

การยับยั้งเชื้อ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

บนผ้าฝ้ายที่ย้อมด้วยสารสกัดจากฝาง

INHIBITION OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ON COTTON

FABRIC DYED WITH *CAESALPINIA SAPPAN* L. EXTRACTS

ศรันยา เผือกม่วง^{1*} ฉัญญา พันธุ์ศรี¹ และอภิชญา พัดพิน²

Sarunya Puakpong^{1*}, Tanya Punsri¹ and Apichaya Phadpin²

บทคัดย่อ

การศึกษาการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยการนำสารสกัดจากฝาง 3 สูตร ที่ได้จากการสกัดแก่นฝางด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% มาทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี Disc diffusion และทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* บนผ้าฝ้ายที่มีโครงสร้างการทอแบบเจอร์ซี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร ที่ย้อมด้วยสารสกัดจากฝางจาก 3 สูตร โดยดัดแปลงจากวิธีทดสอบมาตรฐาน AATCC TM 147-2011 Antibacterial Activity Assessment of Textile Materials: Parallel Streak Method พบว่าการทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion สารสกัดจากฝาง สูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ 6.50 ± 0.00 , 7.20 ± 0.03 และ 9.70 ± 0.06 มิลลิเมตร ตามลำดับ และผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* บนผ้าฝ้ายเจอร์ซีที่ย้อมด้วยสารสกัดจากฝางสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 พบว่ามีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ 56.50 ± 0.06 , 60.60 ± 0.14 และ 64.13 ± 0.14 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่าสารสกัดจากฝางและผ้าฝ้ายที่ย้อมด้วยสารสกัดจากฝาง ทั้ง 3 สูตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* โดยสารสกัดจากฝางสูตรที่ 3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p \leq 0.05$)

คำสำคัญ: การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ฝาง ผ้าฝ้าย

¹คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

¹Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak District, Bangkok 10900

²คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร อำเภอเมือง จังหวัดกำแพงเพชร 62000

²Faculty of Science and Technology, Kamphaeng Phet Rajabhat University, Muang District, Kamphaeng Phet Province 62000

*corresponding author e-mail: sarunya.p@ku.th

Received: 18 January 2023; Revised: 10 April 2023; Accepted: 16 April 2023

DOI: <https://doi.org/10.14456/lsej.2023.13>

Abstract

A study of an inhibition of *Staphylococcus aureus* by using three treatments of *Caesalpinia sappan* L. extracts, extracted by 95% ethanol, was conducted by the disc diffusion method. In addition, the inhibition was examined on cotton jersey fabric (50 mm diameter) dyed with three different treatments of *C. sappan* extracts, which was modified from the standard test method of AATCC TM 147-2011 Antibacterial Activity Assessment of Textile Materials: Parallel Streak Method. The results of the disc diffusion method showed that the average diameter of the inhibition zone of Treatment 1, Treatment 2, and Treatment 3 was 6.50 ± 0.00 mm, 7.20 ± 0.03 mm, and 9.70 ± 0.06 mm, respectively. Furthermore, the results of inhibition of *S. aureus* on cotton jersey fabric dyed with *C. sappan* extracts showed that the average diameter of the inhibition zone of Treatment 1, Treatment 2, and Treatment 3 was 56.50 ± 0.06 mm, 60.60 ± 0.14 mm, and 64.13 ± 0.14 mm, respectively. These results showed that the *C. sappan* extracts and cotton discs dyed with *C. sappan* extracts of the three treatments effectively inhibited *S. aureus* growth, where *C. sappan* extracts of a Treatment 3 were the most effective in inhibiting *S. aureus* growth on statistical significance ($p\leq 0.05$).

Keywords: Inhibition, *Staphylococcus aureus*, *Caesalpinia sappan* L., Cotton fabric

บทนำ

จากข้อมูลบริการผู้ป่วยภาพรวมของสถาบันโรคผิวหนังเผยว่า สิว (acne) ซึ่งมีสาเหตุหนึ่งมาจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และเป็นอีกสาเหตุที่ทำให้ผู้ป่วยมาพบแพทย์ผิวหนังเป็นอันดับ 1 ของจำนวนผู้ป่วยในแผนกผู้ป่วยนอกของสถาบันโรคผิวหนัง ในปี พ.ศ. 2559-2562 (Institute of Dermatology, 2021) และจากสถานการณ์การแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) ที่ส่งผลให้มีผู้ติดเชื้อและผู้เสียชีวิตจำนวนมาก จึงมีข้อแนะนำและข้อปฏิบัติในการสวมหน้ากากอนามัยหรือหน้ากากผ้าเพื่อเป็นประโยชน์ด้านสุขอนามัยในการลดความเสี่ยงและป้องกันการแพร่เชื้อและการรับเชื้อ แต่ทั้งนี้การสวมหน้ากากอนามัยอาจเกิดอันตรายและความเสี่ยงขึ้น เช่น เกิดอาการปวดศีรษะ หายใจลำบาก เกิดรอยแผลกดทับบนใบหน้า เกิดอาการผิวหนังอักเสบที่ระคายเคืองหรือเกิดสิวกักเสบมากขึ้น เมื่อสวมหน้ากากอนามัยเป็นเวลานานหลายชั่วโมง เป็นต้น (Al Badri, 2017; WHO Thailand, 2020) การสวมหน้ากากอนามัย

เป็นเวลานานส่งผลให้มีผู้ป่วยโรคผิวหนังที่เป็นสิวเพิ่มมากขึ้น โดยการเป็นสิวนั้นเป็นอีกสาเหตุที่ทำให้เกิดผลกระทบต่อการดำรงชีวิตทั้งในด้านอารมณ์ จิตใจ และสังคม เช่น ทำให้สูญเสียความมั่นใจในตนเอง ก่อให้เกิดความเครียดและวิตกกังวลต่อภาพลักษณ์ ปัญหาการปรับตัวเมื่อเข้าสู่สังคม การหลบเลี่ยงการเข้าสังคม ภาวะซึมเศร้า รวมถึงแสดงพฤติกรรมก้าวร้าว เป็นต้น (Wongniraspai, 2009)

S. aureus เป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการก่อโรคได้รุนแรงที่สุดในสกุล *Staphylococcus* ซึ่งมีลักษณะเป็นทรงกลม ติดสีแกรมบวก สามารถพบเชื้อ *S. aureus* ได้ทั่วไปตามร่างกาย เช่น บริเวณผิวหนัง กระจกไขมันจากต่อมเหงื่อและต่อมไขมันจากผิวหนัง และสามารถเกาะติดกับเนื้อเยื่อบริเวณจมูกและหลังโพรงจมูกโดยไม่ถูกขับไปกับเมือกหรือน้ำมูก (Saenprakob & Saengmanee, 2020) นอกจากนี้เชื้อ *S. aureus* ยังเป็นเชื้อก่อโรคและเป็นสาเหตุของการติดเชื้อบริเวณผิวหนังที่สามารถพบได้บ่อย เช่น เกิดเป็นลักษณะของฝีหนองติดเชื้อ ส่งผลให้เกิดการติดเชื้อของแผล และสร้างเอนไซม์ต่าง ๆ ออกฤทธิ์กระตุ้นการก่อเกิดสิว เป็นต้น (Suntarattiwong, 2011; Swami et al., 2020) โดยมีงานวิจัยที่ได้ทำการศึกษาการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยพืชท้องถิ่น เช่น สารสกัดจากสาบเสือ สารสกัดจากเหง้ากระชาย ผลกรวยป่า และใบพรวด (Visutthi, 2017; Puakpong et al., 2021) นอกจากนี้ยังมีพืชอีกชนิด คือ ผาง ที่สามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้เช่นเดียวกัน (Srinivasan et al., 2012; Rangsiapanuratn et al., 2016) โดยผางมีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Caesalpinia sappan* L. ชื่อสามัญ คือ Sappan จัดอยู่ในวงศ์ Leguminosae เป็นไม้พุ่มรอเลื้อย แตกกิ่งต่ำและเป็นเถาเลื้อยพาดเกี่ยวไม้อื่นขึ้นไปยาวได้ถึง 10 เมตร มีหนามแหลมโค้งแข็งอยู่ทั่วไป จากข้อมูลการวิจัยพรีคลินิก พบว่าสารสกัดจากผางที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยมีกลไกการออกฤทธิ์ต่าง ๆ กัน (Kim et al., 2004; Department of Thai Traditional and Alternative Medicine, 2015) และพบว่าส่วนที่ใช้ทำยาของผาง คือ แก่นไม้แห้ง ซึ่งมีรสขื่นขมฝาด โดยมีสรรพคุณเป็นยาบำรุงโลหิตสตรี แก้ปวดฟกการ ขับเสมหะ แก้อ่อนใน ช่วยลดความร้อนในร่างกาย แก้กษหายน้ำ แก้ไอ ขับระดู ต้านการเกิดสิว (anti-acne) ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ต้านแบคทีเรีย (antibacterial) ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และต้านรา (antifungal) เป็นต้น (Batubara et al., 2010; Wu et al., 2011; Nimal & Panichayupakaranant, 2015; Department of Thai Traditional and Alternative Medicine, 2015; Kankamol, 2021)

การวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาผางซึ่งเป็นพืชท้องถิ่นในประเทศไทย พบว่านอกจากสารสกัดจากผางจะมีสรรพคุณเป็นยาแล้ว ยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ซึ่งเป็นอีกหนึ่งสาเหตุของการเกิดสิว จากงานวิจัยที่ผ่านมาที่มีผู้นำแก่นผางมาขย้อมทำสีผ้าฝ้ายเท่านั้น แต่ยังไม่มียานวิจัยที่นำผ้าฝ้ายที่ย้อมด้วยแก่นผางมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ดังนั้นงานวิจัยนี้ทางคณะผู้วิจัยจึงนำแก่นผางมาสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95% ที่ปริมาณ

แก่นฝางแตกต่างกัน ทำให้ได้สารสกัดจากฝางสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 จากนั้นนำไปย้อมลงบนผ้าฝ้ายที่มีโครงสร้างการถักแบบเจอร์ซีที่นิยมนำไปผลิตเป็นหน้ากากผ้าซึ่งให้คุณสมบัติยืดหยุ่นกว่าหน้ากอกอนามัยและหน้ากากผ้าจากผ้าทอ โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากฝางทั้ง 3 สูตร และผ้าฝ้ายที่ย้อมด้วยสารสกัดจากฝางทั้ง 3 สูตร โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สิ่งทอจากผ้าฝ้ายที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมสารสกัดจากฝาง นำแก่นไม้ฝางแห้งมาหั่นเป็นชิ้น แล้วนำมาซังให้ได้ปริมาณตามต้องการตามสูตรดังนี้ ทำการเตรียมสารสกัดจากฝาง 3 สูตร คือ สารสกัดจากฝางสูตรที่ 1 (ใช้แก่นไม้ฝาง 5 กรัม ต่อเอทานอล 95% 100 มิลลิลิตร) สารสกัดจากฝางสูตรที่ 2 (ใช้แก่นไม้ฝาง 10 กรัม ต่อเอทานอล 95% 100 มิลลิลิตร) และสารสกัดจากฝางสูตรที่ 3 (ใช้แก่นไม้ฝาง 15 กรัม ต่อเอทานอล 95% 100 มิลลิลิตร) โดยในแต่ละสูตรจะแช่แก่นไม้ฝางในเอทานอล 95% เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปกรองด้วยผ้าขาวบางซึ่งได้สารละลายเหลวสีแดง แล้วนำมาต้มไล่แอลกอฮอล์จนหมด (ดัดแปลงจากวิธีของ Visutthi, 2017) จากนั้นนำสารสกัดจากฝางทั้ง 3 สูตรมาทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่อไป

การเตรียมย้อมผ้าฝ้ายเจอร์ซีด้วยสารสกัดจากฝาง เตรียมสารสกัดที่ได้จากฝางสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 โดยใช้อัตราส่วนสารสกัดจากฝาง 20 ส่วน ต่อผ้าฝ้าย 1 ส่วน (20:1) จากนั้นนำผ้าฝ้ายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร ที่เปียกหมาดลงย้อมด้วยกรรมวิธีย้อมร้อนโดยต้มเป็นเวลา 45 นาที (Srisukho et al., 2019) เมื่อย้อมเสร็จแล้วผึ่งให้แห้งในห้องปลอดเชื้อ รอการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่อไป

การเตรียมกล้าเชื้อ *Staphylococcus aureus* ทำการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย *S. aureus* บนจานเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารแข็ง Nutrient agar (NA) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทำเป็นเซลล์แขวนลอย (bacterial suspension) ในนอมอลซาลีน 0.85% (0.85% NaCl, normal saline) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยปรับความขุ่นของเซลล์แขวนลอยให้เท่ากับ McFarland Standard เบอร์ 0.5 (ประมาณ 1.5×10^8 CFU/ml) (ดัดแปลงจากวิธีของ CLSI, 2009)

การทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยสารสกัดจากฝางสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 ด้วยวิธี Disc diffusion โดยใช้แผ่นกระดาษกรอง (paper disc) ขนาด 6 มิลลิเมตร เพื่อสังเกตขนาดพื้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (inhibition zone) โดยใช้ไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุ่มในเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *S. aureus* ที่เตรียมไว้ แล้วนำมาป้ายลงบนผิวหน้าของอาหารแข็ง NA ปลอ่ยให้

แห้งเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำแผ่นกระดาษกรองวางลงบนผิวหน้าของอาหารแข็ง NA แล้วนำสารสกัดจากฝางสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่นกระดาษกรองที่วางไว้ โดยทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ ในแต่ละตัวอย่างของสารสกัดจากฝางทั้ง 3 สูตร จากนั้นบ่มในตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นไปบ่ม สารสกัดจะค่อย ๆ ซึมออกจากแผ่นกระดาษกรองเป็นรัศมีโดยรอบจากที่ที่ความเข้มข้นสูงไปอยู่ที่ที่ความเข้มข้นต่ำ สารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* จะยับยั้งการเจริญของเชื้อและพบวงใสบริเวณรอบแผ่นกระดาษกรอง จากนั้นตรวจผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (วงใส) หน่วยเป็นมิลลิเมตร (หากวัดได้ขนาด ≤ 6 มิลลิเมตร จะถือว่าไม่เกิดพื้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากมีขนาด \leq ขนาดแผ่นกระดาษกรอง) (Hilgenberg et al., 2016; Yordanova, et al., 2018)

การทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* บนผ้าฝ้ายเจอร์ซีที่ย้อมด้วยสารสกัดจากฝางสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 ด้วยวิธี Disc diffusion ซึ่งตัดแปลงขนาดขึ้นตัวอย่างตามวิธีทดสอบมาตรฐาน AATCC TM 147-2011 Antibacterial Activity Assessment of Textile Materials: Parallel Streak Method (AATCC, 2015; Hilgenberg et al., 2016; Yordanova et al., 2018) โดยใช้ผ้าฝ้ายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร ย้อมด้วยสารสกัดจากฝางสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 มาทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยใช้ผ้าฝ้ายแทนแผ่นกระดาษกรอง จากนั้นใช้ไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุ่มในเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *S. aureus* ที่เตรียมไว้ แล้วนำมาป้ายลงบนผิวหน้าของอาหารแข็ง NA ปลอ่ยให้แห้งเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำผ้าฝ้ายที่ย้อมด้วยสารสกัดจากฝางสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 มาวางลงบนผิวหน้าของอาหารแข็ง NA โดยทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ ในแต่ละตัวอย่างของสารสกัดจากฝางทั้ง 3 สูตร แล้วบ่มในตู้เพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นตรวจผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (วงใส) หน่วยเป็นมิลลิเมตร (หากวัดได้ขนาด ≤ 50 มิลลิเมตร จะถือว่าไม่เกิดพื้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากมีขนาด \leq ขนาดขึ้นตัวอย่างผ้าฝ้าย)

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS โดยวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย (\bar{X}) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี One-way ANOVA และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DUNCAN ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$)

ผลการวิจัย

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยสารสกัดจากฝางสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 ด้วยวิธี Disc diffusion โดยใช้แผ่นกระดาษกรอง (paper disc) พบว่าสารสกัดจากฝางสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* โดยพบว่าสูตรที่ 3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ

0.05 ($p \leq 0.05$) พบว่ามีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ 9.70 ± 0.06 มิลลิเมตร รองลงมา คือ สารสกัดจากฝางสูตรที่ 2 มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ 7.20 ± 0.03 มิลลิเมตร และสารสกัดจากฝางสูตรที่ 1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้น้อยที่สุด มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ 6.50 ± 0.00 มิลลิเมตร และพบว่าชุดควบคุมน้ำกลั่นและเอทานอล 95% ไม่เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p \leq 0.05$) ดังตารางที่ 1 (Table 1) และภาพที่ 1 (Figure 1)

Table 1 Efficiency in inhibition of *S. aureus* growth of *C. sappan* extracts of Treatment 1, Treatment 2, and Treatment 3

Treatment	Inhibition zone (mm)			
	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	$\bar{X} \pm SD$
1	6.50	6.50	6.50	6.50 ± 0.00^b
2	7.00	7.00	7.50	7.20 ± 0.03^b
3	10.00	9.00	10.00	9.70 ± 0.06^a
Control distilled water	6.00	6.00	6.00	6.00 ± 0.00^c
Control ethanol 95%	6.00	6.00	6.50	6.20 ± 0.03^c

Remark The same vertical letters represent the mean without statistical difference at a significant level of 0.05 ($p \leq 0.05$) analyzed by using Duncan test a represents the highest difference value of the sample.

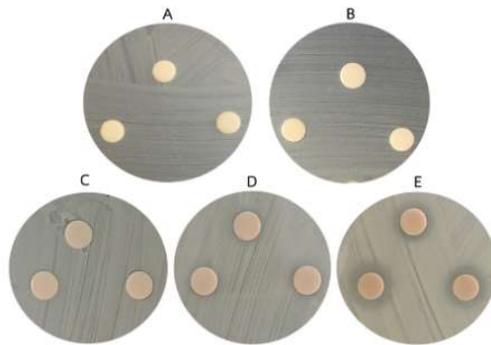


Figure 1 Inhibition zone of *S. aureus* on paper discs dyed with *C. sappan* extracts of Treatment 1 (A) Control distilled water (B) Control ethanol 95% (C) Replicate 1 (D) Replicate 2 and (E) Replicate 3

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* บนผ้าฝ้ายเจอร์ซีที่ย้อมด้วยสารสกัดจากฝางสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 ด้วยวิธี Disc diffusion ดัดแปลง พบว่าผ้าฝ้ายที่ย้อมด้วยสารสกัดจากฝางมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* โดยผ้าฝ้ายที่ย้อมด้วยสารสกัดจากฝางสูตรที่ 3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p \leq 0.05$) พบว่ามีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ 64.13 ± 0.14 มิลลิเมตร รองลงมา คือ ผ้าฝ้ายที่ย้อมด้วยสารสกัดจากฝางสูตรที่ 2 มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ 60.60 ± 0.14 มิลลิเมตร และผ้าฝ้ายที่ย้อมด้วยสารสกัดจากฝางสูตรที่ 1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้น้อยที่สุด มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ 56.50 ± 0.06 มิลลิเมตร และพบว่าชุดควบคุมน้ำกลั่นและเอทานอล 95% ไม่เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p \leq 0.05$) ดังตารางที่ 2 (Table 2) และภาพที่ 2-4 (Figure 2-4)

Table 2 Efficiency in inhibition of *S. aureus* growth on cotton discs dyed with *C. sappan* extracts of Treatment 1, Treatment 2, and Treatment 3

Treatment	Inhibition zone (mm)			
	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3	$\bar{X} \pm SD$
1	56.00	56.80	56.70	56.50 ± 0.06^c
2	61.00	60.00	60.80	60.60 ± 0.14^b
3	62.70	65.50	64.20	64.13 ± 0.14^a
Control distilled water	50.00	50.00	50.00	50.00 ± 0.00^d
Control ethanol 95%	50.00	50.00	50.00	50.00 ± 0.00^d

Remark The same vertical letters represent the mean without statistical difference at a significant level of 0.05 ($p \leq 0.05$) analyzed by using Duncan test a represents the highest difference value of the sample

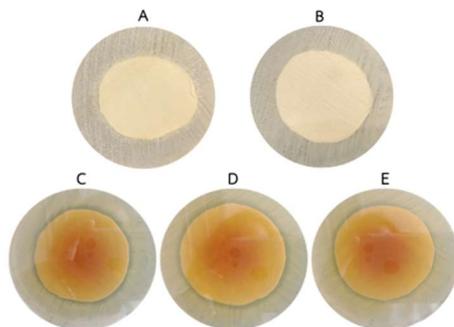


Figure 2 Inhibition zone of *S. aureus* on cotton discs dyed with *C. sappan* extracts of Treatment 1 (A) Control distilled water (B) Control ethanol 95% (C) Replicate 1 (D) Replicate 2 and (E) Replicate 3

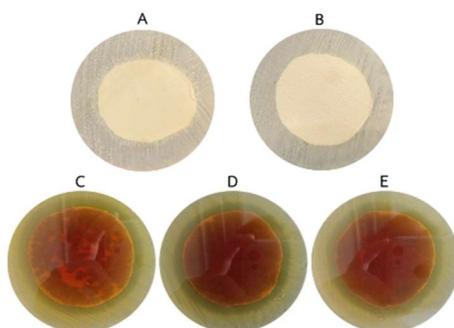


Figure 3 Inhibition zone of *S. aureus* on cotton discs dyed with *C. sappan* extracts of Treatment 2 (A) Control distilled water (B) Control ethanol 95% (C) Replicate 1 (D) Replicate 2 and (E) Replicate 3

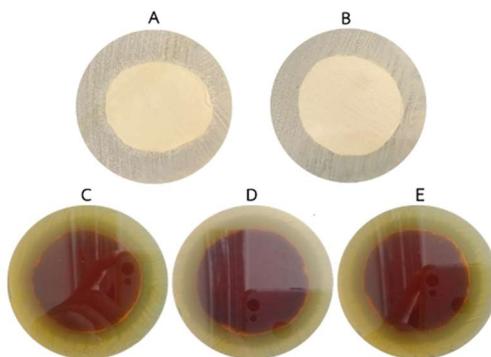


Figure 4 Inhibition zone of *S. aureus* on cotton discs dyed with *C. sappan* extracts of Treatment 3 (A) Control distilled water (B) Control ethanol 95% (C) Replicate 1 (D) Replicate 2 and (E) Replicate 3

อภิปรายผล

สารสกัดจากฝางสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ยับยั้งเชื้อมากกว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นกระดาษกรอง (>6 mm) และผ้าฝ้ายเจอร์ซีที่ย้อมด้วยสารสกัดจากฝางสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ยับยั้งเชื้อมากกว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของผ้าฝ้าย (>50 mm) แสดงว่าสารสกัดจากฝางและผ้าฝ้ายที่ย้อมด้วยสารสกัดจากฝางสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* โดยสารสกัดจากฝางที่มีปริมาณแก่นไม้ฝางที่มากกว่าจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าสารสกัดจากฝางที่มีปริมาณแก่นไม้ฝางที่น้อยกว่าในปริมาณตัวทำละลายที่เท่ากันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p \leq 0.05$) ซึ่งคล้ายกับงานวิจัยของ Puakpong et al. (2021) ที่ศึกษาสารสกัดจากใบสาบเสือที่ย้อมลงบนผ้าฝ้าย พบว่าสารสกัดจากใบสาบเสือที่สกัดจากปริมาณใบสาบเสือที่มากขึ้นส่งผลให้เกิดการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้มากขึ้นด้วย นอกจากนี้สารสกัดจากแก่นฝางที่สกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhi*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger* และ *Candida albicans* ได้ดีที่สุดในเมื่อเทียบกับตัวทำละลายน้ำและปิโตรเลียมอีเทอร์ (Srinivasan et al., 2012; Rangspanurath et al., 2016) โดยสารสกัดจากแก่นฝางที่สกัดด้วยเอทานอลที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อเท่ากับ 8 mg/mL (Rangspanurath et al., 2016)

สารสกัดจากฝางนั้นจะประกอบไปด้วยสารในกลุ่มสเตียรอยด์ (steroids) แทนนิน (tannin) ฟีนอล (phenol) ซาโปนิน (saponins) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) (Srinivasan et al., 2012; Rangspanurath et al., 2016) โดยสารสกัดจากฝางที่สกัดด้วยเอทานอลจะพบสารบราซิลิน (brazilin) เป็นสารประกอบธรรมชาติที่มีความปลอดภัยและมีการนำไปพัฒนาเป็นสารประกอบทางยาเพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม เครื่องสำอาง และเภสัชกรรม และเป็นที่รู้จักกันดีว่าสาร brazilin เป็นสารให้สีธรรมชาติโดยให้สีแดงที่นิยมนำมาย้อมสีวัสดุสิ่งทอ เช่น ผ้าฝ้าย ผ้าไหม และผ้าขนสัตว์ เป็นต้น (Nirmal et al., 2015) และเป็นสารสำคัญที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และเชื้อแบคทีเรียอื่น ๆ ที่ก่อให้เกิดโรคทางผิวหนังได้ดี นอกจากนี้เมื่อนำสารสกัดจากฝางมาทดสอบความเป็นพิษกับสัตว์ทดลอง พบว่าสารสกัดจากแก่นฝางไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติในสัตว์ทดลองทั้งในส่วนของน้ำหนักและอวัยวะต่าง ๆ (Sireeratawong et al., 2010; Athinarayanana et al., 2017) โดยผ้าฝ้ายเจอร์ซีที่นำมาย้อมด้วยสารสกัดจากฝางนั้นเป็นเส้นใยเซลลูโลสจากธรรมชาติ มีโมเลกุลประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล (-OH) ซึ่งส่งผลให้มี

คุณสมบัติในการชอบน้ำและมีการดูดซึมความชื้นได้ดี จึงส่งผลต่อการดูดซึมสารเคมีและสีย้อมได้เป็นอย่างดี เส้นใยฝ้ายนั้นมีทั้งประจุบวกและประจุลบทำให้สารสกัดจากฝ้างสามารถแทรกซึมเข้าไปในเนื้อผ้าฝ้ายได้โดยแรงแวนเดอร์วาลและพันธะไฮโดรเจน (Jangetlead, 1998; Chulavatnatol, 1999; Nitiyaphat, 2016) ดังนั้นสารสกัดจากฝ้างจึงสามารถยึดติดบนผิวผ้าฝ้ายได้ และเมื่อนำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทำให้เกิดบริเวณใสรอบ ๆ เชื้อ *S. aureus* คล้ายกับงานวิจัยของ Puakpong et al. (2021) ที่สกัดสารจากใบสบเสื่อแล้วนำมาย้อมผ้าฝ้ายและผ้าไหม พบว่าเกิดบริเวณใสรอบ ๆ ผ้าฝ้ายที่ย้อมด้วยสารสกัดจากใบสบเสื่อ

สรุปผลการวิจัย

สารสกัดจากฝ้างและผ้าฝ้ายเจอร์ซีที่ย้อมด้วยสารสกัดจากฝ้างสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* โดยสารสกัดจากฝ้างที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด คือ สารสกัดจากฝ้างสูตรที่ 3 รองลงมา คือ สารสกัดจากฝ้างสูตรที่ 2 และสารสกัดจากฝ้างสูตรที่ 1 ตามลำดับ ผลจากการวิจัยครั้งนี้ จึงสรุปได้ว่า สารสกัดจากฝ้างที่เป็นพืชในท้องถิ่นมีประสิทธิภาพในการพัฒนาเป็นสารยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และสามารถนำผ้าฝ้ายเจอร์ซีไปพัฒนาเป็นหน้ากากผ้าเพื่อสวมใส่และลดปัญหาการเกิดสิวจากเชื้อ *S. aureus* ได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาคหกรรมศาสตร์ คณะเกษตร และคณะสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- AATCC. AATCC test method 147-2011 Antibacterial activity assessment of textile materials: Parallel streak method. In AATCC Technical Manual 2015. North Carolina: American Association of Textile Chemist and Colorists; 2015: 275-276.
- Al Badri FM. Surgical mask contact dermatitis and epidemiology of contact dermatitis in healthcare workers. *Current Allergy & Clinical Immunology* 2017;30(3):183-188.
- Athinarayanan G, Ranjitsingh AJA, Usha Raja Nanthini A, Padmalatha C. Toxicological studies of *Caesalpinia sappan* wood derived dye in Wister albino rats. *Food Sci Hum Wellness* 2017;6(1):34-38.
- Batubara I, Mitsunaga T, Ohashi H. Brazilin from *Caesalpinia sappan* wood as an antiacne agent. *Journal of Wood Science* 2010;56:77-81.
- Chulavatnatol M. Biochemistry. Bangkok: Department of Biochemistry, Faculty of Science, Mahidol University; 1999.

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standard-eighth edition. CLSI documents M07-A8. Pa: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2009.
- Department of Thai Traditional and Alternative Medicine. Manual of zoning of cultivation areas for medicinal plants used in Thai traditional pharmacy. Bangkok: WVO officer of Printing Mill; 2015.
- Hilgenberg B, Prange A, Vossebein L. Testing and regulation of antimicrobial textiles. In Sun G (Ed.), Antimicrobial Textiles. UK: Woodhead Publishing; 2016: 7-18.
- Institute of Dermatology. Statistical information and overview of patient service information of Institute of Dermatology. 2021. Available at: <https://shorturl.asia/TyRxv>. Accessed December 1, 2022.
- Jangetlead M. Introduction to textile science. Bangkok: Horatanachai Printing Ltd., Part.; 1998.
- Kankamol C. Antibacterial, antioxidant and anticancer activities of the *Caesalpinia sappan* L. extract. Thai Science and Technology Journal (TSTJ) 2021;29(2):307-317.
- Kim KJ, Yu HH, Jeong SI, Cha JD, Kim SM, You YO. Inhibitory effects of *Caesalpinia sappan* on growth and invasion of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Ethnopharmacology 2004;91(1):81-87.
- Meesup P, Buachard S. Efficiency of plant extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Agricultural Science Journal 2018;49(2):485-488.
- Nirmal NP, Rajput MS, Prasad RGSV, Ahmad M. Brazilin from *Caesalpinia sappan* heartwood and its pharmacological activities: A review. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 2015;8(6):421-430.
- Nirmal NP, Panichayupakaranant P. Antioxidant, antibacterial, and anti-inflammatory activities of standardized brazilin-rich *Caesalpinia sappan* extract. Pharmaceutical Biology 2015;53(9): 1339-1343.
- Nitiyaphat W. Principles of textile dyeing. Bangkok: Department of Home Economics, Faculty of Science, Srinakharinwirot University; 2016.
- Panthong S. Antibacterial activity against foodborne pathogen and anti-inflammatory activity of *Caesalpinia sappan* heartwood. Journal of Thai Traditional and Alternative Medicine 2022; 20(3):597-604.
- Puakpong S, Sangsawang J, Arirob W, Phattarakunamorn K, Phadpin A. Antibacterial activity textile and care product from natural extract for the elderly. Bangkok: Kasetsart University; 2021.
- Rangspanuratt W, Kammarnjassadakul P, Janwithayanuchit I. Antibacterial activities of ten Thai herbal extracts against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* ATCC 25922. HCU Journal 2016;19(38):35-48.
- Saenprakob P, Saengmanee K. Development of facial cleansing anti-acne gel formulation using *Terminalia chebula* extract. Wichcha Journal Nakhon Si Thammarat Rajabhat University 2020; 39(2):87-100.

- Sireeratawong S, Piyabhan P, Singhalak T, Wongkrajang Y, Tamsiririrkkul R, Punsrirat J, Ruangwises N, Saraya S, Lerdvuthisophon N, Jaijoy K. Toxicity evaluation of sappan wood extract in rats. *Journal of The Medical Association of Thailand* 2010;93(7):50-57.
- Srinivasan R, Selvam GG, Karthik S, Mathivanan K, Baskaran R, Karthikeyan M, et al. In vitro antimicrobial activity of *Caesalpinia sappan* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2012;2(1):136-139.
- Srisukho P, Sangchan N, Jaisuda T, Boonthon K. A study of natural color from mangrove plants at tambol Boh, ampur Klung, Chantaburi province by community participation process. *Rajabhat Rambhai Barni Research Journal* 2019;13(1):64-73.
- Suntarattiwong P. Chapter 47 : Vaccine against *Staphylococcus aureus* infections. In *Vaccine Textbook of The Pediatric Infectious Disease Society of Thailand*. Bangkok: Pediatric Infectious Disease Society of Thailand; 2011: 615-628.
- Swami R, Phaklang P, Setthamongkol P, Kutako M, Hiransuchalert R. *Staphylococcus aureus* inhibition from phycocyanin extracted from cyanobacteria *Arthrospira platensis*. *Khon Kaen Agriculture Journal* 2020;48(1):923-928.
- Visutthi M. 2017. Antagonistic effect of Staphylococci of extracts from some local plants in Nakorn-Ratchasima province. *KKU Science Journal* 2017;45(4):805-816.
- WHO Thailand. Advice on the use of masks in the context of COVID-19: Interim guidance, 5 June 2020. 2020. Available at: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/searo/thailand/who-2019-ncov-ipc-masks-2020-4-th.pdf?sfvrsn=61f46597_2. Accessed December 1, 2022.
- Wongniraspai M. The study of the effect and safety of *Spongilla lacustris* with 3% hydrogen peroxide in rat skin. Master of Science (Dermatology), Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University; 2009.
- Wu SQ, Otero M, Unger FM, Goldring MB, Phrutivorapongkul A, Chiari C, et al. Anti-inflammatory activity of an ethanolic *Caesalpinia sappan* extract in human chondrocytes and macrophages. *Journal of Ethnopharmacology* 2011;138(2):364-372.
- Yordanova S, Vasileva-Tonkova E, Staneva D, Stoyanov S, Grabchev I. Synthesis and characterization of new water soluble 9,10-anthraquinone and evaluation of its antimicrobial activity. *Journal of Molecular Structure* 2018;1168:22-27.