัน สารกันเสีย

ภาพที่ 2.23 ลักษณะเนื้อเจลแบบไฮโดรเจล

2.5.2 โอลิโอเจล

โอลิโอเจล (Oleogels) เป็นผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนประกอบด้วย colloidal silica หรือ metallic soap กับตัวกลางของเหลวที่ไม่ชอบน้ำ เช่น น้ำมันแร่ เป็นต้น

Converting liquid oil into oleogel using shellac as a new oleogelator

ภาพที่ 2.24 แสดงลักษณะเนื้อเจลแบบโอลิโอเจล

2.6 ความรู้เกี่ยวกับการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

จุลินทรีย์ประจำถิ่นมีอยู่ในทั้งในดิน น้ำ ผิวหนัง ตลอดจนปนอยู่ในวัตถุดิบในการผลิตเครื่องสำอางนั้น หากแต่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์นั้น จะส่งผลต่อผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อน และก่อให้เกิดโรคกับผู้ที่ใช้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์เหล่านั้นเข้าทางบาดแผล เยื่อบุผิว ส่วนที่บอบบางของผิวได้

การควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง จะทำการตรวจสอบและควบคุมดังต่อไปนี้ (อารทรา ปัญญาปฏิภาณ, 2559)

1. การควบคุมที่วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง โดยการตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของวัตถุดิบที่รับเข้ามาตั้งแต่แรก ก่อนนำไปผลิต หากตรวจพบเกินกว่าที่รับได้ก็อาจมีส่งคืนหรือมีกระบวนกระบวนการฆ่าเชื้อ

2. ควบคุมระบบน้ำที่ใช้ภายในสถานที่ผลิตเครื่องสำอาง เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำใช้เพื่อการผลิต ต้องมีการออกแบบระบบน้ำให้สามารถทำลาย ยับยั้งหรือการคัดกรองเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ออกไปได้ เช่น การใช้น้ำที่ผ่านกระบวนการกรองด้วยเยื่อกรองที่ทำจากใยสังเคราะห์เซลลูโลสมีความละเอียด 0.0001 ไมครอน (Reverse Osmosis) มีการติดตั้งหลอดยูวี (UV) เพื่อทำฆ่าเชื้อภายในท่อน้ำ

3. ควบคุมกรรมวิธีการผลิตและการบรรจุที่ได้มาตรฐาน เช่น มีมาตรฐาน GMP ในการผลิตที่มีระบบกรองอากาศในอาคารผลิต มีกฎระเบียบการแต่งกายพนักงานที่เข้าไปสัมผัสกับผลิตภัณฑ์ต้องสะอาด แต่งกายเหมาะสม และผ่านการอบรมเรื่องมาก่อน เป็นต้น

4. มีการออกแบบผลิตภัณฑ์ให้มิดชิดลดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น ใส่สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในตัวเองได้อยู่ในตำรับ ซึ่งสารนั้นอาจเป็นสารออกฤทธิ์หรือสารช่วยในตำรับ เช่น ethanol, propylene glycol เป็นต้น หรือให้ผลิตภัณฑ์นั้นมีสัดส่วนของน้ำมันและไขมันในปริมาณที่สูงทำให้ยากแก่การเจริญเติบโตของเชื้อ และมีการปรับค่าช่วงของ pH ของผลิตภัณฑ์ให้ไม่เหมาะแก่การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก็ได้

5. มีการออกแบบใช้บรรจุภัณฑ์ที่ลดความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์หลังจากเปิดใช้ไปแล้ว เช่น บรรจุภัณฑ์ระบบปั๊มสุญญากาศ หรือบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ระบบล็อก 2 ชั้น (Air lock 2) เป็นต้น

6. มีการใช้สารกันเสียในผลิตภัณฑ์ เพื่อยืดอายุการใช้ของผลิตภัณฑ์ แต่สารกันเสียบางชนิดมีอันตรายสูง เช่น เมอคิวรี คอมพาวด์ (Mercury compound) จึงมีการจำกัดการใช้ หรือการกันเสีย เช่น พาราเบน (Paraben) ซึ่งเป็นสารก่อให้เกิดโรคมะเร็งผิวหนัง

นายปิยสกล สัตยาทร รัฐมนตรีกระทรวงสาธารณสุข ในขณะนั้น ได้ประกาศ เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิตนำเข้า หรือขาย ในวันที่ 29 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2559 ในราชกิจจา-นุเบกษา เล่ม 133 ตอนพิเศษ 72 ง มีใจความดังนี้ (ภาคผนวก จ)

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา 5 และมาตรา 6 (1) แห่งพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2558 รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข โดยคำแนะนำของคณะกรรมการเครื่องสำอางออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ 1 ให้เครื่องสำอางที่มีคุณสมบัติทางจุลชีววิทยาตามที่กำหนดไว้ดังต่อไปนี้ เป็นเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย

(1) เครื่องสำอางที่ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ดังต่อไปนี้

(ก) ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา (*Pseudomonas aeruginosa*)

(ข) สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*)

(ค) แคนดิดา อัลบิแคนส์ (*Candida albicans*)

(ง) คลอสตริเดียม (*Clostridium* spp.) (เฉพาะเครื่องสำอางผสมสมุนไพร)

(2) เครื่องสำอางที่ใช้บริเวณรอบดวงตา เครื่องสำอางที่สัมผัสเยื่อบุอ่อน และเครื่องสำอางสำหรับเด็กอายุต่ำกว่า 3 ปี ที่ตรวจพบจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ (Total aerobic plate count) มากกว่า 500 โคโลนีต่อกรัม หรือลูกบาศก์เซนติเมตร ขึ้นไป

(3) เครื่องสำอางอื่น นอกเหนือจากที่กำหนดในที่ตรวจพบจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ (Total aerobic plate count) มากกว่า 1,000 โคโลนีต่อกรัม หรือลูกบาศก์เซนติเมตร ขึ้นไป

ข้อ 2 คุณสมบัติทางจุลชีววิทยาตามข้อ 1 ให้ทดสอบตามวิธีที่ระบุไว้ในมาตรฐาน International Organization for Standardization (ISO) หรือ United States Pharmacopeia (USP) ในเรื่องที่เกี่ยวข้อง ฉบับล่าสุด หรือวิธีอื่นที่เป็นมาตรฐานสากลเป็นที่ยอมรับ

ข้อ 3 ให้เครื่องสำอางที่ใช้ภาชนะบรรจุที่มีลักษณะเป็นกระบอกฉีดยา (Syringe) หรือที่มีลักษณะเป็น Ampoule หรือ Vial หรืออยู่ในภาชนะบรรจุใด ๆ ที่ใช้เครื่องมือประกอบในการผลักดันสารเข้าสู่ผิวหนัง เช่น Lontophoresis Mesotherapy เป็นต้น เป็นเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย

ข้อ 4 ประกาศนี้ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุรางค์รัตน์ พันแสง และคนอื่น ๆ (2560) ได้ทำการประเมินคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรไทยบางชนิดในเขตอำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์ จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ย่านางแดง (*Bauhinia strychnifolia* Craib.) ควายเก้าแม่ (*Hiptage candicans* Hook.f.) และหัวยาข้าวเย็น (*Smilax glabra* Roxb) ซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50% จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical ผลจากการศึกษาพบว่า สารสกัดจากหัวยาข้าวเย็นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด รองลงมาคือ ย่านางแดง และควายเก้าแม่ตามลำดับ (IC_{50} เท่ากับ 0.1642±0.1180, 0.3645±0.1590 และ >1.0000±1.1120 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) การตรวจสอบทางเคมี พบว่า ย่านางแดง มีฟลาโวนอยด์ (flavonoids หรือ flavonoids-3-glycoside) และสารไฮโดรไลซ์แทนนิน (hydrolysable tannins) ส่วนควายเก้าแม่มี ฟลาวาโนน (flavanone) ฟลาโวนอล (flavonol) และคอนเดนส์แทนนิน (condensed tannin) หัวยาข้าวเย็นมีเพียง คอนเดนส์แทนนิน

ภิญญามนตร์ สีขาว (2559) ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 4 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus, Micrococcus luteus, Escherichia coli* และ *Candida albicans* ของสารสกัดใบสาบเสือ พบว่า สารสกัดใบสาบเสือส่วนสกัดหยาบเอทานอลที่ผ่านการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท (CEE)

มีปริมาณฟินอลิครวมเท่ากับ 247.49±0.79 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/สารสกัดหยาบ 1 กรัม และสามารถยับยั้ง *S. aureus* และ *M. luteus* (มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) การตั้งตำรับสบู่เหลวที่ผสมส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท ซึ่งมีความคงตัวดี ภายใต้สภาวะเร่ง และมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *M. luteus* และ *S. aureus* (มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) เช่นเดียวกับส่วนสกัดข้างต้น

ปิยนุช พรมภมร และนภัสสร ราชรินทร์ (2559) ได้ทำการศึกษาสารสกัดหยาบสมอไทยส่วนเอทานอลที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ด้วยวิธี Agar well diffusion และหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 50 เปอร์เซนต์ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) ด้วยวิธี Macro Broth Dilution ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดผลสมอไทยที่เตรียมได้มีร้อยละของน้ำหนักสารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้งเท่ากับ 14.124 และมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *S.epidermidis* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.96 และ 0.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีค่า MBC เท่ากับ 2.05 และ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำสารสกัดสมอไทยมาพัฒนาเป็นตำรับเจลพบว่า ตำรับเจลที่ได้มีสีเหลืองใส มีค่า pH 6.5 และมีลักษณะทางกายภาพที่ดี

Chenthurpandy, Kalidass and Mohan (2009) ได้ทำการศึกษาเภสัชศาสตร์ของต้นโนราด้วยวิธีวิเคราะห์ฟลูออเรชเซนและวิเคราะห์สารพฤกษศาสตร์พื้นฐาน พบว่า มีสารจำพวกแอล-คาลอยด์ (alkaloids) สารแอนทราควิโนน (anthraquinones) สารคาเทชิน (catechin) สารคูมาริน (coumarin) สารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สารฟีนอล (phenols) สารเตอรอยด์ (steroids) สารแทนนิน (tannins) สารเทอฟีนอยด์ (terpenoids) น้ำตาล และแซนโทรโปรตีน (xanthoprotein)

สุมนา จินดาพงษ์, สุมาลี ปานทอง และอรุณพร อิฐรัตน์ (2555) ซึ่งได้ทำการศึกษาเชื้อ *Propionibacterium acnes, Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus aureus* ที่เป็นเชื้อจุลชีพชักนำให้เกิดหนอง และการอักเสบของสิว โดยใช้ ตำรับยาเบญจโลกวิเชียร ซึ่งประกอบด้วยสมุนไพรไทย 5 ชนิด ได้แก่ รากต้นมะเดื่อชุมพร (*Ficusracemosa* L.) รากต้นชิงชี่ (*Capparis micracantha* DC) รากต้นเท้ายายม่อม (*Clerodendrum petasites* Lour) รากต้นคนทา (*Harrisonia perforate (Blanco)* Merr) และรากต้นย่านาง (*Tiliacora triandra* Colebr) จากการทดสอบเชื้อจุลชีพที่ก่อให้เกิดสิวโดยวิธี disc diffusion และ broth dilution โดยใช้สารสกัดชั้นเอทานอลของสมุนไพรเดี่ยวทั้ง 5 และทั้งตำรับยา พบว่ามีสมุนไพร 4 ชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อ *P. acnes* ได้แก่ รากต้นมะเดื่อชุมพร รากต้นเท้ายายม่อม รากต้นคนทา และรากต้นย่านาง รวมทั้งสารสกัดจากตำรับเบญจโลกวิเชียรก็สามารถยับยั้งเชื้อ *P. acnes* ได้ด้วย สารสกัดจากรากคนทา และรากย่านาง มีผลการยับยั้งเชื้อ *P. acnes* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC = 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากรากคนทามีผลการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* และ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 62.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ จากผลการวิจัยสามารถสนับสนุนการใช้ตำรับยาเบญจโลกวิเชียรในการรักษาสิวและนำไปการพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อแก้ปัญหาสิวต่อไป

ทิฐิมา ภาคภูมิ และกัลยาภรณ์ จันตรี (2555) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อม ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนัง โดยทำการทดลองหาฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus, C. albican* และ *P. vulgaris* ของสารสกัดสมุนไพรผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมในอัตราส่วน 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 และ 3:1พบว่าอัตราส่วน 1:3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *C. albican* ได้ดีที่สุดโดยวัดวงใสได้ค่าเฉลี่ย 25.33 มิลลิเมตร และ 24.22 มิลลิเมตร ตามลำดับ สำหรับ อัตราส่วน 3:1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *P. vulgaris* ได้ดีที่สุด วัดวงใสได้ค่าเฉลี่ยได้ 24 มิลลิเมตร เมื่อนำอัตราส่วนของสารสกัดผสม 1:3 มาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 3 ชนิด พบว่า *S. aureus* และ *C. albican* มีค่าเท่ากับ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน *P. vulgaris* มีค่าเท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Murugan and Mohan (2011) ได้ทำการศึกษาพฤกษเคมีพื้นฐานของต้นโนรา พบว่าสารสกัดจากใบและลำต้น ซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล มีสารจำพวกแอลคาลอยด์ (alkaloids) สารแอนทราควิโนน (anthraquinones) สารคาเทชิน (catechin) สารคูมาริน(coumarin) สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สารฟีนอล (phenols) สารสเตอรอยด์ (steroids) สารแทนนิน (tannins) สารเทอฟีนอยด์ (terpenoids) และ สารแซนโทรโปรตีน (xanthoprotein)

Kumudhavalli, et al. (2010) ได้ทำการศึกษาหาพฤกษเคมีพื้นฐานและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาจากใบของต้นโนราด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) วิธี Infrared Spectroscopy (IR) และศึกษาด้วยวิธี Mass spectroscopy (MS) จากการศึกษาพบว่ามีสารคาร์โบไฮเดรต โปรตีน กรดอะมิโน สารซาโนนิน สารประกอบฟีนอล สารแทนนิน และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ เมื่อนำสารสกัดไปทดสอบความเป็นพิษในสัตว์ทดลองพบว่า สามารถทำให้สัตว์ทดลองตายได้ที่ปริมาณสารสกัด 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา (*Hiptage candicans* (Hook.F.)) โดยแยกเป็นสารสกัดหยาบจากส่วนใบและส่วนลำต้นโนรา ซึ่งมีวิธีการดำเนินการตามลำดับตามนี้

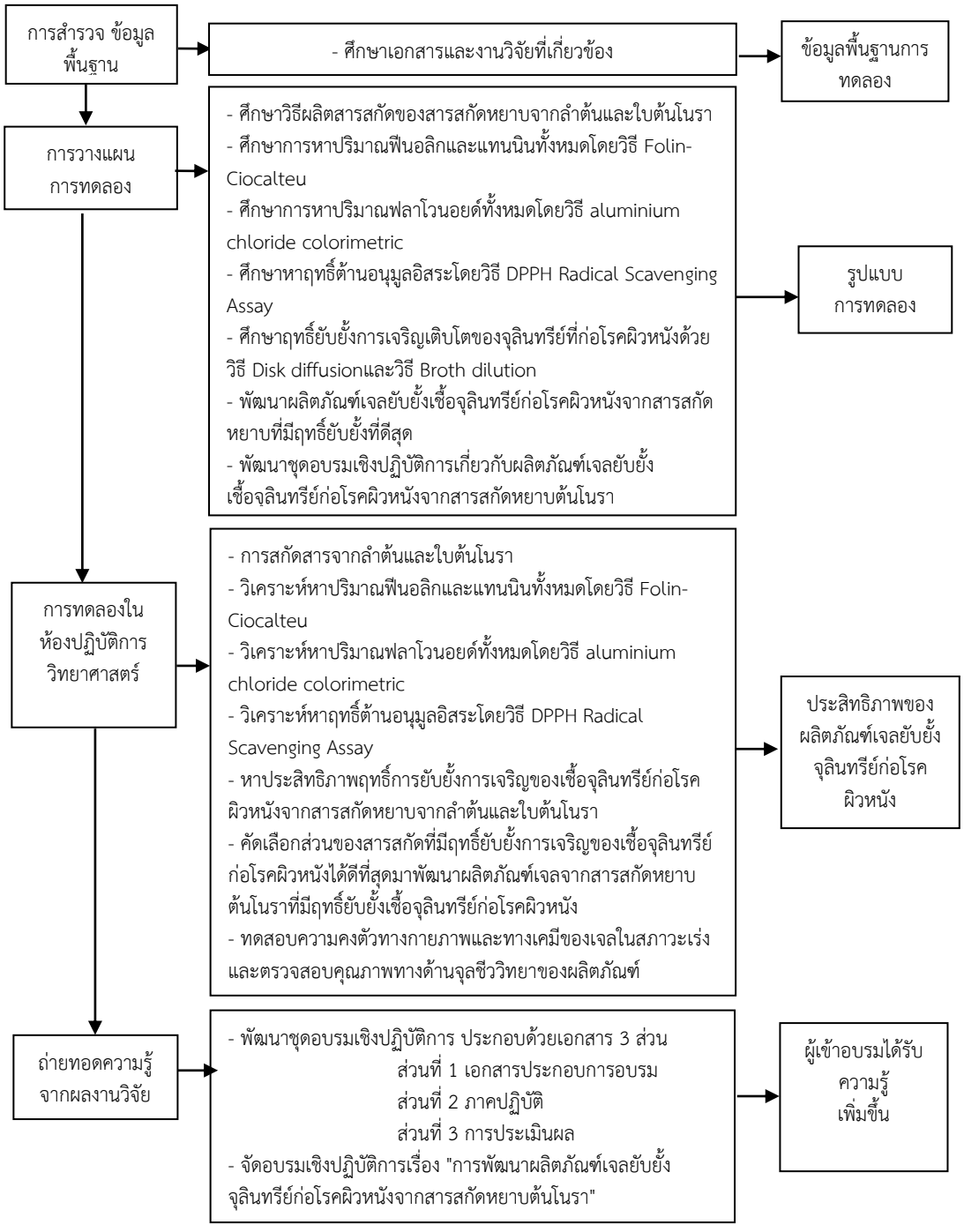
3.1 การสำรวจข้อมูลพื้นฐาน

3.2 การวางแผนการทดลอง

3.3 การทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

3.4 วิธีการทดลองและการถ่ายทอดความรู้จากการวิจัย

แต่ละขั้นตอนมีกิจกรรมย่อย ซึ่งแสดงเป็นแผนภูมิดังภาพที่ 3.1 ดังนี้



ภาพที่ 3.1 แผนผังแสดงการดำเนินการวิจัย

3.1 การสำรวจข้อมูลพื้นฐาน

ทำการสำรวจข้อมูลที่เกี่ยวกับงานวิจัย เช่น เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องข้อมูลทั่วไปของต้นโนรา สารเคมีพื้นฐานที่สำคัญที่อยู่ในต้นโนรา และฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

3.2 การวางแผนการทดลอง

ทำการวางแผนการทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยเริ่มจากการเตรียมวัตถุดิบ การนำมาสกัดเป็นสารสกัดหยาบนำมาสารสำคัญวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด หาปริมาณกรดแทนนินทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยทั้งหมด หาประสิทธิภาพการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระ และนำมาหาประสิทธิภาพการยับยั้งการเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง จากนั้นนำพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา ทดสอบคุณสมบัติบางประการของผลิตภัณฑ์ พัฒนาชุดอบรมเชิงปฏิบัติการเกี่ยวกับการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

3.3 การทดลองในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์

3.3.1 สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

3.3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบ

1. เอทานอล 95% (95% Ethanal)
2. สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid)
3. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 20% (Sodium carbonate, 20% NA_2CO_3)
4. สารละลายโฟลิน-ซิคลอดเดต (Folin-ciocalteu Reagent)
5. สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก (Tanin acid)
6. สารละลายมาตรฐานรูทิน (Rutin acid)
7. สารละลายโซเดียมไนไตรต์ 5% (Sodium nitrite, 5%Na_2N_3)
8. สารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ 10% (Aluminium chloride, 10% Al_2CO_3)
9. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซต์ 1 M (Sodium hydroxide, 1M NaOH)
10. สารละลายมาตรฐานบิวทิลไฮดรอกซีโทลูอิน
(Butylated hydroxytoluene, BHT)
11. สารละลายมาตรฐานบิวทิเลเทตไฮดรอกซีแอนิโซล
(Butylated hydroxyanisole, BHA)
12. สารละลายอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
13. กรดไฮโดรคอลริก (Hydrochloric, HCl)
14. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 30% (30% Hydrogen peroxide, H_2O_2)
15. สารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ (Phosphate buffer)
16. สารพอลิเซอร์เบต (Polysorbate)
17. น้ำกลั่น (Distilled water)
18. ตัวทำละลายไดเมททิล ซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide, DMSO)

3.3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

- *Candida albicans* TISTR5554
- *Staphylococcus aureus* TISTR1466
- *Staphylococcus aureus* TISTR2329
- *Staphylococcus epidermidis* TISTR518
- *Propionibacterium acnes* DMST14916
- *Pseudomonas aeruginosa* TISTR781
- *Proteus vulgaris* DMST557
- *Streptococcus mutans* DMST14283

3.3.1.3 ยาปฏิชีวนะ (Sensi Disc antimicrobial susceptibility test discs)

- Ketoconazole
- Clindamycin

3.3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Brain heart infusion (BHI)
2. Brain heart infusion agar (BHIA)
3. Muller hinton broth (MHB)
4. Sabouraud dextrose agar (SDA)
5. Trypticase soy agar (TSA)
6. Plate count agar (PCA)
7. Muller hinton agar (MHA)
8. Mannital salt agar (MSA)

3.3.1.5 สารเคมีที่ใช้ในการตั้งตำรับเจลรักษาจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง

1. น้ำกลั่น (Distilled water)
2. คาโบเมอร์ (Carbomer)
3. ด่าง (Triethanolamine)
4. ไกแด๊น (Glydant L Plus)
5. น้ำหอม (Fragrance)
6. ทวีน 80 (Tween 80)

3.3.1.6 อุปกรณ์

1. กระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร (membrane filter, Millipore)
2. กระดาษกรองกว้าง 6 มิลลิเมตร (paper disc 6 mm.)
3. จานเพาะเชื้อ (plate)
4. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
5. ปิเปต (Autopipette)
6. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Balance)
7. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

8. เตาไฟฟ้า (Hot plate)
9. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
10. ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar flow)
11. ตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส (Refrigerator 4 °C)
12. ตู้เย็น -20 องศาเซลเซียส (Refrigerator -20 °C)
13. เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator)
14. เครื่องสั่นสาร (Sonicator)
15. หลอดทดลอง (Test tube)
16. เครื่องเขย่าสาร (Vertex)
17. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
18. เครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS Spectrophotometer)

3.4 วิธีการทดลองและการถ่ายทอดความรู้จากการวิจัย

3.4.1 การสกัดสารจากใบและลำต้นโนราด้วยสารสกัดเอทานอล

นำต้นโนราที่ใช้ทดสอบมาพึงแดดให้แห้งแล้วบดหยาบโดยแยกเป็นส่วนใบ และส่วนลำต้น แช่ด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3-7 วัน กรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1 (Whatman fijter-paper No.1) และนำไประเหยแห้งด้วยเครื่องมือกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) ทำการหมักซ้ำ 3 รอบ แล้วนำสารสกัดที่ได้ มารวมกันและทำให้แห้งด้วยเครื่องเยือกแข็งแบบสุญญากาศ (Freeze dryer) จากนั้นชั่งน้ำหนักสารและคำนวณหาปริมาณเนื้อสารที่สกัดได้ (% yield) และนำสารสกัดที่ได้ไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดสอบกับเชื้อต่อไป

3.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารและชนิดกลุ่มสารสกัดที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีสารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรา

3.4.2.1 การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โดยการดัดแปลงวิธีจากวิธีของ Hou et al. (2003) โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน ให้สารประกอบฟีนอลิกทำปฏิกิริยากับ Folin-ciocalteu Reagent

1) ทำการชั่งสารสกัดหยาบลำต้นโนราและใบโนราอย่างละ 20 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล 99.99% ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2) ชั่งสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกหนัก 20 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล 99.99% ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาเจือจางด้วยเอทานอล 20% (v/v) ให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 1.0, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3) เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 20% (20% (w/v) Na_2CO_3)

4) ปิเปตน้ำกลั่น 8,400 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

5) ปิเปตสารตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน

6) เติมสารละลาย Folin-ciocalteu Reagent 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นาน 1 นาที

7) จากนั้นเติม 20% (w/v) Na_2CO_3 ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 60 นาที

8) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัด เปรียบเทียบค่าที่วัดได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกจากสมการ

$$C = \frac{c \times V}{m}$$

เมื่อ C = ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัด
(มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/สารสกัดหยาบ 1 กรัม)
C = ความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่ได้จากกราฟของสารสกัด
(ไมโครลิตร/มิลลิลิตร)
V = ปริมาตรของสารสกัด (มิลลิลิตร)
m = น้ำหนักของสารสกัด (กรัม)

3.4.2.2 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซึ่งดัดแปลงวิธีจากวิธีของ Jia, et al. (1999) โดยใช้สารละลายรูทินเป็นสารมาตรฐาน

1) ชั่งสารสกัดหยาบต้นโนราและใบโนรามาอย่างละ 20 มิลลิกรัม ละลายด้วย เอทานอล 99.9% ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2) ชั่งสารละลายมาตรฐานรูทิน 20 มิลลิกรัม ละลายด้วย เอทานอล 99.9% ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาเจือจางด้วยเอทานอล 80% (v/v) ให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนั้น 1.0, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3) เตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรต์ 5% (5% (w/v) $NaNO_2$)

4) เตรียมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ 10% (10% (w/v) $AlCl_3$)

5) เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซต์ 1 M (1M (w/v) NaOH)

6) ปิเปตสารตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร เติมน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร เติม 5% (w/v) $NaNO_2$ ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร จับเวลา 5 นาที และเติม 10% $AlCl_3$ 0.3 มิลลิลิตร เมื่อครบนาทีที่ 6 เติม 1M NaOH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นจนครบปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

7) นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัด เปรียบเทียบค่าที่วัดได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายรูทิน

3.4.2.3 การหาปริมาณแทนนินทั้งหมด โดยการดัดแปลงวิธีจากวิธีของ Hou, et al. (2003) โดยการใช้กรดแทนนิกเป็นสารละลายมาตรฐาน ให้สารประกอบแทนนินทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin-ciocalteu Reagent

1) ชั่งสารสกัดหยาบต้นโนราและใบโนราอย่างละ 20 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล 99.99% ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2) ทำการชั่งสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกหนัก 20 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล 99.99% ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำมาเจือจางด้วยเอทานอล 20% (v/v) ให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 1.0, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3) เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 20% (w/v)

4) ปิเปตน้ำกลั่น 8,400 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

5) ปิเปตสารตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน

6) เติมสารละลาย Folin-ciocalteu Reagent ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน 1 นาที

7) เติมสาร 20% (w/v) Na_2CO_3 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 60 นาที

8) จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ คำนวณหาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัด เปรียบเทียบค่าที่วัดได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายแทนนิน

3.4.2.4 การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay ดัดแปลงตามวิธีของปิลันธสุทธิ์ สุวรรณเลิศ (2555)

1) การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

1.1) นำสารสกัดมาชั่ง 0.010 กรัม มาละลายด้วยสารเอทานอล 99.99% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่า 30 นาที

1.2) นำสารสกัดที่ได้มาเจือจางด้วยเอทานอล ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ (500, 250, 125, 62.5 , 31.25 และ 15.625 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

2) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

2.1) นำสารมาตรฐาน (BHT และ BHA) มาชั่ง 0.010 กรัม ละลายด้วยตัวทำละลาย เอทานอล 99.99% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่า 30 นาที

2.2) นำสารละลายมาตรฐานที่ได้มาเจือจางด้วยเอทานอล ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ (500, 250, 125, 62.5, 31.25 และ 15.625 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

3) การเตรียมสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH

ชั่งสาร 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 0.0237 กรัม นำละลายด้วยสารเอทานอล 99.99% ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร จะได้ Stock Solution เข้มข้น 6×10^{-3} โมลาร์ เมื่อจะนำไปใช้ให้เจือจางเป็น 6×10^{-5} โมลาร์ โดย ปิเปตมา 0.1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร

4) การทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ

นำสารละลายตัวอย่างความเข้มข้นต่าง ๆ มาทดสอบความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระ DPPH เทียบกับสารละลายมาตรฐาน BHT และ BHA โดยผสมสารละลายลงในหลอดทดลองตามตารางที่ 3.1 (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) ผสมสารทดสอบในแต่ละให้เข้ากันดี บ่มที่อุณหภูมิห้อง 30 นาทีในที่มืดจากนั้นจึงวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ตารางที่ 3.1 ขั้นตอนการเติมสารละลายเพื่อทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay

Reagents	Control (มิลลิลิตร)	Blank (มิลลิลิตร)	Sample (มิลลิลิตร)	Standard 1 (มิลลิลิตร)	Standard 2 (มิลลิลิตร)
สารสกัดหยาบจากใบและ ลำต้นโนรา	-	1	1	-	-
สารมาตรฐาน BHT	-	-	-	1	-
สารมาตรฐาน BHA	-	-	-	-	1
เอทานอล 99.99%	1	1	-	-	-
สารละลาย DPPH	1	-	1	1	1

เนื่องจากสารสกัดหยาบจากส่วนใบและลำต้นโนราที่ใช้ในการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้นเมื่อนำมาละลายด้วย เอทานอล 99.9% แล้วได้สารละลายที่มีสี เมื่อนำมาทดสอบกับสารทดสอบ DPPH จะเป็นการทำปฏิกิริยากับสีของสารละลายตัวอย่าง ทำให้ต้องมีการเตรียม blank ของสารละลายตัวอย่างเพื่อนำไปหักจากค่าดูดกลืนสีของสารละลายตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH

การเตรียมหลอด Blank ของตัวสารละลายจากสารสกัดหยาบจากต้นโนราโดยการปิเปตสารละลายตัวอย่างจากข้อ 3.4.2.4.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และปิเปตเอทานอล 99.99% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงหลอดทดลอง เขย่าเบา ๆ สารสกัดหยาบจากใบจะได้สารละลายที่มีสีเขียวของใบ และสารสกัดหยาบจากลำต้นจะได้สารละลายที่มีสีน้ำตาลแดงอิฐของลำต้น

การทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยนำสารสกัดมาทำปฏิกิริยากับสาร 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระที่เสถียรมีสีม่วง โดยวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ค่าที่ได้จะอยู่ในรูปของความเข้มของแสง (Optical Density, OD) นำไปแปลค่าจากกราฟจะได้ค่า % radical scavenging ดังสมการ

$$\% \text{ radical scavenging} = \left(\frac{\textbf{control OD} - \textbf{sample OD}}{\textbf{control OD}}\right) \times 100$$

โดยค่า

control OD = เป็นค่าความเข้มแสงสารละลาย DPPH ที่ใช้เป็นตัวควบคุม

sample OD = เป็นค่าความเข้มแสงสารละลายตัวอย่างที่นำมาทดสอบ

เมื่อได้ %radical scavenging แล้วนำไปหาค่า EC_{50} (50% effective concentration, EC_{50}) ซึ่งเป็นปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50% โดยการสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับค่าการดูดกลืนแสง แล้วหาค่า EC_{50} จากกราฟแสดงค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ โดยการนำค่าร้อยละการต้านออกซิเดชัน ของสารสกัดตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาสร้างกราฟเทียบกับ

ความเข้มข้นของสารสกัดตัวอย่าง แล้วหาสมการเส้นตรง y = ax+b จากนั้นแทนค่า y = 50 แล้วแก้สมการเพื่อหาความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันถูกยับยั้งร้อยละ 50 (EC_{50}) ซึ่งมีหน่วยเป็นไมโครกรัม/มิลลิลิตร นำเทียบกับสารละลายมาตรฐาน BHA กับสารมาตรฐาน BHT ค่าที่มีค่าน้อยจะแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าค่าที่มีค่ามาก (Onanong, et al., 2011)

3.4.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

3.4.3.1 การทดสอบหาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดจากต้นโนรา โดยวิธี Disk Diffusion (CLSI., 2009)

1. การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

ทำการเพาะเชื้อจุลินทรีย์ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย Trypticase soy agar (TSA) สำหรับ *C. albicans* TISTR5554 เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud dextrose agar (SDA) แล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญแล้วจากอาหาร TSA ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton broth (MHB) สำหรับเชื้อ *P. acnes* DMST14916 เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain heart infusion (BHI) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำไปปรับความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard

2. การเตรียมสารสกัดทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

2.1 การเตรียมสารสกัดที่ได้จากสารสกัดหยาบลำต้น และใบของต้นโนรามาทดสอบโดยชั่งสารให้มีความเข้มข้นเท่ากับปริมาตร 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยนำสารสกัดที่สกัดได้ไปละลาย 100% Dimethylsulfoxide (DMSO)

2.2 ก่อนนำสารสกัดหยาบไปทดสอบหาฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ก่อโรค ต้องนำมากรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร (Millipore) เพื่อทำให้ปราศจากเชื้อปนเปื้อน เก็บสารสกัดที่ผ่านการกรองแล้วในขวดสะอาดปราศจากเชื้อ

2.3 จากนั้นนำสารละลายสารสกัดที่ผ่านการกรองปราศจากเชื้อมาหยดบนแผ่นกระดาษกรองที่ผ่านการฆ่าจุลินทรีย์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิลิตร จำนวน 20 ไมโครลิตร วางทิ้งไว้นาน 15 นาที

3. ขั้นตอนการทดสอบ

3.1 นำก้านพันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุ่มไปในหลอดเลี้ยงเชื้อ ที่ผ่านการปรับความขุ่น 0.5 McFarland standard บิดก้านพันสำลีเพื่อเอาน้ำออกจากก้านพันสำลีโดยบิดเบา ๆ ที่ข้างหลอด จากนั้นนำออกมาป้ายลงจานเพาะเลี้ยงเชื้อให้ทั่วจานเพาะเชื้อ โดยทำการป้ายบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ระนาบ ของจานเพาะเชื้อ โดยนำเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ คือ เชื้อ *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *S. epidermidis* TISTR518, *S. mutans* DMST14283, *P. vulgaris* DMST557 และ *P. aeruginosa* TISTR781 มาเขี่ยกระจายลงจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Mueller-Hinton agar (MHA) เชื้อ *P. acnes* DMST14916 ลงอาหาร Brain heart infusion agar (BHIA) และเชื้อ *C. albicans* TISTR5554 ลงในอาหาร Sabouraud dextrose agar (SDA) ทิ้งไว้ 5 นาที เพื่อให้ผิวหน้าอาหารแห้ง ทำ 3 ซ้ำ

3.2 จากนั้นใช้ปากคีบลนไฟฆ่าเชื้อคีบกระดาษกรองที่มีสารละลายของสกัดที่ได้จากลำต้นและใบของต้นโนรา มาวางบนผิวหน้าจานเพาะเชื้อ ทดสอบพร้อมแผ่นยาปฏิชีวนะ Clindamycin และ Ketoconazole จากนั้นเอาไปวางบนจานเพาะเชื้อที่กระจายเชื้อวางไว้ 5 นาที จากนั้น คว่ำจานและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวัดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใส (Inhibition zone) หน่วยเป็น มิลลิเมตร

3.3 การอ่านผลการทดลอง เมื่อบ่มเชื้อจนครบ 24 ชั่วโมง แล้ววัดขนาดวงใสที่เกิดขึ้น โดยวัดจากขอบโซนนอกไปยังอีกฝั่ง โดยให้ผ่านเส้นจุดศูนย์กลางของกระดาษกรอง บันทึกหน่วยเป็น มิลลิเมตร

3.4.3.2 วิธีการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) โดยใช้วิธี macro broth dilution method (ดัดแปลงจาก CLSI., 2009)

1. การเตรียมอาหารทดสอบ

เตรียมอาหารเหลว MHB, BHI อุ่นให้ร้อน ก่อนบรรจุลงหลอดทดลอง โดยปริมาตรหลอดละ 1 มิลลิลิตร จำนวนตัวอย่างละ 14 หลอด ปิดฝาแบบหลวม ๆ จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยตู้อบความดันไอน้ำ (autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที วางไว้ให้เย็น

2. การเตรียมสารสกัดสำหรับทดสอบ

2.1 การเตรียมสารสกัดจากสารสกัดหยาบลำต้นและใบของต้นโนราให้มีความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางเป็นลำดับส่วนจะได้ความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.62, 7.81, 3.90, 1.95, 0.97, 0.48, 0.24, 0.12, 0.06 และ 0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนตัวควบคุม (positive control) คือ หลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียวไม่มีสารสกัด ซึ่งเป็นการทำเจือจางโดยการทำ two-fold serial dilution เพื่อหาค่าต่ำสุดของสารนั้น ๆ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการโดย

2.2 นำหลอดทดลองขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร สะอาดที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ดูดสารสกัดลำต้นและใบโนราที่ละลายด้วย DMSO เป็นหลอดที่ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีความเข้มข้นของสารสกัด 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

2.3 นำหลอดทดลองที่ 2 ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ดูดสารสกัดที่ละลายด้วย DMSO เขย่าเบา ๆ จะมีความเข้มข้นของสารสกัด 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นใช้ ปิเปตสะอาด ดูดสารในหลอดทดลองที่ 2 ไปใส่ในหลอดทดลองที่ 3 ที่เตรียมอาหารไว้ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีความเข้มข้นของสารสกัด 125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

2.4 นำสารจากหลอดทดลองที่ 3 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ไปใส่ในหลอดทดลองที่ 4 ที่เตรียมอาหารไว้ จะมีความเข้มข้นของสารสกัด 62.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

2.5 ทำซ้ำในข้อ 2.4 ไปจนถึงหลอดที่ 14

2.6 เมื่อถึงหลอดที่ 14 ให้ดูสารในหลอดทดลองทิ้ง 1 มิลลิลิตร

2.7 หลอดที่ 15 เป็นหลอดสำหรับเป็นชุดควบคุมที่เป็นบวก (positive control) ให้เติมจุลินทรีย์โดยที่ไม่มีสารสกัดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เพื่อยืนยันว่า เชื้อสามารถเจริญในอาหารนั้น ๆ

3. ขั้นตอนการทดสอบ

3.1 นำเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบมาปรับความขุ่นด้วย 0.5 McFarland standard ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงไปหลอดทดลองที่ผ่านการเจือจางสารสกัด ตั้งแต่หลอดที่ 1-15

3.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

3.3 ตรวจดูว่าสารสกัดต่าง ๆ มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หรือไม่ โดยสังเกตจากการความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.4 หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เปรียบเทียบกับหลอดทดลองในชุดควบคุมอ่านปริมาณของสารทดสอบเป็นค่า MIC บันทึกเป็นมิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3.4.3.3 การหาค่าปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) (CLSI, 2009)

1. ในการหาค่าปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบทำได้โดยนำผลการทดสอบจากอาหารเหลว จากหลอดทดลองที่ให้ผล MIC จากการทดลองข้อ 3.4.3.2 ที่มีความใสไม่ขุ่นทุกหลอด มาเขี่ยกระจายบนอาหารแข็ง (Streak-Plate Technique) บนอาหาร TSA

2. จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

3. ในการอ่านผลการทดลองค่า MBC ทำโดยการสังเกต ถ้าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามรถฆ่าเชื้อได้ไดจะไม่พบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยบันทึกค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดของสารสกัดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ คือไม่มีโคโลนีของเชื้อของอาหาร

3.4.4 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

3.4.4.1 การศึกษาก่อนการตั้งตำรับ (Pre-formulation study)

เป็นการทดสอบในภาวะเครียด (Forced degradation study or stress test) ซึ่งเป็นการทดสอบก่อนการตั้งตำรับสูตร เพื่อศึกษาสารสกัดจะมีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติในสภาวะแตกต่างกันอย่างไร ซึ่งเป็นตามข้อกำหนดของ Thai FDA guideline (จุไรรัตน์ ดวงเดือน, 2547) โดยทดสอบดังนั้น

1. Moisture hydrolysis

- ชั่งสารสกัด 500 มิลลิกรัม ใส่หลอดทดลอง เติม น้ำกลั่นลงไป 3 หยด นำไปเข้าตู้อบความร้อน 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นทำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการต้านเชื้อด้วยวิธี macro broth dilution method ตามวิธีทำข้อที่ 3.4.3.2

2. Acid hydrolysis

- ชั่งสารสกัด 500 มิลลิกรัม ใส่หลอดทดลอง เติม 3N HCl 3 หยด นำไปเข้าตู้อบความร้อน 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นทำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการต้านเชื้อด้วยวิธี macro broth dilution method ตามวิธีทำข้อที่ 3.4.3.2

3. Alkaline hydrolysis

- ชั่งสารสกัด 500 มิลลิกรัม ใส่หลอดทดลอง เติม 3 N NaOH 3 หยด นำไปเข้าตู้อบความร้อน 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปรับค่า pH ให้เป็นกลางด้วย HCl แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการต้านเชื้อด้วยวิธี macro broth dilution method ตามวิธีทำข้อที่ 3.4.3.2

4. Temperature degradation

- ชั่งสารสกัด 500 มิลลิกรัม ใส่หลอดทดลอง นำไปเข้าตู้อบความร้อน 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นทำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการต้านเชื้อด้วยวิธี macro broth dilution method ตามวิธีทำข้อที่ 3.4.3.2

5. Oxidation

- ชั่งสารสกัด 500 มิลลิกรัม ใส่หลอดทดลอง เติม 30% H_2O_2 3 หยด นำไปเข้าตู้อบความร้อน 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นทำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการต้านเชื้อด้วยวิธี macro broth dilution method ตามวิธีทำข้อที่ 3.4.3.2

3.4.4.2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

ในการศึกษาครั้งนี้มีการตั้งตำหรับสูตร 3 แบบ คือ เนื้อเจลเปล่า (base jel) เนื้อเจลที่ผสมสารสกัดจากลำต้น และเนื้อเจลที่ผสมสารสกัดจากใบโนรา โดยเลือกปริมาณสารสกัดที่มีการต้านเชื้อที่ดีที่สุดมา

ใช้สูตรดังต่อไปนี้

นำสารสกัดจากลำต้นและใบโนรา ที่ให้ผลยับยั้งการเจริญเติบโตจุลินทรีย์ที่ดีที่สุดมาพัฒนาเป็นตำรับสูตรเจลรักษาเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดต้นโนรา

ตารางที่ 3.2 ปริมาณตำรับสูตรเจล

สารเคมี	ร้อยละของน้ำหนัก (%w/w)
1. น้ำกลั่น (Distilled water)	95.2
2. คาโบเมอร์ (Carbomer)	2.00
3. ด่าง (Triethanolamine)	1.00
4. ไกแด๊น (Glydant L Plus)	0.50
5. น้ำหอม (Fragrance)	0.10
6. ทวีน 80 (Tween 80)	0.20
7. Herbal extract (Active)	16 เท่าของค่า MIC
	100.00

หมายเหตุ: การเตรียม Herbal extract (Active) ที่มีความเข้มข้นเป็น 16 เท่าของค่า MIC (ดัดแปลงมาจาก ชนิตา ธีระนันทกุล และดนัย ศิริบรรจงโชค, 2549) เนื่องจากต้องทำการเจือจางเนื้อเจลให้เป็นสารละลาย และป้องกันความผิดพลาดเนื่องจากฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ลดลง

3.4.4.3 การทดสอบความคงตัวของการผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

เป็นการศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังในสภาวะแบบเร่ง ด้วยวิธี Heating cooling cycle โดยการเก็บผลิตภัณฑ์ที่เตรียมเสร็จ แบ่งใส่ขวดแก้วทึบแสง ปิดฝาในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นเข้าตู้อบที่ 45 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบ 6 รอบ (กฤษฎา กิตติโกวิทธนา, 2558) จากนั้นทำการบันทึกผล ดูการเปลี่ยนแปลง สี การแยกชั้นของเนื้อเจล ค่า pH

3.4.4.4 การทดสอบการปนเปื้อนทางจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา ตามเกณฑ์มาตรฐาน ของประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย พ.ศ. ๒๕๕๙ (ราชกิจจานุเบกษา, ๒๕๕๙) โดยดัดแปลงวิธีทำมาจาก ตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (Thai pharmacopoeia supplement 2005: Volume 1 and 2)

1. ทำการตรวจหาจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์และราที่เจริญโดยใช้อากาศ (Total aerobic microbial count, TAMC) ต้องไม่เกิน 1,000 โคโลนีต่อกรัมหรือโคโลนีต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

การเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ใส่ลงในโกร่ง

2. นำตัวอย่างมาเติมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ฟอสเฟตบัพเฟอร์ (phosphate Buffer) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่มีสารพอลิซอเบต (polysorbate) ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร10 มิลลิลิตรทีละน้อยแล้วบดด้วยโกร่งจนได้สารที่มีลักษณะข้นหนืด ได้สารตัวอย่างเจือจางเริ่มต้น 1 : 10

3. คนผสมสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน

1.1 การตรวจหาปริมาณจำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตทั้งหมดซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจน (Total aerobic microbial count: TAMC)

1. นำสารตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1 : 10 มาทำการเจือจางต่อโดยใช้สารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นเจือจาง 1 : 100 และ 1 : 1,000

2. ดูดสารตัวอย่างความเข้มข้นละ 1 มิลลิลิตร เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) ประมาณ 15 มิลลิลิตรปิดฝา

3. หมุนจานเพาะเชื้อเป็นวงกลมเพื่อให้สารตัวอย่างกระจายทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ

4. รอให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง ปิดฝาและกลับจานเพาะเชื้อ

5. ทำซ้ำที่ระดับความเข้มข้นความเจือจาง ละ 3 จาน นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน นับจำนวนโคโลนีทั้งหมดที่เจริญบนจานเพาะเชื้อ ที่อยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี รายงานผลเป็นโคโลนีต่อกรัมหรือต่อมิลลิลิตร

1.2 ทำการตรวจหาปริมาณจำนวนยีสต์และราทั้งหมด (Total combined yeasts and molds count: TYMC)

ทำคล้ายกับข้อที่ 1.1 แต่เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA เป็นใช้อาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์และรา SDA และบ่มที่ 25±2 องศาเซลเซียส นาน 48-72 ชั่วโมง

2. การตรวจหา *Staphylococcus aureus*

1. นำสารตัวอย่างเจือจาง 1 : 10 มาเพาะลงบน Mannital-salt Agar

2. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

3. ในการอ่านผลการทดลอง ถ้าพบเชื้อที่เจริญมีลักษณะเป็นโคโลนีสีเหลือง และมีโซนสีเหลือง จะนำไปทดสอบยืนยันด้วยการทดสอบเอนไซม์โคแอคกูเลส (Coagulase Test) ทำการทดสอบโดยเขี่ยเชื้อ 1 ลูป ลงในหลอดทดลองที่มีพลาสมาปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง ผลบวกจะเกิดก้อนลิ่ม ผลลบจะไม่ไม่เกิดการแข็งตัวเป็นก้อน (ภาคผนวก จ)

3. การตรวจหา *Pseudomonas aeruginosa*

1. นำสารตัวอย่างเจือจาง 1 : 10 มาเพาะลงบน MHA

2. นำไปบ่มอุณหภูมิที่ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

3. ในการอ่านผลการทดลอง ถ้าพบเชื้อที่เจริญมีลักษณะเป็นโคโลนีสีเขียว นำไปทดสอบยืนยันด้วย Oxidase test ทำได้โดยการป้ายโคโลนีของเชื้อบนกระดาษกรอง หยดน้ำยา

Oxidase test reagent ลงบน กระดาษกรองที่ป้ายเชื้อแล้ว ถ้ากระดาษเปลี่ยนเป็นสีม่วงภายใน 30 วินาที แสดงว่าให้ผลเป็นบวก แต่ถ้าไม่เปลี่ยนสี แสดงว่าให้ผลเป็นลบ (ภาคผนวก จ)

4. การตรวจหา *Clostridium* spp.

ตรวจหาการปนเปื้อนเชื้อ *Clostridium* spp. โดยการส่งวิเคราะห์ทดสอบหาเชื้อโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

1. สารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นความเจือจาง 1 : 10 ส่วนหนึ่งนำไปผ่านความร้อน 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที และทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว อีกส่วนหนึ่งไม่ได้ผ่านความร้อน ใส่ตัวอย่างแยกแต่ละส่วน ส่วนละ10 มิลลิลิตร ลงใน Reinforced Medium for Clostridia 100 มิลลิลิตร

2. นำบ่มที่สภาวะปราศจากออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หากมีเชื้อเจริญให้ยืนยันด้วยการทำ Catalase test โดยใช้ 3% Hydrogen peroxide หยดลงไปบนเชื้อหากไม่มีฟองเกิดขึ้นแสดงว่าเป็นเชื้อ *Clostridium* spp.

5. การตรวจหา *Candida albicans*

1. นำสารตัวอย่างความเจือจาง 1 : 10 นำมาเพาะบน SDA

2. บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

3. วิธีการอ่านผล ถ้ามีเชื้อเจริญ ให้บ่มที่เพิ่ม 1 วัน ถ้าพบโคโลนีลักษณะสีขาวขุ่นจะนำ ไปทดสอบ Germ tube test โดยนำโคโลนีที่สงสัยใส่ในหลอดทดลองที่มี serum ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง แล้วนำไปส่องกล้องจุลทรรศน์โดยใช้วิธี wet mount (ภาคผนวก จ)

3.4.5 การทดสอบหาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของตำรับสูตรเจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดต้นโนรา โดยใช้วิธี Disk Diffusion (CLSI., 2009)

นำผลิตภัณฑ์เจลก่อนทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง มาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง และเมื่อผลิตภัณฑ์เจลที่ผ่านการทดสอบสภาวะแบบเร่งด้วยวิธี Heating cooling cycle ครบ 6 รอบ นำมาทดสอบหาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังตามวิธี 3.4.3.1

3.4.6 จัดอบรมถ่ายทอดความรู้เชิงปฏิบัติการ

โดยจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบใบโนรา ผู้วิจัยนำผลที่ได้จากการวิจัยที่ได้ไปถ่ายทอดความรู้และจัดอบรมเชิงปฏิบัติการโดยนำไปพัฒนาชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ ประกอบด้วย 3 ส่วนดังนี้

ส่วนที่ 1 เอกสารประกอบการอบรมที่ได้จากการวิเคราะห์เนื้อหาในเอกสารงานวิจัย เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบโนรา

ส่วนที่ 2 ภาคปฏิบัติ

ส่วนที่ 3 แบบทดสอบความรู้ แบบประเมินความพึงพอใจ หลังอบรม

ทั้งนี้การพัฒนาเอกสารอบรมทั้ง 3 ส่วน มีค่าความเที่ยงตรงเชิงเนื้อหา ประเมินดัชนีความสอดคล้องโดยผู้ทรงคุณวุฒิทั้ง 3 ท่าน ซึ่งมีค่าดัชนีความสอดคล้อง (IOC) มากกว่า 0.05 ขึ้นไป

จึงนำไปจัดอบรมเพื่อเผยแพร่ความรู้ เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบใบโนราให้กับชุมชน ซึ่งมีวิธีดำเนินงานดังนี้

3.4.6.1 วิธีดำเนินการ

1. เสนอโครงการ และขออนุมัติโครงการ
2. ประชุมวางแผนงานและมอบหมายงาน
3. ประชาสัมพันธ์โครงการ
4. ดำเนินการจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการโดยใช้ชุดอบรมทั้ง 3 ส่วน
5. จัดอบรมเชิงปฏิบัติการ
6. กิจกรรมที่ปฏิบัติระหว่างการอบรม ดำเนินการสอบก่อนอบรมและหลังอบรม มีการบรรยายเกี่ยวกับ เรื่อง ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับต้นโนราและฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของต้นโนรา การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบใบโนรา การอภิปรายผล ซักถาม และการปฏิบัติทดลองโดยใช้ชุดอบรม ส่วนที่ 1 - 3
7. สรุปการดำเนินงานและประเมินผลการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ

3.4.6.2 การสร้างเครื่องมือวัดผลการอบรม

1. ทำการศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างชุดฝึกการอบรมเชิงปฏิบัติการ
2. วิเคราะห์เนื้อหาและจุดประสงค์การเรียนรู้ นำข้อมูลที่ได้จากการศึกษามาจัดทำเอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการ สร้างแบบทดสอบวัดความรู้ก่อนและหลังการอบรม จำนวน 20 ข้อ และแบบสอบถามความพึงพอใจในการจัดการอบรม จำนวน 10 ข้อ
3. นำเอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการ แบบทดสอบวัดความรู้ก่อนและหลังการอบรม และแบบสอบถามความพึงพอใจในการจัดการอบรม ที่สร้างเสร็จเรียบร้อยแล้วเสนอต่อคณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ เพื่อตรวจสอบความเที่ยงตรงเชิงเนื้อหา และนำข้อเสนอแนะมาปรับปรุงแก้ไข
4. จัดการทำการหาค่าดัชนีของความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับเอกสารเพื่อประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการและแบบประเมินความพึงพอใจในการเข้าร่วมอบรม ความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับเอกสารประกอบการอบรมภาคปฏิบัติและความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับแบบทดสอบวัดความรู้ก่อนและหลังการอบรมโดยผู้ทรงคุณวุฒิจำนวน 3 ท่าน
5. ทำการจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการให้แก่ชุมชน ตำบลชีน้ำร้าย อำเภออินทร์บุรี จังหวัดสิงห์บุรี จำนวน 30 คน เพื่อให้ผู้เข้ารับการอบรมได้รับความรู้ มีทักษะในการทำผลิตภัณฑ์และความพึงพอใจในการเข้าร่วมการอบรม โดยมีขั้นตอนเริ่มจากการจัดสถานที่ เตรียมเอกสาร และอุปกรณ์ประกอบการทดลองก่อนทำโครงการอบรม

3.4.6.3 กิจกรรมที่ปฏิบัติในการอบรม

1. การจัดทำกิจกรรมการฟังภาคบรรยายเชิงปฏิบัติการให้ความรู้เรื่องต้นโนราเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง ซักถามความเข้าใจและการมีส่วนระหว่างการบรรยาย
2. กิจกรรมปฏิบัติการพัฒนาตำรับสูตรเจลจากสารสกัดหยาบใบโนรา

3. ทำการวัดประเมินผลการอบรมด้วยแบบทดสอบวัดความรู้ก่อนและหลังการอบรม จำนวน 20 ข้อ

4. ทำแบบสอบถามความพึงพอใจในการจัดการอบรม จำนวน 10 ข้อ

3.4.6.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ผู้ที่เข้าร่วมเข้ารับการอบรมเชิงปฏิบัติการได้รับความรู้เรื่องสมุนไพรต้นโนราเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังและตำหรับสูตรเจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

2. ผู้เข้าร่วมการอบรมสามารถนำความรู้เกี่ยวต้นโนราไปใช้ประโยชน์ และสามารถทำผลิตภัณฑ์ที่มาจากต้นโนราอื่น ๆ ได้

3.4.7 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

1. ค่าเฉลี่ย (Mean)

$$\overline{X} = \frac{\sum x}{N}$$

เมื่อ

$\overline{X}$ แทน ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง

$\sum x$ แทน ผลรวมของผลการทดลองทั้งหมดในกลุ่ม

N แทน จำนวนที่ทำการทดลองซ้ำ

2. ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviatuon)

$$S.D. = \sqrt{\frac{N\sum x^2-(\sum x)^2}{N(N-1)}}$$

เมื่อ

S.D. แทน ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

x แทน คะแนน

$\sum x$ แทน ผลรวมของคะแนนทั้งหมด

N แทน จำนวนคน

3. t-test (Dependent)

$$t = \frac{\sum D}{\sqrt{\frac{N\sum D^2-(\sum D)^2}{N-1}}}$$

เมื่อ

t แทน ค่าที่ใช้ในการพิจารณาการแจกแจงแบบที

$\sum D$ แทน ผลรวมของผลต่างระหว่างการทดสอบ

D แทน ผลต่างระหว่างการทดสอบ

3.4.9.2 สถิติที่ใช้ในการหาคุณภาพเครื่องมือ

การหาค่าความเที่ยงตรงเชิงเนื้อหาของแบบทดสอบความรู้ที่ได้จากการอบรมและแบบสำรวจความพึงพอใจในการอบรม โดยใช้สูตร (ล้วน สายยศ และอังคณา สายยศ, 2543)

$$IOC = \frac{\sum R}{N}$$

เมื่อ

IOC แทน ผลรวมของคะแนนความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญพฤติกรรมกับเนื้อหา มีค่าระหว่าง -1 ถึง +1

$\frac{\sum R}{N}$ แทน จำนวนผู้เชี่ยวชาญ

โดยค่าดัชนีความสอดคล้องที่เหมาะสมมีค่ามากกว่า 0.05 ขึ้นไป จึงถือได้ว่ามีความสอดคล้องกัน กรณีมีคำแนะนำจากผู้เชี่ยวชาญในส่วนใดส่วนหนึ่ง ผู้วิจัยจะทำการปรับปรุงตามคำแนะนำ แล้วจึงนำไปใช้วัดประเมินผลกับผู้เข้ารับการอบรม

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิจัย เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา (*Hiptage candicans* (Hook.F.)) ได้ดำเนินการทดลองตามลำดับขั้นตอนและได้ผลการทดลอง ดังนี้

4.1 ผลการสกัดสารจากใบและลำต้นโนราด้วยสารสกัดเอทานอล

4.2 ผลการหาองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญในในสารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรา

4.2.1 ผลการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

4.2.2 ผลการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

4.2.3 ผลการหาปริมาณแทนนินทั้งหมดโดย

4.2.4 ผลการหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

4.3.1 ผลการหาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา โดยวิธี Disk Diffusion

4.3.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดหยาบต้นโนรา โดยใช้วิธี MIC และ MBC

4.4 ผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

4.4.1 ผลการทดสอบก่อนการตั้งตำรับ (Pre-formulation study)

4.4.2 ผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

4.4.3 ผลการศึกษาการทดสอบความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดต้นหยาบโนรา

4.5 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

4.6 ผลการเผยแพร่ผลงานวิจัยสู่ชุมชนโดยจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบใบโนรา

4.6.1 ผลการหาค่าดัชนีความสอดคล้องของชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ

4.6.2 ผลการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ

4.1 ผลการสกัดสารจากใบและลำต้นโนราด้วยสารสกัดเอทานอล

เมื่อนำส่วนของใบและลำต้นของโนราแต่ละส่วนมาทำการตากแห้งแล้วนำไปบดหยาบนำมาห่อด้วยผ้าขาวบางชั่งน้ำหนัก 3 กิโลกรัม นำไปแช่ด้วย 95% เอทานอล ในภาชนะปิดสนิทจากนั้นนำไประเหยแห้ง ได้สารสกัดหยาบของใบและลำตัน เท่ากับ 250 และ 300 กรัม ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละผลผลิตเท่ากับ 8.33 และ 10.00 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 ผลน้ำหนักของสารสกัดหยาบต้นโนราที่สกัดได้

ส่วนของพืช	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	น้ำหนักขอสารสกัดหยาบ(กรัม)	%yield
ใบ	3,000	250	8.33
ลำต้น	3,000	300	10.00

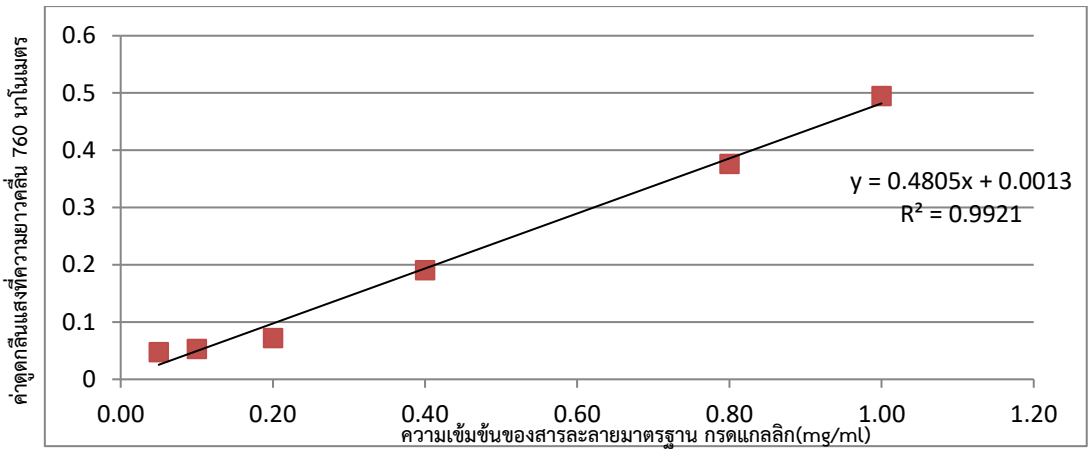
4.2 ผลการหาองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญในในสารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรา

4.2.1 ผลการศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน เพื่อให้สารประกอบฟีนอลิกทำปฏิกิริยากับ Folin-ciocalteu Reagent แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากส่วนของใบและลำต้นโนรา

ส่วนของพืชโนรา	ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/กรัมของสารสกัดหยาบ)
ใบ	178.98±0.21
ลำต้น	127.82±0.77

จากตารางที่ 4.2 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากใบและลำต้น เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (ภาพที่ 4.1) พบว่า สารสกัดหยาบจากส่วนใบมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าสารสกัดหยาบจากลำต้น คือ เท่ากับ 178.98 ± 0.21 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/กรัมของสารสกัดหยาบ และ 127.82±0.77 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/กรัมของสารสกัดหยาบ ตามลำดับ



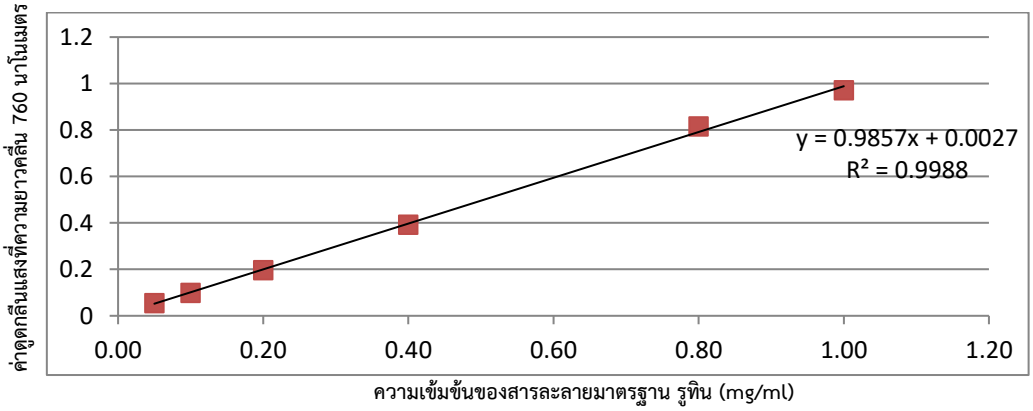
ภาพที่ 4.1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิค

4.2.2 ผลการศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดใบและลำต้น

ตารางที่ 4.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนของใบและลำต้นโนรา

ส่วนของพืชโนรา	**ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด** (มิลลิกรัมของรูทิน/กรัมของสารสกัดหยาบ)
ใบ	270.15±0.49
ลำต้น	439.95±0.28

จากตารางที่ 4.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากใบและลำต้น เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานสารละลายรูทิน (ภาพที่ 4.3) พบว่า สารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากกว่าสารสกัดหยาบจากใบโนรา คือ เท่ากับ 439.95±0.28 มิลลิกรัมของรูทิน/กรัมของสารสกัดหยาบ และ 270.15±0.49 มิลลิกรัมของรูทิน/กรัมของสารสกัดหยาบ ตามลำดับ



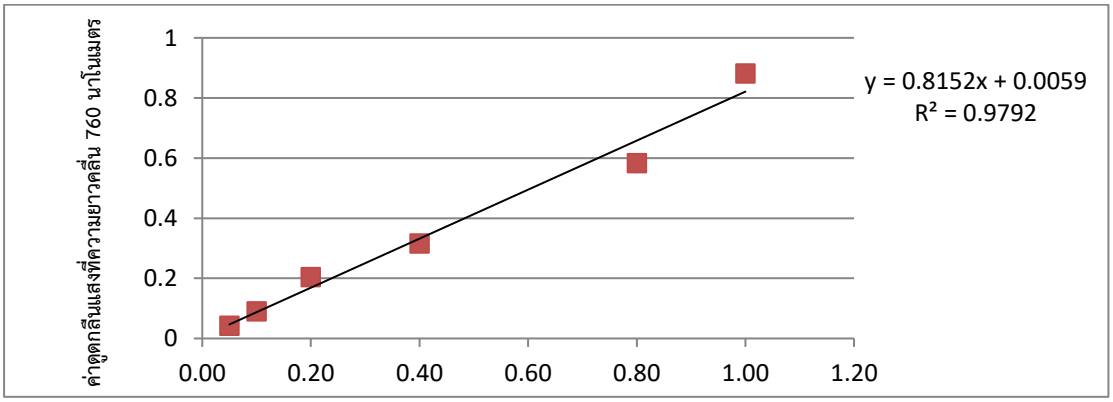
ภาพที่ 4.2 กราฟมาตรฐานสารละลายรูทิน

4.2.3 ผลการศึกษาหาปริมาณแทนนินทั้งหมดของสารสกัดใบและลำต้น

ตารางที่ 4.4 ปริมาณแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนของใบและลำต้นโนรา

ส่วนของพืชโนรา	**ปริมาณสารแทนนินทั้งหมด** (มิลลิกรัมของกรดแทนทิน/กรัมของสารสกัดหยาบ)
ใบ	200.58 ± 0.37
ลำต้น	133.44 ± 0.58

จากตารางที่ 4.4 ปริมาณแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากใบและลำต้นโนรา เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแทนนิก (ภาพที่ 4.4) พบว่า สารสกัดหยาบจากส่วนใบโนรามีปริมาณแทนนิกทั้งหมดมากกว่าสารสกัดหยาบจากลำตันโนรา คือ เท่ากับ 200.58 ± 0.37 มิลลิกรัมของกรดแทนทิน/กรัมของสารสกัดหยาบ และ 133.44±0.58 มิลลิกรัมของกรดแทนทิน/กรัมของสารสกัดหยาบ



ภาพที่ 4.3 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิก

4.2.4 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay

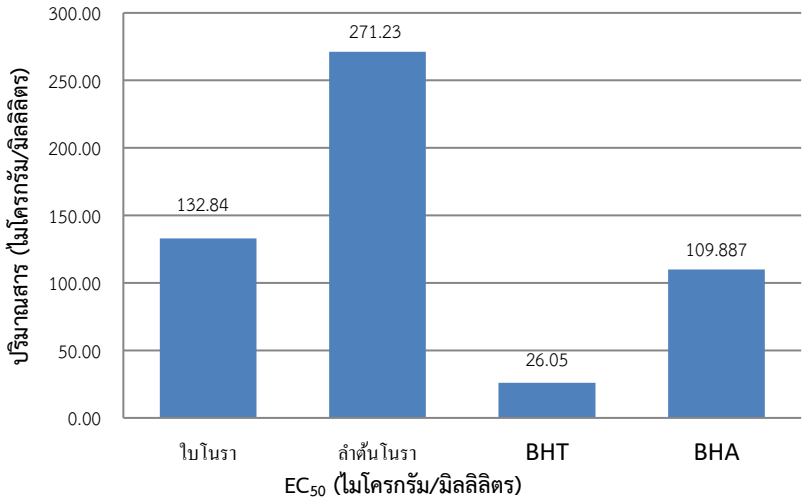
การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนใบและลำต้นโนราด้วยเอทานอลด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay รายงานผลในรูปแบบของค่า EC_{50} แสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลการหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay

สารทดสอบ	ความเข้มข้นของสารละลาย (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	% radical scavenging	EC_{50} (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
สารสกัดหยาบจากใบโนรา	15.625	27.33	132.84
	31.25	39.40	
	62.5	45.77	
	125	59.30	
	250	65.96	
	500	79.96	
สารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา	15.625	18.23	271.23
	31.25	18.95	
	62.5	24.12	
	125	34.68	
	250	51.60	
	500	75.12	
สารละลาย BHT	15.625	39.451	26.05
	31.25	47.468	
	62.5	54.34	
	125	69.831	
	250	78.089	
	500	89.12	
สารละลาย BHA	15.625	19.10	109.89
	31.25	41.84	
	62.5	52.07	
	125	64.67	
	250	72.84	
	500	84.16	

ปริมาณสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50% สารที่มีค่าที่มีค่าน้อยจะแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าค่าที่มีค่ามาก จากตารางที่ 4.5 ผลจากการวิเคราะห์สารสกัดหยาบจากใบโนราและลำต้นโนราเมื่อเทียบความสัมพันธ์ความเข้มข้นของสารทดสอบมาตรฐานคือ สาร BHT และสาร BHA พบว่า สารสกัดหยาบใบโนรามีปริมาณสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50% (EC_{50}) เท่ากับ 132.84 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดหยาบลำต้นโนรา มีค่า EC_{50} ซึ่งเท่ากับ 271.67 ไมโครกรัม/

มิลลิลิตร ในขณะที่ สารละลายมาตรฐาน BHT มีค่า EC_{50} เท่ากับ 26.06 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และสารละลายมาตรฐาน BHA มีค่า EC_{50} เท่ากับ 109.89 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 ปริมาณสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50% (EC_{50}) ของสารสกัดหยาบส่วนใบและลำต้นโนราเทียบกับสารมาตรฐาน BHA และ BHT

4.3 ผลการศึกษาการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

4.3.1 ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา โดยวิธี Disk Diffusion

จากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา โดยในการศึกษาครั้งนี้ใช้เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งมีทั้งหมด 8 สายพันธุ์ ดังต่อไปนี้ *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *S. epidermidis* TISTR518, *P. acnes* DMST14916, *S. mutans* DMST14283, *P. aeruginosa* TISTR781, *P. vulgaris* DMST557 และ *C. albicans* TISTR5554 ซึ่งได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.6 จากตารางพบว่า สารสกัดหยาบจากใบของต้นโนราที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังยับยั้งได้ดีที่สุดคือเชื้อ *S. epidermidis* TISTR518 ลำดับต่อมา คือ *P. vulgaris* DMST557, *S. aureus* TISTR2329, *S. aureus* TISTR1466 และเชื้อ *S. mutans* DMST14283 ซึ่งสามารถวัดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใส (Inhibition zone) มีค่าเท่ากับ 13.33±058, 12.67±0.58, 12.33±0.58, 12.33±0.58, 9.67±0.58 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดหยาบจากลำต้นโนราที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคยับยั้งได้ดีที่สุด คือ *S. epidermidis* TISTR518 ลำดับต่อมาคือ *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *P. vulgaris* DMST557, และ *S. mutans* DMST14283

สามารถวัดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสได้ เท่ากับ 11.67±0.58, 11.33±0.58, 11.33±0.58, 10.33 ±0.58, 6.67±0.58 มิลลิเมตร ตามลำดับ และพบว่าสารสกัดหยาบทั้งจากส่วนใบและส่วนลำต้นโนราไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. acnes* DMST14916, *P. aeruginosa* TISTR781 และเชื้อ *C. albicans* TISTR5554

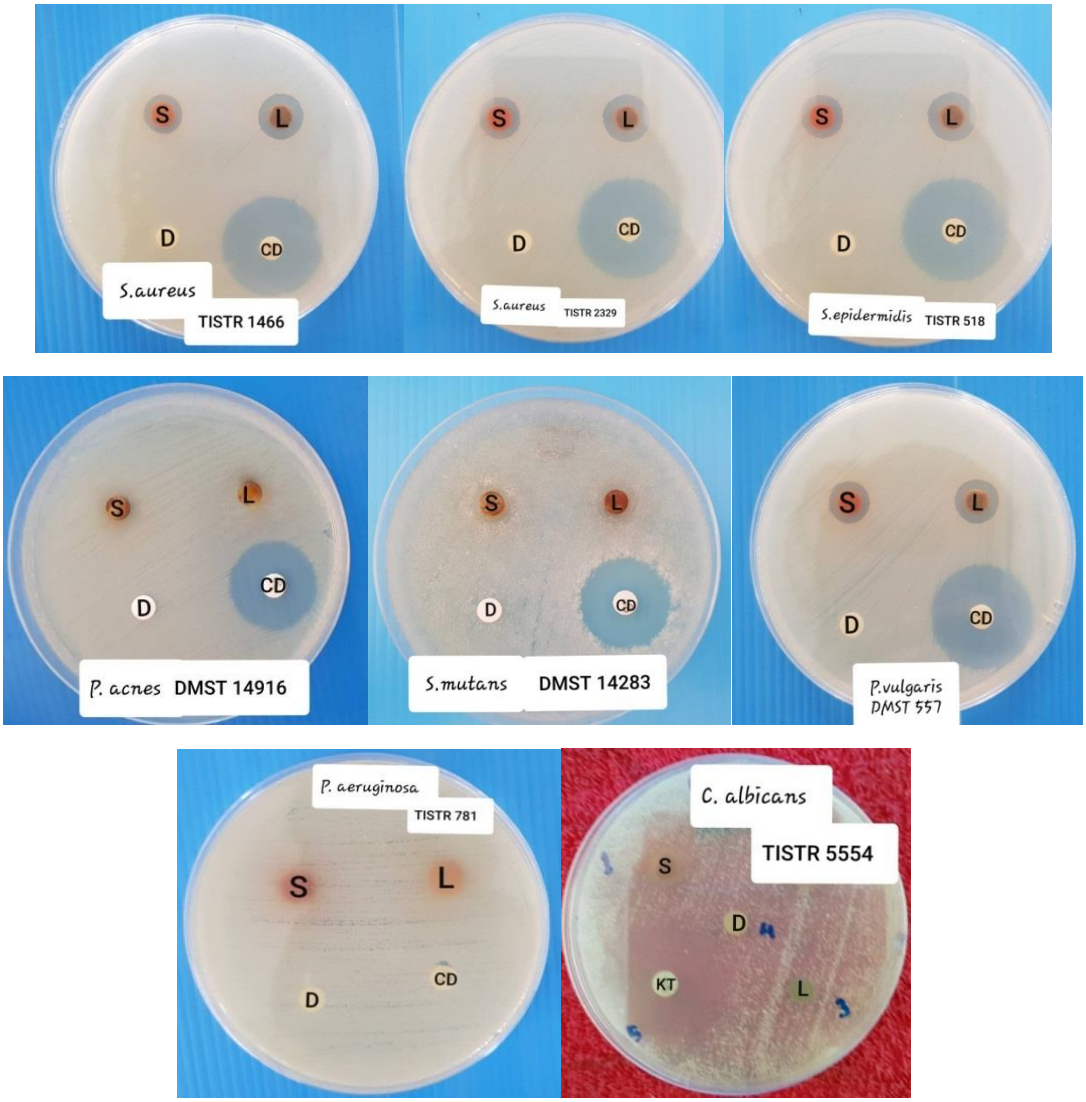
ตารางที่ 4.6 ผลฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนราโดยวิธี Disk Diffusion

จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง	**เส้นผ่าศูนย์กลางวงใส (Inhibition zone (มิลลิเมตร))**				
	ใบ	**ลำต้น**	**DMSO**	**ยาปฏิชีวนะ**	
				clindamycin	ketoconazole
S. aureus TISTR1466	12.33±0.58[a]	11.33±0.58 [a]	-	23.67±0.58	NT
S. aureus TISTR2329	12.33±0.58 [a]	11.33±0.58 [a]	-	23.55±0.58	NT
S. epidermidis TISTR518	13.33±0.58 [a]	11.67±0.58[b]	-	18.33±0.58	NT
S. mutans DMST14283	9.67± 0.58[a]	6.67± 0.58[b]	-	24.33±0.58	NT
P. acnes DMST14916	-	-	-	24±0.00	NT
P. vulgaris DMST557	12.67±0.58[a]	10.33±0.58[b]	-	20.33±0.58	NT
P. aeruginosa TISTR781	-	-	-	-	NT
C. albicans TISTR 5554	-	-	-	NT	27±0.00

หมายเหตุ: DMSO = Dimethylsulfoxide, - = ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้, NT = No Test. อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก (a,b) ที่แตกต่างในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p \leq 0.05$)

จากตารางผลการทดลองที่ 4.6 พบว่า การนำสารสกัดหยาบส่วนใบและส่วนลำต้นโนรามาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง ซึ่งสารสกัดหยาบทั้ง 2 ชนิด มีฤทธิ์ในการยังยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังได้ ทั้ง 5 ชนิด เหมือนกัน ซึ่งสารสกัดหยาบจากใบโนราและสารสกัดจากลำต้นโนรามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโต เชื้อ *S. aureus* TISTR1466 และ

S. aureus TISTR2329 ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ (p> 0.05) ในขณะที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. epidermidis* TISTR518, *S. mutans* DMST14283 และเชื้อ *P. vulgaris* DMST557 แตกต่างกัน โดยสารสกัดหยาบจากใบโนรามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้สูงกว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นโนราอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p ≤ 0.05) (ภาคผนวก ง)



ภาพที่ 4.5 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา โดยวิธี Disk Diffusion L = สารสกัดหยาบจากใบโนรา, S = สารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา, D = DMSO, CD = ยา clindamycin, K = ยา ketoconazole

4.3.2 ผลการศึกษาการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดหยาบต้นโนราโดยใช้วิธี MIC และ MBC

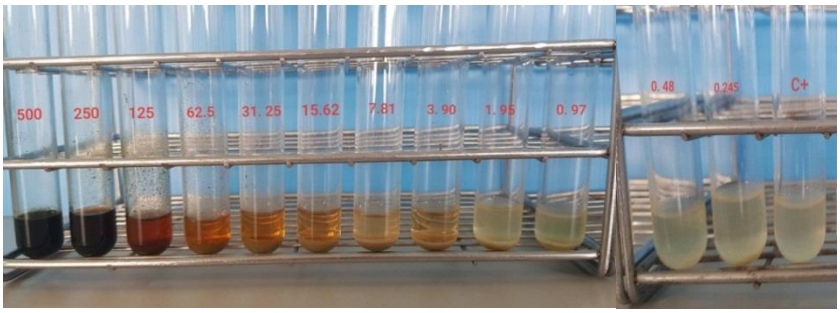
จากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจากสารสกัดหยาบต้นโนรา โดยวิธี Disk Diffusion พบว่า สารสกัดหยาบจากต้นโนราทั้งส่วนใบ และส่วนลำต้น มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. epidermidis* TISTR518, *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *P.vulgaris* DMST557, และ *S. mutans* DMST14283 จึงนำเชื้อทั้ง 5 ตัวนี้มาทำการศึกษาหาปริมาณสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยใช้วิธี macro broth dilution method ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

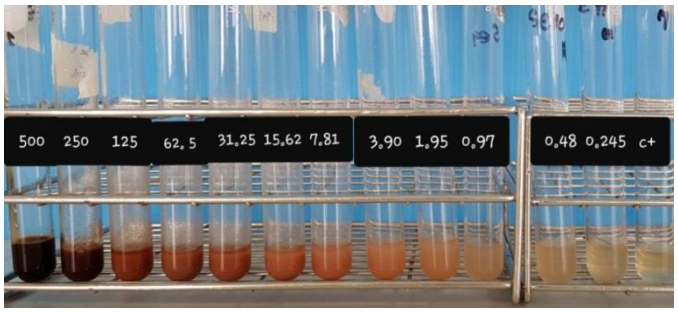
แบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง	ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	สารสกัดหยาบจากใบโนรา		สารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา	
	MIC	MBC	MIC	MBC
S. aureus TISTR1466	7.81	31.25	15.63	62.5
S. aureus TISTR2329	7.81	31.25	15.63	62.5
S. epidermidis TISTR518	3.90	15.62	3.90	15.62
S. mutans DMST14283	125	250	125	250
P. vulgaris DMST557	62.5	125	125	125

จากตารางที่ 4.7 พบว่า ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากใบโนราที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ปริมาณน้อยที่สุด (MIC) คือ *S. epidermidis* TISTR518 มีค่า MIC เท่ากับ 3.90 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รองลงมาคือ *S. aureus* TISTR1466 มีค่า MIC เท่ากับ 7.81 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, *S. aureus* TISTR2329 มีค่า MIC เท่ากับ 7.81 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, *P. vulgaris* DMST 557 มีค่า MIC เท่ากับ 62.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ *S. mutans* DMST14283 มีค่า MIC เท่ากับ 125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) เท่ากับ 15.62, 31.25, 31.25, 125, 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากลำต้นโนราที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ปริมาณน้อยที่สุด (MIC) คือ *S. epidermidis* TISTR518 มีค่า MIC เท่ากับ 3.90 ลำดับถัดลงมา คือเชื้อ *S. aureus* TISTR1466 มีค่า MIC เท่ากับ 15.63, *S. aureus* TISTR2329 มีค่า MIC เท่ากับ 15.63, *P. vulgaris* DMST557 มีค่า MIC เท่ากับ 125 และ *S. mutans* DMST14283 มีค่า MIC เท่ากับ

125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) ซึ่งเท่ากับ 15.62, 62.5, 62.5, 125, 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

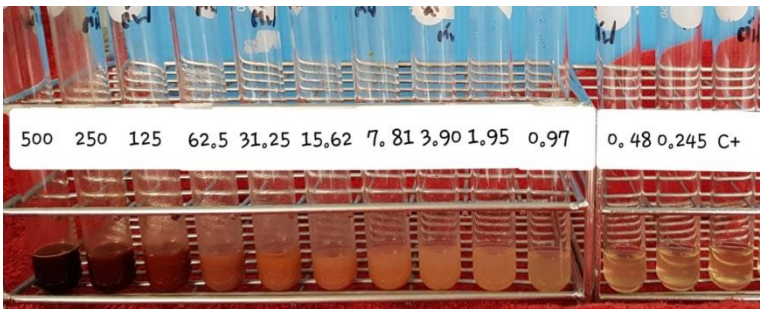


ภาพที่ 4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S.epidermidis* TISTR518 ของสารสกัดหยาบใบโนรา



ภาพที่ 4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S. epidermidis* TISTR518 ของสารสกัดหยาบลำต้นโนรา

ภาพที่ 4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S.aureus* TISTR1466 ของสารสกัดหยาบใบโนรา



ภาพที่ 4.9 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *S.aureus* TISTR1466 ของสารสกัดหยาบลำต้นโนรา

4.4 ผลการศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลรักษาเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดต้นโนรา

4.4.1 การศึกษาก่อนการตั้งตำรับ (Pre-formulation study)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดก่อนการตั้งตำรับสูตรเจลโดยการนำสารสกัดหยาบใบโนราและสารสกัดหยาบลำต้นโนรามาทดสอบในสภาวะเครียด (Forced degradation study or stress test) ซึ่งเป็นการทดสอบก่อนการตั้งตำรับสูตร ซึ่งเป็นตามข้อกำหนดของมาตรฐาน Thai FDA guideline (จุไรรัตน์ ดวงเดือน, 2547) โดยได้ผลทดสอบดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ประสิทธิภาพของสารสกัดก่อนการตั้งตำรับสูตรเจลที่มีปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

สารสกัดหยาบ	วิธีทดสอบ	ฤทธิ์ต้านเชื้อก่อโรคผิวหนัง (MIC) มิลลิกรัม/มิลลิลิตร				
		S. aureus TISTR1466	*S. aureus* TISTR2329	*S.epidermidis* TISTR518	*S. mutans* DMST14283	*P. vulgaris* DMST557
ใบโนรา	**MIC ก่อนทดสอบ**	**7.81**	**7.81**	**3.90**	**125**	**62.5**
	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**
	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 degradatio	7.81	7.81	3.95	500	500
	Oxidation	7.81	7.81	3.90	500	500

เมื่อนำสารสกัดหยาบหลังผ่านการทดสอบสภาวะเครียดแล้วมาทดสอบหาประสิทธิภาพฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดหยาบต้นโนรา ก่อนการนำไปตั้งตำรับสูตรเจล โดยวิธี macro broth dilution method พบว่า เมื่อนำสารสกัดหยาบใบโนรามาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* TISTR1466 และ *S. aureus* TISTR2329 สารสกัดหยาบมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุดในสภาวะ Moisture hydrolysis, Alkaline hydrolysis รองลงมาคือ สภาวะ Temperature degradation และ สภาวะที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียลดลงคือ Acid hydrolysis ซึ่งพบว่า

ให้ผล MIC มีค่าเท่ากับ 3.90, 3.90, 3.95 และ 31.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งในสภาวะ Oxidation ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

เมื่อมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. epidermidis* TISTR518 พบว่า สารสกัดหยาบใบมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุดในสภาวะ Moisture hydrolysis, Alkaline hydrolysis รองลงมาคือ สภาวะ Temperature degradation และสภาวะที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียลดลงคือ Acid hydrolysis ให้ผล MIC มีค่าเท่ากับ 1.95, 1.95, 3.95 และ 31.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ในสภาวะ Oxidation ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

นำมาทดสอบด้วยเชื้อ *S. mutans* DMST14283 พบว่า สารสกัดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ดีในสภาวะ Alkaline hydrolysis ซึ่งให้ผล MIC เท่ากับ 62.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่ สภาวะ Temperature degradation และ Oxidation ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง และประสิทธิภาพของสารสกัดลดลงเมื่ออยู่ในสภาวะ Moisture hydrolysis และ Acid hydrolysis ซึ่งให้ผล MIC เท่ากับ 250, 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

เมื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกับเชื้อ *P. vulgaris* DMST557 พบว่า สารสกัดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ดีในสภาวะ Alkaline hydrolysis ซึ่งให้ผล MIC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียลดลงในสภาวะ Acid hydrolysisม Temperature degradation และ Oxidation ซึ่งให้ผล MIC เท่ากันคือเท่ากับ 125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และลดประสิทธิภาพการยับยั้งมากที่สุดในสภาวะ Moisture hydrolysis ซึ่งให้ผล MIC เท่ากัน คือ เท่ากับ 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

เมื่อนำสารสกัดหยาบของลำต้นโนรา มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* TISTR1466 และ *S. aureus* TISTR2329 พบว่า สารสกัดหยาบใบมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้สูงในสภาวะ Moisture hydrolysis, Alkaline hydrolysis, Oxidation และ Temperature degradation โดยทั้ง 4 สภาวะ นี้ให้ผล MIC มีค่าเท่ากับ 7.81 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในสภาวะ Acid hydrolysis ซึ่งให้ผล MIC เท่ากับ 15.63 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

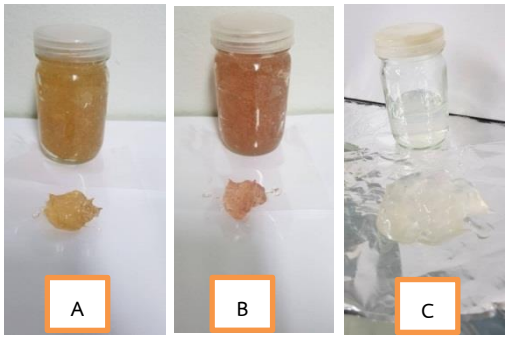
นำสารสกัดหยาบจากลำต้นโนรามาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. epidermidis* TISTR518 พบว่า สารสกัดหยาบมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุดในสภาวะ Moisture hydrolysis, Alkaline hydrolysis รองลงมาคือ สภาวะ Temperature degradation และ สภาวะที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียลดลงคือ Acid hydrolysis ให้ผล MIC มีค่าเท่ากับ 1.95, 1.95, 3.95 และ 31.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ในสภาวะ Oxidation ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

เมื่อทดสอบด้วยเชื้อ *S. mutans* DMST14283 พบว่า สารสกัดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ดีในสภาวะ Alkaline hydrolysis ซึ่งให้ผล MIC เท่ากับ 62.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่สภาวะ Moisture hydrolysis, Acid hydrolysis, Temperature degradation และ Oxidation มีประสิทธิภาพของสารสกัดลดลง ซึ่งให้ผล MIC เท่ากับ 250, 250, 500 และ 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ในการทดสอบกับเชื้อ *P.vulgaris* DMST557 พบว่า สารสกัดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ดีในสภาวะ Alkaline hydrolysis ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในสภาวะ Acid hydrolysis ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งให้ผล MIC คือเท่ากับ 125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และในสภาวะ Moisture hydrolysis, Temperature degradation และ Oxidation พบว่า มีประสิทธิภาพการยับยั้งลดลง ซึ่งให้ผล MIC เท่ากับ 250 และ 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

4.4.2 ผลการศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดก่อนการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลโดยการทดสอบในสภาวะเครียดได้ผลการทดลองว่าสารสกัดหยาบใบโนรามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังที่ดีที่สุดที่ 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ สารสกัดหยาบลำต้นโนรามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังที่ดีที่สุดที่ 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จึงนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลดังนี้ เจลเบส มีลักษณะเนื้อใส ไม่มีสี มีค่า pH กลางที่ระดับ 7.00 ส่วนเจลจากสารสกัดหยาบใบโนราและเจลจากสารสกัดหยาบลำต้นโนรา ดังภาพที่ 4.11 เมื่อนำมาทดสอบการคงสภาพทางกายภาพและทางเคมี การปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในเครื่องสำอางตามประกาศมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข (2559) ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.9



ภาพที่ 4.10 A เจลจากสารสกัดหยาบใบโนรา B เจลจากสารสกัดหยาบลำต้นโนรา C เบสเจล

ตารางที่ 4.9 ผลการทดสอบการคงสภาพทางกายภาพและทางเคมี และการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เจล

	เจลจากใบโนรา	**เจลจากลำต้นโนรา**	**เกณฑ์มาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข (2559)***
ลักษณะทางทางกายภาพ - ลักษณะเนื้อสัมผัส - สีของเนื้อเจล	- เนื้อเจลใส, มีความหนืดเล็กน้อย - สีเขียวอ่อน	- เนื้อเจลใส, มีความหนืดเล็กน้อย - สีชมพูอ่อน	ไม่ระบุ
ลักษณะทางทางเคมี - ค่า กรด-เบส	6.75	6.75	ไม่ระบุ
การปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เจล - Total aerobic microbial count	ไม่พบ	ไม่พบ	ต้องไม่เกิน 1,000 โคโลนี/กรัม
- Total combined yeasts and molds count	ไม่พบ	ไม่พบ	ต้องไม่เกิน 1,000 โคโลนี/กรัม
- *Staphylococcus aureus*	ไม่พบ	ไม่พบ	ต้องไม่พบ
- *Pseudomonas aeruginosa*	ไม่พบ	ไม่พบ	ต้องไม่พบ
- *Clostridium* spp.	ไม่พบ	ไม่พบ	ต้องไม่พบ
- *Candida albicans*	ไม่พบ	ไม่พบ	ต้องไม่พบ

หมายเหตุ: * รายละเอียดดัง ภาคผนวก ฉ

เมื่อนำผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบต้นโนรามาทดสอบการคงสภาพทางกายภาพและทางเคมี การปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในเครื่องสำอางพบว่า เนื้อเจลจากสารสกัดหยาบใบโนรามีลักษณะใส หนืดเล็กน้อยและมีสีเขียวอ่อนของใบ วัดค่าความเป็นกรด-เบส มีค่าเท่ากับ pH 6.75 ไม่พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เจล และ เนื้อเจลจากสารสกัดหยาบลำต้นโนรามีลักษณะใส หนืดเล็กน้อยและมีสีชมพูอ่อน วัดค่าความเป็นกรด-เบส มีค่าเท่ากับ pH 6.75 ไม่พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เจล จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ไปทดสอบประสิทธิภาพฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง

4.4.3 ผลการศึกษาการทดสอบความคงตัวทางกายภาพและเคมีของตำรับสูตรเจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดต้นโนรา

จากการศึกษาความคงตัวทางกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดต้นโนรา ภายใต้สภาวะเร่งด้วยวิธี heating cooling cycle method โดยการเก็บผลิตภัณฑ์ที่เตรียมเสร็จ แบ่งใส่ขวดแก้วทึบแสง ปิดฝาในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นเข้าตู้อบที่ 45 องศาเซลเซียส อีก 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทดสอบ 6 รอบ เมื่อครบ 6 รอบ ได้ผลการทดสอบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตเจลได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 แสดงผลการทดสอบการคงสภาพทางกายภาพและทางเคมี และการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เจล

	เจลจากใบโนรา	**เจลจากลำต้นโนรา**	**เกณฑ์มาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข***
ลักษณะทางทางกายภาพ - ลักษณะเนื้อสัมผัส - สีของเนื้อเจล	- เนื้อเจลขุ่นขึ้นเล็กน้อย, มีความหนืดมากขึ้น - สีเข้มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด	- เนื้อเจลขุ่นขึ้นเล็กน้อย, มีความหนืดมากขึ้น - สีเข้มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด	ไม่ระบุ
ลักษณะทางทางเคมี - ค่า กรด-เบส	7.81	8.00	ไม่ระบุ
การปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เจล - Total aerobic microbial count	ไม่พบ	ไม่พบ	ต้องไม่เกิน 1,000 โคโลนี/กรัม
- Total combined yeasts and molds count	ไม่พบ	ไม่พบ	ต้องไม่เกิน 1,000 โคโลนี/กรัม
- *Staphylococcus aureus*	ไม่พบ	ไม่พบ	ต้องไม่พบ
- *Pseudomonas aeruginosa*	ไม่พบ	ไม่พบ	ต้องไม่พบ
- *Clostridium* spp.	ไม่พบ	ไม่พบ	ต้องไม่พบ
- *Candida albicans*	ไม่พบ	ไม่พบ	ต้องไม่พบ

หมายเหตุ: * รายละเอียดดัง ภาคผนวก ฉ

เมื่อนำผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบโนราไปความคงตัวทางกายภาพและเคมีภายใต้สภาวะเร่งด้วยวิธี heating cooling cycle method พบว่า เนื้อเจลจากสารสกัดหยาบใบโนรามีลักษณะใส หนืดเล็กน้อยและมีสีเข้มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด พบว่าค่า pH เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 7.81 ไม่พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เจล และ เนื้อเจลจากสารสกัดหยาบลำต้นโนรามีลักษณะใส หนืดเล็กน้อยและมีสีเข้มข้นอย่างเห็นได้ชัด มีค่า pH เพิ่มขึ้นเล็กน้อยซึ่งวัดได้ 8.00 และไม่พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เจล จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ไปทดสอบประสิทธิภาพฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง

ภาพที่ 4.11 ลักษณะของเนื้อเจลจากสารสกัดหยาบต้นโนราหลังจากทดสอบภายใต้สภาวะเร่งด้วยวิธี Heating cooling cycle method

4.5 ผลการศึกษาการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

4.5.1 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบต้นโนรา โดยวิธี Disk Diffusion

จากการนำผลิตภัณฑ์เจลที่ได้จากสารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรา ก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวทางกายภาพและเคมี ครบ 6 รอบ มาทดสอบประสิทธิภาพฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง วิธี Disk Diffusion ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.11 และ 4.12

ตารางที่ 4.11 ประสิทธิภาพของเจลที่มีฤทธิ์การยับยั้งจุลินทร์ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบใบโนรา

แบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง	เจลจากสารสกัดหยาบใบโนรา เส้นผ่าศูนย์กลางวงใส (Inhibition zone (มิลลิเมตร))			
	ก่อนทดสอบสภาวะเร่ง	หลังทดสอบสภาวะเร่ง	เบสเจล	Antibiotics
				clindamycin
S. aureus TISTR1466	10.33±0.58[a]	7.33±0.58[b]	-	23.67±0.58
S. aureus TISTR2329	10.33 ± 0.58[a]	7.43±0.58[b]	-	23.55±0.58
S. epidermidis TISTR518	10.33±0.58[a]	7.33±0.58[b]	-	18.33±0.58
S. mutans DMST14283	8.33±0.58[a]	6.60±0.11[b]	-	24.33±0.58
P. vulgaris DMST557	9.67±0.58[a]	6.67±0.58[b]	-	20.33±0.58

หมายเหตุ: - = ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้

อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็ก (a,b) ที่แตกต่างในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p \leq 0.05$)

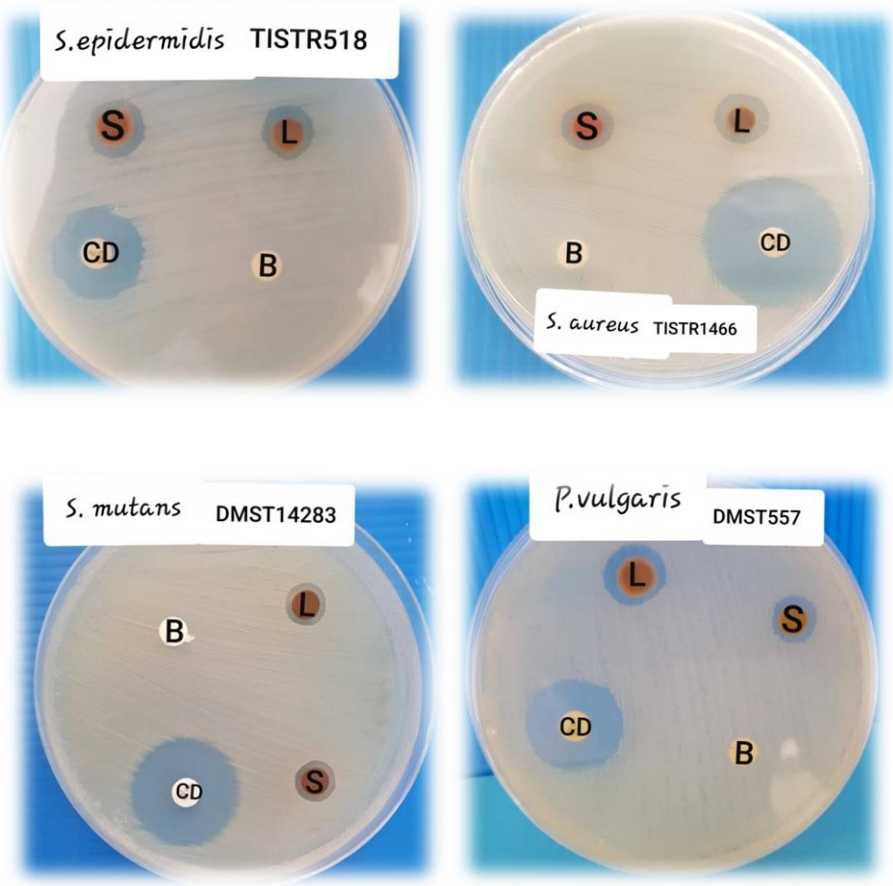
จากตารางที่ 4.11 แสดงให้เห็นว่าเมื่อนำผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบจากใบโนรามาทดสอบประสิทธิภาพฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังได้ ผลการทดลองดังนี้ ผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบจากใบโนราก่อนนำไปทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังได้ดีที่สุด คือ *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *S. epidermidis* TISTR518, *P. vulgaris* DMST557 และ *S. mutans* DMST14283 โดยวัดวงใส (Inhibition zone) เท่ากับ 10.33±0.58, 10.33±0.58, 10.33±0.58, 9.67±0.58, 8.33±0.58 มิลลิเมตร เมื่อนำผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบจากใบโนราที่ผ่านการทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนัง พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด คือ *S. aureus* TISTR2329, *S. aureus* TISTR1466, *S. epidermidis* TISTR518, *P. vulgaris* DMST557 และ *S. mutans* DMST14283 โดยมีวงใส เท่ากับ 7.43±0.58, 7.33±0.58, 7.33±0.58, 6.67±0.58 และ 6.60±0.11 มิลลิเมตร ตามลำดับ ผลการทดสอบนี้ พบว่าประสิทธิภาพฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจลหลังผ่านกระบวนการทดสอบสภาวะเร่งมีประสิทธิภาพลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$ (ภาคผนวก ง)

ตารางที่ 4.12 ประสิทธิภาพของเจลที่มีฤทธิ์การยับยั้งจุลินทร์ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบลำต้นโนรา

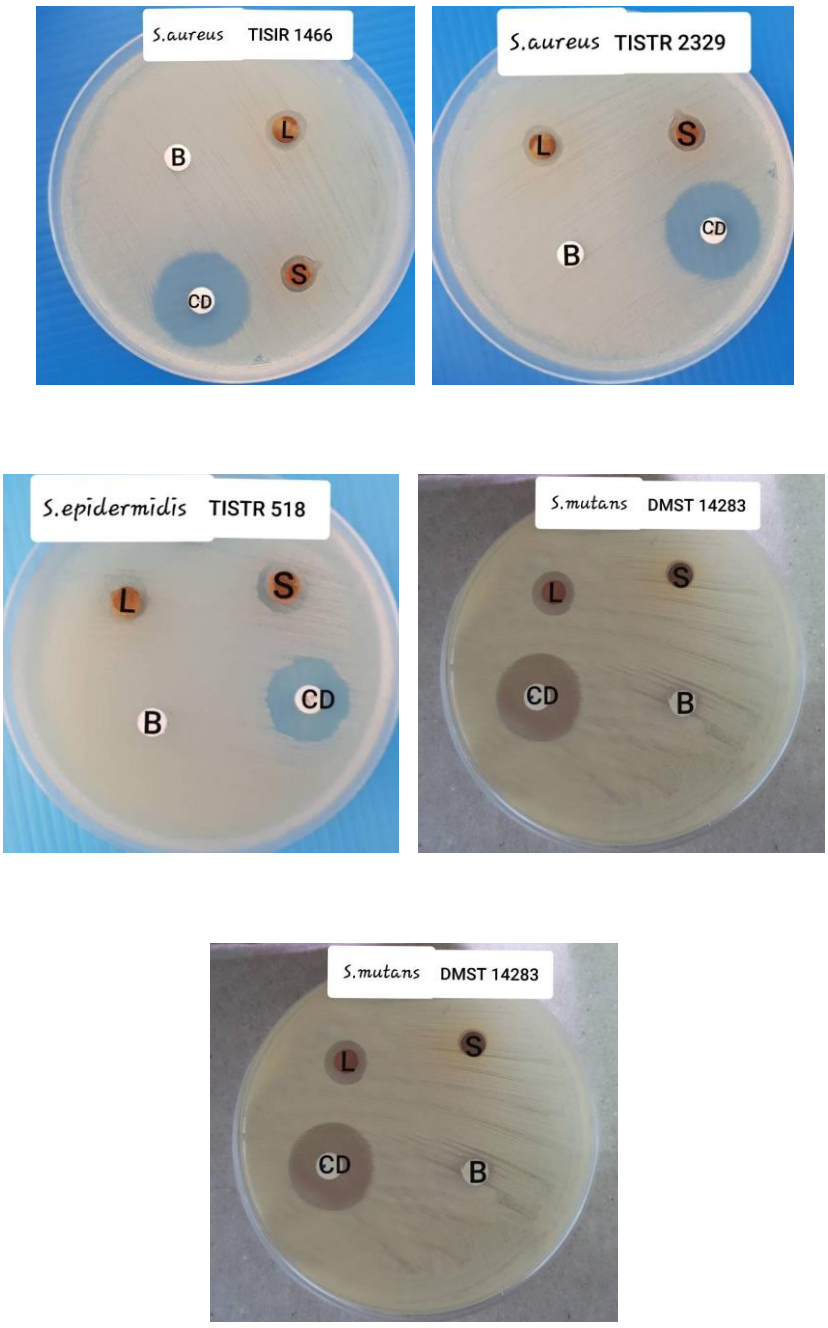
แบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง	เจลจากสารสกัดหยาบลำต้นโนรา เส้นผ่าศูนย์กลางวงใส (Inhibition zone (มิลลิเมตร))			
	ก่อนทดสอบสภาวะเร่ง	หลังทดสอบสภาวะเร่ง	เบสเจล	Antibiotics
				clindamycin
S. aureus TISTR1466	9.00 ±0.00[a]	6.57±0.51[b]	-	23.67±0.58
S. aureus TISTR2329	9.00±0.58[a]	6.57±0.51[b]	-	23.55±0.58
S. epidermidis TISTR518	10.33±0.58[a]	6.70±0.26[b]	-	18.33±0.58
S. mutans DMST14283	6.33 ±0.58[a]	6.00±0.57[b]	-	24.33±0.58
P. vulgaris DMST557	8.33 ±0.58[a]	6.33±0.58[b]	-	20.33±0.58

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

จากตารางที่ 4.12 แสดงให้เห็นว่าเมื่อนำผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบจากลำต้นโนรามาทดสอบประสิทธิภาพฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังได้ ผลการทดลองดังนี้ ผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบจากลำต้นโนราก่อนนำไปทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังได้ดีที่สุด คือ *S. epidermidis* TISTR518, *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *P. vulgaris* DMST557 และ *S. mutans* DMST14283 โดยมีวงใส เท่ากับ 10.33±0.58, 9.00±0.58, 9.00 ±0.00, 8.33 ±0.58, 6.33 ±0.58 มิลลิเมตร เมื่อนำผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบจากลำต้นโนราที่ผ่านการทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนัง พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด คือ เชื้อ *S. epidermidis* TISTR518, *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *P. vulgaris* DMST557 และ *S. mutans* DMST14283 โดยมีวงใส เท่ากับ 6.70±0.26, 6.57±0.51, 6.57±0.51, 6.33±0.58 และ 6.00±0.57 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งผลการทดสอบนี้ พบว่าประสิทธิภาพฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจลหลังผ่านกระบวนการทดสอบสภาวะเร่งมีประสิทธิภาพลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$ (ภาคผนวก ง)



ภาพที่ 4.12 ฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบต้นโนรา ก่อนนำไปทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง โดยวิธี Disk Diffusion L = เจลสารสกัดหยาบจากใบโนรา, S = เจลสารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา, B = เบสเจล, CD = ยา clindamycin



ภาพที่ 4.13 ฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบต้นโนรา หลังนำไปทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง โดยวิธี Disk Diffusion L = เจลสารสกัดหยาบจากใบโนรา, S = เจลสารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา, B = เบสเจล, CD = ยา clindamycin

4.6 ผลการเผยแพร่ผลงานวิจัยสู่ชุมชนโดยการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

4.6.1 ผลการหาค่าดัชนีความสอดคล้องของชุดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ

ผู้วิจัยได้สร้างชุดอบรม เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา สำหรับนำไปเผยแพร่ผลงานวิจัยสู่ชุมชน ประกอบด้วยเอกสาร 1 ชุด ทำการหาค่าดัชนีความสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ โดยผู้ทรงคุณวุฒิจำนวน 3 ท่าน ประเมินค่าความสอดคล้อง พบว่า มีค่า IOC เท่ากับ 0.97 (ภาคผนวก ก) ซึ่งชุดอบรมนี้มีคุณภาพ สามารถนำไปจัดอบรมเชิงปฏิบัติการได้

4.6.2 ผลการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ

ผู้วิจัยได้ดำเนินการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบใบโนรา โดยนำชุดฝึกอบรมที่ผ่านการประเมินทั้ง 3 ส่วน ไปจัดอบรมเชิงปฏิบัติการให้กับชุมชนตำบลชีน้ำร้าย อำเภออินทร์บุรี จังหวัดสิงห์บุรี จำนวน 30 คน ผู้วิจัยได้ทำการทอสอบความรู้ก่อนการอบรมและหลังการอบรม ซึ่งมีคะแนนเต็มทั้งหมด 20 คะแนน ผลการทดสอบความรู้ก่อน-หลังการอบรม ดังตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 ผลการทดสอบความรู้ก่อนและหลังการอบรมเชิงปฏิบัติการเผยแพร่และถ่ายทอดองค์ความรู้ เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

การอบรม	ผู้รับการอบรม (N)	คะแนนเฉลี่ย (Mean)	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)	t	df	Sig 1 tailed
ก่อนอบรม	30	11.30	2.64	9.829*	29	0.000
หลังอบรม	30	16.70	1.44			

หมายเหตุ *P<0.05

จากตารางที่ 4.13 การประเมินการเรียนรู้โดยใช้แบบทดสอบ มีคะแนนเต็ม 20 คะแนน พบว่า ผู้เข้ารับการอบรมได้คะแนนทดสอบก่อนการฝึกอบรมโดยเฉลี่ย มีค่าเท่ากับ 11.30 คะแนน ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 2.64 คะแนนทดสอบหลังการฝึกอบรมโดยเฉลี่ย มีค่าเท่ากับ 16.70 คะแนน ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 1.44 เมื่อนำมาทำการเปรียบเทียบความรู้ก่อนและหลังการอบรม พบว่า ความรู้ก่อนและหลังการอบรม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่

ระดับ0.05 แสดงว่า การอบรมเชิงปฏิบัติการครั้งนี้ ผู้เข้าร่วมอบรมได้ความรู้เพิ่มขึ้น และพบว่า ผู้เข้าร่วมอบรมมีความพึงพอในในการอบรมครั้งนี้มากที่สุด ($\overline{X}$ = 4.69, S.D. = 0.59) (ภาคผนวก ค)

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาการพัฒนาตำรับสูตรเจลรักษาเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา โดยเริ่มจากการกระบวนการสกัดสาระสำคัญของพืชโดยใช้เอทานอล 95% ในการสกัดสาร จากนั้นนำมาหาคุณสมบัติทางเคมีบางชนิดในสารสกัดหยาบและทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดหยาบ จากนั้นนำสารสกัดหยาบมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง จากนั้นนำผลิตภัณฑ์มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง สามารถสรุปผลการวิจัยได้ดังต่อไปนี้

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 ปริมาณสารสกัดหยาบใบและลำต้นโนราโดยวิธีการการสกัดด้วยการแช่ยุ่ย

เมื่อนำส่วนของใบและลำต้นของโนราแต่ละส่วนมาทำการตากแห้งแล้วนำไปบดหยาบด้วย 95% เอทานอล จากนั้นนำไประเหยแห้ง ได้สารสกัดหยาบของใบและลำตัน เท่ากับ 250 และ 300 กรัม ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละผลผลิตเท่ากับ 8.33 และ 10.00 ตามลำดับ

5.1.2 การหาองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในในสารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรา

สารสกัดหยาบจากส่วนใบมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าสารสกัดหยาบจากลำต้น คือ มีปริมาณเท่ากับ 178.98±0.21 และ 127.82±0.77 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมของสารสกัดหยาบตามลำดับ มีปริมาณแทนนินทั้งหมดมากกว่าสารสกัดหยาบจากลำตันโนรา คือ เท่ากับ 200.58±0.37 และ133.44±0.58 มิลลิกรัมกรดแทนนิก/กรัมของสารสกัดหยาบ ตามลำดับ สารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากกว่าสารสกัดหยาบจากใบโนรา คือ เท่ากับ 439.95±0.28 และ 270.15±0.49 มิลลิกรัมรูทิน/กรัมของสารสกัดหยาบ ตามลำดับ ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนใบและลำต้นโนรา พบว่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50% (EC_{50}) เท่ากับ 132.84 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งสารสกัดหยาบจากใบโนรามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดหยาบลำต้นโนรา ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 271.67 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

5.1.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

5.1.3.1 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบใบและลำต้นโนรา โดยวิธี Disk Diffusion

สารสกัดหยาบจากใบและลำต้นโนราที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังยับยั้งได้ทั้งหมด 5 สายพันธุ์ คือ *S. epidermidis* TISTR518, *P. vulgaris* DMST557, *S. aureus* TISTR2329, *S. aureus* TISTR1466 และ *S. mutans* DMST14283 จากผลการทดลอง พบว่า สารสกัดหยาบจากใบโนรามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา แตกต่างอย่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$ ซึ่งสารสกัดหยาบทั้งจากส่วนใบและส่วนลำต้นโนราไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ

เชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* DMST14916, *P. aeruginosa* TISTR781 และเชื้อยีสต์ *C. albicans* TISTR 5554

5.1.3.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดหยาบต้นโนรา โดยใช้วิธี MIC และ MBC

จากการนำสารสกัดหยาบจากต้นโนราไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังด้วยวิธี macro broth dilution method เพื่อหาปริมาณสารสกัดที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (MIC) และปริมาณสารสกัดที่น้อยที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ (MBC) พบว่า สารสกัดหยาบจากใบโนราและลำต้นโนรา สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังได้ดีที่สุด คือ *S. epidermidis* TISTR518 มีค่า MIC เท่ากับ 3.90 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 15.62 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และเชื้อจุลิทรีย์ที่ใช้ปริมาณสารสกัดหยาบจากส่วนใบและส่วนลำต้นของโนรามากที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโต คือ *S. mutans* DMST14283 มีค่า MIC เท่ากับ 125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งสารสกัดหยาบจากใบโนรามีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลิทรีย์ก่อโรคผิวหนังทั้ง 5 ชนิด ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากลำต้น เนื่องจากสารสกัดหยาบจากใบโนรามี ค่า MIC และ MBC น้อยกว่าสารสกัดหยาบจากลำต้น

5.1.4 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลรักษาเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดต้นโนรา

5.1.4.1 ก่อนการตั้งตำรับ (Pre-formulation study)

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากส่วนใบและส่วนลำต้นโนรามาทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดก่อนการตั้งตำรับภายใต้สภาวะเครียด พบว่า สารสกัดหยาบใบโนรา มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* TISTR2329, *S. aureus* TISTR1466, *S. epidermidis* TISTR518 ได้ดีขึ้นในสภาวะดังนี้ moisture hydrolysis, alkaline hydrolysis, temperature degradation ในขณะที่มีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* DMST14283 และ *P. vulgaris* DMST557 ที่สภาวะ alkaline hydrolysis ซึ่งการทดสอบในสภาวะ oxidation ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง และมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อทดสอบในสภาวะ acid hydrolysis

ผลการทดสอบสารสกัดหยาบลำต้นโนรา พบว่า มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* TISTR2325, *S. aureus* TISTR1466 ได้ดีขึ้นในสภาวะ moisture hydrolysis, alkaline hydrolysis, temperature degradation และ oxidation ในการทดสอบประสิทธิภาพกับเชื้อ *S. epidermidis* TISTR518 พบว่า มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ดีขึ้นในสภาวะ moisture hydrolysis และสภาวะ alkaline hydrolysis ในขณะที่การทดสอบที่สภาวะ temperature degradation และ oxidation ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง สารสกัดหยาบต้นโนราจะมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อทดสอบในภาวะ acid hydrolysis ในการนำสารสกัดไปทดสอบกับเชื้อ *S. mutans* DMST14283 และ *P. vulgaris* DMST557 พบว่า ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ดีขึ้นในสภาวะ alkaline hydrolysis และมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อทดสอบในสภาวะอื่น ๆ

ความเป็นกรดมีผลต่อฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังลดลง ดังนั้นในการทำผลิตภัณฑ์เจล ต้องมีการ hydrolysis เพิ่มอุณหภูมิ ใช้เบส จึงทำให้ flavonoid สลายโมเลกุล จึงออกฤทธิ์ได้ดี และผลของความชื้น ปฏิกิริยา oxidation ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง

5.1.4.2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดต้นโนรา

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดก่อนการตั้งตำรับโดยการทดสอบในสภาวะเครียดได้ผลการทดลองว่า ปริมาณสารสกัดหยาบใบโนรามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังทั้ง 5 ชนิด เท่ากับ 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และปริมาณสารสกัดหยาบลำต้นโนรามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังทั้ง 5 ชนิด เท่ากับ 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จึงนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจล จากนั้นนำไปทดสอบการคงสภาพทางกายภาพและทางเคมี การปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในเครื่องสำอาง พบว่า เนื้อเจลมีลักษณะใส ซึ่งมีค่า pH 6.75 ไม่พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เจล

5.1.4.3 การทดสอบความคงตัวทางกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดต้นโนรา

เมื่อนำผลิตภัณฑ์เจลมาทดสอบความคงตัวทางกายภาพและเคมีภายใต้สภาวะเร่งด้วยวิธี heating cooling cycle method เมื่อทดสอบครบ 6 รอบ พบว่า เนื้อเจลลักษณะใส และมีสีเข้มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด มีค่า pH เพิ่มขึ้น ไม่พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เจล

5.1.5 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบต้นโนรา โดยวิธี Disk Diffusion

เมื่อผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบใบโนราและลำต้นโนรามาทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์ พบว่า ผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบใบโนรามีฤกษ์ยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคมากที่สุด คือ เชื้อ *S. epidermidis* TISTR518, *S. aureus* TISTR2329, *S. aureus* TISTR1466 สามารถวัดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสได้ 10.33 ± 0.58 มิลลิเมตร และมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อจุลินทรีย์น้อยที่สุด คือ *S. mutans* DMST14283 ซึ่งวัดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสได้ 8.33 ± 0.58 มิลลิเมตร ขณะที่ผลิตภัณฑ์ เจลจากสารสกัดหยาบลำต้นโนราสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุด คือ *S. epidermidis* TISTR518 ซึ่งวัดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสได้ 10.33 ± 0.58 มิลลิเมตร และมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อจุลินทรีย์น้อยที่สุด คือ *S. mutans* DMST14283 ซึ่งวัดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสได้ 6.83 ± 0.58 มิลลิเมตร เมื่อนำผลิตภัณฑ์เจลหลังผ่านทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่งแล้ว พบว่า ผลิตภัณฑ์เจลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต $p \leq 0.05$

5.1.6 การจัดอบรมถ่ายทอดความรู้เชิงปฏิบัติการ

ในการเผยแพร่และถ่ายทอดองค์ความรู้ โดยการจัดการอบรมเชิงปฏิบัติ เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา ผู้วิจัยได้นำชุดฝึกอบรมที่ผ่านการประเมินค่าความสอดคล้องจากผู้ทรงคุณวุฒิ ซึ่งมีค่าดัชนีความสอดคล้อง เท่ากับ 0.97 กับผู้เข้าร่วมอบรม 30 คน จากการประเมินการเรียนรู้โดยใช้แบบทดสอบพบว่า ผู้เข้ารับการ

อบรมมีคะแนนทดสอบก่อนการฝึกอบรมโดยเฉลี่ย มีค่าเท่ากับ 11.30 คะแนน และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 2.64 คะแนนทดสอบหลังการฝึกอบรมโดยเฉลี่ย มีค่าเท่ากับ 16.70 คะแนน ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 1.44 ซึ่งได้รับความรู้จากการอบรมเพิ่มขึ้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p ≤0.05 และในการอบรมเชิงปฏิบัติการนี้ผู้เข้าร่วมอบรมมีความพึงพอใในการอบรมมากที่สุด ($\overline{X}$ = 4.69, S.D. = 0.59)

5.2 อภิปรายผลการวิจัย

ในการศึกษาหาคุณสมบัติทางเคมีจากสมุนไพรต้นโนราด้วยวิธีการหมักด้วยเอทานอล 95% พบว่า สารสกัดหยาบใบโนรามีปริมาณฟีนอกลิกทั้งหมด เท่ากับ 178.98±0.21 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมของสารสกัดหยาบ และมีปริมาณแทนนินทั้งหมด เท่ากับ 200.58±0.37 มิลลิกรัมกรดแทนนิก/กรัมของสารสกัดหยาบ ซึ่งปริมาณสาระสำคัญทั้ง 2 ชนิดนี้มีมากกว่าในสารสกัดหยาบลำต้นโนราที่มีปริมาณฟีนอกลิกทั้งหมด เท่ากับ 127.82±0.77 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมของสารสกัดหยาบ และมีปริมาณแทนนินทั้งหมด เท่ากับ 133.44±0.58 มิลลิกรัมกรดแทนนิก/กรัมของสารสกัดหยาบ ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมีมากในสารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา มีค่าเท่ากับ 439.95±0.28 มิลลิกรัมรูทิน/กรัมของสารสกัดหยาบ ในขณะที่สารสกัดหยาบจากใบโนรา มีค่าเท่ากับ 270.15±0.49 มิลลิกรัมรูทิน/กรัมของสารสกัดหยาบ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุรางค์รัตน์ พันแสง และคนอื่น ๆ (2560) ได้ทำการประเมินคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรไทยบางชนิดของอำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์ จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ย่านางแดง (*Bauhinia strychnifolia* Craib.) ควายเก้าแม่ (*Hiptage candicans* Hook.f.) และหัวยาข้าวเย็น (*Smilax glabra* Roxb) ซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50% จากการศึกษาการตรวจสอบทางเคมี พบว่า ควายเก้าแม่ มีสารฟลาวาโนน (flavanone), สารฟลาโวนอล (flavonol) และสารคอนเดนส์แทนนิน (condensed tannin) จากงานของ Murugan and Mohan (2011) ได้ทำการศึกษาพฤกษเคมีพื้นฐานของต้นโนรา พบว่า สารสกัดจากใบและลำต้น ซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล มีสารจำพวก สารแอลคาลอยด์ (alkaloids) สารกลุ่มแอนทราควิโนน (anthraquinones) สารคาเทชิน (catechin) สารคูมาริน(coumarin) สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สารฟีนอล (phenols) สารสเตอรอยด์ (steroids) สารแทนนิน (tannins) สารเทอฟีนอยด์ (terpenoids) และสารแซนโทรโปรตีน (xanthoprotein) ในงานวิจัยของ Chenthurpandy, Kalidass and Mohan (2009) ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและทางเภสัชวิทยาของต้นโนรา พบว่า เมื่อนำสารสกัดหยาบใบโนราที่มีส่วนผสมของโคโรฟอร์มมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่ามี ฟลาโวนอยด์ ฟีนอล ซาโปนิน สเตียรอยด์ สารสกัดหยาบใบโนรา มีปริมาณสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50% (EC_{50}) เท่ากับ 132.84 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดหยาบลำต้นโนรา ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 271.67 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่ สารละลายมาตรฐาน BHT มีค่า EC_{50} เท่ากับ 26.06 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และสารละลายมาตรฐาน BHA มีค่า EC_{50} เท่ากับ 109.89 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shehla, et al (2013) ได้ทำการศึกษาสารสกัดจากลำต้นโนราซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 80% เพื่อทำการวิเคราะห์และศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้าน

โรคเบาหวานในสัตว์ทดลอง พบว่ามีสารองค์ประกอบทางพฤกษเคมีจำพวกฟลาโวนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน สามารถลดปริมาณน้ำตาลในสัตว์ทดลองได้

เมื่อนำสารสกัดหยาบต้นโนรามาทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง พบว่า สารสกัดหยาบจากต้นโนราสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. epidermidis* TISTR518, *P. vulgaris* DMST557, *S. aureus* TISTR2329, *S. aureus* TISTR1466 และ *S. mutans* DMST14283 ได้ โดยสารสกัดหยาบจากใบโนรามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากส่วนลำต้นโนรา เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ t-test พบว่า มีประสิทธิภาพแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$ แต่สารสกัดหยาบไม่สามารถยั้บยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. acnes* DMST14916, *P. aeruginosa* TISTR781, *C. albicans* TISTR5554 ซึ่งพบในงานวิจัยของ Murugan and Mohan (2011) พบว่า สารสกัดลำต้นโนราที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอสเทอร์ คลอโรฟอร์ม ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. aeruginosa* สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน และเมทานอล ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. aeruginosa* ซึ่งแสดงว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งและสารสกัดใบโนราสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. aeruginosa* ส่วนสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอล ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. aeruginosa* ได้

เมื่อนำสารสกัดหยาบต้นโนรามาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจล นำผลิตภัณฑ์มาทดสอบประสิทธิภาพ พบว่า เมื่อผลิตภัณฑ์เจลผ่านการทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะเร่ง ครบจำนวน 6 รอบ เนื้อของผลิตภัณฑ์เจลมีสีเข้มขึ้น มีค่า pH สูงขึ้นเล็กน้อย และมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังลดลงอย่างชัดเจน

เมื่อนำมาจัดอบรมเชิงปฏิบัติการให้กับผู้สนใจ พบว่า ผู้เข้ารับการอบรมมีความรู้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และผู้เข้ารับการอบรมมีความพึงพอใจต่อการจัดการอบรมอยู่ในระดับดีมาก เนื่องจากบรรยากาศในการอบรมและทำการทดลองเป็นเนื้อหาที่สัมพันธ์

สรุปจากผลงานวิจัยนี้ พบว่า สารสกัดหยาบใบโนราซึ่งมาจากการนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล มีปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอย์ แทนนินทั้งหมด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังสูงว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา จึงนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังได้ดี

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ควรมีการนำไปศึกษาหาองค์ประกอบทางเคมีของต้นโนราด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ชั้นสูงเพิ่มเติม

5.3.2 ควรมีการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์เพิ่มเติมเพื่อนำไปผลิตเป็นเวชสำอางเพื่อการรักษาโรคทางผิวหนังที่เกิดจากแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กฤษฎา กิตติโกวิทธนา. (2558). **การพัฒนาบรรจุภัณฑ์เครื่องสำอางที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมจากพอลิแลคติก แอสิด**. สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2549). **ตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย เล่มที่ 1 และ 2**. นนทบุรี: กระทรวงสาธารณสุข

ขนิษฐา แพบขุนทด, ปนิดา เย็นใจ และศิริพร แตะกระโทก. (2558). **การศึกษาสารแทนนินจากส่วนต่าง ๆ ของทับทิม.** ครุศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา.

จุไรรัตน์ ดวงเดือน. (2547). **การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ และบรรจุภัณฑ์จากวัสดุธรรมชาติ โดยใช้ภูมิปัญญาไทย**. ลำปาง: สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล.

ชนิตา ธีระนันทกุล และดนัย ศิริบรรจงโชค. (2549). **การพัฒนาตำรับไพโบรอินอิมัลเจลเพื่อการรักษาแผลที่มีการติดเชื้อ.** เภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

ธีรวัฒน์ สุวรรณี. (2559). **กลไกลการทำงานผิวหนัง.** สืบค้นจาก http://www.idoctorhouse.com/library/physiology-skin/

ทิฐิมา ภาคภูมิ และกัลยาภรณ์ จันตรี. (2555). การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมที่มีผลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง. **วารสาร มสด. SDU Research Journal.** 5(1): 75-91.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. (2552). **จุลชีววิทยาทั่วไป**. กรุงเทพฯ :จุฬาลงกรณ์วิทยาลัย.

นภาพร ศิลาฤทธิ์ และเนตรทราย เดชวีระพานิชย์. (2557). **เจลสมุนไพรจากใบสาบเสือ.** วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

นันทนา อรุณฤกษ์. (2538). **การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอนแอโรปส์.** ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์. 32-34.

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องกำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย พ.ศ. ๒๕๕๙. (2559, 28 มีนาคม). **ราชกิจจานุเบกษา.** เล่มที่ 133 ตอนที่ 72 ง. หน้า 20.

ประวิตร พิศาลบุตร (2551, มกราคม). โรคสิวในเวชปฏิบัติ (Acne in Clinical Practice). **วารสารคลินิก เล่มที่ 277**. สืบค้นจาก https://www.doctor.or.th/clinic/detail/6867

ปิลันธสุทธิ์ สุวรรณเลิศ. (2555) **การพัฒนาผลิตภัณฑ์กะละแมอัญชัน.** สาขาวิชาเกษตรศาสตร์บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

ปิยนุช พรมภมร และนภัสสร ราชรินทร์. (2559). การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและการพัฒนาตำรับเจลจากสารสกัดสมอไทย. **วารสารท มสด. SDU Research Journal.** 9(1): 51-64.

เปรมฤดี มาสู่ และสินินาฏ พันธะชาต. (2546). **การศึกษาการออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* จากสมุนไพร**. สาขาวิชาสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันราชภัฏนครราชสีมา.

พวงทอง ไกรพิบูลย์. (2558). **โรคผิวหนัง (Skin disorder)**. สืบค้นจาก http://haamor.com/th

พีรศักดิ์ วรสุนทโรสถ และคนอื่น ๆ (2544). **พืชที่ให้สีย้อมแทนนิน Dye and tannin-producting plants.** กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่ง.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. (2557). โนรา. **หนังสือสมุนไพรในอุทยานแห่งชาติภาคเหนือ**. นนทบุรี: มูลนิธิการแพทย์แผนไทยพัฒนา, 129.

ฤทัยรัตน์ น้อยคนดี. (2551). **สารสกัดแทนนินจากใบมันสำปะหลังเพื่อการบำบัดคุณภาพน้ำเสีย**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภิญญามนตร์ สีขาว. (2559). **การยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Micrococcus luteus* ของสารสกัดใบสาบเสือในสบู่เหลว**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

ล้วน สายยศ และอังคณา สายยศ. (2543). **เทคนิคการวิจัยทางการศึกษา**. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: สุวีริยาสาส์น.

วลัยลักษณ์ เมธาภัทร. (2559). Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity. **Journal of Pharmaceutical Analysis**. 6: 71–79.

วิภพ สุทธนะ. (2556). ฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์: กลไกการออกฤทธิ์. **ศรีนครินทร์เวชสาร**, 3(28), 567-582.

วีระชัย ณ นคร. (2557). โนรา**. หนังสือสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 4**. กรุงเทพฯ.

ศิริลักษณ์ หอมละเอียด. (2557). **ฤทธิ์ยับยั้งไบโอฟิล์มของเชื้อ *Streptococcus mutans* จากสารสกัดใบกระทู**. วิทยานิพนธ์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุพรรณ ศรีธรรมมา (2558, มีนาคม). **โรคผิวหนังที่พบได้บ่อย.** กรมควบคุมโรค สืบค้นจาก http://www.riskcomthai.org/th/news/newspaperdetail

สุรางค์รัตน์ พันแสง และคนอื่น ๆ. (2560, พฤษภาคม). การประเมินคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. **ใน การประชุมวิชาการระดับชาติ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน ครั้งที่ 5**. กรุงเทพฯ: 2560, 140.

สุมนา จินดาพงษ์ สุมาลี ปานทอง และอรุณพร อิฐรัตน์. (2555). การศึกษาฤทธิ์การต้านจุลชีพที่ก่อให้เกิดสิวของสารสกัดสมุนไพรในตำรับเบญจโลกวิเชียร. **ใน การประชุมเครือข่ายวิชาการบัณฑิตศึกษาแห่งชาติครั้งที่ 1**. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปทุมธานี: 18 ธันวาคม 2555, 58.

เสน่ห์ แก้วนพรัตน์. (2545). **บทบาทของจุลชีววิทยาในทางเภสัชกรรม**. ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์: 17-18.

อารทรา ปัญญาปฏิภาณ. (2559). **นิตยสารข่าวสารด้านยาและผลิตภัณฑ์สุขภาพ**. 8(2) สืบค้นจาก https://www.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/about/editorialTeam.

อัญชนา เจนวิถีสุข. (2544). **การตรวจหาและบ่งชี้ชนิดสารต้านอนุมูลอิสระจากผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทย**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เอนก ภู่ทอง, อรฤดี ขันติสิทธิพร และสุวรรณา โควะวินทวีวัฒน์. (2555). การจำแนกชนิดของ *Candida* ที่เพาะแยกจากสิ่งส่งตรวจทางการแพทย์ด้วยเทคนิค ITS PCR-RFLP. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 20(3): 202-210.

Amelot, M., Oliveros-Bastidas, A. and Maria Pı́a Calcagno-Pisarelli. (2007). Phenolics and condensed tannins of high altitude Pteridium arachnoideum in relation to sunlight exposure, elevation, and rain regime. **Biochemical Systematics and Ecology**. 35: 1-10.

Chauhan, V. (2016, August). **Ayurvedic Treatment For *Pseudomonas aeruginosa* Infection**. Retrieved from https://www.alwaysayurveda.net/2016/08/pseudomonas-aeruginosa-infection-ayurvedic-treatment.html.

Chen, S. K. and Funston, M. (1997). Malpighiaceae. I**n Chen Shukun, ed., Fl. Reipubl. Popularis Sin.** 43(3): 105-131.

Chenthurpandy, P., Kalidass, C. and Mohan, V. R. (2009). Pharmacognostical Investigation of *Hiptage benghalensis* (L.) Kurz. (Malpighiaceae). **Pharmacognosy Journal** . 1(2): 102-105.

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. Clinicaland Laboratory Standard Institute,** Wayne, Pa.

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobialagents. **Clinical Microbiology Reviews** 12(4): 564-582.

Connell, O. J. E. (2000). Food Chemistry. **NIZO Food Research**. University College, Cork, Ireland: Product Technology Department, 93-98.

Ghasemzadeh, A. and Ghasemzadeh, N. (2011). Flavonoids and phenolic acid: Role and biochemical activity in plants and human. **J men Plant Res**. 5(31): 6703-6697.

Green Clinic. (2557). โนรา. **หนังสือเครื่องยาไทย 1 (วุฒิ วุฒิธรรมเวช).** สืบค้นจาก: www.greenclinic.in.th.

Hore, S. K., Ahuja, V., Mehta, G., Kumar, P., Pandey, S. K. and Ahmad, A. H. (2006). Effect of aqueous Euphorbia hirta leaf extract on gastrointestinal motility. **Fitoterapia**. 77, 35-38.

Hou. Wc., Lin R. O., Cheng, K. T., Y. T., Cho, C. H, Chen., C. H., Hwang, S. y. and Lee, M.H. (2003). Freeradical-scavenging activity of Taiwanese native plant**.** **Phytomedicine**. 10(2/3): 170.

ihealthblogger. (2562). **โรคฝีฝักบัว**. สืบค้นจาก http://www.ihealthblogger.com, howshealth.com, byebyedoctor.com, dermaamin.com.

Jia, Z., Tang, M. and Wu, J. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals**. Food Chem**. 64: 559-555.

Jorgensen, J. H,Turnideg, J. D. and Washington, J. A. (1999), Antibacterial susceptibility test: dilution and disk diffusion methods**.** In **Patrick RM, editor. *Manual of Clinical Microbiology.* 7th ed.** Washington DC: America Society for Microbiology, 1526-42.

Judprasong, K., Charoenkiatkul, S., Thiyajai, P. and Sukprasansap, M. (2013). Nutrients and bioactive compounds of Thai indigenous fruits. **Food Chem**. 140: 512-507.

Kandalkar, A., Patel, A., Darade, S., and Baviskar, D. (2010). Free radical scavenging activity of Euphorbia hirta linn. leaves and Isolation of active flavonoid myricitrin**. asian Jour of pharma and clinical**, 3(3): 234-237.

Kenneth, T., (2012). ***Pseudomonas aeruginosa*** . Retrieved from http:// www.textbookofbacteriology.net

Kumudhavalli, M. V., Jayakar, B., Margret Chandira, R., Kumar, M. and Saravanan, C. (2010). Phytochemical and pharmacological studies on leaves of *Hiptage bengalensus* (L.) kurzz. **International Journal of PharmTech Research**. 2(1), 902-905.

Larry, M., Bush , M. D., FACP and Charles, E. (2019, June). *Staphylococcus aureus* Infections. **Schmidt College of Medicine**, Florida Atlantic University. Retrieved from https://www.msdmanuals.com/home/infections/bacterial-infections-gram-positive-bacteria/staphylococcus-aureus-infections#.

Lind, E. M. and Tallantire, A. C., (1971). **Some Common Flowering Plants of Uganda**, Oxford University Press, Nairobi, 182.

Loesche, W, (2007). Dental caries and periodontitis: contrasting two infections that have medical implications**. Infectious Disease Clinics of North America** 21(2): 471-502.

Mangathayaru, K., Sravan, K., Reddy, P. K.,Kumar, M., Sweta, B. and Reddy, U. C. (2007), In vitro antioxidant studies on the aerial parts of Origanum majoram Linn. and Artemesia sieversiana earh. **Pharmacognosy Magazine**. 3(10): 90-94.

Mason, P and Dietary Supplements. (2011). **Fourth ed. London: Pharmaceutical PressSirirugsa, P. (1991). Malpighiaceae**. In Flora of Thailand.; 5(3): 279-277.

Murugan, M. and Mohan, V. (2011). Evaluation of Phytochemical analysis and antibacterial of *Bauhinia purpurea* L. and *Hiptage benghalenisi* L. Kurz. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**. 1(09): 160-157.

Naczk, M. and Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. **US National Library of Medicine National Institutes of Health**. 1054(1-2): 95-111.

Onanong, K., Siriamornpuna, S., Weerapreeyakulb, N. and Meesoc, N. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. **Journal of Functional Foods**. 3(2): 88-99.

Pinterest. (2562). ***Staphylococcus aureus***. Retrieved from www.pinterest.com/pin/506232814336214438/

Polugari, R., Shailaja Raj, M. and Sailaja, D. (2016). Isolation and Molecular Characterization of acne causing Propionibacterium acnes. **International Journal of Scientific and Research Publications**. 6(6): 809-814.

Roselin, P. M., Shailaja, R. and Dasetty S. (2016). Isolation and Molecular Characterization of acne causing Propionibacterium acnes. **International Journal of Scientific and Research Publications**, 6(6): 811.

Sagar, A. (2018, June) Retrieved from https://microbiologyinfo.com/germ-tube-test-principle-procedure-results-interpretation-and-limitations/

Sahil, B. (2018, May). **Proteus vulgaris** Retrieved from https://paramedicsworld.com/proteus-vulgaris/morphology-culture-characteristics-of-proteus-vulgaris/medical-paramedical-studynotes.

Shan, B., Cai, Y. Z., Sun, M. and Corke, H., (2005). Antioxidant capacity of spice extracts Supacity and characterization of their phenolic constituents. **Journal of Agricultural and food chemistry**. 53(20): 7749-7759.

Shehla, U. H., Nafisa, F., Fakhar, U. M. and Hannan, J. M. A. (2013). Phytochemical screening and anti-diabetic efficacy of stem of *Hiptage benghalensis* (L) Kurz. **Journal of Scientific and Innovative Research**. 2(4): 736-744.

Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E. & Holt, J. G. (1986)**. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, vol. 2. Baltimore: Williams & Wilkins.

Studyblue. (2019). **Broth dilution method**. Retrieved from https://www.studyblue.com/notes/note/n/rational-antibiotic-use/deck/15843527.

Unaiza, S. H., Ferdous, N., Uddin F. M. and Hannan J. M. A. (2013). Phytochemical screening and anti-diabetic efficacy of stem of *Hiptage benghalensis* (L) Kurz. **Journal of Scientific and Innovative Research**. 2(4): 736-744 Retrieved from http:// www.jsirjournal.com

Vikram, C. (2016). **Ayurvedic Treatment For Pseudomonas Aeruginosa Infection**. Retrieved from https://www.alwaysayurveda.net/2016/08/ pseudomonas-aeruginosa-infection-ayurvedic-treatment.html.

Zaenglein, A. L., and Thiboutot, D. M. (2011). **Dermatology**. Published. 545-559.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ และ หนังสือเชิญผู้ทรงคุณวุฒิ
ตารางแสดงผล ค่า IOC ของแบบทดสอบ

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิตรวจสอบเครื่องมือ

1. ชื่อ รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงษ์ แสง-ชูโต
สถานที่ทำงาน -
วุฒิการศึกษา การศึกษาดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ศึกษา)
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2. ชื่อ รองศาสตราจารย์ ดร.วิลาส พุ่มพิมล
สถานที่ทำงาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง
วุฒิการศึกษา ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (อินทรีย์เคมี)
มหาวิทยาลัยมหิดล

3. ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ เพ็งพัด
สถานที่ทำงาน -
วุฒิการศึกษา การศึกษาดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ศึกษา)
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ที่ อว ๐๖๓๐.๑๒/ ๔๕๖

บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์
ในพระบรมราชูปถัมภ์
ปณจ. ประตูน้ำพระอินทร์
จ.ปทุมธานี ๑๓๑๘๐

๑๓ กรกฎาคม ๒๕๖๒

เรื่อง ขอเชิญเป็นผู้ทรงคุณวุฒิ

เรียน รองศาสตราจารย์ ดร.วีระพงษ์ แสง-ชูโต

ด้วยนางสาวฐิติมา ละอองฐิติรัตน์ รหัสนักศึกษา ๕๘B๕๔๖๗๐๑๐๒ นักศึกษาระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี ซึ่งอยู่ในระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ เรื่อง "การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา" โดยมี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปุณยนุช นิลแสง เป็นประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ มีความจำเป็นต้องทำการตรวจสอบเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยเพื่อประกอบการทำวิทยานิพนธ์

จึงเรียนมาเพื่อโปรดให้ความอนุเคราะห์ตรวจสอบเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยให้แก่นักศึกษา ทั้งนี้ได้มอบหมายให้ นางสาวฐิติมา ละอองฐิติรัตน์ เบอร์โทรศัพท์ ๐๘๖-๓๓๕๕๓๐๔ เป็นผู้ประสานงานโดยตรง บัณฑิตวิทยาลัย หวังเป็นอย่างยิ่งว่าคงจะได้รับความร่วมมือจากท่านด้วยดี และขอขอบคุณล่วงหน้า มา ณ โอกาสนี้

ขอแสดงความนับถือ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีร์ธนิกษ์ ศิริโวหาร)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

บัณฑิตวิทยาลัย
โทรศัพท์ ๐-๒๕๒๙ ๑๖๓๘ ต่อ ๔๐๑, ๔๐๒, ๔๐๓
โทรสาร ๐- ๒๕๒๙ ๑๖๓๘ ต่อ ๔๐๖

ที่ อว ๐๖๓๐.๑๒/ ๔๙๙

บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์
ในพระบรมราชูปถัมภ์
ปณจ. ประตูน้ำพระอินทร์
จ.ปทุมธานี ๑๓๑๘๐

๑๙ กรกฎาคม ๒๕๖๒

เรื่อง ขอเชิญเป็นผู้ทรงคุณวุฒิ

เรียน รองศาสตราจารย์ ดร.วิลาศ พุ่มพิมล

ด้วยนางสาวฐิติมา ละอองฐิติรัตน์ รหัสนักศึกษา ๕๘B๕๔๖๗๐๑๐๒ นักศึกษาระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี ซึ่งอยู่ในระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ เรื่อง "การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา" โดยมี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปุณยนุช นิลแสง เป็นประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ มีความจำเป็นต้องทำการตรวจสอบเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยเพื่อประกอบการทำวิทยานิพนธ์

จึงเรียนมาเพื่อโปรดให้ความอนุเคราะห์ตรวจสอบเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยให้แก่นักศึกษา ทั้งนี้ได้มอบหมายให้ นางสาวฐิติมา ละอองฐิติรัตน์ เบอร์โทรศัพท์ ๐๘๖-๓๓๕๕๓๐๔ เป็นผู้ประสานงานโดยตรง บัณฑิตวิทยาลัย หวังเป็นอย่างยิ่งว่าคงจะได้รับความร่วมมือจากท่านด้วยดี และขอขอบคุณล่วงหน้า มา ณ โอกาสนี้

ขอแสดงความนับถือ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีร์ธนิกษ์ ศิริโวหาร)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

บัณฑิตวิทยาลัย
โทรศัพท์ ๐-๒๕๒๙ ๑๖๓๘ ต่อ ๔๐๑, ๔๐๒, ๔๐๓
โทรสาร ๐- ๒๕๒๙ ๑๖๓๘ ต่อ ๔๐๖

ที่ อว ๐๖๓๐.๑๒/ ๔๘๙

บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์
ในพระบรมราชูปถัมภ์
ปณจ. ประตูน้ำพระอินทร์
จ.ปทุมธานี ๑๓๑๘๐

๑๙ กรกฎาคม ๒๕๖๒

เรื่อง ขอเชิญเป็นผู้ทรงคุณวุฒิ

เรียน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ เพ็งพัด

ด้วยนางสาวฐิติมา ละอองฐิติรัตน์ รหัสนักศึกษา ๕๘B๕๔๖๗๐๑๐๒ นักศึกษาระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี ซึ่งอยู่ในระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ เรื่อง "การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา" โดยมี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปุณยนุช นิลแสง เป็นประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ มีความจำเป็นต้องทำการตรวจสอบเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยเพื่อประกอบการทำวิทยานิพนธ์

จึงเรียนมาเพื่อโปรดให้ความอนุเคราะห์ตรวจสอบเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยให้แก่นักศึกษา ทั้งนี้ได้มอบหมายให้ นางสาวฐิติมา ละอองฐิติรัตน์ เบอร์โทรศัพท์ ๐๘๖-๓๓๕๕๓๐๔ เป็นผู้ประสานงานโดยตรง บัณฑิตวิทยาลัย หวังเป็นอย่างยิ่งว่าคงจะได้รับความร่วมมือจากท่านด้วยดี และขอขอบคุณล่วงหน้า มา ณ โอกาสนี้

ขอแสดงความนับถือ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีร์ธนิกษ์ ศิริโวหาร)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

บัณฑิตวิทยาลัย
โทรศัพท์ ๐-๒๕๒๙ ๑๖๓๘ ต่อ ๔๐๑, ๔๐๒, ๔๐๓
โทรสาร ๐- ๒๕๒๙ ๑๖๓๘ ต่อ ๔๐๖

ผลการประเมินค่าดัชนีความสอดคล้อง

เอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการและแบบประเมินความพึงพอใจในการอบรม

เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

ผู้รับผิดชอบโครงการ นางสาวฐิติมา ละอองฐิติรัตน์

****

<u>คำชี้แจง</u> ขอความอนุเคราะห์ท่านพิจารณารายข้อว่ามีความคิดเห็นอยู่ในระดับใดโดยมีเกณฑ์ในการพิจารณาดังนี้

1 หมายถึงผู้เชี่ยวชาญเห็นด้วยกับความสอดคล้องของเนื้อหาข้อความซึ่งตรงกับหัวข้อพิจารณา

0 หมายถึงผู้เชี่ยวชาญไม่แน่ใจว่าความสอดคล้องของเนื้อหาข้อความซึ่งตรงกับหัวข้อพิจารณา

-1 หมายถึงผู้เชี่ยวชาญไม่เห็นด้วยกับความสอดคล้องของเนื้อหาข้อความซึ่งตรงกับหัวข้อพิจารณา

หัวข้อพิจารณา	**ผลการพิจารณาของผู้เชี่ยวชาญ**			**ผลรวมของคะแนน** $\sum R$	**ค่า** IOC=$\frac{\sum R}{N}$	**ผลการพิจารณา**
	คนที่ 1	**คนที่ 2**	**คนที่ 3**			
เอกสารประกอบการอบรมและกิจกรรมการอบรม						
1.1 เนื้อหาครอบคลุมเรื่องที่อบรม	1	1	0	2	0.67	ได้เพิ่มความชัดเจนของโจทย์
1.2 ความถูกต้องของเนื้อหา	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
1.3 กิจกรรมการอบรม	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
แบบประเมินความพึงพอใจในการอบรม						
2.1 จำนวนข้อคำถาม	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
2.2 คำถามครอบคลุมกิจกรรมการอบรม	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
รวม	5	5	4	14	0.93	

ผลการประเมินค่าดัชนีความสอดคล้อง
ของแบบทดสอบวัดความรู้ก่อนและหลังการอบรมเชิงปฏิบัติการ
เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

ข้อที่	ผลการพิจารณาของผู้เชี่ยวชาญ			ผลรวมของคะแนน $\sum R$	ค่าIOC= $\frac{\sum R}{N}$	ผลการพิจารณา
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 3			
1	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
2	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
3	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
4	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
5	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
6	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
7	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
8	0	1	1	2	0.67	ได้เพิ่มความชัดเจนของโจทย์
9	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
10	1	1	0	2	0.67	ได้เพิ่มความชัดเจนของโจทย์
11	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
12	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
13	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
14	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
15	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
16	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
17	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
18	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
19	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
20	1	1	1	3	1	สอดคล้อง
รวม	**19**	**20**	**19**	**58**	**0.97**	

ภาคผนวก ข

โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการเผยแพร่และถ่ายทอดองค์ความรู้

เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการเผยแพร่และถ่ายทอดองค์ความรู้
เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

หลักการและเหตุผล

การเกิดผิวหนังอักเสบ (Dermatitis) คือ เกิดการอักเสบบริเวณผิวหนังที่อาจเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ ส่วนมากมักมีอาการผื่นคัน บวม หรือแดงตามผิวหนัง บางครั้งอาจเกิดเป็นแผลพุพอง มีน้ำหนอง หรือตกสะเก็ดร่วมด้วย ผิวหนังอักเสบที่พบบ่อย ได้แก่ โรคผื่นคัน โรคภูมิแพ้ผิวหนัง โรคเซบเดิร์ม และผื่นระคายสัมผัส อย่างไรก็ตาม โรคเหล่านี้ไม่ติดต่อสู่ผู้อื่น แต่อาจทำให้รู้สึกคันหรือระคายเคือง และเสียความมั่นใจเพราะลักษณะผิวหนังที่ผิดปกติได้ โดยปกติผิวหนังของคนเรามีเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น (Normal Flora) อาศัยอยู่ ซึ่งโดยปกติไม่ก่อให้เกิดโรคทางผิวหนัง หากแต่เมื่อมีบาดแผล, มีโรคผิวหนังอื่น ๆ, สุขอนามัยไม่ดี หรือผู้ป่วยที่มีภูมิต้านทานต่ำจะทำให้ทีโอกาสเกิดโรคทางจุลินทรีย์ได้ ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ก็มีโอกาสทำให้เกิดโรคได้ ตัวที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อมากที่สุด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis, Propionibacterium acnes* และ *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังอักเสบมากที่สุด ด้วยสภาวะอากาศที่ร้อนมากขึ้นในปัจจุบัน ส่งผลให้จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วมากขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิพอเหมาะต่อการเจริญเติบโต และยังมีแหล่งอาหารชั้นเลิศนั่นคือ คาบเหงื่อและคาบไคล้ของมนุษย์นั่นเอง

ปัจจุบันประเทศไทยกำลังประสบปัญหาการใช้ยาอย่างไม่สมเหตุสมผล เกิดปัญหาเชื้อดื้อยา ประเทศไทยจึงมีนโยบายในการส่งเสริมการใช้สมุนไพรไทยในการดูแลสุขภาพของประชาชนทั้งด้านการรักษาพยาบาล การส่งเสริมสุขภาพ และการฟื้นฟูสุขภาพ เป็นการกระตุ้นปริมาณการใช้ยาสมุนไพรให้มีปริมาณที่มากขึ้น ส่งผลให้ราคายาสมุนไพรลดลง ช่วยลดปัญหาเชื้อดื้อยา ซึ่งเป็นปัญหาจากการใช้ยาแผนปัจจุบันหลาย ๆ ตัว อันจะเป็นการเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรผู้ปลูกพืชสมุนไพร ลดการนำเข้าสารเคมี และยาแผนปัจจุบันจากต่างประเทศ ส่งเสริมให้เกิดการพึ่งพาตนเองและสร้างความมั่นคงของระบบยาของประเทศในอนาคตด้วยเหตุผลที่ผักและสมุนไพรพื้นบ้านมีคุณค่าทางอาหารสูง เหมาะกับการดูแลรักษาสุขภาพ

จากการสำรวจสมุนไพรท้องถิ่นในจังหวัดเพชรบูรณ์ พบว่าภูมิปัญญาชาวบ้าน นิยมนำลำต้นของต้นโนรา (*Hiptage candicans* Hook.f.) หรือต้นควายเก้าแม่ ซึ่งเป็นชื่อท้องถิ่นมาตากแห้งแล้วนำไปต้มในน้ำเพื่อให้สตรีเพิ่งคลอดบุตรดื่มเพื่อเรียกน้ำนมให้ไหลมากขึ้น แม้กระทั่ง วัว และกระบือที่กำลังตั้งท้องแก่ใกล้คลอดก็กินใบสด ๆ เช่นกัน และเปลือกของต้นสามารถนำไปเป็นส่วนผสมของยาลม ยาหอม ลดการอักเสบเยื่อบุตา ช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย ลดการอักเสบ มีฤทธิ์ต้านเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย และช่วยในการสมานแผล

ในปัจจุบันต้นโนราจัดเป็นต้นไม้ที่หายาก เนื่องจากเป็นไม้พุ่มเลื้อยโตไว และรบกวนต่อการเจริญเติบโตของพืชเศรษฐกิจ ทำให้ชาวเกษตรกรตัด เผาทำลายมากกว่า และเกษตรกรขาดความรู้ถึงประโยชน์ของต้นไม้ชนิดนี้ จึงทำให้ผู้ทำวิจัยสนใจในการทำต้นโนรามาทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนราเพื่อเป็นการหาผลิตภัณฑ์ที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากธรรมชาติ และเป็นการส่งเสริมอนุรักษ์พันธุ์พืชอีกด้วย

วัตถุประสงค์

เพื่อถ่ายทอดความรู้จากผลงานวิจัยสู่ชุมชนโดยการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการเกี่ยวกับทำผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

เป้าหมาย

ด้านปริมาณ ผู้เข้าอบรมเชิงปฏิบัติการ 30 คน

ด้านคุณภาพ หลังการอบรมผู้เข้ารับการอบรมมีความพึงพอใจและความรู้ความเข้าใจเพิ่มขึ้นแตกต่างจากหลังอบรม

สถานที่

ห้องประชุมองค์การบริหารส่วนตำบลชีน้ำร้าย อำเภออินทร์บุรี จังหวัดสิงห์บุรี

งบประมาณ

3,000 บาท

การดำเนินการ

1. สำรวจกลุ่มบุคคลที่จะเข้ารับการอบรม
2. เขียนโครงการอบรม
3. จัดเตรียมเอกสาร อุปกรณ์ สถานที่
4. ดำเนินการจัดการอบรม
5. ทดสอบความรู้ที่ได้รับหลังจากการอบรม และความพึงใจในการเข้ารับการอบรม
6. ประเมินผลและรายงานผล

การประเมินผล

1. การทดสอบด้วยแบบทดสอบก่อนและหลังอบรม
2. การตอบแบบสำรวจความพึงพอใจในการอบรม

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ผู้เข้ารับการอบรมได้รับความรู้เพิ่มเติมจากการอบรม

2. ผู้เข้าร่วมการอบรมสามารถนำความรู้เกี่ยวต้นโนราไปใช้ประโยชน์ และสามารถทำผลิตภัณฑ์ที่มาจากต้นโนราได้

ผู้รับผิดชอบโครงการ

นางสาวฐิติมา ละอองฐิติรัตน์ นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา

กำหนดการอบรม

โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการจากผลงานวิจัย

เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

วันอาทิตย์ที่ 12 พฤษภาคม พ.ศ. 2562

ณ. ห้องประชุมองค์การบริหารส่วนตำบลชีน้ำร้าย อำเภออินทร์บุรี จังหวัดสิงห์บุรี

08.00-08.30 น.	ลงทะเบียน
08.30-09.00 น.	พิธีเปิด
09.00-09.30 น.	ผู้เข้าร่วมการอบรม ทำแบบทดสอบก่อนการอบรม
09.30-10.30 น.	บรรยายความรู้เรื่อง สมุนไพรต้นโนรา เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิว
10.30-10.45 น.	พักรับประทานอาหารว่าง
10.45-12.00 น.	บรรยายความรู้เรื่อง การพัฒนาตำรับสูตรเจลจากสารสกัดหยาบใบโนรา
12.00-13.00 น.	พักรับประทานอาหารกลางวัน
13.00-15.00 น.	ปฏิบัติการทำเจลจากสารสกัดหยาบใบโนรา
15.00-15.15 น.	พักรับประทานอาหารว่าง
15.15-15.30 น.	ผู้เข้าร่วมการอบรม ทำแบบทดสอบหลังการอบรม แบบประเมินความพึงพอใจ
15.30-16.00 น.	ปิดการอบรม

แบบประเมินความพึงพอใจในการอบรม

เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

บรรยายโดย นางสาวฐิติมา ละอองฐิติรัตน์

ณ. ห้องประชุมองค์การบริหารส่วนตำบลชีน้ำร้าย อำเภออินทร์บุรี จังหวัดสิงห์บุรี

คำชี้แจง ทำเครื่องหมาย √ ลงในช่องที่ตรงกับความคิดเห็นของท่าน

5 หมายถึง มากที่สุด 4 หมายถึง มาก

3 หมายถึง ปานกลาง 2 หมายถึง น้อย

1 หมายถึง น้อยที่สุด

หัวข้อการประเมิน	**ระดับความพึงพอใจ**				
	5	**4**	**3**	**2**	**1**
1. ความเหมาะสมของเนื้อหาในการอบรม					
2. บุคลิกภาพของวิทยาการผู้ให้การอบรม					
3. เทคนิคการถ่ายทอดความรู้ของวิทยาการ					
4. อุปกรณ์และโสตทัศนูปกรณ์					
5. เอกสารที่ใช้ในการอบรม					
6. ระยะเวลาที่ใช้ในการอบรม					
7. ความเหมาะสมของสถานที่จัดอบรม					
8. ความเหมาะสมของอาหารว่างและอาหารกลางวัน					
9. สามารถนำความรู้ที่ได้จากการอบรมไปใช้ปฏิบัติได้จริง					
10. ประโยชน์ที่ได้จากการอบรม					

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

เอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการ
จากผลงานวิจัย

เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

โดย
นางสาวฐิติมา ละอองฐิติรัตน์
นักศึกษาปริญญาโท

สาขาวิชา วิทยาศาสตรศึกษา
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

ต้นโนรา

(*Hiptage candicans* (Hook.f.))

ความรู้ทั่วไป

ต้นโนรา (*Hiptage candicans* Hook.f.) มีชื่อท้องถิ่นอื่น ๆ เช่น กำลังช้างเผือก (ภาคเหนือ), กะลังจ่าง (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน), พญาช้างเผือก (แพร่), ควายเก้าแม่ (เพชรบูรณ์), จัดอยู่ในวงศ์ Malpighiaceae เป็นสมุนไพรที่จัดได้ว่าเป็นยาอายุวัฒนะ สามารถนำ แก่นและเปลือกต้นมาทำเป็นยาบำรุงกำลังได้ ช่วยให้เจริญอาหาร แก้อาการอ่อนเพลีย รักษาแผลสด และโรคผิวหนังได้ (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2549)

ต้นโนราเป็น ไม้เถาหรือไม้พุ่มรอเลื้อย เถาเป็นสีเขียว ลักษณะกลมเกลี้ยง เนื้อไม้แข็ง ลำต้นแตกกิ่งก้านเล็กและห้อยลง (บ้างว่าแตกกิ่งก้านสาขามาก) ทรงต้นมีรูปร่างไม่แน่นอน

ลักษณะใบเป็นรูปรีถึงรูปใบหอก หรือแกมรูปไข่ ยาว 5-18 เซนติเมตร. ใบเป็นใบเดี่ยวออกเรียงตรงข้าม โคนใบสอบ ส่วนขอบใบเรียบ ใบมีขนาดกว้างประมาณ 4-6 เซนติเมตร และยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร แผ่นใบด้านบนเกลี้ยง ส่วนท้องใบมีขน มีต่อมเล็ก ๆ อยู่ใกล้ฐานใบ ก้านใบยาว 0.3-1.3 เซนติเมตร แผ่นใบด้านล่างมีขนสั้นนุ่ม

ภาพที่ 1 แสดงลักษณะต้นและใบโนรา

ดอกโนรา ออกดอกเป็นช่อตามซอกใบและปลายกิ่ง ช่อดอกยาวประมาณ 9-22 เซนติเมตร ดอกเป็นสีขาวหรือสีชมพูอ่อน กลางดอกเป็นสีเหลือง มีกลีบดอก 5 กลีบขนาดไม่เท่ากัน กลีบดอกมักยู่ยี่ ดอกมีเกสรเพศผู้จำนวน 10 ก้าน และมี 1 ก้าน ที่ยาวเป็นพิเศษ ส่วนกลีบเลี้ยงหรือกลีบรองดอกมี 5 กลีบโคนเชื่อมติดกัน มีกลีบหนึ่งมีต่อมนูน ดอกจะบานอยู่ได้ประมาณ 3-4 วันแล้วก็ โดยจะออก

ดอกในช่วงช่วงฤดูหนาวคือช่วงเดือนธันวาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ ก้านช่อสั้นหรือยาวได้ถึง 4 เซนติเมตร ก้านดอกยาว 0.8-2 เซนติเมตร ขยายในผล มีข้อประมาณกึ่งกลางก้านดอก กลีบเลี้ยงรูปไข่ ยาวประมาณ 2.5 มิลลิเมตร มี 1 กลีบที่มีต่อม ต่อมยาว 2-4 มิลลิเมตร เรียวจรดก้านดอก มีเกสรเพศผู้อันยาวยาวประมาณ 1.2 เซนติเมตร อันสั้นยาว 3-6 มิลลิเมตร ก้านเกสรเพศเมียยาวประมาณ 1 เซนติเมตร

ผลมีขนสั้นคล้ายไหม มีปีก 3 ปีก ปีกกลางรูปขอบขนาน ยาว 3-6 เซนติเมตร ปีกข้างยาว 1.5-3 เซนติเมตร มีสันนูนหรือมีปีกด้านหลังสั้น ๆ ยาว 5-8 มิลลิเมตร

ภาพที่ 2 แสดงลักษณะของผลและดอกของต้นโนรา

จากการสำรวจสมุนไพรท้องถิ่นในจังหวัดเพชรบูรณ์ พบว่าภูมิปัญญาชาวบ้าน นิยมนำลำต้นของต้นโนราหรือต้นควายเก้าแม่ ซึ่งเป็นชื่อท้องถิ่นมาตากแห้งแล้วนำไปต้มในน้ำเพื่อให้สตรีเพิ่งคลอดบุตรดื่มเพื่อเรียกน้ำนมให้ไหลมากขึ้น แม้กระทั่ง วัว และกระบือที่กำลังตั้งท้องแก่ใกล้คลอดก็กินใบสดๆเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่า เปลือกของต้นสามารถนำไปเป็นส่วนผสมของยาลม ยาหอม เป็นยาบำรุงโลหิต แก่นมีรสร้อนขื่น ช่วยบำรุงธาตุในร่างกาย ช่วยทำให้เจริญอาหาร ช่วยแก้อาการก่อนเพลีย ใช้ตำพอกใช้รักษาแผลสด ใบมีรสร้อนขื่น ใช้เป็นยาแก้โรคผิวหนัง (วีระชัย ณ นคร, 2557)

พฤกษเคมี (phytochemistry)

คือ องค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบเฉพาะในพืช โดยสารกลุ่มนี้อาจเป็นสารที่ทำให้พืชนั้น ๆ มีสี กลิ่น หรือ รสชาติที่เป็นลักษณะเฉพาะตัว อีกทั้งสารแต่ละตัวมีหน้าที่ต่างกันในกลไกของพืชและเป็นต้นกำเนิดของสีของพืชนั้น ๆ สารพฤกษเคมีเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นสารที่ต่อต้าน

อนุมูลอิสระ โดยสารพฤกษเคมีหลายชนิดมีฤทธิ์ต่อต้านและส่งเสริมระบบภูมคุ้มกันและต้านการอักเสบตลอดจนมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง กลุ่มสารสำคัญ ได้แก่

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป โครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) สามารถละลายน้ำได้ สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด มีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันซึ่งกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบจะเป็นสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoids) (อัญชนา เจนวิถีสุข, 2544) สารประกอบฟีนอลพบอยู่ในส่วนของช่องว่างภายในเซลล์ (cell vacuole) ในส่วนต่าง ๆ ของพืช เป็นสารที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด

สรรพคุณของสารประกอบฟีนอลิก

1. ประโยชน์ต่อสุขภาพ สารประกอบฟีนอลหลายชนิดมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและเป็นสารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagrns) มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ สามารถการป้องกันโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอล จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ (free radical) และไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่น ๆ โดยใช้ตัวเองเป็นตัวรับอนุมูลอิสระ (free radical) ทำให้ยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ ที่มีอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุ แต่สารต้านอนุมูลอิสระจะถูกทำลายไปด้วย

2. ใช้เพื่อการถนอมอาหาร โดยใช้เป็นสารกันหืน ป้องกันปฏิกิริยาการออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation)

สารประกอบแทนนิน (Tannin) เป็นสารประกอบจำพวกฟีนอลิกที่มีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นจำนวนมาก มีโมเลกุลขนาดใหญ่และโครงสร้างที่ซับซ้อนมีสถานะเป็นกรดอ่อน รสฝาด จึงเป็นสารให้ความฝาดในพืช พบได้ในส่วนของเปลือก ผล ใบ แก่นไม้ แทนนินมีคุณสมบัติตกตะกอนโปรตีน ทำให้หนังสัตว์ไม่เน่าเปื่อย (พีรศักดิ์ วรสุนทโรสถ, 2544) ส่วนใหญ่แล้วแทนนินจะพบได้ในพืชหลายชนิด สารแทนนิน บางประเภทมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียบางชนิดได้ นอกจากนี้สารละลายแทนนินยังมีความสามารถในการตกตะกอนโลหะหนักบางชนิด เช่น เหล็ก ตะกั่ว และสังกะสีได้ (Amelot, et al. 2007)

ประโยชน์แทนนิน

1. ใช้สำหรับเป็นสารฟอกหนังสัตว์ เพื่อทำให้โปรตีนตกตะกอน ทำให้หนังสัตว์อ่อนนุ่ม ช่วยเคลือบติดหนังสัตว์ทำให้ไม่เน่าเปื่อย ป้องกันเชื้อจุลินทรีย์

2. ใช้เป็นส่วนผสมของยาภายใน และภายนอก อาทิ ยารักษาโรคเบาหวานเพื่อช่วยควบคุมสมดุลการหลั่งฮอร์โมนจากตับอ่อน รวมถึงใช้เป็นส่วนผสมในยาถ่ายพยาธิ ยาแก้ท้องเสีย ท้องเดิน

ส่วนยาใช้ภายนอกมักใช้เป็นส่วนผสมของยารักษา และสมานแผลช่วยให้เส้นเลือดหดตัว ป้องกันการสูญเสียน้ำของแผล โดยเฉพาะแผลที่โดนไฟไหม้ น้ำร้อนลวกจะช่วยให้แผลหายได้เร็ว

3. ใช้ผสมยาลดกรดเพื่อแต่งรส รวมถึงมีฤทธิ์ช่วยลดกรดได้ด้วย

4. ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม อาทิ เบียร์ ไวน์ ชา และกาแฟ เพื่อให้มีสีใส และมีรสขม ฝาด การป้องกันการเหม็นหืน การป้องกัน และต้านเชื้อแบคทีเรียในอาหาร ป้องกันการเน่าเสีย

5. ใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ประเภทอาหารเสริม ช่วยต้านอนุมูลอิสระ และลดปริมาณไขมันในเส้นเลือด

6. ใช้เคลือบยา อาหารหรืออาหารเสริมในรูปของส่วนผสมหรือแคปซูลสำหรับป้องการย่อยตัวยาบริเวณกระเพาะอาหารเพื่อให้ถูกดูดกลืนบริเวณลำไส้มากที่สุด

พิษของแทนนิน

แทนนินสามารถรวมตัวกับโปรตีน และทำปฏิกิริยากับกรดหรือเอนไซม์ได้ดี หากร่างกายได้รับแทนนินในระบบทางเดินอาหารมากๆจะมีผลทำให้ท้องอืด ท้องผูก อาหารไม่ย่อย มีอาการคล้ายการดื่มชา

ฟลาโวนอยด์ (flavonol) เป็นสารพฤกษเคมีในกลุ่มพอลิฟีนอล ที่พบและเจอได้ในเม็ดสีของพืช ผัก ธัญพืช และผลไม้ ซึ่งสีเฉพาะทางพฤษเคมีของฟลาโวนอยด์แล้วจะเป็นสีม่วง น้ำเงินเข้ม และดำ ฟลาโวนอยด์จะมีสารประกอบหลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระ อย่างเช่น จำพวก ฟลาโวน (Flavone) และคาเทชิน (Catechin) โดยจะสามารถป้องกันไม่ให้เซลล์หรือเนื้อเยื่อในร่างกายของเราเสื่อมหรือถูกทำลาย

ประโยชน์ฟลาโวนอยด์

1. ช่วยลดการอักเสบและการจับยึดเกาะของโมเลกุลที่ทำให้เกิดคราบจุลินทรีย์ในหลอดเลือดแดง ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจโดยเฉพาะหลอดเลือดแดงที่แข็งตัวของเส้นเลือด

2. ฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ต้านการขยายตัวของเซลล์มะเร็งตับและมะเร็งลำไส้ใหญ่ การชะลอตัวหรือการหยุดยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็งได้

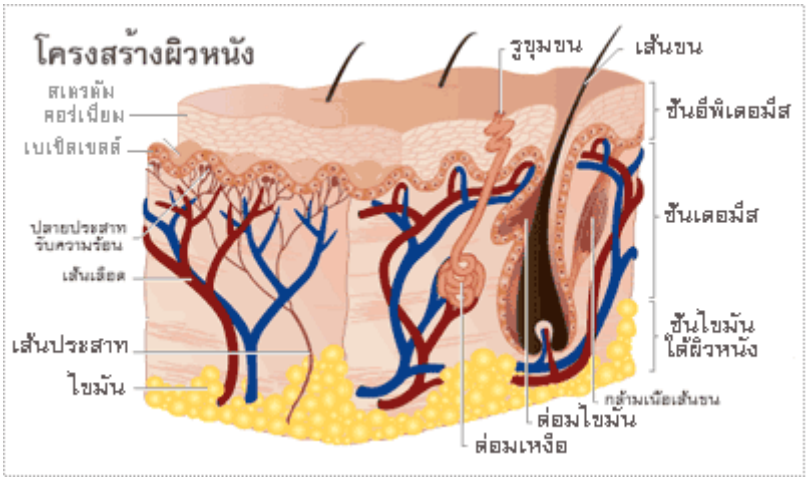
อาหารที่พบว่ามีสารประกอบฟลาโวนอยด์สูง ได้แก่ สตรอเบอร์รี่, พริกหยวกสีแดง, กระเทียม, กะหล่ำปี, ส้ม, ผลไม้ตระกูลเบอร์รี่, มะนาว, ชาเขียว, บล็อคโคลี่

ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับผิวหนัง

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่ปกคลุมอยู่ทั่วไปที่ภายนอกของร่างกาย ผิวหนังของร่างกายจะมีความหนาแตกต่างกันไปตามตำแหน่งบนร่างกาย ผิวหนังของร่างกายบางส่วนจะยึดติดกับโครงสร้างของร่างกายที่อยู่ในชั้นใต้ผิวหนังค่อนข้างแน่น แต่ผิวหนังบางส่วนจะยึดติดกับโครงสร้างของร่างกายที่อยู่ในชั้นใต้ผิวหนังอย่างหลวม ๆ จึงทำให้บริเวณดังกล่าวสามารถเคลื่อนไหวได้เองเมื่อถูกกระตุ้น โดยทั่วไปชั้นผิวหนังที่ยึดติดกับโครงสร้างของร่างกายที่อยู่ในชั้นใต้ผิวหนังอย่างหลวม ๆ จะถูกใช้เป็นตำแหน่งในการให้วัคซีนหรือให้ยาใต้ผิวหนัง (subcutaneous injection)

สามารถแบ่งผิวหนังออกเป็น 2 ชั้น คือ ชั้นหนังกำพร้า (epidermis) ซึ่งเป็นชั้นที่ปกคลุมอยู่ด้านบน ความหนาของหนังกำพร้าในแต่ละส่วนของร่างกายจะแตกต่างกันไป โดยส่วนของหนังกำพร้าที่มีความหนามากมักเป็นส่วนของผิวหนังที่ถูกใช้งานหนักหรือใช้งานเกือบตลอดเวลา เช่นผิวหนังบริเวณอุ้งเท้า (footpad) ส่วนชั้นหนังแท้ (dermis or corium) เป็นชั้นผิวหนังที่อยู่ด้านในซึ่งเชื่อมติดกับเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหรือพังผืด (deep fascia) ที่ซึ่งห่อหุ้มมัดกล้ามเนื้อลาย โดยมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิดหลวม (loose connective tissue) อยู่ร่วมกับเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) ชั้นหนังแท้บางแห่งจะมีเนื้อเยื่อไขมันแทรกอยู่มากมาย ซึ่งเป็นส่วนของไขมันใต้ผิวหนัง (subcutaneous fat) ที่ทำหน้าที่เก็บสะสมพลังงาน

1. ชั้นหนังกำพร้า (epidermis) เป็นส่วนของเนื้อเยื่อบุผิวที่ปกคลุมอยู่ที่ผิวหนังด้านนอกของร่างกาย โดยทั่วไปจะเป็นเนื้อเยื่อของผิวหนังที่เจริญเปลี่ยนแปลงมาจากเนื้อเยื่อชั้นนอก (ectoderm) ของตัวอ่อน ชั้นหนังกำพร้าจัดเป็นเนื้อเยื่อบุผิวชนิดเซลล์รูปร่างแบนตรงกลางป่องที่เรียงตัวซ้อนกันหลายชั้น และเป็นชั้นที่ไม่มีเส้นเลือดมาหล่อเลี้ยง (avascular stratified squamous epithelium) ความหนาของชั้นหนังกำพร้าขึ้นกับว่าเป็นผิวหนังส่วนใดของร่างกาย ชั้นหนังกำพร้าส่วนที่หนาที่สุด คือ ส่วนของอุ้งเท้าซึ่งจะมีเซลล์เรียงซ้อนกันครบทั้ง 5 ชั้น และชั้นบนสุด คือ ชั้นคอนนิไฟล์ (cornified layer) ชั้นหนังกำพร้าส่วนที่บางกว่านั้นส่วนใหญ่จะมีเพียงเซลล์เยื่อบุมาเรียงกันเพียง 3-4 ชั้น ส่วนเซลล์ชั้นบนสุดของหนังกำพร้าจะเป็นเซลล์ที่มีลักษณะแห้ง และจะมีการตายเกิดขึ้นตลอดเวลา จึงเกิดการหลุดลอกออกของเซลล์จากผิวหนังของร่างกาย ชั้นหนังกำพร้าเป็นชั้นผิวหนังที่ไม่มีเส้นเลือดและเส้นน้ำเหลืองปรากฏอยู่เลย แต่เซลล์ที่เป็นส่วนประกอบจะได้รับสารอาหารมาหล่อเลี้ยง โดยสารอาหารต่าง ๆ จะซึมผ่านมาจากชั้นหนังแท้ ระหว่างชั้นต่างๆของหนังกำพร้าอาจจะมีส่วนของปลายประสาทรับความรู้สึก (free nerve ending) มาแทรกอยู่



ภาพที่ 3 ชั้นหนังกำพร้า ชั้นหนังแท้ เนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง และส่วนประกอบของขน
ที่มา : ธีรวัฒน์ สุวรรณี. (2559). **กลไกลการทำงานผิวหนัง.** สืบค้นจาก http://www.idoctorhouse.com/library/physiology-skin/

2. ชั้นหนังแท้ (dermis) ชั้นล่างสุดของหนังกำพร้าจะพัฒนาเป็นแผ่นที่มีลักษณะคล้ายนิ้วมือ ที่ยื่นเข้าไปในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของชั้นหนังแท้ เรียกว่า เอพิเดอมัลพิกส์ (epidermal pegs) ชั้นหนังแท้มีชื่อเรียก 2 อย่าง คือ เดอมีส (dermis) หรือคอร์เรียม (corium) โดยเฉพาะเมื่อกล่าวถึงส่วนของชั้นหนังแท้ที่เปลี่ยนแปลงไปเป็นกีบและเขา ชั้นหนังแท้จะหนากว่าชั้นหนังกำพร้า สามารถแบ่งออกเป็น 2 ชั้นย่อย ๆ คือ ชั้นพาพิลารี่ (papillary layer) ซึ่งเป็นชั้นหนังแท้ที่อยู่ติดกับชั้นหนังกำพร้าชั้นล่างสุด จึงเป็นชั้นที่มีลักษณะเป็นคลื่นเว้าเข้าไปในชั้นหนังกำพร้าที่สอดรับกับเอพิเดอมัลพิกส์ หรืออาจเรียกว่าเดอร์มัลพาพิรี่ (dermal papillary) บริเวณนี้จะพบปลายเส้นประสาทรับความรู้สึก (sensory nerve fibers) ที่เปลี่ยนแปลงเป็นปลายประสาทรับสัมผัส (Meissners corpuscles) เส้นเลือดฝอย และเส้นน้ำเหลืองได้ ชั้นเรคติคิวล่าร์ (reticular layer) เป็นชั้นหนังแท้ที่อยู่ลึกลงไปอยู่ติดกับเนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง (subcutaneous tissues) ชั้นนี้จะมีเส้นใยคอลลาเจนวางตัวประสานกันเป็นลักษณะตาข่ายมากมาย ในชั้นนี้จะมีเส้นประสาท เส้นเลือดแดงอาร์เทอริโอ (arterioles) และปลายประสาทรับสัมผัส (Paccinian corpuscles) นอกจากนี้ยังมีต่อมเหงื่อ (sweat glands) ส่วนปลายของรากขน (hair papilla) รูขุมขน (hair follicles) ต่อมน้ำมัน (sebaceous glands) และกล้ามเนื้อผิวหนัง (errector pili muscles) ปรากฏอยู่ด้วย ส่วนของหนังแท้จะพบปลายประสาทของระบบพาราซิมพาเทติกมาสั่งการที่เส้นเลือด ต่อม และกล้ามเนื้อเรียบ (arrectors pili muscle) แต่ไม่พบปลายประสาทจากระบบพาราซิมพาเทติกที่มาสั่งการบริเวณดังกล่าว

1.3 เนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง (hypodermis or superficial or subcutaneous tissue) เนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง คือเนื้อเยื่อที่แยกส่วนของผิวหนังออกจากโครงสร้างอื่นๆที่อยู่ด้านล่างลงไป เช่น กล้ามเนื้อและกระดูก ชั้นนี้จะเกี่ยวข้องกับการทำให้ผิวหนังมีการเคลื่อนไหวได้อย่างอิสระไม่ฉีกขาดได้ง่าย ในสุนัข แมว และกระต่าย ชั้นเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังจะมีมาก ทำให้การจับตัวสัตว์เพื่อเคลื่อนย้ายทำได้ง่าย โดยเฉพาะการจับตรงส่วนด้านหลังของคอ เนื้อเยื่อส่วนนี้ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิดหลวม และเนื้อเยื่อไขมัน โดยปริมาณของเนื้อเยื่อไขมันที่สะสมจะขึ้นกับสภาพร่างกายของสัตว์ ถ้าสัตว์อ้วนจะมีการสะสมเนื้อเยื่อไขมันจะมีมากกว่า เนื้อเยื่อใต้ผิวหนังจะเป็นตำแหน่งหนึ่งของร่างกายที่ใช้เก็บสะสมไขมันเรียกว่าไขมันใต้ผิวหนัง และเป็นตำแหน่งที่ใช้ในการฉีดยาหรือการทำวัคซีน โดยการที่ฉีดเข้าที่ใต้ผิวหนัง บางส่วนของร่างกายอาจไม่มีเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังเลยก็ได้ เช่น ส่วนริมฝีปาก บริเวณหนังตา และบริเวณหัวนม สามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังได้อย่างชัดเจน เมื่อร่างกายเกิดการบวมน้ำ (edema) หรือ การขาดน้ำ (dehydration)

1.4 สีของผิวหนัง (skin colour) สีของผิวหนังเกิดจากเม็ดสี (melanin) ที่อยู่ในไซโตพลาสซึมของเซลล์เมลาโนไซต์ (melanocytes) ซึ่งเป็นเซลล์ที่พบในชั้นหนังกำพร้าชั้นล่างสุด คือ ชั้นสตราทรัมบาเซลเล (stratum basale) สำหรับเม็ดสีคาร์โรทีนอย (caronoid) เป็นเม็ดสีซึ่งพบอยู่ในชั้นหนังแท้และพบในเลือดภายในเส้นเลือดฝอยของชั้นหนังแท้เม็ดสี (melanin) เป็นเม็ดสีที่ให้สีน้ำตาล (brown) น้ำตาลเหลือง (yellowish-brown) หรือสีดำ (black) สีที่ปรากฏบนผิวหนังมักเกิดจากเซลล์เมลาโนไซต์ (melanocytes) แล้วส่งเม็ดสีไปให้เซลล์ที่อยู่ใกล้เคียงของชั้นหนังกำพร้า การแสดงออกของสีที่เกิดขึ้นกับผิวหนังหรือขนมาจากมาจากจำนวนของเม็ดสีเมลานินที่ผลิตจากเซลล์เมลาโนไซต์มากกว่าจำนวนเซลล์เมลาโนไซต์ หรือการปรากฏของเม็ดสีชนิดอื่น สีที่ผิวหนังและขนมีปัจจัยควบคุมคือ ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง (pituitary hormones) โดยเฉพาะฮอร์โมนเอ็มเอสเอช (melanocyte stimulating hormone, MSH) และ เอซีทีเอช (adrenocorticotropic hormone, ACTH)

โรคผิวหนังติดเชื้อจากจุลินทรีย์

ผิวหนังอักเสบมักเกิดการติดเชื้อที่ชั้นหนังกำพร้า (epidermis) และหนังแท้ (dermis) บางครั้งอาจลุกลามไปถึงชั้นของพังผืด (fascia) ด้านบนด้วย การอักเสบที่เกิดขึ้นมักไม่รุนแรงถึงขั้นทำให้เกิดเนื้อตาย (necrosis)

1. การติดเชื้อจากกลุ่มของ *Staphylococcus spp.*

จัดอยู่ในวงค์ Micrococcaceae ตระกูล *Staphylococcus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะรูปร่างกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น หรือเป็นคู่ หรือเป็นสายสั้น ๆ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ เซลล์มีเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่าง 0.5-1.5 ไมโครเมตร โคโลนีมีสีเหลืองหรือสีทองเป็นแบคทีเรียแกรมบวกบางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษที่เป็นโปรตีนซึ่งทนต่อความร้อนได้ดี แต่จากอาหารเหลว

อาจเห็นเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้น มีบางสายพันธุ์สร้างแคปซูลหรือเมือก (slime) ช่วยให้เชื้อเพิ่มความรุนแรงในการก่อโรค เชื้ออายุน้อยติดสีแกรมบวกเมื่ออายุมากขึ้นติดสีแกรมลบและเป็นสาเหตุให้เกิดอาการเจ็บป่วยในมนุษย์ (นงลักษณ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2552)

Staphylococcus aureus เป็นเชื้อโรคที่สำคัญในโรงพยาบาลและในชุมชน ซึ่งจะมีชีวิตอยู่ในอากาศ, ฝุ่นละออง, ขยะมูลฝอย, น้ำ, อาหาร, และนม หรืออาหารที่บรรจุเสร็จ และเชื้อนี้ยังเจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศที่มีออกซิเจน ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตคือ 35-40 องศาเซลเซียส โดยจะพบอยู่ตามทางเดินหายใจ ลำคอ หรือ เส้นผมและผิวหนังถึง 50% หรือมากกว่านี้ในคนที่มีสุขภาพดี และอาจพบเชื้อชนิดนี้ 60-80% แต่ถ้าผิวหนังเกิดรอยบาดแผลหรือถลอกหรือได้รับการผ่าตัด เชื้อนี้จะบุกรุกเข้าเนื้อเยื่อชั้นใน โดยต้านทานต่อยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษา โดยเฉพาะเกิดการดื้อยาเพนิซิลลิน (penicillin) และเมธิซิลลิน (methicillin)

ลักษณะของการก่อโรค

1. การติดเชื้อที่ผิวหนัง

การติดเชื้อ *S. aureus* ทำให้เกิดฝี อาจเกิดที่ส่วนใดของร่างกายก็ได้ ส่วนใหญ่เกิดที่ผิวหนัง ซึ่งเริ่มต้นจากการติดเชื้อที่ต่อมน้ำมันบริเวณที่เกิดฝีจะเกิดการอักเสบ มีการสะสมเม็ดเลือดขาว เกิดการตายของเนื้อเยื่อ เมื่อฝีเจริญเต็มที่บริเวณเนื้อเยื่อที่ตายจะเต็มไปด้วยเม็ดเลือดขาวที่ตายแล้ว รวมทั้งแบคทีเรียที่เม็ดเลือดขาวไปกิน

2. ฝีและฝีฝักบัว (furuncles and carbuncles)

การติดเชื้อมักเกิดที่ผิวหนัง โดยเกิดที่ผิวหนังชั้นนอกทำให้เกิดการอักเสบ เช่น รูขุมขนอักเสบ เชื้อจะแพร่กระจายเข้าเนื้อเยื่อใต้หนังทำให้เกิดหนองกลายเป็นฝี (boil, furuncle) ส่วนฝีฝักบัว (carbuncle) คล้ายกับฝี แต่จะมีจำนวนมากกว่าและแพร่กระจายลึกลงในเนื้อเยื่อเส้นใย (fibrous tissue) ฝีฝักบัวมักเกิดที่คอหรือหลังส่วนบนซึ่งมีผิวหนังหนากว่า รูขุมขนอักเสบมักไม่ค่อยเจ็บแต่เมื่อการติดเชื้อแพร่กระจายลึกลงในเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังจะเกิดการอักเสบ และฝีจะอ่อนนุ่ม ฝีส่วนใหญ่จะหายเองได้ใน 3-5 วัน โดยหนองจะไหลออกมา ความเจ็บปวดลดลงและหายไปเอง แต่ก็อาจติดเชื้อซ้ำในบริเวณใกล้ ๆ อีก

3. โรคผิวหนังเป็นตุ่มพุพอง (impetigo)

เด็กทารกแรกเกิดมักเกิดจากการติดเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเกิดเป็นตุ่มมีหนอง หรือตุ่มพุพอง นอกจากนี้ยังพบในเด็กเล็ก ซึ่งมักเกิดรอบจมูก โดยเกิดเป็นตุ่มหนองแข็งห่อหุ้มอยู่บนผิวหนัง เมื่อสิ่งห่อหุ้มหลุดลอกออก จะเหลือแต่ผิวหนังที่เยิ้มแดง โรคนี้ติดต่อได้ง่าย เช่น ตามสถานรับเลี้ยงเด็กและในโรงเรียน

4. โรคผิวหนังหลุดลอก (scalded skin syndrome) หรือโรคริตเตอร์ (Ritter' disease)

เป็นโรคผิวหนังชั้นหนังกำพร้าจะแยกออกและหลุดลอกออก กลายเป็นผิวหนังที่มีขอบม้วน และเห็นผิวหนังข้างใต้เป็นมันเยิ้ม จะมีอาการเจ็บปวดมาก ผิวหนังร้อนแดงและมีเลือดคั่ง พื้นที่ผิวหนังส่วนใหญ่มีการลอกออกเป็นเกล็ดหรือเป็นสะเก็ดโรคนี้มักพบในเด็กแรกเกิดและเด็กอายุต่ำกว่า 4 ปี ในผู้ใหญ่ไม่ค่อยเกิดยกเว้นผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันถูกกดไว้

Staphylococcus epidermidis มีลักษณะโคโลนีขนาดเล็ก สีขาว สามารถเจริญได้ทั้งภาวะที่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อยเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นแบคทีเรียที่พบได้บ่อยที่สุดในกลุ่มที่ไม่สร้าง coagulase พบเป็นเชื้อประจำถิ่น (normal flora) บริเวณผิวหนัง โพรงจมูก รูหู และทางเดินปัสสาวะส่วนปลาย การใช้สายยางหรือท่อที่สอดเข้าไปในร่างกายเพื่อเอาของเหลวออกมา (catheters) และอวัยวะเทียม (prosthesis) กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น จึงทำให้เกิดการก่อการติดเชื้อในโรงพยาบาลมากขึ้น ยากต่อการรักษา และมีการดื้อยาที่ไม่แน่นอนซึ่งต่างกับ *S. aureus* ที่พบว่าการดื้อยาต่อกลุ่ม penicilinase-resistant penicillin มากกว่า ในการรักษาจึงจำเป็นต้องมีการใช้ผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะประกอบการวินัจฉัย (นงลักษณ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2552)

2 การติดเชื้อ *Propionibacterium acnes*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เจริญเติบโตในสภาวะไร้ออกซิเจน (anaerobes) เชื้อนี้อาจพบเป็นรูปไข่ แท่งสั้น หัวท้ายของเซลล์โตไม่เท่ากัน (Club shaped) ซึ่งไม่เคลื่อนที่เดิมจัดอยู่ในสกุล Corynebacterium เนื่องจากมีรูปร่างคล้าย diphteroid ปัจจุบันจัดอยู่ในสกุล *Propionibacterium* เนื่องจากลักษณะโครงสร้าง ส่วนประกอบของผนังเซลล์ และ DNA ตลอด ทั้งให้ผลผลิตของเมทาบอลิซึมเป็นกรดโพรพิโอนิค และแอซีติก ซึ่งแตกต่างจาก Corynebacterium สลายน้ำตาลส่วนใหญ่ได้กรดโพรพิโอนิค และกรดอะซิติก และมีการผลิตเอนไซม์แคทาเลส (นันทนา อรุณฤกษ์, 2538)

การวินิจฉัย

P. acnes เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในรูขุมขน ในระยะแรกที่เริ่มเกิดหัวสิวมักจะตรวจไม่พบ แต่ในระยะท้าย ๆ หรือระยะที่มีการอักเสบจะตรวจพบแบคทีเรียชนิดนี้ได้ทุกราย ผลการศึกษาวิจัยระยะหลังมานี้ เพิ่งจะพบว่าแบคทีเรียชนิดนี้จะกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดขาวสองชนิดคือ โมโนไซส์และนิวโตรฟิล (Monocyte and Neutrophil) ให้มีการหลั่งโปรตีนออกมาเป็นต้นเหตุ ให้เกิดการอักเสบขึ้น และถ้าร่างกายมีแอนติบอดีต่อ *P. acnes* มากจะทำให้มีความรุนแรงในการเกิดสิวตามไปด้วย โดยที่รูขุมขนจะขับโปรตีนและไขมันบริเวณรูขุมขนออกมา จนเป็นก้อนเกิดการอุดตันเรียนกว่าคอมิโดน (comedone) ที่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าเห็นเป็นสีขาว จากนั้น *P. acnes* เข้ามาย่อยไขมันบริเวณข้างต้น ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมัน จึงเกิดการรบกวนผิวหนังจึงเกิดการอักเสบบวมแดงขึ้น และบางครั้งอาจทำให้เกิดเยื่อบุหัวใจอักเสบ เมื่อสิวแตก อาจทำให้มีรอยแผลเป็นสีดำได้

การรักษา

วิธีทั่วไปที่ใช้ในการรักษาโรคสิวได้แก่ การใช้ยาปฏิชีวนะ เช่น สารเรตินอยด์ (retinoid) เตตร้าซัยคลิน (tetracycline) อิริโทรมัยซิน (erythromycin) แมคโคไรค์ (macrolide) และ คลินดามัยซิน (clindamycin)

3 การติดเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะรูปร่างแท่ง เจริญเติบโตโดยใช้ออกซิเจน (aerobic) เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Pseudomonadaceae สามารถเคลื่อนที่ได้โดยมีแฟลเจลล่า (flagella) 1 เส้นที่ติดอยู่ตรงหัว ปกติจะพบในดิน น้ำ ขยะ หรือในพืช และเป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้คน *Pseudomonas aeruginosa* สามารถทำให้เกิดโรคในคนได้ รวมทั้งสัตว์ แมลงและต้นไม้

P. aeruginosa จัดเป็นเชื้อโรคฉวยโอกาสจะมีการติดเชื้อกับผู้ที่ภูมิคุ้มกันต่ำหรือป่วยมากๆ หรือผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาล ซึ่ง *P. aeruginosa* เป็นสาเหตุอันดับสองในการทำให้เกิดโรคปอดบวมในโรงพยาบาล และเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ในการก่อให้เกิดโรคปอดบวม ในห้อง ICU การติดเชื้อจาก *Pseudomonas* สามารถพบการแพร่กระจายภายในโรงพยาบาลโดยบุคลากร อุปกรณ์การแพทย์ ผิวหนัง น้ำยาฆ่าเชื้อ และอาหาร โรคติดเชื้อนี้เป็นปัญหาที่รุนแรงมากในโรงพยาบาลมากเนื่องจาก ผู้ป่วยซึ่งมีอาการหนักอยู่แล้วจะเสียชีวิตเนื่องจากโรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* เนื่องจากดื้อต่อยาปฏิชีวนะมาก ทำให้ยากต่อการรักษา

การวินิจฉัย

P. aeruginosa สามารถติดเชื้อได้หลายระบบในร่างกายเนื่องจากมีหลายปัจจัยในการก่อให้เกิด เช่น ความสามารถในการเกาะยึดติดกับเยื่อบุผิว ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ สร้างโปรตีนที่มาทำลายเนื้อเยื่อ และมีการ protective outer coat ซึ่งสามารถทำให้เกิดการติดเชื้อได้ในหลายส่วนของร่างกาย

1. หัวใจ และกระแสเลือด *P. aeruginosa* เป็นสาเหตุอันดับ 4 ในการก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในกระแสเลือดการติดเชื้อในกระแสเลือดจะเกิดกับผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดและผู้ที่ติดเชื้อ ในบริเวณอื่นของร่างกาย จะมีการติดเชื้อที่ลิ้นหัวใจในผู้ติดยาที่ฉีดยาเข้าเส้นเลือดดำหรือผู้ที่ใช้ลิ้นหัวใจเทียม

2. กระดูกและข้อต่อ การติดเชื้อในส่วนนี้อาจเกิดจากการบาดเจ็บหรือมีการแพร่กระจายของเชื้อมาจาก เนื้อเยื่ออื่นหรือการติดเชื้อในกระแสเลือด ซึ่งผู้ป่วยโรคเบาหวาน ผู้ติดยาที่ฉีดยาเข้าเส้นเลือดดำ หรือติดเชื้อในกระแสเลือดจะมีความเสี่ยงในการติดเชื้อที่กระดูกและข้อต่อ

3. ระบบ ประสาทส่วนกลาง *P. aeruginosa* จะทำให้เกิดโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ซึ่งอาจเกิดจากการที่สมองได้รับบาดเจ็บจากการผ่าตัด จากการแพร่กระจายจากส่วนของของร่างกาย หรือจากการติดเชื้อในกระแสเลือด

4. สำหรับตาและหูเชื้อ *P.aeruginosa* จะก่อให้เกิดการติดเชื้อที่หูบริเวณส่วนนอกที่เรียกว่า “swimmer’s ear” ซึ่งโรคนี้สามารถหายได้เอง แบคทีเรียจะก่อให้เกิดอาการที่รุนแรงในผู้สูงอายุ ซึ่งนำไปสู่ปัญหาด้านการได้ยิน ใบหน้าเป็นอัมพาตหรือเสียชีวิต ส่วนการติดเชื้อที่ตามักเกิดจากการได้รับบาดเจ็บ ซึ่งจะทำให้เกิดรอยแผลเป็นที่กระจกตาซึ่งจะทำให้ตาบอดในที่สุด ปัจจัยที่มีผลในการทำให้เกิดความเสี่ยงในการติดเชื้อที่ตารวมถึงการใส่ซอฟท์คอนแทคเลนส์ การใช้ยาตาที่มี corticosteroid มีอาการโคม่า ถูกไฟไหม้รุนแรง หรือรักษาตัวอยู่ในห้อง ICU

วิธีการรักษา

เนื่องจาก *P. aeruginosa* ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ดังนั้นในการรักษาจึงนิยมให้ยาปฏิชีวนะสองตัวร่วมกัน โรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* มักรักษาโดยการให้ยาร่วมกัน เช่น ยา ceftazidine, gentamicin ciprofloxacinimipenem, tobramycin, ticarcillin- clavulonate, piperacillin-tazobactam ให้โดยฉีดเข้าเส้นเลือดดำหรือรับประทาน เป็นเวลา 2- 6 สัปดาห์ ถ้าเป็นการรักษาตาควรจะต้องใช้ยาหยอดตา

4. การติดเชื้อ *Candida albicans*

เป็นเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มเชื้อราเซลล์เดียว (unicellular) คือ พวกยีสต์ (yeast) หรือ ส่าราม มักจะพบลักษณะเซลล์รูปร่างกลม, ทรงขวด และไม่มีเส้นใย อยู่ในจีนัส Candida มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (eukaryotic cell) ส่วนมากขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศด้วยการแตกหน่อ (budding) แต่บางชนิดอาจขยายพันธ์แบบอาศัยเพศด้วยการสร้างสปอร์ ซึ่งมีชื่อเรียกว่า แอสโคสปอร์ (ascospore) หรือ เบสิดิโอสปอร์ (basidiospore) โดยพบได้ตามเยื่อเมือกที่มีอยู่ ในระบบทางเดินอาหาร(เช่น ช่องปาก คอหอยส่วนปาก หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร) ที่อวัยวะเพศหญิง(เช่น โยนี และช่องคลอด/เชื้อราในช่องคลอด) และที่อวัยวะเพศชาย (องคชาติ) ซึ่งในภาวะร่างกายมีภูมิคุ้มกันต้านทานโรค/ภูมิคุ้มกัน/ภูมิต้านทานปกติ ยีสต์กลุ่มนี้จะไม่ก่อโรค แต่ถ้าสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป เช่น อวัยวะนั้นมีการอับชื้น หรือร่างกายมีภูมิคุ้มกันผิดปกติ เช่น ต่ำลง ยีสต์นี้จะมีความรุนแรงขึ้น/เจริญเติบโตในปริมาณมากเกินปกติ จนก่อให้เกิดเป็นโรคขึ้นได้ ที่เรียกว่า “โรคแคนดิไดอะซิส (Candidiasis)”

การวินิจฉัย

1. การติดเชื้อเฉพาะที่บริเวณเยื่อเมือก ซึ่งจะเป็นการติดเชื้อในลักษณะเฉพาะที่ เช่น ในช่องปาก (เชื้อราช่องปาก) ในคอหอยส่วนปาก ในหลอดอาหาร ในช่องคลอด หรือที่อวัยวะเพศชาย อาการที่พบได้ของเชื้อรานี้ที่เยื่อเมือก เช่น บริเวณที่ติดเชื้อ/รอยโรค จะเห็นเป็นปื้นสีขาวข้น ผิวเรียบเป็นมัน เหมือนไขนม จับอยู่บนเนื้อเยื่อ รอบๆเนื้อเยื่อนั้นจะมีลักษณะ แดง เจ็บ แสบ คัน(โดยเฉพาะกรณีติดเชื้อที่ช่องคลอด) และอาจเห็นเป็นแผลปริแตก นอกจากนั้น อาการทั่วไปที่พบร่วมด้วยได้ คือ เบื่ออาหาร อาจรู้สึกอ่อนเพลีย ซึ่งการติดเชื้อลักษณะนี้ มักมีอาการไม่รุนแรง แพทย์สามารถรักษาโรคให้หายขาดได้

2. การติดเชื้อในกระแสเลือด เป็นการติดเชื้อแคนดิดาที่รุนแรงจนอาจเป็นสาเหตุให้เสียชีวิตได้ และสามารถตรวจพบเชื้อรานี้ได้ในกระแสเลือด (Fungemia) กรณีนี้ อาจพบมีการติดเชื้อที่ หัวใจ สมอง ตับ ไต ร่วมด้วย ผู้ป่วยจะมีอาการไข้สูง อ่อนเพลียมาก และมีอาการต่าง ๆ จากการทำงานผิดปกติของอวัยวะต่าง ๆ ขึ้นกับว่ามีการติดเชื้อ (การอักเสบติดเชื้อที่อวัยวะใด) เช่น กล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ สมองอักเสบ ไตอักเสบ ตับอักเสบ มักพบในคนที่มีภูมิคุ้มกันต้านทานโรคต่ำมาก

3. การติดเชื้อจากการใช้ยาปฏิชีวนะ โดยเกิดจากยาปฏิชีวนะฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่รวมถึงเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น ส่งผลให้ร่างกายเสียสมดุลระหว่างเชื้อโรคชนิดต่าง ๆ เชื้อราจึงเจริญเติบโตเกินปกติจนก่อโรคได้ ซึ่งอาการที่เกิดขึ้นอาจเป็นในลักษณะ การติดเชื้อเฉพาะที่ในบริเวณเยื่อเมือกหรือการติดเชื้อในกระแสโลหิตก็ได้ ขึ้นกับภูมิคุ้มกันต้านทานโรคของร่างกาย

5. การติดเชื้อ *Proteus vulgaris*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) มีลักษณะเป็นแท่งสั้น จัดอยู่ในวงศ์ (family) Enterobacteriaceae มีขนาดเล็ก 0.5x1.5 μm สามารถเจริญได้ทั้งในภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) สามารถเคลื่อนที่โดยใช้แฟลเจลลาที่อยู่รอบตัว (peritrichous flagella) มีการสร้างรอยการเจริญเติบโต (swarm) ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ในดิน น้ำและพืช นอกจากนี้ยังพบเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ของคนและสัตว์ เป็นเชื้อโรคฉวยโอกาส

6. การติดเชื้อ *Streptococcus mutaus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (gram positive) มีรูปร่างกลม (cocci) เรียงต่อกันเป็นสาย มีขนาด 0.5-0.75 μm เป็นแบคทีเรียประจำถิ่น ในช่องปาก ถ้าเลี้ยงในอาหารที่มีความเป็นกรดเซลล์จะมีรูปร่างเป็นแท่งสั้น ๆ สามารถเจริญได้ในที่มีทั้งออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}$C และสามารถเจริญเติบโตได้สูงสุดที่ 45 $^{\circ}$C และต่ำสุดที่ 10 $^{\circ}$C (Sneath, et al., 1986) เชื้อแบคทีเรีย *S. mutaus* มักก่อให้เกิดโรคฟันผุในมนุษย์เนื่องจากเชื้อสามารถสร้าง extracellular polysaccharide (EPS) มีแบบละลายน้ำและไม่ละลายน้ำได้ ทำให้เกิดเป็นคราบจุลินทรีย์ (biofilm) ที่ผิวฟัน และยังสามารถสร้างกรดจากการย่อยน้ำตาล ผิวฟันจึงทำให้ฟันผุ (Loesche, 2007)

ผลิตภัณฑ์เจล

เจลมีลักษณะเป็นกึ่งแข็งกึ่งเหลวโดยสารก่อตัวนั้นมีโครงสร้างเป็นตาข่าย จึงสามารถกักเก็บโมเลกุลของน้ำได้ องค์ประกอบส่วนใหญ่มีสารที่ทำหน้าที่เพิ่มความเหนียวหรือกึ่งแข็ง ได้แก่ สารจำพวกโพลีเมอร์ เช่น สารเพคติน (pectin), กรดอัลจินิค (alginic acid), เมทิลเซลลูโคส (methy cellulose) คาร์โบพอล (carbopal) เป็นต้น ซึ่งโพลีเมอร์บางชนิดละลายในน้ำดี บางชนิดไม่ละลาย

ในน้ำแต่สามารถพองตัวในน้ำได้ดีจึงทำให้เจลมีความหนืดมากขึ้น ข้อดีของเจลคือ เมื่อเวลาทาบนผิวหนังจะลดความเหนียวบนผิวหนัง แห้งง่าย และทิ้งตัวเป็นฟิล์มบางๆบนผิวหนัง ในขณะที่จะค่อย ๆ ปล่อยตัวยาออกมา เจลแบ่งตามชนิดของตัวกลางของเหลวที่ใช้ ออกเป็น 2 ชนิด คือ ไฮโดรเจล (Hydrogel) และโอลิโอเจล (Oleogels)

1. ไฮโดรเจล เป็นเจลที่นิยมผลิตในทางเภสัชกรรม มีตัวกลางเป็นน้ำ สารก่อเจลทางธรรมชาติที่ใช้ ได้แก่ กัม, คาราจีแนน, เพกติน, ไคโตซาน เป็นต้น สารก่อเจลทางกึ่งสังเคราะห์ที่ใช้ได้แก่ อนุพันธ์ของเซลลูโลส และ สารก่อเจลสังเคราะห์ที่ใช้ ได้แก่ คาร์โบเมอร์ เจลชนิดนี้สามารถเพิ่มให้เจลมีคุณสมบัติตามที่ต้องการได้ เช่น ต้องเก็บความชื้น เพื่อป้องกันการระเหยเร็วเกิน เติม โพรพิลีนกลัยคอล กลีเซอรีน ต้องการเพิ่มความคงตัว เช่น เติมสารต้านออกซิเดชัน สารกันเสีย

2. โอลิโอเจล เป็นเจลที่ประกอบด้วย สารเคมีสังเคราะห์ กับตัวกลางของเหลวที่ไม่ชอบน้ำ เช่น น้ำมันแร่ เป็นต้น

จากงานวิจัยสู่การพัฒนา

1. ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา โดยวิธี Disk Diffusion

จากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา โดยในการศึกษาครั้งนี้ใช้เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ มีดังนี้ *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *S. epidermidis* TISTR518, *P. acnes* DMST14916, *S. mutans* DMST14283, *P. aeruginosa* TISTR781, *P. vulgaris* DMST557 และ *C. albicans* TISTR5554 ได้ผลการทดลองดังตาราง สารสกัดหยาบจากใบของต้นโนราที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคยับยั้งได้ดีที่สุดคือ *S. epidermidis* TISTR518 ถัดต่อมา คือ *P. vulgaris* DMST557, *S. aureus* TISTR2329, *S. aureus* TISTR1466 และ *S. mutans* DMST14283 โดยมี Inhibition zone เท่ากับ 13±0.00, 12.67±0.58, 12.33±0.58, 12±0.00 mm. ตามลำดับ และสารสกัดหยาบจากลำต้นโนราที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคยับยั้งได้ดีที่สุด คือ *S. epidermidis* TISTR518 ลำดับต่อมา คือ *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *P. vulgaris* DMST557, และ *S. mutans* DMST14283 โดยวัดวงใส (Inhibition zone) เท่ากับ 11.67±0.58, 11.33±0.58, 11.33±0.58, 10.33 ±0.58, 6.67 ±0.58 mm. ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดหยาบทั้งจากส่วนใบและส่วนลำต้นโนราไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. acnes* DMST 14916, *P. aeruginosa* TISTR781, *C. albicans* TISTR5554

ตารางที่ 1 ผลฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

Pathogenic Bacteria	Inhibition zone (mm.)				
	Leaves	stem	DMSO	Antibiotics	
				clindamycin	ketoconazole
S. aureus TISTR 1466	12.00 ± 0.00	11.33 ± 0.58	-	23.67 ± 0.58	NT
S. aureus TISTR 2329	12.33 ± 0.58	11.33 ± 0.58	-	23.55 ± 0.58	NT
S. epidermidis TISTR 518	13.00 ± 0.00	11.67 ± 0.58	-	18.33 ± 0.58	NT
S. mutans DMST 14283	9.67 ± 0.58	6.67 ± 0.58	-	24.33 ± 0.58	NT
P. acnes DMST 14916	-	-	-	24 ± 0.00	NT
P. vulgaris DMST 557	12.67 ± 0.58	10.33 ± 0.58	-	20.33 ± 0.58	NT
P. aeruginosa TISTR 781	-	-	-	-	NT
C. albicans TISTR 5554	-	-	-	NT	27 ± 0.00

หมายเหตุ : clindamycin และ ketoconazole เป็นยาปฏิชีวนะ

2. ผลการศึกษาการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดหยาบต้นโนราโดยใช้วิธี MIC และ MBC

จากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจากสารสกัดหยาบต้นโนรา โดยวิธี Disk Diffusion พบว่า สารสกัดหยาบทั้งส่วนใบ และส่วนลำต้น มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ดังนี้ *S. epidermidis* TISTR518, *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *P. vulgaris* DMST557, และ *S. mutaus* DMST14283 จึงนำเชื้อทั้ง 5 ตัวนี้มาทำการศึกษาหาปริมาณสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยใช้วิธี macro broth dilution methodได้ผลการทดลองดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์(mg/ml)

เชื้อจุลินทรีย์	**ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์** (mg/ml)			
	สารสกัดหยาบจากใบโนรา		สารสกัดหยาบจากลำต้นโนรา	
	MIC	MBC	MIC	MBC
S. aureus TISTR 1466	7.81	31.25	15.63	62.5
S. aureus TISTR 2329	7.81	31.25	15.63	62.5
S. epidermidis TISTR 518	3.90	15.62	3.90	15.62
S. mutaus DMST 14283	125	250	125	250
P. vulgaris DMST 557	62.5	125	125	125

จากตารางที่ 2 แสดงปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากใบโนราที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ปริมาณน้อยที่สุด (MIC) คือ *S. epidermidis* TISTR 518 มีค่า MIC เท่ากับ 3.90 รองลงมา คือ *S. aureus* TISTR1466 มีค่า MIC เท่ากับ 7.81, *S. aureus* TISTR2329 มีค่า MIC เท่ากับ 7.81, *P. vulgaris* DMST557 มีค่า MIC เท่ากับ 62.5 และเชื้อ *S. mutaus* DMST14283 มีค่า MIC เท่ากับ 125 mg/ml และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) เท่ากับ 15.62, 31.25, 31.25, 125, 250 mg/ml ตามลำดับ ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากลำต้นโนราที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ปริมาณน้อยที่สุด (MIC) คือ *S. epidermidis* TISTR518 มีค่า MIC เท่ากับ 3.90 รองลงมา คือ *S. aureus* TISTR1466 มีค่า MIC เท่ากับ 15.63, *S. aureus* TISTR2329 มีค่า MIC เท่ากับ 15.63, *P. vulgaris* DMST557 มีค่า MIC เท่ากับ 125 และ *S. mutaus* DMST14283 มีค่า MIC เท่ากับ 125 mg/ml และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) เท่ากับ 15.62, 62.5, 62.5, 125, 250 mg/ml ตามลำดับ

การปฏิบัติการ
การทำเจลจากสารสกัดหยาบใบโนราที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง

หลักการและเหตุผล

การเกิดผิวหนังอักเสบ (Dermatitis) คือ การอักเสบของผิวหนังที่เกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ ส่วนมากมักมีอาการผื่นคัน บวม หรือแดงตามผิวหนัง บางครั้งอาจเกิดเป็นแผลพุพอง มีน้ำหนอง หรือตกสะเก็ดร่วมด้วย ผิวหนังอักเสบที่พบบ่อย ได้แก่ โรคผื่นคัน โรคภูมิแพ้ผิวหนัง โรคเซบเดิร์ม และผื่นระคายสัมผัส อย่างไรก็ตาม โรคเหล่านี้ไม่ติดต่อสู่ผู้อื่น แต่อาจทำให้รู้สึกคันหรือระคายเคือง และเสียความมั่นใจเพราะลักษณะผิวหนังที่ผิดปกติได้ โดยปกติผิวหนังของคนเรามีเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น (Normal Flora) อาศัยอยู่ ซึ่งโดยปกติไม่ก่อให้เกิดโรคทางผิวหนัง หากแต่เมื่อมีบาดแผล, มีโรคผิวหนังอื่น ๆ, สุขอนามัยไม่ดี หรือผู้ป่วยที่มีภูมิต้านทานต่ำจะทำให้ทีโอกาสเกิดโรคทางจุลินทรีย์ได้ ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ก็มีโอกาสทำให้เกิดโรคได้ ตัวที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อมากที่สุด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis, Propionibacterium acnes* และ *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ก่อเกิดโรคผิวหนังอักเสบมากที่สุด

วิธีการป้องกันเชื้อโรคที่ดีทางหนึ่ง คือ การชำระผิวให้สะอาดและแห้งโดยใช้ผลิตภัณฑ์ประเภทสบู่เหลว สบู่ก้อน หรือน้ำยาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติสามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่จำหน่ายทั่วไปมักมีการเติมสารเคมีที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ อาจทำให้ผู้บริโภคอาจเกิดการแพ้สารเคมี หรือเกิดสารตกค้างในร่างกาย หากแต่มีการนำสารสกัดสมุนไพรมาใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จะช่วยในการลดการใช้สารเคมี หากแต่ในปัจจุบันได้มีผลิตภัณฑ์ความงามที่มีคุณสมบัติในการรักษาโรคทางผิวหนังที่เกิดจากจุลินทรีย์ เพื่อการรักษาผิวพรรณออกมาจำหน่ายมากมาย ซึ่งเครื่องสำอางเหล่านี้ได้ผลิตออกมาโดยการผสมสารเคมีและยาปฏิชีวนะที่มีความแรง เมื่อนำมาให้รักษาที่ผิวหน้าเป็นเวลานานแล้วอาจทำให้เกิดการแพ้หรือเกิดการดื้อยาปฏิชีวนะที่ผิวหนังในบริเวณนั้น ๆ

สมุนไพรไทยบางชนิดในประเทศไทยนั้นมีสารบางชนิดที่มีฤทธิ์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อเกิดโรคผิวหนังได้ เช่น ขมิ้น, ต้นหมอน้อย, ต้นฟักแม้ว, มะนาว, มังคุด, ต้นโนรา เป็นต้น หากแต่การนำสมุนไพรเหล่านั้นมาทำการคั้นสด ๆ และพอกไปที่ผิวโดยตรงนั้นเมื่อสารสกัดแห้งลงอาจทำให้ผิวหนังบริเวณนั้นแห้งตึง และ อาจเกิดสีตามธรรมชาติของสารสกัดนั้น ๆ ทำให้ไม่สามารถออกไปดำเนินชีวิตกลางแจ้งได้หรือการใช้สารสกัดเข้มข้นอาจก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังได้

จากการวิจัยต้นโนราพบว่า มีสารจำพวก ฟลาวาโนน (flavanone) ฟลาโวนอล (flavonol) และ คอนเดนส์แทนนิน (condensed tannin) ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถนำมาใช้เป็นประโยชน์ในการรักษาโรคภัยต่าง ๆ (สุรางค์รัตน์ พันแสง และคนอื่น ๆ , 2560)

ในปัจจุบันต้นโนราจัดเป็นต้นไม้ที่หายาก เนื่องจากเป็นไม้พุ่มเลื้อยโตไว และรบกวนต่อการเจริญเติบโตของพืชเศรษฐกิจ ทำให้ชาวเกษตรกรตัด เผาทำลายมากกว่า และเกษตรกรขาดความรู้ถึงประโยชน์ของต้นไม้ชนิดนี้ จึงทำให้ผู้ทำวิจัยสนใจในการทำต้นโนรามาทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนราเพื่อเป็นการหาผลิตภัณฑ์ที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากธรรมชาติ และเป็นการส่งเสริมอนุรักษ์พันธุ์พืชอีกด้วย

วัตถุประสงค์

เพื่อถ่ายทอดความรู้จากผลงานวิจัยสู่ชุมชนโดยการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการเกี่ยวกับทำผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

สารเคมีและอุปกรณ์

สารเคมี

ส่วน	สารเคมี	คุณสมบัติ
A	น้ำสะอาด (Water)	ตัวทำละลาย
	คาโบเมอร์ (Carbomer)	ตัวสร้างเนื้อในตัวทำละลายน้ำ
	ด่าง (Triethanolamin)	ปรับค่าความเป็นด่าง
	ไกแด๊น (Glydant L Plus)	วัตถุกันเสีย
B	สารสกัดหยาบใบโนรา	ตัวเกิดปฏิกิริยายับยั้งการเกิดแบคทีเรีย
	น้ำสะอาด (Water)	ตัวทำละลาย
C	น้ำหอม (Fragrance)	เพิ่มความหอม
	ทวีน 80 (Tween 80)	ตัวประสานน้ำกับน้ำมัน

อุปกรณ์

1. บีกเกอร์ ขนาด 1,000 ml. 1 ใบ
2. บีกเกอร์ ขนาด 25 ml. 2 ใบ
3. ไม้พายสำหรับกวนเนื้อเจล
4. เตาไฟฟ้า
5. หลอดหยดสาร 2 อัน
6. ช้อนตักสาร

วิธีการทำ

1. นำ น้ำสะอาด ไปให้ความร้อน 80-85 $^{\circ}$C ค่อย ๆ เติม ผงคาโบเมอร์ ทีละน้อย ๆ จนหมด จากนั้นหยุดให้ความร้อน

2. เติม ด่าง ลงไปจะได้เนื้อใสข้น กวนจนเนื้อเนียน

3. ลดอุณหภูมิลง 40 °C เติม ไกแด๊น จากนั้นกวนจนเป็นเนื้อเดียวกัน
4. แยกภาชนะ เติม สารสกัดหยาบใบโนรา ละลายกับ น้ำสะอาด จนละลาย
5. แยกภาชนะ เติม น้ำหอม ละลายกับ ทวีน 80 จนละลาย
6. เติมข้อ 7. ลงใน ข้อ 6.
7. ใช้หลอดหยดข้อ 8 ทีละน้อย ค่อย ๆ เติมจนกลิ่นหอม

แบบทดสอบความเข้าใจ ก่อนและหลัง
การอบรมเชิงปฏิบัติการเผยแพร่และถ่ายทอดองค์ความรู้
เรื่อง การผลิตเจลจากสารสกัดหยาบใบโนรายับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง

ชื่อ.....นามสกุล.....

<u>คำชี้แจง</u> จง × ข้อที่ถูกที่สุดเพียงข้อเดียว

1. ต้นโนรา มีสรรพคุณดังต่อไป ยกเว้น ข้อใด

ก. ช่วยให้เจริญอาหาร ข. ช่วยให้ผิวขาว
ค. ช่วยรักษาโรคผิวหนัง ง. ช่วยรักษาแผลสด

2. ต้นโนรา มีชื่อเรียกตามท้องถิ่นของจังหวัดเพชรบูรณ์อย่างไร

ก. ควายเก้าแม่ ข. ควายก้าวขา
ค. ควายนพคุณ ง. ควายท้องใหญ่

3. ข้อใดเป็นลักษณะลำต้นของต้นโนรา

ก. ไม้เถาหรือไม้พุ่มรอเลื้อย ข. ไม้ยืนต้น
ค. ไม้ล้มลุก ง. ไม้น้ำ

4. ต้นโนราออกดอกในช่วงฤดูใดของประเทศไทย

ก. ฤดูร้อน ข. ฤดูฝน
ค. ฤดูหนาว ง. ออกได้ตลอดปี

5. ในอดีตต้นโนรานิยมเอามารักษาโรคใด

ก. โรคลมชัก ข. โรคผิวหนัง
ค. โรคประสาท ง. โรคสตรี

6. พฤกษเคมี (phytochemistry) หมายถึง

ก. องค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบเฉพาะในพืชบางชนิด
ข. องค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบเฉพาะในพืชทุกชนิด
ค. องค์ประกอบทางเคมีบางประการที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบเฉพาะในพืชบางชนิด
ง. องค์ประกอบทางเคมีบางประการที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบเฉพาะในพืชทุกชนิด

7. สารประกอบกลุ่มฟีนอลิกมีสรรพคุณอย่างไร

ก. ลดการเกิดอนุมูลอิสระ ข. เพิ่มการเกิดอนุมูลอิสระ
ค. เพิ่มการเสียน้ำในร่างกาย ง. เพิ่มไขมันในร่างกาย

8. สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์มีคุณสมบัติอย่างไร

ก. เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ
ข. ป้องกันการเกิดมะเร็ง
ค. เป็นสารต้านการแพ้
ง. ถูกทุกข้อ

9. แทนนิน (Tanin) มีคุณสมบัติอย่างไร

ก. เพิ่มการเกิดเม็ดสีบนผิวหนัง
ข. เพิ่มการเกิดผมขาว ผมหงอก
ค. ยับยั้งการร่วงของผม
ง. ยับยั้งการเกิดเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

10. แทนนิน มีรสชาติอย่างไร

ก. หวาน
ข. ฝาด
ค. เปรี้ยว
ง. เค็ม

11. ผิวหนังแบ่งออกเป็น 2 ชั้น ได้แก่

ก. หนังกำพร้า และ หนังแท้
ข. หนังกำพร้า และ กล้ามเนื้อ
ค. หนังแท้ และ กล้ามเนื้อ
ง. เนื้อเยื่อ และ หนังที่ตายแล้ว

12. หนังกำพร้าที่หนาที่สุดอยู่บริเวณใด

ก. เปลือกตา
ข. ส้นเท้า
ค. ข้อศอก
ง. ฝ่ามือ

13. หนังกำพร้าที่บางที่สุดอยู่บริเวณใด

ก. เปลือกตา
ข. ส้นเท้า
ค. ข้อศอก
ง. ฝ่ามือ

14. ขี้ไคล เกิดจากอะไร

ก. หนังกำพร้าที่แห้งและตายลง
ข. หนังกำพร้าที่แห้งและตายลง
ค. เนื้อเยื่อใต้ผิวที่แห้งและตายลง
ง. เม็ดสีของผิวเกิดการขยายตัว

15. โรคผิวหนังอักเสบ มักเกิดขึ้นได้อย่างไร

ก. เกิดจากความผิดปกติตอนการแบ่งตัวของเซลล์
ข. เกิดจากการตากแดดเป็นเวลานาน
ค. เกิดจากการติดเชื้อที่ชั้นหนังกำพร้า และหนังแท้
ง. เกิดจากการอาบน้ำบ่อยเกินไป

16. โรคที่เกิดจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* คือโรคใด

ก. โรคฝี หนอง
ข. โรคสะเกิดเงิน
ค. โรคบิด
ง. โรคกลากเกลื้อน

17. *Propionibacterium acnes* ก่อโรคใดในมนุษย์

ก. โรคผิวหนัง ข. โรคฝี หนอง

ค. บิด ง. สิว

18. “สารคาโบเมอร์” ทำหน้าที่อะไร ในผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง

ก. เป็นตัวสร้างเนื้อเจลในตัวทำละลายน้ำ

ข. เป็นตัวยับยั้งการเจริญเติมโตของจุลินทรีย์

ค. เป็นตัวเพิ่มกลิ่นในเจล

ง. เป็นตัวประสานน้ำกับน้ำมันในเจล

19. ข้อดีของผลิตภัณฑ์เจล

ก. เมื่อเวลาทาบนผิวหนังจะลดความเหนียวบนผิวหนัง แห้งง่าย

ข. เมื่อเวลาทาบนผิวหนังจะเพิ่มความเหนียวบนผิวหนัง แห้งง่าย

ค. เมื่อเวลาทาบนผิวหนังจะเพิ่มความเหนียวบนผิวหนัง แห้งช้า

ง. เมื่อเวลาทาบนผิวหนังจะติดทนเกาะผิวหนังได้ดี

20. ข้อใดคือคุณสมบัติของเจลจากสารสกัดหยาบใบโนรา

ก. ทาแล้วลดการอักเสบของผิวหนัง

ข. ใช้ทาผิวกายให้ขาวกระจ่างใสขึ้น

ค. ใช้ทาผิวกายเพื่อป้องกันแสงแดด

ง. ใช้ทาผิวกายเพื่อลดเซลลูไลซ์

เฉลยแบบทดสอบความเข้าใจ ก่อนและหลัง
การอบรมเชิงปฏิบัติการเผยแพร่และถ่ายทอดองค์ความรู้
เรื่อง การผลิตเจลจากสารสกัดหยาบใบโนรายับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง

1. ข
2. ก
3. ก
4. ค
5. ข
6. ข
7. ก
8. ง
9. ง
10. ข
11. ก
12. ข
13. ก
14. ก
15. ค
16. ก
17. ง
18. ก
19. ก
20. ก

ภาคผนวก ค
ผลการจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ
เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

ตารางที่ ค.1 ตารางแสดงผลการทดสอบวัดความรู้ก่อนและหลังการอบรม เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

คนที่	ก่อน	หลัง	D	D^2
1	14	19	5	0.16
2	16	17	1	19.36
3	8	15	7	2.56
4	12	15	3	5.76
5	12	16	4	1.96
6	13	17	4	1.96
7	13	17	4	1.96
8	6	15	9	12.96
9	16	19	3	5.76
10	5	14	9	12.96
11	10	17	7	2.56
12	10	18	8	6.76
13	8	16	8	6.76
14	12	17	5	0.16
15	12	18	6	0.36
16	14	17	3	5.76
17	8	13	5	0.16
18	11	17	6	0.36
19	13	19	6	0.36
20	10	16	6	0.36
21	11	17	6	0.36
22	8	16	8	6.76
23	12	18	6	0.36
24	11	15	4	1.96
25	13	18	5	0.16

คนที่	ก่อน	หลัง	D	D^2
26	10	17	7	2.56
27	14	17	3	5.76
28	12	16	4	1.96
29	13	17	4	1.96
30	12	18	6	0.36
Mean	11.30	16.70	5.4	3.71
SD	2.641	1.442		

ตารางที่ ค.2 ผลการประเมินความพึงพอใจในการอบรมของผู้เข้ารับการอบรมเชิงปฏิบัติการเผยแพร่และถ่ายทอดองค์ความรู้ เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

หัวข้อการประเมิน	**ระดับความพึงพอใจ**		
	ค่าเฉลี่ย	**S.D**	**เกณฑ์การประเมิน**
1. ความเหมาะสมของเนื้อหาในการอบรม	4.60	0.56	มากที่สุด
2. บุคลิกภาพของวิทยาการผู้ให้การอบรม	4.67	0.55	มากที่สุด
3. เทคนิคการถ่ายทอดความรู้ของวิทยาการ	4.70	0.70	มากที่สุด
4. อุปกรณ์และโสตทัศนูปกรณ์	4.70	0.53	มากที่สุด
5. เอกสารที่ใช้ในการอบรม	4.53	0.82	มากที่สุด
6. ระยะเวลาที่ใช้ในการอบรม	4.63	0.67	มากที่สุด
7. ความเหมาะสมของสถานที่จัดอบรม	4.77	0.63	มากที่สุด
8. ความเหมาะสมของอาหารว่างและอาหารกลางวัน	4.70	0.65	มากที่สุด
9. สามารถนำความรู้ที่ได้จากการอบรมไปใช้ปฏิบัติได้จริง	4.80	0.41	มากที่สุด
10. ประโยชน์ที่ได้จากการอบรม	4.80	0.41	มากที่สุด
เฉลี่ย	4.69	0.59	

หมายเหตุ เกณฑ์การให้คะแนน ค่าเฉลี่ย 5.00-4.50 หมายถึง ความเหมาะสมระดับมากที่สุด
ค่าเฉลี่ย 4.49-3.50 หมายถึง ความเหมาะสมระดับมาก
ค่าเฉลี่ย 3.49-2.50 หมายถึง ความเหมาะสมระดับปานกลาง
ค่าเฉลี่ย 2.49-1.50 หมายถึง ความเหมาะสมระดับน้อย
ค่าเฉลี่ย 1.49-1.0 หมายถึง ความเหมาะสมระดับน้อยที่สุด

ภาพที่ ค.1 การลงทะเบียนผู้เข้ารับการอบรมเชิงปฏิบัติการ

ภาพที่ ค.2 บรรยากาศของการอบรม

ภาพที่ ค.3 การปฏิบัติการทำเจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

ภาพที่ ค.4 ผู้เข้ารับการอบรมทำแบบทดสอบหลังการอบรม

ภาพที่ ค.5 หลังอบรมเชิงปฏิบัติการเจลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบต้นโนรา

ภาคผนวก ง
ผลวิเคราะห์การทดลองและทางสถิติการทดสอบการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ t-test

การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจากสารสกัดหยาบโนรา ด้วยวิธี Disk diffusion

ตารางที่ ค.1 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติ t-test ของเชื้อ *S.aureus* TISTR1466

สารสกัด	N	Mean	S.D.	ผลต่างของค่าเฉลี่ย	t	df	Sig 1 tailed
ส่วนของใบ	3	12.33	0.58	1.00	2.12	2	0.051
ส่วนของต้น	3	11.33	0.58				

จากการทดสอบสถิติ t พบว่า ค่าเฉลี่ยของเชื้อ *S.aureus* TISTR1466 ระหว่างสารสกัดหยาบส่วนของใบกับส่วนของลำต้น ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p > 0.05$

ตารางที่ ค.2 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติ t-test ของเชื้อ *S.aureus* TISTR2329

สารสกัด	N	Mean	S.D.	ผลต่างของค่าเฉลี่ย	t	df	Sig 1 tailed
ส่วนของใบ	3	12.33	0.58	1.00	2.12	2	0.051
ส่วนของต้น	3	11.33	0.58				

จากการทดสอบสถิติ t พบว่า ค่าเฉลี่ยของเชื้อ *S.aureus* TISTR2329 ระหว่างสารสกัดหยาบส่วนของใบกับส่วนของลำต้น ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p > 0.05$

ตารางที่ ค.3 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติ t-test ของเชื้อ *S.epidermidis* TISTR518

สารสกัด	N	Mean	S.D.	ผลต่างของค่าเฉลี่ย	t	df	Sig 1 tailed
ส่วนของใบ	3	13.33	0.58	1.67	3.54	2	0.012
ส่วนของต้น	3	11.33	11.67				

จากการทดสอบสถิติ t พบว่า ค่าเฉลี่ยของเชื้อ *S.epidermidis* TISTR518 ระหว่างสารสกัดหยาบส่วนของใบ สูงกว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นโนราอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$

ตารางที่ ค.4 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติ t-test ของเชื้อ *S.mutans* DMST14283

สารสกัด	N	Mean	S.D.	ผลต่างของค่าเฉลี่ย	t	df	Sig 1 tailed
ส่วนของใบ	3	9.67	0.58	3.00	6.36	2	0.002
ส่วนของต้น	3	11.33	6.67				

จากการทดสอบสถิติ t พบว่า ค่าเฉลี่ยของเชื้อ *S.mutans* DMST14283 ระหว่างสารสกัดหยาบส่วนของใบ สูงกว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นโนราอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$

ตารางที่ ค.5 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติ t-test ของเชื้อ *P.vulgaris* DMST557

สารสกัด	N	Mean	S.D.	ผลต่างของค่าเฉลี่ย	t	df	Sig 1 tailed
ส่วนของใบ	3	12.67	0.58	2.00	4.24	2	0.007
ส่วนของต้น	3	11.33	10.67				

จากการทดสอบสถิติ t พบว่า ค่าเฉลี่ยของเชื้อ *P.vulgaris* DMST557 ระหว่างสารสกัดหยาบส่วนของใบ สูงกว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นโนราอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$

การศึกษาประสิทธิภาพฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังของผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบโนรา ด้วยวิธี Disk diffusion

เมื่อนำสารสกัดหยาบส่วนของใบและส่วนลำต้นโนราไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังแล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังก่อนเข้าสู่การทดสอบภายใต้สภาวะเร่ง 6 รอบ และเมื่อครบ 6 รอบแล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์อีกครั้งเมื่อนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติได้ผลการวิเคราะห์ดังนี้

ตารางที่ ค.6 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติ t-test ของผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดใบโนรา

สถานะ	N	Mean	S.D.	ผลต่างของค่าเฉลี่ย	t	df	Sig 1 tailed
ก่อนบ่ม	3	9.80	1.01	2.75	9.04	2	0.000
หลังบ่ม	3	7.05	0.60				

จากการทดสอบสถิติ t พบว่า ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบใบโนรา ระหว่างก่อนบ่ม สูงกว่าหลังบ่ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$

ตารางที่ ค.7 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติ t-test ของผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดลำต้นโนรา

สถานะ	N	Mean	S.D.	ผลต่างของค่าเฉลี่ย	t	df	Sig 1 tailed
ก่อนบ่ม	3	8.64	1.33	2.14	5.90	2	0.000
หลังบ่ม	3	6.50	0.45				

จากการทดสอบสถิติ t พบว่า ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์เจลจากสารสกัดหยาบใบโนรา ระหว่างก่อนบ่ม สูงกว่าหลังบ่ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$

ภาคผนวก จ
วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Brain heart infusion (BHI)

ส่วนประกอบ

HM infusion powder	12.50	g.
BHI powder	5.00	g.
Proteose peptone	10.00	g.
Dextrose (Glucose)	2.00	g.
Sodium chloride	5.00	g.
Disodium phosphate	2.50	g.
Distilled water	1,000	ml.
pH	7.4±0.2	

วิธีทำ

ชั่ง BHI 37 กรัม นำส่วนผสมมาละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับ pH 7.4 ± 0.2 แบ่งใส่หลอดทดลอง ปริมาตรหลอดล่ะ 2 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2. Brain heart infusion agar (BHIA)

ส่วนประกอบ

HM infusion powder	12.50	g.
BHI powder	5.00	g.
Proteose peptone	10.00	g.
Dextrose (Glucose)	2.00	g.
Sodium chloride	5.00	g.
Disodium phosphate	2.50	g.
Agar	15.00	g.
Distilled water	1,000	ml.
pH	7.4±0.2	

วิธีทำ

ชั่ง BHIA 52 กรัม นำส่วนผสมมาละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับ pH 7.4 ± 0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศา-เซลเซียส นาน 15 นาที

3. Muller hinton broth (MHB)

ส่วนประกอบ

Beef extract power	2	g.
Acid digest of Casein	17.5	g.
Soluble starch	1.5	g.
Distilled water	1,000	ml.
pH	7.3 ± 0.1	

วิธีทำ

ชั่ง MHB 21 กรัม นำส่วนผสมมาละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับ pH 7.3 ± 0.1 แบ่งใส่หลอดทดลอง ปริมาตรหลอดล่ะ 2 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

4. Muller hinton agar (MHA)

ส่วนประกอบ

Beef extract power	2	g.
Acid digest of Casein	17.5	g.
Soluble starch	1.5	g.
Agar	15	g.
Distilled water	1,000	ml.
pH	7.3 ± 0.1	

วิธีทำ

ชั่ง MHB 38 กรัม นำส่วนผสมมาละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้วุ้นละลาย ปรับ pH 7.3 ± 0.1 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

5. Mannitol Salt Agar (MSA)

ส่วนประกอบ

Proteose peptone	10.00	g.
HM peptone	1.00	g.
Sodium chloride	75.00	g.
D(-) Mannitol	10.00	g.

Phenol red	0.025	g.
Agar	15.00	g.
Distilled water	1,000	ml.
pH	7.4 ± 0.2	

วิธีทำ

ชั่ง MSA 111.02 กรัม นำส่วนผสมมาละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้วุ้นละลาย ปรับ pH 7.4 ± 0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

6. Plate count agar (PCA)

ส่วนประกอบ

Casein enzymic hydrolysate	5.00	g.
Yeast extract	2.50	g.
Dextrose	1.00	g.
Agar	15.00	g.
Distilled water	1,000	ml.
pH	7.0 ± 0.2	

วิธีทำ

ชั่ง PCA 23.5 กรัม นำส่วนผสมมาละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้วุ้นละลาย ปรับ pH 7.0 ± 0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

7. Sabouraud dextrose agar (SDA)

ส่วนประกอบ

Mycological peptone	10.00	g.
Dextrose	40.00	g.
Agar	15.00	g.
Distilled water	1,000	ml.
pH	5.6 ± 0.2	

วิธีทำ

ชั่ง SDA 65.0 กรัม นำส่วนผสมมาละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้วุ้นละลาย ปรับ pH 5.6 ± 0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

8. Trypticase soy agar (TSA)

ส่วนประกอบ

Pancareatic digest of Casein	15.00	g.
Enzymatic digest of Soybean meal	5.00	g.
Sodium chloride	5.00	g.
Agar	15.00	g.
Distilled water	1,000	ml.
pH	7.3 ± 0.2	

วิธีทำ

ชั่ง TSA 40 กรัม นำส่วนผสมมาละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้วุ้นละลาย ปรับ pH 7.3 ± 0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

10. Trypticase soy broth (TSB)

ส่วนประกอบ

Pancareatic digest of Casein	15.00	g.
Enzymatic digest of Soybean meal	5.00	g.
Sodium chloride	5.00	g.
Distilled water	1,000	ml.
pH	7.3 ± 0.2	

วิธีทำ

ชั่ง TSB 30 กรัม นำส่วนผสมมาละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับ pH 7.3 ± 0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

การเตรียมสารทดสอบเชื้อ

1. สารละลาย Oxidase Test Reagent

ส่วนประกอบ

1% Tetramethyl-p-phenylene-p-phenylenediamine hydrochloride	1 g.
Distilled water	100 ml.

วิธีทดสอบ

หยดสารทดสอบลงบนกระดาษกรอง 1 หยด จากนั้นนำเชื้อที่ต้องการทดสอบที่ป้ายลงกระดาษที่หยดสารทดสอบแล้ว ถ้าเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นสีม่วง ให้ผลเป็นบวก

2. การเตรียม Coagulase Plasma

ส่วนประกอบ

Plasma	
น้ำเกลือ	0.85 %

วิธีทำ

ฆ่าเชื้อหลอดเปล่า และน้ำเกลือ 0.85% ด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อน้ำเกลือที่ผ่านการฆ่าเชื้อเย็นลงแล้วเอา Plasma ผสมน้ำเกลือที่ ในอัตราส่วน 1 : 1 นำน้ำเกลือฆ่าเชื้อ แล้วแบ่งใส่ หลอด ๆ ละ 0.5 มิลลิลิตร

การทดสอบการสร้างเอนไซม์โคแอกูเลส

1. เขี่ยเชื้อจากโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นโคโลนีของ *S. aureus* ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว BHI ปริมาตร 0.3 มล. ผสมเชื้อให้เข้ากันดีกับอาหารเหลว และถ่ายเชื้อจากหลอดอาหาร BHI

2. นำหลอดอาหาร BHI เติมโคแอกูเลสพลาสมา ปริมาตร 0.5 มล. ลงในหลอดอาหาร BHI บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 6 ชม.

3. อ่านผลโดยการดูการจับตัวเป็นลิ่มของพลาสมาเนื่องจากเอนไซม์โคแอกูเลสที่เชื้อ *S. aureus* สร้างซึ่งมีระดับของการจับตัวกันดังนี้

ระดับของการจับตัวกันของเชื้อและ Coagulase Plasma

ระดับของการจับตัว	ลักษณะที่ปรากฏ
0	ไม่เกิดการจับตัว
1+	จับตัวเป็นก้อนน้อยไม่รวมกลุ่ม
2+	จับตัวเป็นก้อนน้อยรวมกลุ่ม
3+	จับตัวเป็นก้อนใหญ่
4+	จับตัวเป็นก้อนหมดทั้งหลอดและไม่ขยับเมื่อคว่ำหลอด

3. การทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase test)

ส่วนประกอบ

Hydrogenpreoxdise	3	ml.
Distilled water	100	ml.

วิธีทดสอบ

หยดเชื้อที่ต้องการทดสอบลงบนสไลด์ จากนั้นหยด 3% H_2O_2 ลงบนเชื้อที่ป้าย ถ้าเกิดฟองก๊าซทันที ให้ผลเป็นบวก

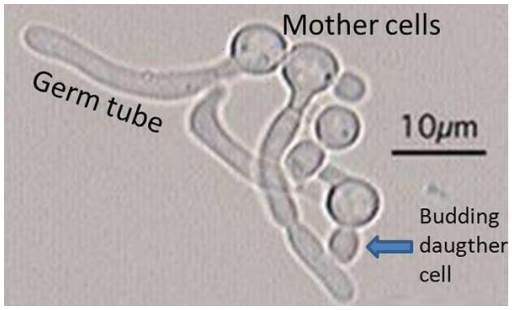
4. การทดสอบการสรางทองอก (Germ tube) (เอนก ภู่ทอง และคนอื่นๆ, 2555)

วิธีเตรียม

ฆ่าเชื้อหลอดทดลองเปล่า ด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อเย็นลงแล้วเอา Plasma บรรจุลงหลอดละ 0.5 มิลลิลิตร

วิธีทดสอบ

เขี่ยเชื้อที่ต้องการทดสอบที่เจริญอยู่บน SDA ผสมกับ plasma นำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และอ่านผลการสร้างท่องอกภายในเวลา 2 ชั่วโมง นำมาหยดลงสไลด์ส่องดูลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อ *Candida albicans*



ภาพที่ ง.1 การท่องอกของเชื้อ *Candida albicans*

ที่มา: Sagar, A. (2018, June) สืบค้นจาก https://microbiologyinfo.com/germ-tube-test-principle-procedure-results-interpretation-and-limitations/

ภาคผนวก ฉ

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย พ.ศ. ๒๕๕๙

(ราชกิจจานุเบกษา, ๒๕๕๙)

หน้า ๒๐
เล่ม ๑๓๓ ตอนพิเศษ ๗๒ ง ราชกิจจานุเบกษา ๒๘ มีนาคม ๒๕๕๙

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย

พ.ศ. ๒๕๕๙

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕ และมาตรา ๖ (๑) แห่งพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. ๒๕๕๘ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข โดยคำแนะนำของคณะกรรมการเครื่องสำอาง ออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ให้เครื่องสำอางที่มีคุณสมบัติทางจุลชีววิทยาตามที่กำหนดไว้ดังต่อไปนี้ เป็นเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย

(๑) เครื่องสำอางที่ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ดังต่อไปนี้

(ก) ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา (Pseudomonas aeruginosa)

(ข) สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส (Staphylococcus aureus)

(ค) แคนดิดา อัลบิแคนส์ (Candida albicans)

(ง) คลอสตริเดียม (Clostridium spp.) (เฉพาะเครื่องสำอางผสมสมุนไพร)

(๒) เครื่องสำอางที่ใช้บริเวณรอบดวงตา เครื่องสำอางที่สัมผัสเยื่อบุอ่อน และเครื่องสำอางสำหรับเด็กอายุต่ำกว่า ๓ ปี ที่ตรวจพบจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ (Total aerobic plate count) มากกว่า ๕๐๐ โคโลนีต่อกรัม หรือลูกบาศก์เซนติเมตร ขึ้นไป

(๓) เครื่องสำอางอื่น นอกเหนือจากที่กำหนดใน (๒) ที่ตรวจพบจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ (Total aerobic plate count) มากกว่า ๑,๐๐๐ โคโลนีต่อกรัม หรือลูกบาศก์เซนติเมตร ขึ้นไป

ข้อ ๒ คุณสมบัติทางจุลชีววิทยาตามข้อ ๑ ให้ทดสอบตามวิธีที่ระบุไว้ในมาตรฐาน International Organization for Standardization (ISO) หรือ United States Pharmacopeia (USP) ในเรื่องที่เกี่ยวข้อง ฉบับล่าสุด หรือวิธีอื่นที่เป็นมาตรฐานสากลเป็นที่ยอมรับ

ข้อ ๓ ให้เครื่องสำอางที่ใช้ภาชนะบรรจุที่มีลักษณะเป็นกระบอกฉีดยา (Syringe) หรือที่มีลักษณะเป็น Ampoule หรือ Vial หรืออยู่ในภาชนะบรรจุใด ๆ ที่ใช้เครื่องมือประกอบในการผลักดันสารเข้าสู่ผิวหนัง เช่น Iontophoresis, Mesotherapy เป็นต้น เป็นเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย

ข้อ ๔ ประกาศนี้ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๒๙ กุมภาพันธ์ พ.ศ. ๒๕๕๙

ปิยะสกล สกลสัตยาทร

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวฐิติมา ละอองฐิติรัตน์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	4 ธันวาคม 2528
สถานที่เกิด	เพชรบูรณ์
ที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 14/6 ถนนพระพุทธบาท 3 ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ รหัสไปรษณีย์ 67000
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2551	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา
ประวัติการทำงาน	
พ.ศ. 2551	นักวิทยาศาสตร์ (จุลชีววิทยา) ประจำสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา
พ.ศ. 2555	อาจารย์ประจำ โรงเรียนสาธิต มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา
ที่ทำงานปัจจุบัน	โรงเรียนสาธิต มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา