ฤทธิ์ต้านเชื้อ Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) ของน้ำมันตะไคร้และสบู่เหลวที่มีน้ำมันตะไคร้เป็นสารออกฤทธิ์

ภรณ์ประภา อ่วมนุช

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชกรรมไทย
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF LEMONGRASS OIL AND ITS LIQUID SOAP AGAINST METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA)

PORNPRAPHA OUMNUCH

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for

Master of Science Program in Thai Traditional Pharmacy

Academic Year 2018

Copyright of Bansomdejchaopraya Rajabhat University

ชื่อเรื่อง	**ฤทธิ์ต้านเชื้อ Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) ของน้ำมันตะไคร้และสบู่เหลวที่มีน้ำมันตะไคร้เป็นสารออกฤทธิ์**
ชื่อผู้วิจัย	**ภรณ์ประภา อ่วมนุช**
สาขาวิชา	**เภสัชกรรมไทย**
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	**ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร**
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	**ดร.เธียร ธีระวรวงศ์**

มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยาอนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชกรรมไทย

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ดร.คณกร สว่างเจริญ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิลาสินี หิรัญพานิช ซาโตะ)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร)

..... กรรมการ

(ดร.เธียร ธีระวรวงศ์)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อาทิตยา สามณฑา)

..... กรรมการและเลขานุการ

(อาจารย์ศุภรัตน์ ดวนใหญ่)

สิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

ชื่อเรื่อง **ฤทธิ์ต้านเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ของน้ำมันตะไคร้และสบู่เหลวที่มีน้ำมันตะไคร้เป็นสารออกฤทธิ์**

ชื่อผู้วิจัย **ภรณ์ประภา อ่วมนุช**

สาขาวิชา **เภสัชกรรมไทย**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก **ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร**

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม **ดร.เธียร ธีระวรวงศ์**

ปีการศึกษา **2561**

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) พัฒนาพาร์ทิเคิลที่มีน้ำมันตะไคร้เป็นสารออกฤทธิ์ เพื่อใช้เพิ่มความคงตัวของน้ำมันตะไคร้ในสบู่เหลว และ 2) ทดสอบยืนยันฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) ของน้ำมันตะไคร้ โดยทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันตะไคร้ ที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ MRSA และความเข้มข้นต่ำสุดที่กำจัดเชื้อได้ ทำการทดสอบหาผลของน้ำมันตะไคร้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียต่อหน่วยเวลา นำความเข้มข้นที่เหมาะสมไปพัฒนาเม็ดพาร์ทิเคิลของน้ำมันตะไคร้ และพัฒนาตำรับสบู่เหลวที่มีพาร์ทิเคิลช่วยเพิ่มความคงตัวของน้ำมันตะไคร้ และทดสอบความคงตัวของสบู่เหลวที่ได้ โดยเก็บในสภาวะเร่ง คือเก็บในสภาวะทึบแสง อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สลับกับอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

ผลการวิจัยพบว่า

1) เม็ดพาร์ทิเคิลไขมันแข็งสามารถเพิ่มความคงตัวของน้ำมันตะไคร้ในสบู่เหลวได้ โดยการเตรียมน้ำมันตะไคร้ในรูป Solid Lipid Particles สามารถช่วยลดการระเหยและออกซิไดซ์ สังเกตได้จากมีการเปลี่ยนแปลงของสีและกลิ่นน้อยกว่าสบู่ที่ผสมน้ำมันตะไคร้ลงไปโดยตรง สบู่ที่ผสมโดยตรงมีการเปลี่ยนแปลงของสีและกลิ่นอย่างชัดเจน

2) น้ำมันตะไคร้มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถกำจัดเชื้อจุลชีพต่อเชื้อ MRSA เท่ากับ 31.25 mg/ml โดยจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันตะไคร้ สารประกอบที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ MRSA คือ Citral และGeraniol

คำสำคัญ: พาร์ทิเคิล, น้ำมันตะไคร้ สบู่เหลว

Title **Antibacterial Activity of Lemongrass Oil and its Liquid Soap Against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)**

Author **Pornprapha Oumnuch**

Program **Thai Traditional Pharmacy**

Major Advisor **Assistant Professor Dr.Pilanthana Lersatitthanakorn**

Co-advisor **Dr.Thein Thiraworawong**

Academic Year **2018**

ABSTRACT

The purposes of this research were 1) to develop particles with lemongrass oil as an active substance to increase stability of lemongrass oil in liquid soap and 2) to testify antibacterial activity against Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) of lemongrass oil through finding MRSA Minimal Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Bacterial Concentration (MBC), and Time-Kill Assay. The obtained concentration was applied to development of particles of lemongrass oil and formulation of liquid soap with particles assisting with stability of lemongrass oil. The obtained stability of the liquid soap was tested using Accelerated Shelf Life Test (ASLT) at 4°C and 45°C alternately under opacity for 10 days.

The findings revealed the followings.

1) The particles with solid lipid could increase the stability of lemongrass oil in liquid soap through preparation of solid lipid particles, which reduced evaporation and oxidation. This was confirmed by change in colour and odour less than liquid soap with direct lemongrass oil mixing the colour and ordour of which changed markedly.

2) MRSA Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bacterial Concentration (MBC) measured 31.25 mg/ml. After analyzing chemical composition of lemongrass oil, the active substances against MRSA include Citral and Geraniol.

Keywords: Particles, Lemongrass Oil, Liquid Soap

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จได้ด้วยความอนุเคราะห์ของบุคคลหลายท่าน ผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาตราจารย์ ดร.ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร ที่กรุณารับเป็นที่ปรึกษาและเสียสละเวลาที่มีค่าในการให้คำปรึกษาในการทำวิทยานิพนธ์ ตั้งแต่การเขียนเค้าโครงงานวิจัย ขั้นตอนการวิจัย การแนะนำตรวจทานและแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในงานวิจัย ด้วยความเอาใจใส่ทุกขั้นตอนขอกราบขอบพระคุณ ดร.เธียร ธีระวงศ์ ที่ให้คำแนะนำเพิ่มเติมในขั้นตอนการวิจัย กรุณาแนะนำเทคนิคในกระบวนการวิจัยและให้คำแนะนำในการเก็บข้อมูลงานวิจัย นอกจากนี้ขอขอบพระคุณ สาขาวิชาแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ที่ให้การสนับสนุนการใช้วัสดุอุปกรณ์ในการทำวิจัยและขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ที่สนับสนุนทุนทำวิจัยบางส่วนด้วย

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณมารดา ที่สนับสนุนทุนการศึกษา คอยกระตุ้นให้งานวิจัยเดินหน้าและคอยให้กำลังใจจนวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงด้วยดีและขอกราบขอบพระคุณครูบาอาจารย์ทุกท่าน ที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ทั้งปวงให้แก่ผู้วิจัยตลอดมา

ภรณ์ประภา อ่วมนุช

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
สมมติฐานของการวิจัย	3
ขอบเขตของการวิจัย	4
ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย	4
นิยามศัพท์เฉพาะ	4
กรอบแนวคิดการวิจัย	5
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
เชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง	6
สมุนไพรที่เกี่ยวข้อง	18
น้ำมันหอมระเหย	21
น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้	24
ระบบนำส่งยา	27
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	35

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 การดำเนินการวิจัย.....	38
เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการวิจัย.....	38
อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมี.....	38
ขั้นตอนการวิจัย.....	40
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	45
ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันตะไคร้.....	45
ผลการศึกษาความไวของเชื้อ MRSA ต่อน้ำมันตะไคร้.....	47
การทดสอบการยับยั้งเชื้อ MRSA ของน้ำมันตะไคร้ต่อหน่วยเวลา.....	48
ผลการพัฒนาเม็ดพาร์ทิเคิล (Paticles) เก็บกักน้ำมันตะไคร้.....	49
ผลการพัฒนาตำรับสบู่เหลว.....	51
ผลการทดสอบความคงตัวของสบู่เหลว.....	55
บทที่ 5 สรุปผล อภิปรายและข้อเสนอแนะ.....	60
สรุปผลการวิจัย.....	60
อภิปรายผลการวิจัย.....	60
ข้อเสนอแนะ.....	63
บรรณานุกรม.....	64
ภาคผนวก.....	70
ภาคผนวก ก หนังสือตอบรับลงบทความ.....	71
ภาคผนวก ข ประกาศนียบัตรรับรองการเข้าร่วมนำเสนอผลงาน.....	73
ประวัติผู้วิจัย.....	75

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันตะไคร้.....	45
2	ค่า MIC และ MBC ของน้ำมันตะไคร้ต่อเชื้อ MRSA 6 สายพันธุ์.....	47
3	การลดลงของเชื้อ MRSA เมื่อสัมผัสกับน้ำมันตะไคร้ความเข้มข้นต่างๆ ต่อหน่วยเวลา.....	48
4	ร้อยละการกักเก็บน้ำมันตะไคร้ของเม็ดบีดอัลจิเนตและ Solid Lipid Particles.....	50
5	สบู่ผสมน้ำมันตะไคร้5MBC 10 สูตร.....	51
6	Inhibition Zone ของสบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้ก่อนและหลังการ Freeze-Thaw.....	55
7	การลดลงของเชื้อ MRSA เมื่อสัมผัสสบู่ทั้งสองสูตรก่อนการ Freeze-Thaw.....	58
8	การลดลงของเชื้อ MRSA เมื่อสัมผัสสบู่ทั้งสองสูตรหลังการ Freeze-Thaw.....	59

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กรอบแนวคิดการวิจัย.....	5
2	ตะไคร้.....	18
3	Microsphere.....	28
4	Microcapsule.....	29
5	ลักษณะทั่วไปของไมโครพาร์ทิเคิล.....	30
6	โครมาโตแกรมของน้ำมันตะไคร้.....	46
7	Log Survivors ของตัวแปรควบคุมและน้ำมันตะไคร้ตามความเข้มข้นต่างๆ ต่อหน่วยเวลา.....	48
8	เม็ดบีดที่ใช้ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตเป็น 0.5%, 1% และ 3%.....	49
9	Solid Lipid Particles และ Solid Lipid Particles ที่ผ่านการทำ Partition.....	50
10	สบู่เหลวสูตรพื้นฐานที่เตรียมจาก SLES และ ALS.....	51
11	สบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้ 5MBC 10 สูตรหลังทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง.....	52
12	Inhibition Zone ของสบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้ก่อนการ Freeze-Thaw.....	53
13	สบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้หลังกระบวนการ Freeze-Thaw.....	54
14	Inhibition Zone ของสบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้หลังการ Freeze-Thaw.....	54
15	สบู่ผสมน้ำมันตะไคร้และสบู่ผสมSLPsของน้ำมันตะไคร้.....	55
16	สบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้ และสบู่เหลวผสม SLPs น้ำมันตะไคร้หลังการ Freeze-Thaw.....	56
17	การทดสอบการยับยั้งเชื้อMRSA ของสบู่เหลวทั้งสองตำรับก่อนการ Freeze-Thaw.....	57
18	กราฟเปรียบเทียบค่า Log Survivors ระหว่างสบู่ทั้งสองสูตรก่อนการ Freeze-Thaw.....	58
19	กราฟเปรียบเทียบค่า Log Survivors ระหว่างสบู่ทั้งสองสูตรหลังการ Freeze-Thaw.....	59

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

การติดเชื้อในโรงพยาบาล เกิดขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยได้รับเชื้อจุลชีพขณะเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล ผู้ป่วยที่ติดเชื้อในโรงพยาบาลส่วนใหญ่มักปรากฏอาการและอาการแสดงของการติดเชื้อขณะอยู่ในโรงพยาบาล หากมารับการรักษาในโรงพยาบาลเป็นระยะเวลาสั้นๆ หรือมารับการรักษาที่แผนกผู้ป่วยนอก ก็สามารถมีโอกาสติดเชื้อและกลับไปแสดงอาการที่บ้านได้ โรงพยาบาลจึงเป็นสถานที่ที่เกิดการปนเปื้อนเชื้อจากผู้ป่วย ผู้มาเยี่ยมและบุคลากรของโรงพยาบาล ผู้ป่วยที่มาเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลมีโอกาสสัมผัสกับเชื้อจุลชีพที่มีอยู่มากมายหลายชนิด ซึ่งเชื้อบางชนิดเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงหรือเป็นเชื้อที่ดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิด ประชากรมากกว่า 1.4 ล้านคนทั่วโลกได้รับความทุกข์ทรมานจากการติดเชื้อในโรงพยาบาล ในประเทศที่พัฒนาแล้วประมาณร้อยละ 5–10 ของผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาล ประเทศกำลังพัฒนาอาจพบผู้ป่วยที่เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาลสูงกว่าร้อยละ 25 ในหน่วยงานที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อสูง เช่น หออภิบาลผู้ป่วย พบว่ามากกว่า 1 ใน 3 ของผู้ป่วยเกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาล การติดเชื้อที่พบมากที่สุด คือ การติดเชื้อที่ตำแหน่งผ่าตัด การติดเชื้อที่ระบบทางเดินปัสสาวะและระบบทางเดินหายใจส่วนล่าง ความชุกของการติดเชื้อพบสูงสุดที่หออภิบาลผู้ป่วย หอผู้ป่วยศัลยกรรมและหอผู้ป่วยศัลยกรรมกระดูก อัตราการติดเชื้อจะพบเพิ่มมากขึ้นในผู้ป่วยสูงอายุ มีโรคประจำตัวหรือได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัด (อะเคื้อ อุณหเลขกะ, 2554, น.3)

การแพร่กระจายของเชื้อจุลชีพในโรงพยาบาลแบ่งออกได้เป็น 4 วิธี คือ การแพร่กระจายเชื้อผ่านทางการสัมผัส การแพร่เชื้อจากการสัมผัสสิ่งของหรือการนำอุปกรณ์ทางการแพทย์ที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าสู่ร่างกาย การแพร่กระจายเชื้อชนิดนี้เกิดจากการที่มีเชื้อจุลชีพปนเปื้อนอยู่ในเลือดผลิตภัณฑ์ของเลือด อาหาร น้ำ ยา สารน้ำที่ให้แก่ผู้ป่วย การแพร่กระจายเชื้อโดยเชื้อจะแขวนลอยอยู่ในอากาศ แล้วผู้ป่วยสูดหายใจเอาเชื้อในอากาศเข้าสู่ร่างกาย และการแพร่กระจายเชื้อโดยสัตว์พาหะ แต่ปัจจุบันการติดเชื้อที่แพร่กระจายเชื้อได้มากที่สุดคือ การแพร่เชื้อผ่านทางการสัมผัส (อะเคื้อ อุณหเลขกะ, 2554, น.31)

เชื้อแบคทีเรียที่เป็นเชื้อก่อโรคที่สำคัญและพบได้บ่อยในโรงพยาบาลชนิดหนึ่ง คือ *Staphylococcus Aureus* โดยก่อโรคได้หลายรูปแบบ ตั้งแต่ ฝี หนอง แผลติดเชื้อที่ผิวหนังภายนอก ติดเชื้อในกระดูก ตลอดจนถึงโรคติดเชื้อที่อวัยวะภายในและในกระแสเลือด *S.aureus* สามารถเป็น

เชื้อฉวยโอกาสในผู้ป่วยที่ร่างกายอ่อนแอหรืออยู่ในภาวะพักฟื้นได้ โดยจะแทรกซ้อนทำให้มีอาการรุนแรงขึ้น กลไกในการก่อโรคที่สำคัญของเชื้อเกิดจากการบุกรุกและทำลายเนื้อเยื่อโดยตรง เมื่อร่างกายได้รับบาดแผลหรือเกิดการถลอก เชื้ออาจลุกลามสู่เนื้อเยื่อ ก่อให้เกิดการอักเสบเป็นหนองหรือเกิดฝีหนอง เช่น รูขุมขนอักเสบ (Folliculitis) ซึ่งเมื่อเกิดการอักเสบอย่างรุนแรงมากขึ้น จะก่อให้เกิดเป็นฝีหนองขนาดใหญ่ เรียกว่า Furuncle และก้อนฝีดังกล่าวอาจขยายขนาดโตขึ้นลุกลามลงสู่เนื้อเยื่อชั้นใต้ผิวหนัง เรียกว่า Carbuncle จากนั้นเชื้อสามารถกระจายเข้าสู่กระแสเลือดไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกายและก่อให้เกิดโรคติดเชื้อตามระบบต่างๆ ของร่างกายได้ต่อไป ในกรณีที่มีการติดเชื้อ *S.aureus* ในระบบไหลเวียนเลือด อาจทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนเช่นเยื่อบุหัวใจอักเสบ ซึ่งมีผลทำให้เกิดการทำลายลิ้นหัวใจอย่างเฉียบพลันและร้ายแรงจนถึงขั้นเสียชีวิต หากติดเชื้อเข้ากระดูกและข้อ อาจก่อให้เกิดความพิการของข้อต่ออย่างถาวรได้ (ภาวิณี อุ่นกอง, 2554, น.1; นิติพงษ์ ศิริวงศ์และเอกชัย ชูเกียรติโรจน์, 2552, น.348)

จากการรักษาโรคติดเชื้อ *S.aureus* ด้วยยาปฏิชีวนะเป็นเวลาหลายสิบปี เชื้อมีการดื้อยาขึ้นจนยาไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ เรียกเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาชนิดนี้ได้ว่าเชื้อ Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* หรือเชื้อ MRSA ซึ่งเป็นเชื้อที่รุนแรง รักษาหายได้ยาก มีการดื้อยาและอัตราเสี่ยงต่อการเสียชีวิตสูงและในปัจจุบันเชื้อแบคทีเรีย MRSA ได้เริ่มดื้อต่อยาต้านจุลชีพที่แรงที่สุดชื่อ Vancomycin แล้ว (อรุณลักษณ์ ลุลิตานนท์และคนอื่นๆ, 2555, น.24)

การล้างมือเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยลดการแพร่กระจายเชื้อโดยการสัมผัสทางตรงได้เป็นอย่างดี น้ำยาทำลายเชื้อที่ใช้ในการทำความสะอาดมือ ได้แก่ Chlorhexidine, Hexachlorophene, Iodophors และ Alcohol การล้างมือโดยทั่วไปไม่จำเป็นต้องใช้น้ำยาทำลายเชื้อ ทั้งนี้เนื่องจากน้ำยาทำลายเชื้อทำให้ผิวหนังเกิดการระคายเคืองมากกว่าสบู่ การใช้น้ำยาทำลายเชื้อล้างมือบ่อยๆ จะทำให้มือแห้งและอาจทำให้เกิดผิวหนังอักเสบได้ ซึ่งส่งผลให้เชื้อที่มีอยู่บนมือเจริญเติบโตมากขึ้นและทำให้บุคลากรล้างมือน้อยลงได้ (อะเคื้อ อุณหเลขกะ, 2554, น.221)

สารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในสบู่ในปัจจุบันคือ Triclosan แต่วิสนีสกา, ไพโชวิซและกาลินสกี (Wisniewska, Piechowicz&Galinski, 2006) ได้ทำการวิจัยสาร Triclosan กับเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *S.aureus* 200 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อ MRSA ในการทดลองจำนวนร้อยละ 62 ลดความไวต่อ Triclosan ลงหรือกล่าวได้ว่า เชื้อเริ่มดื้อต่อ Triclosan นั้นเอง จากข้อมูลดังกล่าวมีแนวโน้มว่าสารทำความสะอาดที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อตามโรงพยาบาลเริ่มที่จะควบคุมเชื้อไม่อยู่แล้ว เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียมีการกลายพันธุ์และดื้อต่อสารยับยั้งเชื้อมากขึ้น จึงมีการมองหาสารใหม่ๆ เพื่อนำมาใช้เป็นทางเลือกในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย น้ำมันหอมระเหยที่สามารถใช้ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดื้อยาชนิด MRSA ได้สามารถพบได้จากพืชหลายชนิด จากงานวิจัยของเชาและคณะ (Chao, et al, 2008) พบว่าจากน้ำมันหอมระเหยในการทดลองจำนวน 91 ชนิด มี 78 ชนิดสามารถยับยั้งเชื้อ MRSA ได้ เช่น

น้ำมันตะไคร้, น้ำมันอบเชย, น้ำมันกานพลู, น้ำมันเจอรัลเนียม เป็นต้น น้ำมันตะไคร้และน้ำมันอบเชยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อสูงและหาได้ไม่ยาก แต่จากงานวิจัยของโดยปิลันธนา เลิศสถิตธนกร (2556) พบว่าฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย MRSA ของน้ำมันอบเชย(เปลือก) ดีกว่าน้ำมันตะไคร้เล็กน้อย โดยองค์ประกอบหลักในน้ำมันอบเชย คือ Cinnamaldehyde องค์ประกอบหลักในน้ำมันตะไคร้ คือ Citral แต่ Cinnamaldehyde มีความระคายเคืองต่อผิวหนังในระดับปานกลาง ในขณะที่ Citral มีความปลอดภัยต่อผิว ดังนั้น เมื่อต้องการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการทำความสะอาดผิวหนังเพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย MRSA น้ำมันตะไคร้จึงเป็นตัวเลือกที่มีความเหมาะสมเป็นอย่างยิ่ง

แม้กระนั้น การนำน้ำมันตะไคร้ไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ได้ถูกจำกัดด้วยปัญหาการระเหยและปัญหาการออกซิเดชั่นสาร (Oxidation Problem) ดังนั้น เพื่อเพิ่มการเก็บกักน้ำมันหอมระเหยไว้ในตำรับและเพิ่มความคงตัวของตำรับ จึงควรพัฒนา Encapsulation ขึ้นเพื่อให้น้ำมันหอมระเหยคงความเข้มข้นที่เหมาะสมไว้ในตำรับ ผลิตภัณฑ์จึงจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเมื่อถูกนำไปใช้

งานวิจัยนี้จึงจัดทำขึ้นเพื่อพัฒนาสบู่เหลวที่มีน้ำมันตะไคร้เป็นสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย MRSA และเพิ่มความคงตัวของน้ำมันตะไคร้ในตำรับโดยการพัฒนา Encapsulation เป็นพาร์ทิเคิล (Particles) ทั้งนี้ผู้วิจัยคาดหวังว่างานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่มีโอกาสได้รับโรคติดเชื้อ โดยช่วยควบคุมการติดเชื้อและลดการแพร่กระจายของเชื้อผ่านทางการสัมผัส

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. พัฒนาพาร์ทิเคิลที่มีน้ำมันตะไคร้เป็นสารออกฤทธิ์และเพิ่มความคงตัวของน้ำมันตะไคร้ในสบู่เหลว
2. ทดสอบยืนยันฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย MRSA ของน้ำมันตะไคร้

สมมติฐานของการวิจัย

1. น้ำมันตะไคร้มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย MRSA
2. พาร์ทิเคิลของน้ำมันตะไคร้สามารถเพิ่มความคงตัวของน้ำมันตะไคร้ไว้ในสบู่เหลวได้

ขอบเขตของการวิจัย

น้ำมันตะไคร้จากบริษัท Thai China Flavours & Fragrances Industry Co. ทำการวิเคราะห์สารสำคัญด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS) ทดสอบยืนยันฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย MRSA โดยการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของ

จุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC*)* และความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ (Minimal Bactericidal Concentration; MBC) ด้วยวิธี Broth Micro Dilution ทดสอบความไวของมันตะไคร้ต่อยับยั้งเชื้อ MRSA ในหน่วยเวลา (Time-Kill Assay) จากนั้นจังพัฒนาพาร์ทิเคิลเพื่อเก็บกักน้ำมันตะไคร้ในสบู่เหลว เตรียมสบู่เหลว 2 สูตรคือสูตรผสมน้ำมันตะไคร้ลงไปโดยตรงและสูตรผสมพาร์ทิเคลิของน้ำมันตะไคร้ ศึกษาความคงตัวและเปรียบเทียบความแตกต่างของสบู่เหลวทั้งสองสูตรหลังผ่านสภาวะเร่งการเสื่อมสภาพ Freeze-Thaw Cycles

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1. ได้ทราบความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย MRSA
2. ได้ทราบวิธีการ Encapsulation ซึ่งเป็นเทคนิคระบบนำส่งยาแบบใหม่ที่ใช้คงสภาพยาได้
3. ได้สบู่เหลวต้านเชื้อ MRSA ที่มีน้ำมันตะไคร้เป็นสารออกฤทธิ์และให้พาร์ทิเคิลช่วยเพิ่มความคงตัวของน้ำมันหอมระเหยไว้ในตำรับ

นิยามศัพท์เฉพาะ

MIC หมายถึง Minimum Inhibitory Concentration คือความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารยับยั้งเชื้อจุลชีพที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่มองเห็นได้หลังจากบ่มข้ามคืน (Andrews, 2006, p.2)

MBC หมายถึง Minimum Bactericidal Concentration คือความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารกำจัดเชื้อจุลชีพที่ใช้ในการป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพหลังจากเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อไร้ยาปฏิชีวนะ (Andrews, 2006, p.2)

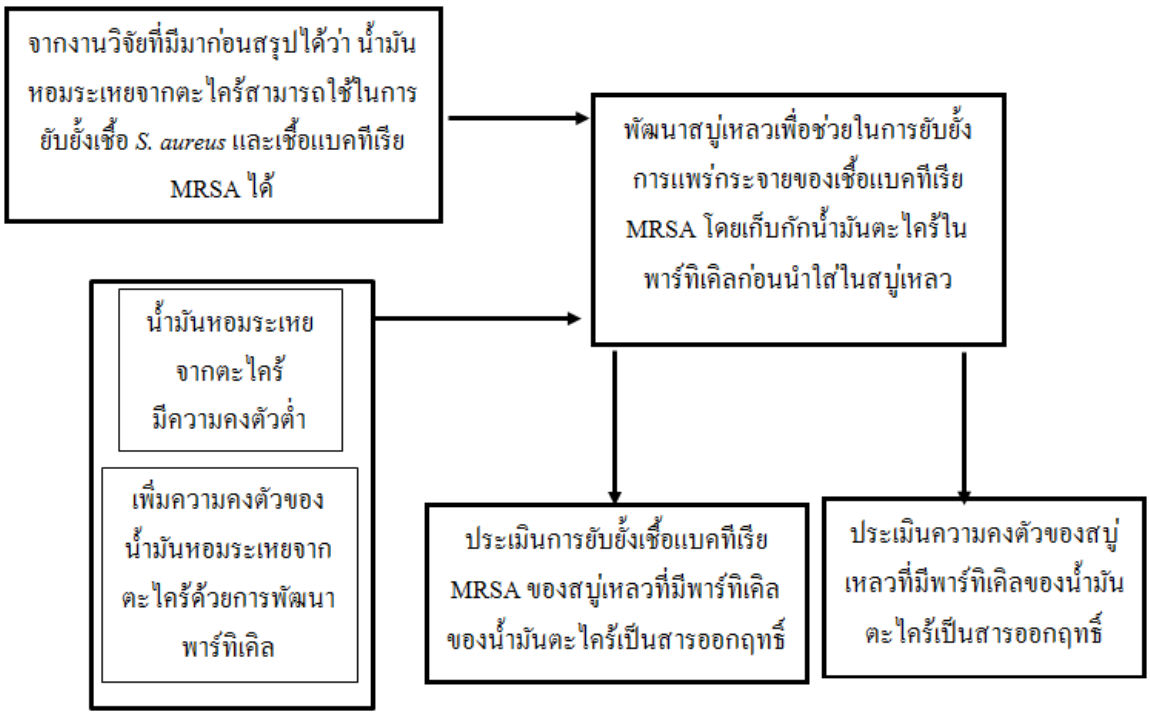
Disc Diffusion Method หมายถึง การที่ให้สารต้านเชื้อจุลชีพปริมาณแน่นอนแพร่ออกจากแผ่นกระดาษกรอง(Filter Paper Disc) รูปกลมออกไปทุกทิศทางเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพที่เพาะเลี้ยงบนผิวหน้าอาหารแข็ง หลักจากการบ่มเชื้อในสภาวะที่เหมาะสม จะนำจานเพาะเชื้อออกมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยวัดจากขอบวงที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพผ่านแผ่นกระดาษกรองไปยังของวงอีกด้านหนึ่ง ใช้หน่วยวัดเป็นมิลลิเมตร

Broth Microdilution Method หมายถึง การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในหลอดทดลองโดยใช้สารที่ต้องการทดสอบที่ความเข้มข้นต่างกันผสมกับเชื้อแบคทีเรีย เพื่อหาค่า MIC

MRS หมายถึง Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* หรือเชื้อ *Staphylococcus Aureus* ที่สามารถทนหรือดื้อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม Methicillinได้

พาร์ทิเคิล (Particles) หมายถึง อนุภาคที่ได้จากการพัฒนาเทคนิค Encapsulation โดยมีจุดประสงค์เพื่อเก็บกักสารสำคัญต่างๆ และเพิ่มความคงตัวของสารก่อนนำไปพัฒนาตำรับ Dosage Form อื่นๆ

กรอบแนวคิดในการวิจัย



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดในการวิจัย

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องและได้นำเสนอตามหัวข้อดังต่อไปนี้

1. เชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง
2. สมุนไพรที่เกี่ยวข้อง (ตะไคร้)
3. น้ำมันหอมระเหย
4. น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้
5. ระบบนำส่งยา
6. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง

1. เชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus*

เชื้อสกุล *Staphylococcus* เป็นเชื้อที่พบอาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมทั่วไปและพบอาศัยอยู่ตามผิวหนัง ต่อมใต้ผิวหนังและเยื่อเมือกบุผิวในคน ในบางคนอาจพบเชื้ออาศัยอยู่ในช่องปาก ทางเดินหายใจส่วนบน ทางเดินอาหาร ทางเดินปัสสาวะส่วนปลายและอวัยวะสืบพันธุ์ การก่อโรคของเชื้อกลุ่ม *Staphylococcus* มักพบได้หากมีบาดแผลบริเวณผิวหนังหรือเยื่อเมือกบุผิว ทำให้เชื้อสามารถเข้าสู่ร่างกายและก่อให้เกิดโรคได้ สปีชีส์ที่พบก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในคนได้บ่อยชนิดหนึ่ง คือ *Staphylococcus Aureus* (ภัทรชัย กีรติสิน, 2552, น.233)

เชื้อสกุล *Staphylococcus* จัดอยู่ในวงศ์ *Staphylococcaceae* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลม (Gram-Positive Cocci) เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-1.5 ไมครอน เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น (Grape-Like Cluster) ซึ่งชื่อของเชื้อมาจากภาษากรีก คือ “Staphylé” แปลว่าพวงองุ่น (A Bunch of Grapes) จำนวนเซลล์ในแต่ละกลุ่มไม่แน่นอน บางครั้งอาจเห็นเป็นเซลล์เดี่ยวหรือเป็นคู่ได้ เชื้อจะไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ จัดอยู่ในพวก Facultative Anaerobe หรือแบคทีเรียที่เจริญได้โดยมีออกซิเจนหรือไม่มีออกซิเจนก็ได้ เชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี โดยเจริญได้ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-เบส (Potential of Hydrogen Ion, pH) อยู่ระหว่าง 4.8-9.4 สามารถเจริญในที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 10% และเจริญได้ที่อุณหภูมิ

แตกต่างกันตั้งแต่ 18-40 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถทนความแห้งและทนความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสได้นาน 30 นาที เชื้อในสกุลนี้มีมากกว่า 40 สปีชีส์ คุณสมบัติสำคัญที่ใช้แยกเชื้อ *Staphylococcus Aureu* ออกจาก *Staphylococcus* สปีชีส์อื่น คือ เชื้อ *Staphylococcus Aureus* สามารถสร้างเอนไซม์ Coagulase ได้

2. เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus (S.aureus)*

เชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในร่างกายคน โดยพบได้บริเวณผิวหนังและในรูจมูกร้อยละ 20-40 ของคนปกติ เชื้อ *S.aureus* เจริญได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 7-47 องศาเซลเซียส แต่เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส เป็นเชื้อแกรมบวก ลักษณะโคโลนีของเชื้อมีสีขาวเหลือง ขอบเรียบ นูน มันวาว ลักษณะคล้ายเนย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1-2 มิลลิเมตร การสร้างรงควัตถุจะดีขึ้นถ้าบ่มเชื้อนานมากกว่า 24 ชั่วโมงโดยวางไว้ที่อุณหภูมิห้องหรือเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Acetate หรือ Glycerol Monophosphate ปัจจัยที่ก่อให้เกิดความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อนี้คือ โครงสร้างเซลล์ สารพิษที่หลังออกมาภายนอกเซลล์และเอนไซม์ ดังนี้

2.1 โครงสร้างเซลล์ ส่วนประกอบของเซลล์แบคทีเรียโดยเฉพาะโปรตีนที่ผนังเซลล์ (Cell Wall Protein) ได้แก่ โปรตีน A จะไปเกาะติดกับส่วน Crystallizable Fragment (Fc) ของอิมมูโนโกลบูลินชนิด IgG (Immunoglobulin; IgG) ซึ่งเป็นส่วนที่ปกติแอนติบอดีใช้ในการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้เกิดการยับยั้งการกลืนเข้ากินแบคทีเรียของเม็ดเลือดขาว นอกจากนี้สารโปรตีนหลายชนิดในบริเวณผิวเซลล์มีส่วนในการช่วยให้เชื้อสามารถเกาะติดกับส่วนประกอบต่างๆ ของเนื้อเยื่อ เช่น เส้นใย Collagen, Fibronectin และ Elastin

2.2 สารพิษที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์หรือเอกโซทอกซิน (Exotoxin)

2.2.1 Staphylococcal Enterotoxin เป็นสารพิษที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์ชนิดทนความร้อน (Heat-Stable Exotoxin) แบ่งเป็น 5 ชนิด คือ A, B, C (C_1, C_2, C_3), D และE ชนิดที่พบว่าก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (Food Poisoning) บ่อยที่สุดคือชนิด A และ E สารพิษนี้สามารถทนความร้อนได้ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และยังทนต่อสภาวะความเป็นกรดและเอนไซม์ในกระเพาะอาหารอีกด้วย ผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษนี้จะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อุจจาระร่วง ภายหลังจากการได้รับสารพิษชนิดนี้เข้าสู่ร่างกายเป็นเวลา 1ถึง 6 ชั่วโมง

2.2.2 Toxic Shock Syndrome Toxin 1 (TSST-1) เดิมชื่อ Staphylococcal Enterotoxin F หรือ Pyrogenic Exotoxin C พบการสร้างสารพิษชนิดนี้ในเชื้อ *S.aureus* สายพันธุ์ที่อาศัยอยู่บริเวณช่องคลอด สารพิษนี้จัดเป็น Superantigen มีความสามารถกระตุ้นระบบต่างๆ ของร่างกาย ทำให้ผู้ป่วยมี

อาการไข้สูง มีผื่น เจ็บคอ อุจจาระร่วงชนิดเป็นน้ำ (Watery Diarrhea) มีภาวะขาดน้ำ (Dehydration) คลื่นไส้ อาเจียน ในบางรายมีอาการรุนแรง อาจเกิดอาการช็อก ตับไตวายและเสียชีวิตในที่สุด

2.2.3 Exfoliative Toxin หรือ Exfoliatin หรือ Epidermolysin เป็นสารพิษที่มีฤทธิ์ในการทำลายผิวหนังชั้นหนังกำพร้า (Epidermal Layer) ทำให้ชั้นหนังกำพร้าหลุดลอกออกไป ก่อให้เกิดกลุ่มอาการผิวหนังหลุดลอก (Staphylococcal Scalded Skin Syndrome; SSSS) หรือโรคริตเทอร์ (Ritter's Disease)

2.2.4 Cytolytic Toxin เป็นกลุ่มของสารพิษที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์ เพื่อทำลายเซลล์ของร่างกาย ได้แก่ Hemolysin หรือ Staphylolysin ชนิดแอลฟา บีตาและเดลตา ฮีโมไลซินมีฤทธิ์ทำลายเม็ดเลือดแดง ส่วน Staphylococcal หรือ Penton-Valentine Leukocidin มีฤทธิ์ทำลายเม็ดเลือดขาวและป้องกันการกลืนกินของเม็ดเลือดขาว

2.3 เอนไซม์

2.3.1 Coagulase แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ ส่วนที่อยู่บนผนังเซลล์หรือ Bound Coagulase (Clumping Factor) และส่วนที่ถูกปล่อยออกมาสู่ภายนอกหรือ Free Coagulase เอนไซม์ Coagulase กระตุ้นให้เปลี่ยนเส้นใย Fibrinogen เป็น Fibrin ซึ่งสามารถเกาะกับผิวเซลล์แบคทีเรียและทำให้เชื้อเกิดการรวมตัวเป็นกลุ่ม มีปลอกช่วยปกป้องเชื้อจากขบวนการ Phagocytosis และการถูกทำลายโดนแอนติบอดี การสะสมของเส้นใย Fibrin ยังมีส่วนทำให้เกิดผนังล้อมรอบบริเวณที่ติดเชื้อเกิดเป็นฝีหนอง (Abscess) Bound Coagulase สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้าง Fibrin โดยตรง ในขณะที่ Free Coagulase ออกฤทธิ์โดยทำปฏิกิริยากับ Globulin Plasma Factor (Coagulase-Reacting Factor) เกิดเป็นสาร Staphylothrombin ซึ่งมีฤทธิ์กระตุ้นการเปลี่ยนแปลง Fibrinogen เป็น Fibrin ต่อไป

2.3.2 Hyalurinidase (Spreading Factor) ออกฤทธิ์สลายกรด Hyaluronic ที่พบเป็นส่วนประกอบของ Connective Tissue ทำให้เชื้อสามารถแพร่กระจาย ก่อให้เกิดการติดเชื้อลุกลามในชั้นเนื้อเยื่อได้

2.3.3 Lipase มีฤทธิ์สลายสารไขมัน จึงมีบทบาทสำคัญในการติดเชื้อในชั้นผิวหนังและใต้ผิวหนัง ซึ่งประกอบด้วยต่อมไขมันและเนื้อเยื่อไขมัน

2.3.4 Staphylokinase (Fibrionolysin) ออกฤทธิ์เปลี่ยน Plasminogen เป็น Plasmin ทำให้เกิดการของสลายก้อนลิ่มของเส้นใย Fibrin ในบริเวณที่ติดเชื้อ จึงมีส่วนช่วยในการกระจายลุกลามของเชื้อในชั้นเนื้อเยื่อ

2.3.5 β-lactamase เชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* มีการพัฒนาการดื้อยา Penicillin ขึ้นอย่างรวดเร็วภายหลังจากเริ่มมีการใช้ยาทางคลินิก ซึ่งเป็นผลจากการสร้างเอนไซม์ β-lactamase โดย

ยีนส์บน พลาสมิดและทำให้เชื้อดื้อต่อยาต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม β-lactams อื่นอีกหลายชนิด ปัจจุบันสายพันธุ์ของเชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* ส่วนใหญ่สร้างเอนไซม์ β-lactamase ได้ (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2556, น.98; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552, น.233)

3. โรคติดเชื้อที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *S.aureus*

ลักษณะสำคัญของโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *S.aureus* คือ เกิดการอักเสบเป็นหนองในตำแหน่งที่ติดเชื้อที่เรียกว่า Suppurative (หรือ Pyogenic) Infection หรือมักทำให้เกิดฝีหนอง (Abscess) โดยเฉพาะในบริเวณผิวหนังและชั้นเนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง เอนไซม์ Coagulase กระตุ้นการจับกลุ่มของเส้นใย Fibrin ทำให้เกิดการสร้างผนังขึ้น ล้อมรอบรอยโรคเกิดเป็นก้อนฝี ซึ่งภายในประกอบด้วยเนื้อเยื่อที่เน่าตายรวมตัวกันเป็นหนอง อย่างไรก็ตาม เชื้อจากรอยโรคอาจแพร่กระจายเข้าสู่เลือดไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย ทำให้สามารถก่อโรคติดเชื้อตามระบบได้ โรคติดเชื้อ *S.aureus* ที่สำคัญได้แก่

3.1 โรคติดเชื้อของชั้นผิวหนัง ได้แก่

3.1.1 Impetigo พบได้บ่อยในเด็กเล็ก ส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อ *S.aureus* อาการเริ่มจากมีผื่นเป็นจุดแดง (Macule) ซึ่งต่อมาจะกลายเป็นตุ่มหนอง (Pustule) และแตกออกเป็นสะเก็ดแห้งกรัง เชื้อสามารถกระจายสู่บริเวณข้างเคียงได้รวดเร็ว ทำให้เห็นผื่นแดงและตุ่มหนองปนกันอยู่ทั่วไป

3.1.2 Folliculitis เป็นการอักเสบเป็นหนองภายในรูขุมขน ทำให้เป็นตุ่มหนองบวมแดงขนาดเล็ก

3.1.3 Furuncle (Boil) เป็นการอักเสบรุนแรงของรูขุมขน เกิดเป็นฝีหนองขนาดใหญ่และมีเนื้อเยื่อเน่าตาย มีอาการเจ็บปวด

3.1.4 Carbuncle เป็นฝีหนองขนาดใหญ่ที่เกิดจากการรวมตัวกันของฝี Furuncle ในตำแหน่งข้างเคียงและมีการขยายขนาดลุกลามเนื้อเยื่อชั้นลึก เชื้อสามารถกระจายเข้าสู่กระแสเลือดทำให้ผู้ป่วยมีไข้สูง หนาวสั่นและเกิดการติดเชื้อตามระบบร่วมด้วยได้

3.1.5 Wound Infection ผู้ป่วยที่มีบาดแผลจากอุบัติเหตุหรือแผลผ่าตัด ทำให้เชื้อ *S.aureus* ที่อาศัยบนผิวหนังหรือบนวัตถุแปลกปลอมที่ทะลุผ่านชั้นผิวหนัง สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อของบาดแผล ทำให้แผลบวม แดง เจ็บและมีหนองปน

3.1.6 Staphylococcal Scalded Skin Syndrome (SSSS) อาจเรียกว่า Ritter's Disease ตามชื่อแพทย์ผู้อธิบายโรคนี้เป็นครั้งแรกคือ Gottfried Ritter von Rittershain ในปีค.ศ.1878 ผู้ป่วยส่วนใหญ่เป็นทารกและเด็กเล็ก เกิดจากการติดเชื้อ *S.aureus* สายพันธุ์ที่สร้าง Exfoliative Toxin อาการเริ่มจากการบวมแดงของผิวหนังอย่างเฉียบพลันและกระจายไปทั่วตัวอย่างรวดเร็วใน 1-2 วัน ต่อมาจะกลายเป็นตุ่มน้ำขนาดใหญ่ ภายในมีสารน้ำใสที่มักตรวจไม่พบเซลล์เม็ดเลือดขาวหรือเชื้อก่อโรค

เนื่องจากการเกิดโรคเป็นผลจากสารพิษ จากนั้นจึงเกิดการหลุดลอกออกของผิวหนังชั้น Epithelium อาการหายไปได้เองและมีการสร้างผิวหนังใหม่ขึ้นแทนใน 1-2 สัปดาห์หลังจากที่ร่างกายมีการสร้างแอนติบอดีต่อสารพิษ อัตราการเสียชีวิตต่ำ ยกเว้นแต่มีภาวะแทรกซ้อนจากการติดเชื้อซ้ำในระหว่างที่ร่างกายไม่มีผิวหนังชั้น Epithelium ปกคลุม การลอกของผิวหนังดังกล่าวไม่ทำให้เกิดแผลเป็น

3.1.7 Bullous Impetigo มักพบในทารกและเด็กเล็ก ผู้ป่วยมีตุ่มน้ำขนาดใหญ่คล้ายโรค SSSS แต่เกิดขึ้นเฉพาะที่ไม่กระจายไปทั่วร่างกาย ทั้งนี้เป็นผลจากการติดเชื้อ *S.aureus* สายพันธุ์ที่มีการสร้างสารพิษจำเพาะ ซึ่งทำให้เกิดอาการเฉพาะที่เท่านั้น เช่นสายพันธุ์ Phage Type 71 สารน้ำภายในตุ่มน้ำมีเชื้อแบคทีเรียอยู่ ทำให้เป็นแหล่งแพร่เชื้อที่สำคัญ

3.2 โรคติดเชื้อในระบบไหลเวียน ภาวะติดเชื้อในเลือด (Bacteremia) จากเชื้อ *S.aureus* พบได้บ่อย ส่วนใหญ่เกิดจากการลุกลามของเชื้อในบริเวณผิวหนังเข้าสู่กระแสเลือด นอกจากนี้ยังพบเป็นการติดเชื้อในโรงพยาบาลได้จากการติดเชื้อของบาดแผลผ่าตัดหรือการใส่สายให้สารน้ำทางเส้นเลือด เชื้อที่อยู่ในเลือดอาจทำให้เกิดการติดเชื้อของอวัยวะอื่น โดยเฉพาะโรคลิ้นหัวใจอักเสบเฉียบพลัน (Acute Infective Endocarditis) ซึ่งถือเป็นภาวะที่อันตรายและมีอัตราการเสียชีวิตสูง เชื้อ *S.aureus* ถือเป็นสาเหตุก่อโรคดังกล่าวที่พบได้บ่อยที่สุด โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีประวัติฉีดยาเสพติดเข้าทางเส้นเลือด ถือเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญ ในบางราย เชื้อที่เจริญเป็นกลุ่มก้อนบนลิ้นหัวใจที่เรียกว่า Vegetation อาจหลุดเข้าสู่กระแสเลือดไปอุดตันเส้นเลือดที่ไปเลี้ยงอวัยวะอื่นๆ ทำให้เนื้อเยื่อตายจากการขาดเลือดและการทำงานของอวัยวะนั้นล้มเหลวอย่างรวดเร็วได้ เรียกภาวะดังกล่าวว่า Embolism

3.3 โรคติดเชื้อของระบบหายใจ โรคติดเชื้อในทางเดินหายใจที่สำคัญ ได้แก่ โรคปอดบวม (Pneumonia) โดยได้รับเชื้อได้จาก 2 ทาง คือ ทางเลือด (Hematogenous Pneumonia) และทางการสำลักสารคัดหลั่งในช่องปาก (Aspisaton Pneumonia) เชื้อที่ผ่านมาทางกระแสเลือด เกิดจากมีการติดเชื้อในตำแหน่งอื่นๆ เช่น บาดแผลหรือลิ้นหัวใจ การสำลักเชื้อลงสู่ปอด มักพบได้ในเด็กเล็ก ผู้สูงอายุ ผู้ที่มีการติดเชื้อไวรัสในทางเดินหายใจ เช่น Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) ในบางรายอาจทำให้เกิดฝีหนองขึ้นในปอด (Lung Abscess) ผู้ป่วยบางส่วนอาจเกิดการติดเชื้อชนิดเป็นหนองภายในช่องเยื่อหุ้มปอด (Empyema) ร่วมด้วย

3.4 โรคติดเชื้อของระบบทางเดินอาหารที่พบได้บ่อย ได้แก่ โรคอาหารเป็นพิษ (Food Poisoning) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นผลจากการได้รับสารพิษ Enterotoxin ที่เชื้อสร้างขึ้นในอาหารมากกว่าการได้รับเชื้อเข้าสู่ทางเดินอาหารโดยตรง (Intoxication) เชื้อที่ปนเปื้อนในอาหารมักมาจากผู้ปรุงอาหารที่มีการติดเชื้อ *S.aureus* บริเวณผิวหนัง หรือเป็นพาหะนำเชื้อที่ไม่แสดงอาการ การปรุงอาหารด้วยความร้อนสามารถฆ่าเชื้อได้ แต่ไม่สามารถทำลายฤทธิ์ของสารพิษ เนื่องจากเป็นการได้รับสารพิษเข้าสู่

ร่างกาย ผู้ป่วยจึงเกิดอาการได้อย่างรวดเร็ว อาการมักเริ่มภายใน 2-8 ชั่วโมง ภายหลังกินอาหารที่ปนเปื้อนสารพิษ ส่วนใหญ่มีอาการอาเจียนรุนแรง ถ่ายเหลวและปวดท้องโดยไม่มีไข้ อาการหายได้เองภายใน 24 ชั่วโมง การให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียสำหรับการรักษาโรคติดเชื้อของระบบทางเดินอาหารนั้นไม่มีความจำเป็นเนื่องจากส่วนใหญ่ไม่ได้เกิดจากการติดเชื้อ ภูมิคุ้มกันต่อสารพิษเกิดขึ้นเพียงระยะสั้นทำให้ผู้ป่วยสามารถเกิดโรคซ้ำได้ การให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลานานในผู้ป่วยบางรายอาจทำให้เกิดการติดเชื้อในลำไส้ (Enterocolitis) เชื้อประจำถิ่นในลำไส้ลดลงอย่างมาก จนทำให้เกิดการติดเชื้ออื่นๆ ได้ง่าย เชื้อ *S.aureus* พบเป็นสาเหตุได้ไม่บ่อยเมื่อเทียบกับเชื้อ *Clodtridium Difficle* ที่พบเป็นสาเหตุสำคัญสำหรับการติดเชื้อของลำไส้ในภาวะดังกล่าว

3.5 โรคติดเชื้อของกระดูกและข้อ การติดเชื้อของกระดูกและกล้ามเนื้อ (Osteomyelitis) ส่วนใหญ่ได้รับเชื้อผ่านทางกระแสเลือด ในบางรายอาจได้รับเชื้อโดยตรงจากบาดแผลที่ลุกลามจากชั้นผิวหนัง ในเด็กมักเกิดการติดเชื้อในตำแหน่ง Metaphysis ของกระดูกท่อนยาว (Long Bone) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่เลือดมาเลี้ยงจำนวนมาก ในผู้ใหญ่ส่วนใหญ่พบการติดเชื้อของกระดูกสันหลัง การติดเชื้อในบริเวณ Metaphysis ของกระดูกท่อนยาวในผู้ใหญ่มักทำให้เกิดเป็นฝีหนองที่เรียกว่า Brodie's Abscess ทำให้เกิดไข้สูงร่วมกับอาการเจ็บปวดเฉียบพลันในตำแหน่งที่ติดเชื้อ การรักษาอาจอาศัยการผ่าตัดร่วมกับการให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อ *S.aureus* เป็นสาเหตุที่พบบ่อยสำหรับโรคข้ออักเสบติดเชื้อ (Septic Arthritis) ในเด็ก ในผู้ใหญ่ส่วนใหญ่พบเป็นภาวะแทรกซ้อนจากการฉีดสารเข้าข้อหรือในผู้ที่มีความพิการของข้ออยู่เดิม อาการสำคัญคือข้อบวมแดงและปวด ภายในข้อจะเกิดการอักเสบเป็นหนอง เชื้ออาจพลัดเข้าสู่กระแสเลือดและกระจายไปสู่ข้ออื่นๆ ได้

3.6 โรคติดเชื้อในระบบสืบพันธุ์กลุ่มอาการ Toxic Shock Syndrome (TSS) เกิดจากการติดเชื้อสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสารพิษ Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (TSST-1) ผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษนี้แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่สัมพันธ์กับการมีประจำเดือน (Menstruating TSS) และกลุ่มไม่สัมพันธ์กับการมีประจำเดือน (Non-Menstruating TSS) ในกลุ่มที่สัมพันธ์กับการมีประจำเดือน พบได้ในผู้หญิงที่ใช้ผ้าอนามัยชนิดสอด (Tampon) ซึ่งเชื้อสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและสร้างสารพิษในเลือดที่ถูกดูดซับอยู่ในผ้าอนามัยภายในช่องคลอด ในกลุ่มที่ไม่สัมพันธ์กับการมีประจำเดือนมักเกิดจากการติดเชื้อของบาดแผล ซึ่งพบทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ การติดเชื้อ *S.aureus* เฉพาะที่นี้ก่อให้เกิดการสร้าง TSST-1 ปล่อยเข้าสู่กระแสเลือดโดยไม่พบเชื้อในเลือด สารพิษนี้มีคุณสมบัติเป็น Superantigen ที่สามารถกระตุ้นให้มีการหลั่ง Cytokine หลายชนิดในปริมาณสูงผิดปกติ ทำให้ผู้ป่วยเกิดอาการไข้สูงเฉียบพลัน มีผื่นแดงและเกิดการหลุดลอกของผิวหนังกระจายไปทั่วตัว รวมถึงบริเวณฝ่ามือและฝ่าเท้า การทำงานของระบบไหลเวียนเลือดผิดปกติ ทำให้มีการเสียสารน้ำออกนอกเส้นเลือด ความดันเลือดลด

ต่ำลง การทำงานของระบบต่างๆ ล้มเหลวและเกิดอาการช็อกได้ หากผู้ป่วยได้รับการรักษาที่ถูกต้องทันท่วงที อัตราการเสียชีวิตจากโรคนี้จะลดลงอย่างมาก แอนติบอดีต่อสารพิษที่ร่างกายสร้างขึ้นหลังเกิดโรคสามารถป้องกันการเกิดโรคซ้ำได้แต่พบว่าผู้ป่วยส่วนน้อยที่เป็นโรค TSS มีการสร้างแอนติบอดีดังกล่าว การกระจายของเชื้อ *S.aureus* ผ่านทางกระแสเลือดอาจทำให้เกิดโรคติดเชื้อในอวัยวะอื่นๆ ที่อาจพบได้แต่ไม่บ่อย เช่น โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (Meningitis) และโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ

นอกจากเชื้อ *S.aureus* จะพบเป็นสาเหตุก่อโรคในคนได้บ่อยแล้ว ปัญหาสำคัญในปัจจุบันที่พบเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องคือการติดเชื้อ *S.aureus* สายพันธุ์ดื้อยาโดยเฉพาะยากลุ่ม Penicillinase-Resistant Penicillins เช่น Methicillin ซึ่งเป็นยาหลักในการรักษา เรียกเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ว่า Methicillin-Resistant *S.aureus* หรือ MRSA (ภัทรชัย กีรติสิน, 2552, น.237**)**

4. ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อและกลไกการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus*

ยา Penicillin G เป็นยาปฏิชีวนะตัวแรกของโลกที่นำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ โดยโครงสร้างยาในส่วน β-lactam จะเข้าไปจับกับส่วน PBPs (Penicillin Binding Proteins) ที่ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาการสร้างพันธะของโมเลกุล Peptidoglycan ในผนังเซลล์แบคทีเรีย เมื่อPBPs ถูกยับยั้งการสร้างผนังเซลล์จึงไม่สมบูรณ์ เกิดการยับยั้งเชื้อขึ้น หลังจากนั้นการนำ Penicillin G ออกไปใช้อย่างไม่ถูกวิธี ทำให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการกลายพันธุ์และดื้อยาขึ้น โดยเชื้อแบคทีเรียได้พัฒนาการสร้างเอนไซม์ Penicillinase ขึ้นซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม β-lactamase ไปสลาย β-lactam ในโครงสร้างของยากลุ่ม Penicillins เกิดการดื้อต่อยา Penicillin หรือยาที่มีโครงสร้างใกล้เคียงในการรักษา ยีนส์ควบคุมการสร้างเอนไซม์ Penicillinase พบอยู่บนพลาสมิดที่สามารถถูกถ่ายทอดได้ ทำให้การดื้อยาเกิดการกระจายได้รวดเร็ว ปัจจุบันสายพันธุ์มากกว่า 90% ของเชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* สามารถสร้างเอนไซม์นี้ เพื่อแก้ปัญหาการดื้อยานี้จึงมีการพัฒนายากึ่งสังเคราะห์ที่อยู่ในกลุ่ม Penicillinase-Resistant Penicillins (PRP) ขึ้น เช่น Nafcillin, Oxacillin และ Methicillin โดยยากลุ่มนี้สามารถทนต่อเอนไซม์ Penicillinase แต่ไม่นานก็มีการดื้อยาเกิดขึ้นอีก โดยเชื้อแบคทีเรียได้สร้าง PBP ชนิดพิเศษที่เรียกว่า PBP2a ขึ้น ซึ่ง PBP2a มีคุณสมบัติจับกับยาในกลุ่ม β-lactams ได้ต่ำมาก ยากลุ่ม PRP จึงใช้ไม่ได้ผลเชื้อ *S.aureus* ที่ดื้อต่อยากลุ่ม PRP นี้เรียกว่า Methicillin-Resistant *S.aureus* (MRSA) จากการศึกษาพบว่าเชื้อในกลุ่ม MRSA มีลักษณะการดื้อยาแบบผสม (Heteroresistance) คือมีการผสมของแบคทีเรียกลุ่มที่ดื้อยาปนอยู่กับกลุ่มที่ไวต่อยา ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อที่มียีนส์ดื้อต่อยานั้น มีเพียงส่วนน้อยที่สามารถแสดงออกถึงคุณสมบัติการดื้อยา (ประมาณ 10^{-3} ถึง 10^{-7}) อุณหภูมิและชนิดของอาหารเพาะเชื้อมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะการดื้อยา โดยทั่วไปเชื้อที่ดื้อยามีอัตราการเจริญที่ช้ากว่าเชื้อที่ไวต่อยา จึงอาจไม่เห็นลักษณะการดื้อยา หากอบเชื้อในระยะเวลาที่ไม่เหมาะสมคือน้อยกว่า 24 ชั่วโมง ดังนั้นการ

ทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธีที่ไม่เหมาะสมอาจตรวจไม่พบเชื้อดื้อยา การตรวจที่มีความไวสูงกว่าการทดสอบความไวต่อยาคือการใช้เทคนิคระดับโมเลกุล เช่นการตรวจหายีนส์ *mec A* ซึ่งทำหน้าที่สร้าง PBP2a ด้วยวิธี PCR (Polymerasw Chain Reaction เทคนิคการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอ) การตรวจดังกล่าวมีความสำคัญในการเลือกใช้ยาที่เหมาะสมในการรักษา โดยเฉพาะในผู้ที่มีการติดเชื้อรุนแรง ยาที่ถือเป็น Drug of Choice ในการรักษาโรคติดเชื้อ MRSA คือกลุ่ม Glycopeptides เช่น Vancomycin อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันได้มีรายงานการพบเชื้อ *S.aureus* ที่ลดความไวต่อยาในกลุ่ม Glycopeptides ที่เรียกว่า Glycopeptide-Intermediate *S.aureus* (GISA) รวมถึงพบการดื้อยาได้ในเชื้อกลุ่ม Coagulase-Negative Staphylococci กลไกการดื้อยากลุ่ม Glycopeptides ในเชื้อกลุ่ม *Staphyloccus* นั้นยังไม่ทราบแน่ชัด (ภัทรชัย กีรติสิน, 2552, น.243)

การเพิ่มขึ้นอย่างเป็นของอุบัติการณ์ของแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะมีปัจจัยมาจากการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างแพร่หลายทางด้านการเกษตรและปศุสัตว์ โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาตามคลินิก การใช้ยาปฏิชีวนะอย่างไม่เหมาะสมส่งผลให้เชื้อได้พัฒนาการดื้อยาปฏิชีวนะอย่างต่อเนื่องเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ทำให้มียีนส์ส่วนที่กำหนดการดื้อยาเกิดขึ้น อาจปรากฏอยู่บนโครโมโซมหรือพลาสมิด ส่วนใหญ่มักเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงหรือเหนี่ยวนำการสร้างเอนไซม์หรือโปรตีนบางชนิด กลไกการดื้อยาที่พบได้บ่อยจำแนกเป็น 4 ประเภท

4.1 การทำลายฤทธิ์ของยาด้วยเอนไซม์

แบคทีเรียดื้อยาหลายชนิดสามารถสร้างเอนไซม์มายับยั้งหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยา มีผลทำให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ เนื่องจากยาไม่สามารถเข้าจับกับบริเวณยับยั้งของเชื้อได้ ซึ่งพบเป็นกลไกหลักที่สำคัญและพบบ่อยที่สุดในกลไกการดื้อยา ยาที่นิยมนำมาใช้ในทางคลินิกเป็นยาปฏิชีวนะกลุ่ม β-lactams จากการใช้ยาปฏิชีวนะในกลุ่มดังกล่าว พบแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิดที่ดื้อต่อยากลุ่มนี้ เช่น *S.aureus* ที่ดื้อต่อยา Penicillin หรือ Cephalosporins เนื่องจากเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ β-lactamase ที่สามารถย่อยสลายส่วนวงแหวน β-lactam ของยาบางชนิดทั้ง 2 กลุ่ม ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ คือ Penicilloic Acid และ Crphalosporoic Acid ที่ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ

4.2 การเปลี่ยนแปลงเป้าหมายการออกฤทธิ์ของยา

กลไกการดื้อยาปฏิชีวนะประเภทนี้ เกิดจากแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะมีการเปลี่ยนแปลงลำดับที่สำคัญของยีนส์ที่เกี่ยวข้องกับตำแหน่งที่ใช้ในการสร้างเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยา ทำให้ยาไปจับกับเป้าหมายได้ลดลง แบคทีเรียจึงไม่ถูกยับยั้งด้วยยาปฏิชีวนะนั้นๆ เช่น การดื้อยากลุ่ม β-lactams ของเชื้อ MRSA โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ PBP ที่ยาจะไปจับไปเป็น PBP2a ซึ่งจับกับยาได้ต่ำ ลักษณะการดื้อยานี้เป็นผลมาจากการได้รับยีนส์ *mecA* และการสร้างผนัง

เซลล์โดยไม่ใช้ D-Ala-D-Ala-Containing Pentapeptide ที่เป็นเป้าหมายของ Glycoside ของเชื้อ Enterococci ทำให้เชื้อดื้อยากลุ่ม Glycopeptides รวมทั้งเกี่ยวข้องการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนบนยีนส์ที่สร้าง DNA Gylases และ Topoisomerases เชื้อจึงดื้อต่อยากลุ่ม Quinolones

4.3 การลดการผ่านของสารเข้าเซลล์

ยาปฏิชีวนะที่นำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วย จำเป็นต้องมีระดับความเข้มข้นของยาในบริเวณเป้าหมายสูงพอที่จะออกฤทธิ์ และมีผลต่อการเจริญของเชื้อได้ ดังนั้น การขัดขวางไม่ให้ยาจากภายนอกเซลล์เข้ามาภายในเซลล์ ย่อมทำให้เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ จากกลไกการดื้อยาดังกล่าว พบเชื้อดื้อยาหลายชนิดแสดงการลดการผ่านของยาเข้าเซลล์ โดยอาศัยกลไกต่างๆ เช่น เชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยา Cycloserine พบมีการสูญเสียของ Alanine Transport System ที่เกี่ยวข้องกับการส่งผ่านยาเข้าเซลล์ เชื้อบางชนิดที่ดื้อต่อยา Tetracycline พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของ Porins ซึ่งเป็นโปรตีนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ที่นำสารเข้าเซลล์ เชื้อแบคทีเรียจะลดจำนวน Porins ลงเพื่อลดการนำยาเข้าสู่เซลล์ เป็นต้น

4.4 การเพิ่มปริมาณการผลิตสารและเอนไซม์เพื่อแข่งกับปริมาณยา

ยาปฏิชีวนะบางชนิดมีสูตรโครงสร้างคล้ายสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิซึม ทำให้เกิดการแย่งจับเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการ หากเชื้อสามารถเพิ่มปริมาณการผลิตสารดังกล่าวเพื่อแข่งกับปริมาณยา สามารถแย่งจับเอนไซม์กลับคืนมาเพื่อดำเนินการเมทาบอลิซึมต่อไปได้ เช่น การเพิ่มระดับของ *p*-Aminobenzoic Acid ส่งผลให้เชื้อสามารถดื้อยากลุ่ม Sulfonamides ขณะเดียวกันหากมีการเพิ่มปริมาณของเอนไซม์ชนิดที่ถูกขัดขวางการทำงานด้วยยาปฏิชีวนะ เชื้อจึงดื้อต่อยาที่มีคุณสมบัติดังกล่าว ถึงแม้ว่าเอนไซม์บางส่วนจะถูกขัดขวาง แต่ยังมีเอนไซม์ส่วนที่เหลือยังคงทำหน้าที่ต่อไปได้ เช่น การเพิ่มปริมาณการผลิตเอนไซม์ Xanthosine Monophosphate Aminase ทำให้เชื้อดื้อต่อ Psicofuranine ได้หรือถ้ามีการเพิ่มเอนไซม์ Dihydropteroate Synthetase ย่อมมีผลทำให้เชื้อดื้อยากลุ่ม Sulfonamides และเพิ่ม Dihydrofolate Reductase มีผลทำให้เชื้อดื้อต่อยา Trimethoprim ได้

จากกลไกการดื้อยาที่กล่าวมาข้างต้นเห็นได้ว่า เชื้อแต่ละชนิดมีวิธีการดื้อยาชนิดเดียวกันในกลไกที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อและยีนส์ที่บงการการดื้อยาว่าเป็นยีนส์บนโครโมโซมหรือพลาสมิด (ภาวิณี อุ่นกอง, 2554, น.21)

5. เชื้อ Methicillin-Resistant *S.aureus* (MRSA)

S.aureus เป็นเชื้อที่แสดงออกถึงการปรับตัวในการดื้อยาปฏิชีวนะอย่างต่อเนื่อง ในสมัยก่อนไม่มียาต้านจุลชีพ พบมีอัตราการตายจากเชื้อ *S.aureus* สูงถึงร้อยละ 90 นักวิทยาศาสตร์จึงคิดค้นยาต้านจุลชีพ เพื่อลดอัตราการตาย พบว่าปี ค.ศ.1940 ยา Penicillin G ถูกนำมาใช้ในการรักษาและสามารถลดอัตราการตายจากโรคติดเชื้อ *S.aureus* ได้มาก แต่ในปี ค.ศ.1942 เริ่มพบการดื้อยา

Penicillin G จนกระทั่งปี ค.ศ.1948 พบว่ายา Penicillin G ไม่สามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ *S.aureus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในปี ค.ศ.1959 ยา Methicillin เป็นยาที่นำมาใช้รักษาโรคติดเชื้อ *S.aureus* ที่ดื้อต่อยา Penicillin G แต่ต่อมาในปี ค.ศ.1961 เริ่มมีรายงานการพบเชื้อ *S.aureus* ที่ดื้อต่อยา Methicillin (MRSA) นอกจากนี้ยังพบเชื้อดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายกลุ่ม เช่น Tetracyclines, Sulfonamides, Macrolides, Cephalosporines, Chloramphenicol และ Quinolones เป็นต้น เชื้อที่ไวต่อยาในกลุ่ม Penicillins จะจัดอยู่ในกลุ่มที่เรียกว่า MSSA ความรุนแรงของเชื้อ MRSA และ MSSA ไม่ต่างกันแต่การติดเชื้อ MRSA มีความสำคัญมากกว่า เพราะเชื้อ MRSA ไม่สามารถรักษาให้หายได้ด้วยยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาการติดเชื้อ *Staphylococcus* ทั่วไป และหากเชื้อ MRSA แพร่กระจายทำให้เกิดการระบาดขึ้นในโรงพยาบาล จะส่งผลกระทบรุนแรงต่อผู้ป่วยและโรงพยาบาล

เชื้อ MRSA ดื้อต่อยากลุ่ม Penicillin และยากลุ่ม β-lactams อื่นๆ ซึ่งการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่ม β-lactams ต่อเชื้อ จะทำโดยยาจะเข้าจับกับเอนไซม์ที่เรียกว่า PBP ในเชื้อ *Staphylococcus* ซึ่ง PBP ทำหน้าที่เกี่ยวกับปฏิกิริยา Transpeptidation และ Carboxypeptidation ซึ่งสำคัญสำหรับ Cross Linking ของ Peptidoglycan Back Bone ในผนังเซลล์ของแบคทีเรีย โดย β-lactam ออกฤทธิ์ทำให้ PBP ทำงานไม่ได้ จึงเกิดการแตกสลายของชั้น Peptidoglycan ส่งผลให้เชื้อตาย เชื้อ *S.aureus* ที่ไวต่อ Methicillin (MSSA) สร้าง PBP 4 ชนิด คือ PBP1, PBP2, PBP3 และ PBP4 ซึ่ง PBP1, PBP2 และ PBP3 เป็นเป้าหมายสำคัญสำหรับ β-lactam แต่ MRSA สร้าง PBP ที่ผิดปกติ เรียกว่า PBP2a ซึ่งจับกับ β-lactam ได้ไม่ดี เนื่องจากมี Affinity ต่ำจึงมีผลทำให้ PBP2a ในเชื้อดื้อยาทำหน้าที่แทน PBP ปกติ จึงทำให้ β-lactam ออกฤทธิ์ไม่ได้ ซึ่งยีนส์ที่ควบคุมการสร้าง PBP2a คือ *mecA* ส่วนการดื้อยาในกลุ่ม Macrolides ไม่แตกต่างจากการดื้อยากลุ่มอื่น คือ มีการเปลี่ยนแปลงเป้าหมายการลดการนำยาเข้าสู่เป้าหมาย ซึ่งอาจเป็นการลดการซึมผ่านหรือการขับยาออกจากเซลล์และทำให้ยาหมดฤทธิ์

การแบ่งประเภทตามกลไกการดื้อยาของเชื้อ MRSA

5.1 True Methicillin-Resistant *S. aureus* (“True” MRSA)

ใน “True” MRSA พบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายขนาน โดยเฉพาะยากลุ่ม Penicillinase-Resistant Penicillin เช่น Methicillin, Oxacillin, Cloxacillin, Dicloxacillin และ Nafcillin รวมทั้งดื้อต่อยากลุ่ม Macrolide และ Chloramphencal ด้วย สำหรับในประเทศไทยตรวจพบเชื้อ “True” MRSA จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลศิริราชขนาด 2,000 เตียง จำนวน 105 สิ่งส่งตรวจ ระหว่างปี ค.ศ.1994-1996 โดยวิธี Oxacillin Disc Diffusion พบเชื้อ “True” MRSA จำนวน 72 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ69 เชื้อ “True” MRSA ดื้อยาโดยการสร้าง PBP2a จากยีนส์ *mecA*

5.2 Borderline Oxacillin-Resistant *S.aureus* (BORSA)

การดื้อยาของเชื้อ BORSA มีลักษณะที่แสดงออกแบบ Non-Heterogeneous มีระดับค่า MIC ของยา Oxacillin น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ต่อมาภายหลังพบว่าเชื้อดังกล่าวดื้อต่อยา Oxicillin เพิ่มขึ้น โดยมีระดับค่า MIC อยู่ระหว่าง 2-8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สายพันธุ์ Borderline Resistant แตกต่างจาก MRSA สายพันธุ์ "True" MRSA เนื่องจากสายพันธุ์ Borderline Resistant ไม่ดื้อต่อยาข้ามกลุ่ม ในประเทศไทยตรวจพบเชื้อ BORSA จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลศิริราชขนาด 2,000 เตียง ระหว่างปี ค.ศ.1994-1996 โดยวิธี Oxacillin Disc Diffusion พบเชื้อ BORSA จำนวน 11 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 10 อีกทั้งได้ทดสอบความไวของยา Amoxillin-Clavulanate, Ampicillin-Sulbactam, Chloramphenicol และ Erythomycin ต่อการยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ β-lactamase โดยวิธี Agar Dilution พบว่า BORSA ไวต่อยา Amoxicillin-Clavulanate, Ampicillin-Sulbactam และ Erythomycin ทุกสายพันธุ์ ส่วน Chloramphenicol คิดเป็นร้อยละ 82 เชื้อ BORSA มีกลไกการดื้อยาโดยเชื้อสังเคราะห์เอนไซม์ β-lactamase มากเกินไป (Hyperproducing β-lactamase) ดังนั้น เอนไซม์ดังกล่าวสามารถย่อยสลายบางส่วนของยากลุ่ม Penicillinase-Resistant Penicillin และ Cephalosporins ได้ แต่เชื้อสายพันธุ์ BORSA กลับมาไวต่อยากลุ่ม β-lactam ได้อีกเมื่อนำมาทดสอบร่วมกับสารยับยั้งเอนไซม์ β-lactamase เช่น Clavulanic Acid และ Sulbactam เป็นต้น

5.3 Modified-Resistant *S.aureus* (MODSA)

MODSA จัดอยู่ในกลุ่ม Borderline Resistant เป็นเชื้อสายพันธุ์ที่มียีนส์ *mecA* เกิดความบกพร่องและมีการเปลี่ยนแปลงหรือเพิ่มจำนวนของ PBP อื่นที่ไม่ใช่ PBP2a ทำให้กลไกการดื้อยาต่างจากสายพันธุ์ BORSA จากความบกพร่องของยีนส์ *mecA* ส่งผลให้มีการสร้าง PBP4 เพิ่มขึ้นร่วมกับการมี PBP1 และ PBP2 ลดลง บางสายพันธุ์มีการกลายพันธุ์ของ PBP2a กลไกเหล่านี้ทำให้การจับของ β-lactam ต่อ PBP ลดลง จากการแยกเชื้อจากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลศิริราชขนาด 2,000 เตียง จำนวน 105 สิ่งส่งตรวจระหว่างปี ค.ศ.1994-1996 พบผู้ติดเชื้อสายพันธุ์ MODSA จำนวน 22 สิ่งส่งตรวจ คิดเป็นร้อยละ 21 เมื่อนำมาทดสอบความไวต่อยา Amoxicillin-Clavulanate, Ampicillin-Sulbactam และ Erythomycin พบว่า MODSA ทุกสายพันธุ์ไวต่อยาปฏิชีวนะดังกล่าวและไวต่อยา Chloramphenicol คิดเป็นร้อยละ 72 และมีระดับค่า MIC ของยา Oxacillim เท่ากับ 64 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

5.4 Methicillin-Aminoglycoside-Resistant *S.aureus* (MARSA)

MARSA จัดเป็นเชื้อสายพันธุ์ที่สามารถดื้อต่อยา Methicillin และ Aminoglycoside เชื้อดังกล่าวมีพัฒนาการการดื้อยาสูงกว่า MRSA เนื่องจากเชื้อสายพันธุ์ MARSA สามารถผลิตเอนไซม์ Aminoglycoside-Modifying ชนิด Bifunctional Enzyme ประกอบด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด คือ Aminoglycoside 6’-N-Acetyltransferase (AAC(6’)) และ Aminoglycoside 2’’-Phosphotransferase (APH(2’’)) เอนไซม์ดังกล่าวมีผลไปเร่งปฏิกิริยา N-acetylation และ O-phosphorylation ตามลำดับ จากการผลิตเอนไซม์ดังกล่าวมีผลต่อการดื้อยาในกลุ่ม Aminoglycoside โดยเฉพาะ Gentamycin และ Amikacin เป็นต้น (ภาวิณี อุ่นกอง, 2554, น.25)

การรักษาและการป้องกัน

การรักษาผู้ป่วยในรายที่เกิดฝีหนองขึ้น ยาต้านเชื้อแบคทีเรียอาจไม่สามารถผ่านผนังของฝีเข้าสู่รอยโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้น การรักษาโรคติดเชื้อกลุ่ม *Staphylococcus* ที่เป็นฝีหนองควรต้องเจาะระบายหนองและเนื้อเยื่อเน่าตายในตำแหน่งที่ติดเชื้อออก หรือทำการล้างทำความสะอาดแผลที่ติดเชื้อ ร่วมกับการให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสม ในปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนสำหรับป้องกันการติดเชื้อ *S.aureus* ส่วนหนึ่งเป็นผลจากเชื้อปัจจัยก่อโรคที่หลากหลาย การทดสอบในสัตว์ทดลองพบว่าสาร Polysaccharide จากแคปซูลของเชื้อ *S.aureus* มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจนที่สามารถกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีได้ดี แต่ยังจำเป็นต้องทำการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมต่อไปสำหรับการใช้ในคน (ภัทรชัย กีรติสิน, 2552, น.244)

สมุนไพรที่เกี่ยวข้อง (ตะไคร้)

ภาพที่ 2 ตะไคร้

ชื่อสมุนไพร ตะไคร้

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cymbopogon Citratus* Stapf.

ชื่อวงศ์ GRAMINEAE

ชื่อสามัญ Lemon Grass, Lapine, West Indian Lemongrass

ชื่อท้องถิ่น คาหอม, ไคร, จะไคร, เชิดเกรย, หัวสิงไค, เหลอะเกรย, ห่อวอตะไป่, ตะไคร้แกง, เฮียงเม้า

แหล่งกำเนิด

ตะไคร้เป็นพืชเขตร้อนและกึ่งเขตร้อนของทวีปแอฟริกาและเอเชีย ในประเทศไทยพบปลูกเป็นพืชสวนครัวทั่วไป ใช้เป็นเครื่องเทศในน้ำพริกแกง ต้มยำ ยำและพร่าชนิดต่างๆ เมื่อนำเหง้าสดและกาบใบมากลั่นด้วยไอน้ำ จะได้น้ำมันหอมระเหยประมาณร้อยละ 0.2-0.4

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ตะไคร้เป็นไม้ล้มลุก อายุหลายปี สูง 0.75–1.2 เมตร ลำต้นตั้งตรงขึ้นเป็นกอ รูปทรงกระบอก แข็ง เกลี้ยง ตามข้อปล้องมักมีไขปกคลุม ลำต้นใต้ดินเป็นเหง้า ข้อและปล้องสั้น แข็ง ลำต้นส่วนที่อ่อนจะมีใบเรียงซ้อนกันแน่นมาก ต้นและใบมีกลิ่นเฉพาะตัว ใบเป็นใบเดี่ยว รูปใบเรียวยาวได้ถึง 90 ซม. กว้างไม่เกิน 2 ซม. ขอบใบขนานเรียบคม แผ่นใบสีเขียวแกมเทาสากมือทั้งสองด้าน มีขนอยู่ทั่วไป ปลายใบค่อนข้างแหลม เมื่อขยี้ใบจะมีกลิ่นฉุนเนื่องจากมีน้ำมันหอมระเหย ก้านใบสีขาวนวลหรือม่วงอ่อนแผ่เป็นกาบหุ้มซ้อนกัน ดูคล้ายลำต้นบนดิน เป็นพืชที่มีดอกยาก ดอกเป็นดอกขนาดเล็กบนช่อกระจาย

การปลูก

ใช้เหง้าปลูก โดยเอาลำต้นหรือเหง้าปักชำ ตัดใบออกให้เหลือตอนโคนยาวพอสมควร ปักเอียงลงดิน ตะไคร้ชอบดินร่วนซุน ไม่ชอบน้ำขัง ปลูกได้ตลอดปี

ส่วนที่ใช้และสรรพคุณ

ต้น เป็นยาขับลม แก้ผมแตกปลาย เป็นยาช่วยให้ลมเบ่งขณะคลอดลูก ใช้ดับกลิ่นคาว แก้เบื่ออาหาร บำรุงไฟธาตุให้เจริญ แก้โรคทางเดินปัสสาวะ นิ่ว ปัสสาวะพิการ แก้หนองใน

เหง้า ใช้ขับปัสสาวะ แก้นิ่ว รักษาเกลื้อน แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ

ใบสด ช่วยลดความดันโลหิตสูง แก้ไข้

ราก แก้เสียดแน่น แสบบริเวณหน้าอก ปวดกระเพาะอาหาร ขับปัสสาวะ บำรุงไฟธาตุ แก้นิ่ว แก้ปัสสาวะพิการ รักษาเกลื้อน แก้อาการขัดเบา

ใช้ทั้งต้น รสฉุนสุขุม แก้หวัด ปวดศีรษะ ไอ แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ แน่นจุกเสียด ขับลมในลำไส้ ขับเหงื่อ ขับปัสสาวะ ลดความร้อนในร่างกาย บำรุงไฟธาตุ ทำให้เจริญอาหาร แก้ปวดกระเพาะอาหาร แก้ท้องเสีย แก้ปวดข้อ ปวดเมื่อย ฟกช้ำจากหกล้ม ขาบวมน้ำ แก้โรคทางเดินปัสสาวะ นิ่ว ขับปัสสาวะประจำเดือนมาผิดปกติ แก้ปัสสาวะเป็นเลือด แก้โรคหืด (สมพร ภูมิยานันต์, 2551, น.197)

สรรพคุณตามตำราไทย

ตำรายาไทยกล่าวว่า ต้น รสหอมปร่า ขับลม ลดอาการท้องอืดท้องเฟ้อแน่นจุกเสียด แก้การเกร็ง ขับเหงื่อ แก้โรคทางเดินปัสสาวะ แก้อาการขัดเบา แก้นิ่ว แก้ปัสสาวะเป็นเลือด ทำให้เจริญอาหาร ลดความดันโลหิต เหง้า แก้เบื่ออาหาร บำรุงไฟธาตุ แก้กระษัย ขับลมในลำไส้ แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ แก้ปัสสาวะขัด แก้ปัสสาวะพิการ เป็นยารักษาเกลื้อน แก้ไข้หวัด ขับประจำเดือน ขับระดูขาว ใช้ภายนอกทาแก้อาการปวดบวมตามข้อ

ตำรายาพื้นบ้านนครราชสีมากล่าวว่า ใช้ทั้งต้นลดไข้ โดยนำมาต้มจนเดือดประมาณ 10 นาที ยกลงดื่มครั้งละครึ่งแก้วสามเวลา ใช้ภายนอกรักษาโรคผิวหนัง โดยต้มกับน้ำและนำมาอาบ

ตำรายาสมุนไพรล้านนากล่าวว่า ใช้รักษาอาการบวมในเด็ก วัยกลางคนและคนชรา โดยในตำรับประกอบด้วยตะไคร้และสมุนไพรอื่นอีก 13 ชนิด นำไปต้มอาบ คุณค่าทางด้านอาหาร ตะไคร้มีประโยชน์ต่อร่างกาย เพราะช่วยเพิ่มเกลือแร่ที่จำเป็นหลายชนิด เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัสและยังมีวิตามินเอ รวมอยู่ด้วย

องค์ประกอบทางเคมี

สารเคมีที่พบอยู่ในส่วนของน้ำมันหอมระเหย ปริมาณของน้ำมันขึ้นอยู่กับแหล่งที่ปลูก อายุและส่วนที่นำมาสกัด ส่วนที่อ่อนของใบจะมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากกว่าส่วนที่แก่ องค์ประกอบที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหยได้แก่ Citral 70-80% มี 2 Isomer คือ Citral A (Geranial) และ Citral B (Neral) นอกจากนี้ยังพบ Geraniol, Myrcene, Citronellal, Linalool, Nerol, Geranyl Acetate,1,8-Cineol, Citronelloe, Linalyl Acetate,α-terpineol, α-pinene, Limonene,Caryopolylene, Ocimene,Terpendene, Methyl Heptanone และ β-caryphyllene (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2553,ออนไลน์)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และการทดสอบทางคลินิก

พบฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ สารเคมีในน้ำมันหอมระเหยของตะไคร้ช่วยขับลม น้ำมันหอมระเหยของตะไคร้จึงลดอาการแน่นจุกเสียดได้

พบฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุอาการแน่นจุกเสียดและท้องเสีย เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ (ความเข้มข้นร้อยละ 0.3) มาทดสอบ พบว่าสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดอาการท้องเสียได้ปานกลาง

พบฤทธิ์ต้านเชื้อรา โดยการสกัดน้ำมันตะไคร้ด้วยเอทานอล สามารถต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนัง เช่น กลาก เกลื้อนได้ โดยน้ำมันตะไคร้ที่มีสาร Citral และ Myrcene เป็นส่วนประกอบหลักจะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราดังกล่าว และเมื่อนำน้ำมันตะไคร้ไปพัฒนาเป็นครีมต้านเชื้อรา พบว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และ 3.0 จะให้ผลต้านเชื้อราได้ดีที่สุดและเหมาะที่จะพัฒนาเป็นตำรับยาต่อไป

พบฤทธิ์ต้านยีสต์ของสารสกัดน้ำมันตะไคร้ที่สกัดด้วยเอทานอล พบสามารถต้านยีสต์ *Candida Albicams* ได้ พบฤทธิ์แก้ปวด โดยพบว่าน้ำมันหอมระเหยสามารถบรรเทาอาการปวดได้เมื่อฉีดเข้าทางช่องท้องหนูเม้าส์ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดความเจ็บปวดด้วยความร้อน หรือหากป้อนน้ำมันหอมระเหยในขนาดเท่าเดิมทางปากจะสามารถบรรเทาอาการปวดได้เมื่อเทียบกับยา Meperidine

พบฤทธิ์ขับน้ำดี ตะไคร้มีสารช่วยในการขับน้ำดีมาช่วยย่อย คือ Borneol, Fenchone และ Cineole (มหาวิทยาลัยมหิดล, ม.ป.ป.)

การทดสอบความเป็นพิษ

ทดสอบในสัตว์ทดลอง เมื่อให้ในขนาด 20 เท่าของขนาดที่ใช้เป็นอาหารในคน ไม่พบอาการพิษ ทดสอบพิษโดยใช้ชาที่เตรียมจากตะไคร้พบว่าเมื่อให้อาสาสมัครสุขภาพดีรับประทานชาชงตะไคร้ 1 ครั้ง หรือรับประทานวันละครั้งเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในเลือดหรือเม็ดเลือดหรือปัสสาวะ มีบางรายเท่านั้นที่มีปริมาณบิลลิรูบินและ Amylase เพิ่มขึ้นเล็กน้อย (มหาวิทยาลัยมหิดล, ม.ป.ป.)

น้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยเป็นสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบสลับซับซ้อน ได้จากการสกัดน้ำมันที่พืชสมุนไพรสร้างขึ้น โดยเก็บไว้ในส่วนต่างๆของพืชสมุนไพร เช่น เมล็ด ดอก ใบ ผล เปลือก ลำต้น หรือที่รากและเหง้า ระดับของน้ำมันหอมระเหยที่พบในพืชแต่ละชนิดจะมีตั้งแต่ 0.01% ถึง 10% ประกอบด้วยองค์ประกอบทางเคมีกว่า 100 ชนิด มีลักษณะทั่วไปเป็นของเหลว ใส ไม่มีสีหรือมีสีอ่อนๆ มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติ เมื่อได้รับความร้อนน้ำมันจะระเหยได้ดียิ่งขึ้น กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยจะมีคุณสมบัติแตกต่างกันไปขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่

อยู่ในพืชสมุนไพรแต่ละชนิด แต่นอกจากพืชหอมจะให้กลิ่นหอมแล้ว บางชนิดอาจก่อให้เกิดอันตรายได้ด้วย เช่น ทำให้เกิดการระคายเคืองหรือเกิดอาการเป็นพิษ การใช้ประโยชน์จากน้ำมันหอมระเหยมีมาตั้งแต่สมัย 5000 ปีก่อน โดยใช้ในชุมชนมีอารยธรรมแต่โบราณ เช่น อียิปต์ กรีก โรมันและจีน จากหลักฐานใน Ebers Papyrus แสดงให้เห็นถึงการนำน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดต่างๆ มาใช้เป็นเครื่องประทินกลิ่นกาย ใช้ถนอมอาหาร ใช้ในการเก็บรักษาร่างมัมมี่ ใช้กลิ่นบำบัดอาการทางร่างกายและปรุงแต่งอารมณ์หรือที่เรียกว่าสุคนธบำบัด (Aromatherapy) หลังจากนั้นก็มีชนชาติอื่นนำมาใช้ ได้แก่ จีน อินเดีย อียิปต์ ฝรั่งเศส เป็นต้น กลิ่นหอมต่างๆที่นำมาบำบัดเป็นสารสกัดที่มาจากน้ำมันหอมระเหยจากธรรมชาติ ซึ่งมีสรรพคุณและประโยชน์มากมาย โดยทั่วไปน้ำมันหอมระเหยสามารถเข้าสู่ร่างกายได้หลายทาง เช่น การซึมผ่านผิวหนังและการรับประทาน แต่ละชนิดมีฤทธิ์ต่อระบบต่างๆของร่างกายที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับประเภทและสรรพคุณของพืชนั้นๆ และเมื่อนักเคมีชาวฝรั่งเศสชื่อ Renee Mourice Gattefose ประสบอุบัติเหตุไฟลวกมือ แล้วใช้น้ำมันลาเวนเดอร์ทาและได้ผลดี จึงทำให้มีความสนใจถึงคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยกันอย่างกว้างขวาง

1. การสกัดน้ำมันหอมระเหย

การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชธรรมชาติมีหลายวิธีการ การเลือกวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยจะต้องพิจารณาลักษณะและปัจจัยต่างๆร่วมด้วย เช่น ส่วนของพืชที่นำมาสกัด คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำมันหอมระเหยที่ต้องการ วัตถุประสงค์ของการนำน้ำมันหอมระเหยไปใช้ เป็นต้น วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยแบ่งออกได้ ดังนี้

1.1 การกลั่น (Distillation) วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เพราะเป็นวิธีที่ประหยัดและสามารถใช้แยกน้ำมันหอมระเหยได้เกือบทุกชนิด สิ่งที่สำคัญที่ต้องควบคุมในการกลั่นคือระยะเวลาและอุณหภูมิ เพราะส่งผลถึงคุณภาพและกลิ่นของน้ำมันที่ได้ การกลั่นแบ่งออกได้ 3 วิธี คือ

1.1.1 การกลั่นด้วยน้ำ (Water Distillation/Hydrodistillation) นิยมใช้กับพืชที่มีองค์ประกอบทางเคมีไม่สลายตัวเมื่อถูกความร้อน โดยการนำพืชที่ต้องการกลั่นมาใส่ในหม้อกลั่นแล้วเติมน้ำจนท่วมพืช ต้มจนน้ำเดือด เมื่อน้ำเดือดระเหยเป็นไอ ไอน้ำจะช่วยพาน้ำมันหอมระเหยที่อยู่ในเนื้อเยื่อพืชออกมา เมื่อผ่านเครื่องควบแน่น ไอน้ำและไอของน้ำมันหอมระเหยจะควบแน่นเป็นของเหลว ได้เป็นน้ำและน้ำมันหอมระเหยแยกออกจากกัน ข้อเสียของวิธีนี้คือ ในกรณีที่ต้องกลั่นพืชปริมาณมากๆ ความร้อนที่ให้สู่หม้อกลั่นจะไม่สม่ำเสมอตลอดทั้งหม้อกลั่น ก่อให้เกิดการไหม้หรือการสลายตัวองค์ประกอบบางชนิดทำให้กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยเปลี่ยนไป หรืออาจมีกลิ่นของภาชนะติดมาด้วย สำหรับการกลั่นพืชปริมาณน้อยๆ ในห้องปฏิบัติการ สามารถทำได้โดยใช้ชุดกลั่นที่ทำจากเครื่องแก้ว เรียกว่า ชุดกลั่นชนิด Clevenger

1.1.2 การกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (Water and Steam Distillation) นิยมใช้กับพืชที่มีองค์ประกอบทางเคมีสลายตัวเมื่อถูกความร้อนโดยตรง ทำโดยนำพืชที่ต้องการกลั่นมาวางบนตะแกรงที่อยู่เหนือหม้อต้มน้ำ ให้ความร้อนจนน้ำเดือดกลายเป็นไอน้ำ ไอน้ำจะช่วยพาน้ำมันหอมระเหยแล้วควบแน่นกลับมาเป็นน้ำกับน้ำมันหอมระเหย การกลั่นโดยวิธีนี้ อาจเรียกว่า Wet Steam พืชที่ใช้กลั่นโดยวิธีนี้จะมีคุณภาพดีกว่าวิธีแรก

1.1.3 การกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam Distillation) ทำโดยการนำพืชที่ต้องการกลั่นมาวางบนตะแกรงที่อยู่เหนือหม้อกลั่นให้ผ่านความร้อนจากไอน้ำ ไอน้ำจะเป็นตัวพาน้ำมันหอมระเหยในพืชระเหยออกมาอย่างรวดเร็ว ข้อดีของวิธีนี้คือ ใช้เวลากลั่นสั้นและน้ำมันหอมระเหยที่ได้มีคุณภาพและปริมาณสูงกว่าสองวิธีแรก พืชที่ไม่เหมาะสมในการกลั่นด้วยวิธีนี้คือ ส่วนของพืชที่มีลักษณะบาง เช่น กลีบกุหลาบ ควรใช้วิธีการสกัดโดยใช้ไขมันจะเหมาะสมกว่า

1.2 การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (Solvent Extraction) วิธีนี้จะทำให้ได้น้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้นสูง โดยตัวทำละลายที่นิยมใช้ ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเทอร์ เบนซีนหรือเฮกเซน ซึ่งจะสกัดสารหอมจากพืชออกมา ซึ่งจะมีไข สารสีและแอลบูมินออกมาด้วย นำสารที่สกัดได้ไประเหยไล่ตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำภายใต้ระบบสุญญากาศจะได้ส่วนที่เรียกว่า Concrete เราสามารถนำ Concrete ไปใช้ในการแต่งกลิ่นสบู่ได้ แต่ไม่นิยมใช้ในน้ำหอมเพราะยังไม่บริสุทธิ์เพียงพอ วิธีนี้ไม่นิยมนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและอาหาร เนื่องจากยังมีสารละลายที่เป็นพิษตกค้างอยู่

1.3 การบีบหรือการบีบเย็น (Expression/Cold Expression) วิธีนี้มักใช้กับพืชตระกูลส้ม เช่น ส้ม มะนาว มะกรูด ส้มโอ โดยการบีบเปลือกของผลไม้ทำให้เซลล์ของพืชแตกออกแล้วปล่อยน้ำมันออกมา เนื่องจากการสกัดด้วยวิธีนี้ไม่ใช้ความร้อน จึงทำให้น้ำมันหอมระเหยที่ได้มีกลิ่นใกล้เคียงกับพืชสด แต่มีข้อเสียคือ น้ำมันที่ได้จะมีปริมาณน้อยและไม่บริสุทธิ์

1.3.1 Expression เป็นการบีบโดยใช้แรงอัด ทำให้น้ำมันและน้ำในเซลล์ไหลออกมา ซึ่งอาจจะอยู่ในรูป Emulsion และสามารถแยกออกจากกันได้โดยการปั่นด้วยความเร็วสูง ทำให้น้ำกับน้ำมันแยกชั้นกันได้

1.3.2 Acuelle เป็นการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากผลของพวกส้ม ทำได้โดยให้ผลของพวกส้มกลิ้งไปบนภาชนะที่มีเข็มแหลมๆ จำนวนมากอยู่ เข็มจะแทงต่อมน้ำมัน ทำให้ต่อมน้ำมันแตกออก น้ำมันจะไหลออกมารวมกันที่ราง ลงไปในภาชนะที่รองรับข้างล่าง

1.4 การสกัดโดยใช้ไขมัน (Enfleurage) วิธีนี้มักใช้กับดอกไม้กลีบบางจำพวกกุหลาบและดอกมะลิ เป็นวิธีที่ได้ความหอมคล้ายธรรมชาติมากที่สุด ทำได้โดยการนำดอกไม้มาวางทับถาดกระจกที่เกลี่ยด้วยไขมันสัตว์บางๆ (ส่วนใหญ่ใช้ไขมันหมู วัวหรือแกะ) เพื่อให้ไขมันดูดซับสารหอมจาก

ดอกไม้ โดยใช้เวลาประมาณ 1-3 วัน กระบวนการนี้จะทำซ้ำๆ กันจบกระทั่งไขมันดูดสารหอมอย่างเพียงพอ ไขมันที่ดูดสารหอมนี้เรียกว่า Pomade นำ Pomade ไปละลายในแอลกอฮอล์ จะได้น้ำมันหอมระเหยออกมา การผลิตน้ำมันหอมระเหยจะสกัดด้วยวิธีนี้มากกว่า 10%

1.5 การสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ (Super-Critical Carbon Dioxide Extraction) วิธีนี้เป็นวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยแบบใหม่ โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในรูปของเหลวและแก๊ส ภายใต้ความดันและอุณหภูมิที่สูง ใช้ความดันประมาณ 200 atm ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส น้ำมันหอมระเหยที่ได้จะมีคุณภาพดีและบริสุทธิ์สูง แต่มีข้อเสียคือ เครื่องมือมีราคาแพงมากและมีสารอื่นติดมาด้วยทำให้ดูสกปรกสีเข้มดำคล้ำ (สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กรมวิทยาศาสตร์บริการ, 2553, ออนไลน์)

น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้

น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หรือน้ำมันตะไคร้ (Lemongrass Oil) สกัดได้จากส่วนเหนือดินของต้นตะไคร้ โดยการกลั่นด้วยไอน้ำ น้ำมันที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวใสสีเหลืองอ่อนหรือสีเหลืองอัมพัน หรือสีเหลืองปนน้ำตาลอ่อน หรือสีน้ำตาลอมแดง มีกลิ่นเฉพาะตัว เป็นกลิ่นสดชื่น กลิ่นคล้ายส้ม ปนเหม็นเขียวหรือกลิ่นคล้ายมะนาวผสมกลิ่นสมุนไพร ปราศจากตะกอนและสารแขวนลอยไม่มีการแยกชั้น องค์ประกอบหลักที่สำคัญ คือ Citral มีฤทธิ์ทางชีวภาพคือต้านเชื้อแบคทีเรียโดยเฉพาะแกรมบวก ต้านรา ต้านออกซิเดชั่น กระตุ้นระบบประสาท รักษาอาการหดหู่ บำรุงจิตใจ ขับลม บรรเทาอาการปวดกล้ามเนื้อและอาการปวดลำไส้อักเสบ ช่วยในการขับลม แก้จุกเสียด ลดการตึงเครียดของระบบประสาท ใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่น รสอาหารและเครื่องดื่ม นอกจากนี้มีคุณสมบัติเป็นสารฆ่าแมลงได้ การศึกษาพิษวิทยาของน้ำมันตะไคร้พบ Acute Toxicity มี Oral LD_{50} มากกว่า 5 กรัม/กิโลกรัม Dermal LD_{50} มากกว่า 5 กรัม/กิโลกรัม พบการระคายเคืองผิวหนังน้อยมากที่ระดับความเข้มข้น 1-30% ไม่พบการแพ้ที่ผิวหนังที่ระดับความเข้มข้น 1-30% ไม่พบภาวะพิษเหตุแสง การนำไปใช้ในทางยาจะใช้ในตำรับยาแก้ปวด ยาต้านอักเสบ ใช้เป็นสารแต่งกลิ่นในตำรับทางสุคนธบำบัด ใช้ช่วยกระตุ้นให้ตื่นตัว บรรเทาอาการปวดโรคข้ออักเสบ ปวดกล้ามเนื้อ ศูนย์วิจัยสารหอมหรือ RIFM แนะนำให้ใช้ไม่เกิน 4% ทางเครื่องสำอาง ใช้เป็นสารให้กลิ่นหอมในผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ครีมโลชั่น สบู่ และน้ำหอม ปริมาณที่ใช้ไม่เกิน 0.7% ทางอาหาร ใช้เป็นสารแต่งกลิ่นในอาหารและเครื่องดื่ม ใช้ในปริมาณไม่เกิน 0.004% มีข้อควรระวัง คือ ไม่ควรใช้ในคนที่เป็นต้อหิน (Glaucoma) เนื่องจาก Citral จะทำให้ความดันในลูกตาเพิ่มขึ้น ในกรณีที่ใช้ภายนอกต้องระวังการใช้ในผู้ป่วยที่ผิวหนังแพ้ง่าย โรคผิวหนังอักเสบ ตลอดจนเด็กที่มีอายุต่ำกว่า 2 ปี หลีกเลี่ยงการใช้ในสตรีมีครรภ์และให้นมบุตร เนื่องจากมีรายงานว่าน้ำมันตะไคร้มีผลต่อการบีบตัวของกล้ามเนื้อมดลูกของมนุษย์ (สิริลักษณ์ มาลานิยม, 2545, น.3)

มาตรฐานของน้ำมันตะไคร้

เนื่องจากน้ำมันตะไคร้เป็นน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากใบของต้นตะไคร้ซึ่งเป็นพืชที่ให้น้ำมันหอมระเหยที่ปลูกได้ง่ายในประเทศ เพื่อให้มีการผลิตน้ำมันตะไคร้ที่มีคุณภาพดีและเหมาะสม จึงมีการกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันตะไคร้ขึ้น โดยประกาศในราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 117 ตอนพิเศษ 23ง วันที่ 15 มีนาคม 2543 เป็นมาตรฐานผลิตภัณฑ์ อุตสาหกรรม เลขที่ มอก.1681-2541 กำหนดมาตรฐานโดยใช้ข้อมูลการศึกษาวิจัยของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย องค์การเภสัชกรรม กรมวิชาการเกษตร กรมวิทยาศาสตร์บริการ และบริษัทอุตสาหกรรมเครื่องหอม ไทย-จีน จำกัด และข้อมูลจากเอกสารดังนี้

ISO 212-1973 Essential Oils – Sampling

ISO 356-1977 Essential Oils – Preparation of Test Sample

ISO 4718-1981 Oil of Lemongrass (*Cymbopogon Flexuosus*)

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้รับมาตรฐานระหว่างประเทศดังต่อไปนี้มาใช้โดยการอ้างอิง

(1) ISO 279-1981 Essential Oils – Determination of Relative Density at 20 ^{o}C (Reference Method) ในเรื่องวิธีการทดสอบความหนาแน่นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

(2) ISO 280-1976 Essential Oils – Determination of Refraction Index ในเรื่องวิธีทดสอบดัชนีหักเหที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

(3) ISO 592-1981 Essential Oils – Determination of Optical Rotation ในเรื่องวิธีทดสอบออปทิคอลโรเทชันที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

(4) ISO 875-1981 Essential oils – Evaluation of Miscibility in Ethanol ในเรื่องวิธีทดสอบการละลายในเอทานอล

(5) ISO 7609-1985 Essential Oils – Analysis by Gas Chromatography on Capillary Column – General Method ในเรื่องวิธีวิเคราะห์ซิทราล

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมได้กำหนดความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานน้ำมันตะไคร้ไว้ว่า น้ำมันตะไคร้ หมายถึง น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากส่วนเหนือดินของต้นตะไคร้โดยการกลั่นด้วยไอน้ำและได้กำหนดว่า ตะไคร้ หมายถึง พืชที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cymbopogon Flexuosus* (Nees ex Steudel) W.Watson หรือที่เรียกว่า East Indian Lemongrass และ *Cymbopogon Citratus* Stapf

หรือที่เรียกว่า West Indian Lemongrass ในวงศ์ GRAMINEAE น้ำมันตะไคร้จะต้องมีคุณลักษณะที่ต้องการ ดังนี้

1. มีลักษณะทั่วไป เป็นของเหลวใส มีสีเหลืองอ่อนหรือสีเหลืองปนน้ำตาลอ่อน ปราศจากตะกอนและสารแขวนลอย ไม่มีการแยกชั้นของน้ำ มีกลิ่นเฉพาะตัว การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพิจารณา

2. การละลายในเอทานอล เมื่อละลายน้ำมันตะไคร้ 1 ส่วนโดยปริมาตร ในเอทานอลร้อยละ 70 โดยปริมาณ ปริมาณไม่เกิน 3 ส่วนโดยปริมาณ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส แล้วต้องได้สารละลายใส และหากเติมเอทานอลมากขึ้นสารละลายที่ได้อาจขุ่น การทดสอบให้ปฏิบัติตาม ISO 875

3. ความหนาแน่นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ต้องมีค่า 0.885 ถึง 0.905 การทดสอบให้ปฏิบัติตาม ISO 279

4. ออปทิคอลโรเทชันที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ต้องมีค่า -2 ถึง +1 องศา การทดสอบให้ปฏิบัติตาม ISO 592

5. ดัชนีหักเหที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ต้องมีค่า 1.483 ถึง 1.489 การทดสอบให้ปฏิบัติตาม ISO 280

6. Citral (คำนวณจากผลรวมของ Neral และ Geranial) ต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 70 การทดสอบให้ใช้เครื่องก๊าซโครมาโทกราฟแบบคะพิลลารีคอลัมภ์ ที่คะพิลลารีคอลัมภ์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.20 ถึง 0.35 มิลลิเมตร ยาวไม่น้อยกว่า 25 เมตร สารที่ใช้บรรจุเป็นพอลิเอทิลีนไกลคอลหรือที่เรียกว่า Carbowax 20 M ที่มีความหนาของฟิล์ม 0.3 ไมโครเมตร มีอุณหภูมิช่องฉีดตัวอย่างและเครื่องตรวจสอบ 250 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเริ่มต้นของคอลัมภ์ 75 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสุดท้ายของคอลัมภ์ 250 องศาเซลเซียส อัตราการเปลี่ยนอุณหภูมิในคอลัมภ์ 4 องศาเซลเซียสต่อนาที ก๊าซที่ใช้พาตัวอย่างเป็นก๊าซฮีเลี่ยมหรือไนโตรเจนบริสุทธิ์ มีอัตราการไหล 2 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อนาทีเครื่องตรวจสอบเป็นชนิดเฟลมไอออไนเซชัน ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ $2x10^{-4}$ ลูกกบาศก์เซนต์เมตร อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างที่ฉีดเข้าไปในคอลัมภ์กับส่วนที่เหลือออกไป (Split Ratio) ไม่น้อยกว่า 1:1000 การวิเคราะห์ให้ปฏิบัติตาม ISO 760 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2543, น.1)

ความระคายเคืองของน้ำมันตะไคร้

งานวิจัยในปี ค.ศ.1976 แสดงให้เห็นว่าน้ำมันตะไคร้ไม่มีผลระคายเคืองผิวที่ความเข้มข้น 4% (Opdyke, 1975) ความเข้มข้นสูงสุดของน้ำมันตะไคร้ที่ทดสอบกับผิวแล้วไม่แสดงการระคายเคืองที่มองเห็นได้คือ 3,448 $\mu g/cm^2$ จึงจัดได้ว่าน้ำมันตะไคร้มีฤทธิ์รายเคืองผิวในระดับต่ำ ความเข้มข้นสูงสุด

ของ Citral ที่ทดสอบกับผิวแล้วไม่แสดงการระคายเคืองที่มองเห็นได้คือ 2,759 $\mu g/cm^2$ ซึ่งระดับปกติสำหรับที่คนทั่วไปใช้ในผลิตภัณฑ์สำหรับผิวคือ 1,400 $\mu g/cm^2$ (Lalko & Api, 2006, p.742).

ระบบนำส่งยา (Drug Delivery System)

ในสมัยแรกๆ มนุษย์เริ่มปรุงยาจากพืชสมุนไพรและแร่ธาตุที่มีอยู่ตามธรรมชาติ โดยใช้วิธีการต้มหรือสกัด เรียกยุคนั้นว่ายุค Prepharmaceutical ต่อมาเมื่อวิทยาศาสตร์ก้าวหน้าจึงมีการเตรียมยาในต่างๆ เช่น ยาลูกกลอน ยาเม็ด ยาน้ำ แคปซูล ขี้ผึ้ง ครีม ยาพ่น ยาฉีด เป็นต้น เรียกว่า First Generation ยารูปแบบธรรมดาเหล่านี้ ถ้าต้องการให้ระดับความเข้มข้นของยาอยู่ในระดับรักษา จำเป็นต้องให้หลายๆ ครั้งต่อวัน การให้ยาซ้ำตามขนาดเดิมต่อมา จะทำให้ระดับยาขึ้นๆ ลงๆ เป็นแบบฟันเลื่อย ลักษณะเช่นนี้ทำให้เสี่ยงต่อการที่ระดับยาอาจสูงมากจนอาจเกิดผลข้างเคียงหรือพิษของยาได้หรือระดับยาอาจต่ำจนไม่สามารถแสดงฤทธิ์ ในปัจจุบันจึงมีการพัฒนาเทคนิคและกรรมวิธีใหม่ๆจนสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาออกมาในอัตราเร็วตามที่ต้องการได้ เรียกว่ายุค Second Generation ส่วนในยุค Third Generation เป็นการคิดค้นรูปแบบยาที่ควบคุมการลดปล่อยยาได้อย่างเที่ยงตรงแม่นยำมากขึ้น (วรีติยะบุญชัย, 2556, น.1)

การนำส่งยาในรูปแบบไมโครพาร์ทิเคิล

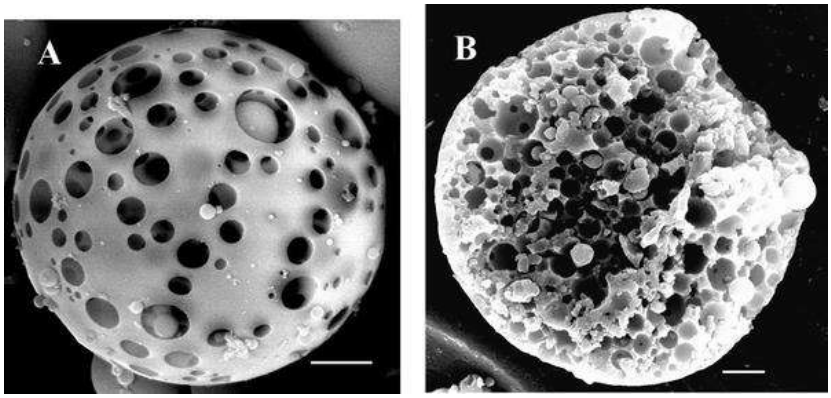
การนำส่งยารูปแบบหนึ่งคือการนำส่งในรูปแบบไมโครพาร์ทิเคิล (Microparticle) โดยเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชัน (Microencapsulation) ไมโครเอนแคปซูเลชันหมายถึงกระบวนการผลิตไมโครพาร์ทิเคิล ซึ่งคืออนุภาคของแข็งขนาดไมครอนที่ห่อหุ้มตัวยาหรือสารสำคัญอยู่ภายในอนุภาคหรืออาจถูกดูดซับอยู่บนพื้นผิวของอนุภาค โดยในราว ค.ศ.1950 บริษัท The National Cash Register ในประเทศสหรัฐอเมริกาได้ริเริ่มผลิตกระดาษทำสำเนาที่ไม่ใช้คาร์บอนด้วยเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันโดยใช้ Gelatin เป็นสารก่อฟิล์มห่อหุ้มบรรจุสีย้อมที่ไม่มีสีแล้วนำไปติดด้านหลังของกระดาษแผ่นบนเมื่อกดปากกาลงบนกระดาษไมโครแคปซูลจะแตกออกปล่อยสีย้อมออกมาทำปฏิกิริยากับ Acid Clay ที่เคลือบกระดาษแผ่นล่างทำให้เกิดสีขึ้น จากความสำเร็จนี้นำไปสู่การพัฒนาเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชั่นเพื่อประโยชน์ด้านอื่นๆ เช่น ทางด้านการเกษตร ด้านอุตสาหกรรมอาหารที่นำมาใช้เพิ่มความคงตัวของสารแต่งกลิ่น รสและส่วนประกอบอื่นๆ ทางด้านเครื่องสำอางที่นำมาใช้เก็บกักน้ำหอมเพื่อยืดระยะเวลาการปลดปล่อยกลิ่นหอม เป็นต้น ส่วนทางด้านเภสัชกรรมและทางการแพทย์ เทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันมีศักยภาพในการนำมาพัฒนารูปแบบการนำส่งยาที่มีประสิทธิภาพ

และเพิ่มความคงตัวของตัวยาสำคัญ ก่อให้เกิดการพัฒนาและการวิจัยอย่างกว้างขวาง จนในปี ค.ศ.1960 ได้พบว่าเทคนิคนี้สามารถนำส่งยาได้หลายประเภทรวมไปถึงโปรตีนและสารพันธุกรรม (วรี ติยะบุญชัย, 2556, น.2)

เทคโนโลยีการห่อหุ้มสารสำคัญไว้ในอนุภาคนี้เริ่มต้นจากการเคลือบหรือห่อหุ้มสารด้วยเทคนิคเคลือบผิวในหม้อเคลือบ แต่อนุภาคที่ได้มีขนาดใหญ่มากกว่า 600 ไมครอน จึงยังไม่จัดว่าเป็นเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันที่แท้จริง แต่ในปี ค.ศ.1950 Southwest Research Institute ใน Texas ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้พัฒนา เครื่องมือ Two-Fluid Gravity-Flow เพื่อผลิตแคปซูลขนาดใหญ่ไร้รอยต่อ หลักการคือให้สารสำคัญไหลผ่านท่อด้านใน ส่วนสารก่อผนังแคปซูลผ่านท่อด้านนอก เมื่อสารไหลมาถึงปลายท่อที่มีรูเปิดเล็กๆจะหยดเป็นทรงกลม ทำให้สาระสำคัญถูกห่อหุ้มไว้ภายในผนังแคปซูล ต่อมาในปี ค.ศ.1974 จึงสามารถพัฒนาเครื่องมือที่ผลิตไมโครแคปซูลขนาด 350 ไมครอนได้สำเร็จ หลังความสำเร็จทั้งหมด เทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันได้มีการพัฒนาและศึกษาวิจัยอย่างต่อเนื่องกันในวงกว้างจนถึงปัจจุบันนี้ บางเทคนิคได้ถูกพัฒนาขึ้นใหม่ บางเทคนิคได้รับการปรับปรุงต่อยอดจากเทคนิคดั้งเดิม นอกจากนี้ยังได้มีการพัฒนาเครื่องมือใหม่ๆเพื่อใช้ในการผลิตอนุภาคของแข็งขนาดไมครอนอีกด้วย (วรี ติยะบุญชัย, 2556, น.3)

ไมโครพาร์ทิเคิล สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

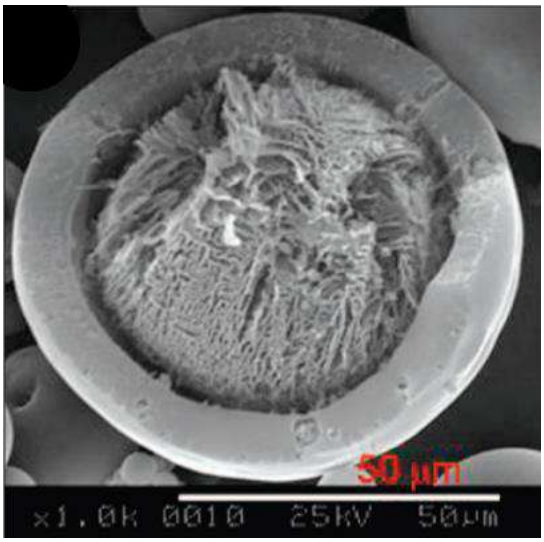
1. ไมโครสเฟียร์ (Microsperes) คืออนุภาคซึ่งมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันและมีตัวยากระจายตัวอยู่ภายในหรืออาจดูดซับอยู่ที่พื้นผิว ไม่สามารถแยกเป็นส่วนผนังหรือส่วนแคปซูลได้อย่างชัดเจน ชื่ออื่นที่นิยมเรียก เช่น Monolithic, Matrix



ภาพที่ 3 Microsphere

(Kulak , et al., 2004)

2. ไมโครแคปซูล (Microcapsules) คืออนุภาคซึ่งมีลักษณะเป็นผนัง หรือแคปซูลที่ห่อหุ้มตัวยาอยู่ภายในหรือตัวยาอาจดูดซับอยู่ที่พื้นผิว มีชื่อพ้องคือ Membrane, Reservoir, Capsule

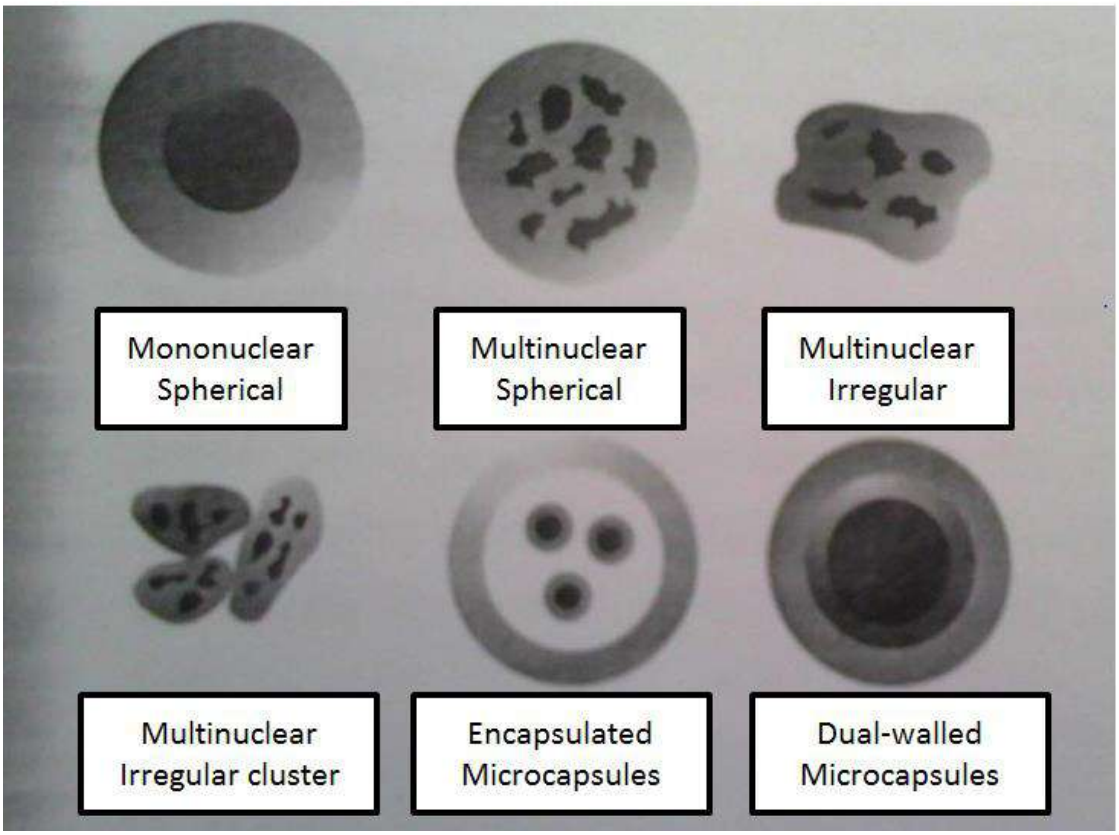


ภาพที่ 4 Microcapsule

(Byung Soo Kim, et al., 2009)

ไมโครพาร์ทิเคิลมีชื่อพ้องหลายชื่อ เช่น Microcapsules, Microspheres, Spansules, Coated Granules, Pellets, Seeds และ Microspherules แต่โดยทั่วไปไมโครพาร์ทิเคิลหมายถึงอนุภาคของแข็งขนาด 1-1000 ไมครอน เตรียมจากพอลิเมอร์หรือแว็กซ์ พบว่าไมโครพาร์ทิเคิลที่จำหน่ายทั่วไปขนาด 3-800 ไมครอน มีสาระสำคัญ ร้อยละ 10-90 ส่วนระบบนำส่งยาที่อนุภาคเล็กกว่า 1 ไมครอน เรียกว่า นาโนพาร์ทิเคิล (Nanoparticle) อนุภาคที่ใหญ่กว่า 1000 ไมครอน เรียกว่า แมกโครพาร์ทิเคิล (Macroparticle)

ไมโครพาร์ทิเคิลมีรูปร่างได้หลากหลาย อาจเป็นทรงกลม (Spherical) หรือรูปร่างไม่แน่นอน (Irregular Shape) อาจบรรจุสารสำคัญแค่ 1 อนุภาค (Mononuclear) หรือหลายอนุภาค (Multinuclear) หากเป็นไมโครแคปซูลอาจมีผนังชั้นเดียวหรือหลายชั้นก็ได้ นอกจากนี้อาจพบลักษณะที่อนุภาคเกาะกลุ่มกันประมาณ 2-5 อนุภาค เรียกว่า Cluster



ภาพที่ 5 ลักษณะทั่วไปของไมโครพาร์ทิเคิล

(วรี ติยะบุญชัย, 2556)

ส่วนประกอบของไมโครพาร์ทิเคิล

1. สารสำคัญที่เก็บกักในอนุภาค (Core Materials)
2. สารก่ออนุภาค หรือสารก่อแคปซูล (Coating Materials)
3. ตัวทำละลาย
4. พลาสทิไซเซอร์
5. สารเติมแต่ง เช่น สารแต่งสี (Coloring Agents), สารลดแรงตึงผิว (Surfactants), สารช่วยเพิ่มความคงตัว (Stabilizing Agants), สารเชื่อมโยงข้าม (Cross-Lonking Agents)

1. สารสำคัญที่กักเก็บในอนุภาคหมายถึงส่วนที่เป็นตัวยาหรือสารสำคัญที่ต้องการเก็บกักไว้ภายในอนุภาค มีชื่อพ้องหลากหลาย เช่น Internal Phase, Fill, Payload, Active Ingredient และ Nucleus อาจเป็นได้ทั้งของแข็ง กึ่งแข็งกึ่งเหลวและของเหลว

2. สารก่ออนุภาคหรือสารก่อแคปซูล มีชื่อพ้อง เช่น External Phase, Membrane, Shell, Wall และ Coating Agent โดยทั่วไปใช้พอลิเมอร์ทั้งชนิดที่ละลายน้ำได้ดีและละลายน้ำได้น้อยและควรมีคุณสมบัติ คือ สังเคราะห์ได้ง่าย จำแนกคุณสมบัติได้ง่าย ราคาถูก เข้ากันได้ทางชีวภาพ เสื่อมได้ทางชีวภาพ ไม่ก่อให้เกิดการแพ้ ไม่เป็นพิษและละลายน้ำได้ สารก่ออนุภาคแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ พอลิเมอร์ธรรมชาติและพอลิเมอร์สังเคราะห์ พอลิเมอร์ธรรมชาติ (Natural Polymers) เป็นพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ มีข้อดีคือ มีอยู่มากในธรรมชาติ ละลายน้ำได้ดี สามารถเข้ากันได้ดีกับร่างกายและย่อยสลายได้ในร่างกาย ปลอดภัย ไม่เป็นพิษ แต่มีข้อเสียคือ มีความแปรผันของวัตถุดิบในแต่ละรุ่นของการผลิตและนิยมใช้สารกลุ่ม Aldehyde ซึ่งเป็นสารที่มีพิษเพื่อทำให้อนุภาคแข็งแรงในระหว่างกระบวนการผลิต พอลิเมอร์ที่นำมาใช้คือโปรตีน เช่น Collagen, Albumin, Gelatin และสารพวกพอลิแซคคาไรด์ เช่น Chitosan, Alginic Acid, แป้ง, Dextran, อะคาเซียและ Hyaluronic Acid ส่วนพอลิเมอร์สังเคราะห์ (Synthetic Polymers) เป็นพอลิเมอร์ที่ได้จากการสังเคราะห์ จึงมีคุณภาพคงที่ทุกรุ่นและปรับปรุงคุณสมบัติได้ พอลิเมอร์สังเคราะห์บางตัวสามารถเข้ากันได้ทางชีวภาพและเสื่อมได้ทางชีวภาพ แต่มีข้อเสียคือพอลิเมอร์บางกลุ่มมีราคาแพง บางกลุ่มไม่สามารถเสื่อมได้ทางชีวภาพ พอลิเมอร์สังเคราะห์ที่นิยมใช้ ได้แก่ Polyesters, Polyphosphazenes, Polyanhydrides, Polyalkylcyanoacrylate, อนุพันธ์ของเซลลูโลส เป็นต้น

3. ตัวทำละลาย (Solvents) ใช้เพื่อละลายสารก่ออนุภาคหรือพอลิเมอร์ ซึ่งตัวทำละลายจะทำลายแรงเชื่อมติดระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ พอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติเป็นผลึก จะมีแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลมากกว่าพอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติเป็นอสันฐาน จึงทำให้ละลายได้ยากกว่าในตัวทำละลายที่ดีโมเลกุลของพอลิเมอร์จะยืดออกเพื่อทำปฏิกิริยากับตัวทำละลาย จึงเพิ่มแรงต้านในการไหล ทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้าม ในตัวทำละลายที่ไม่ดีโมเลกุลของพอลิเมอร์จะขดเข้าหากันเพื่อให้มีส่วนสัมผัสกับตัวทำละลายน้อยที่สุด จึงทำให้มีความหนืดต่ำ การเลือกใช้ตัวทำละลายจะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของพอลิเมอร์และตัวยาในตำรับ รวมไปถึงคำนึงถึงความปลอดภัยและต้นทุนในการผลิต จึงนิยมใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย แต่พอลิเมอร์บางตัวไม่สามารถละลายน้ำได้ จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการผลิต ตัวทำละลายอินทรีย์เป็นพิษต่อคนและสิ่งแวดล้อม จึงควรมีมาตรการควบคุมจัดการตัวทำละลายอินทรีย์

4. พลาสทิไซเซอร์ (Plasticizer) มีคุณสมบัติเป็นสารที่ไม่ระเหยและมีจุดเดือดสูง นิยมเติมเพื่อเป็นสารก่อฟิล์ม (Film Former Solution) และเพิ่มความยืดหยุ่น ลดความเปราะของสารก่อฟิล์ม ควรเลือกใช้ พลาสติไซเซอร์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลใกล้เคียงกับพอลิเมอร์ แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

4.1 External Plasticizer เช่น Phthalate Exters, Fatty Acid esters, Glycol Derivative ช่วยลดแรงเชื่อมติดระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ด้วยการแทรกอยู่ระหว่างสายพอลิเมอร์

4.2 Internal Plasticizer เช่น พอลิเมอร์ร่วมของอะคริลิกกับไวนิล (Acrylic and Cinyl Copolymer) พลาสติไซเซอร์ชนิดนี้ใช้ในการสังเคราะห์พอลิเมอร์ด้วยปฏิกิริยาทางเคมี

5. สารเติมแต่งอื่นๆ (Additives) ได้แก่ Channeling Agent, Waxy Sealants และ Cross-Linking Agent Channeling Agent ใช้เพื่อเพิ่มการแพร่ผ่านของฟิล์มที่ไม่ชอบน้ำ เช่น เติม polyethylene Glycol 400 ซึ่งละลายน้ำได้ลงในฟิล์มเอทิลเซลลูโลส เพื่อช่วยเพิ่มการแพร่ของยาโดยจะไปเพิ่มความเป็นรูพรุนของพอลิเมอร์เมทริกซ์ (Polymer Matrix) Waxy Sealants ใช้เพื่อลดการแพร่ผ่านของสารก่ออนุภาคที่ชอบน้ำ หรือเพื่อควบคุมอัตราการปลดปล่อยตัวยา สารตัวอย่างเช่น Paraffin Wax, Carnauba Wax และ Beeswax ส่วน Cross-Linking Agent ใช้เพื่อลดการแพร่ผ่านของสารก่ออนุภาคหรือเพื่อให้การปลดปล่อยตัวยาช้าลง ตัวอย่างเช่น อัลดีไฮด์ซึ่งใช้เทคนิคการแยกเฟสและเกลือแคลเซียมซึ่งใช้เทคนิคการก่อเกิดเจล

การเกาะกลุ่ม (Aggregation) เป็นปัญหาที่พบในกระบวนการผลิตไมโครเอนแคปซูล คือการที่ไมโครพาร์ทิเคิลมาเกาะกลุ่มรวมกันเป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่และไม่สามารถกลับไปเป็นอนุภาคเดี่ยวได้อีก จัดว่าไม่คงตัวในทางอุดมคติ ตำรับที่ดีอนุภาคควรกระจายตัวเป็นอนุภาคเดี่ยวอย่างสม่ำเสมอและไม่พบการเกาะกลุ่ม แต่ในทางปฏิบัติมักพบ 2 หรือ 3 อนุภาคมาเกาะรวมกันเป็น 1 อนุภาค เรียกว่า Doublet หรือ Triplet จัดว่ามีการเกาะกลุ่มต่ำ ถือเป็นตำรับที่ดี หากมีการเกาะกลุ่ม 5–10 อนุภาค ลักษณะคล้ายพวงองุ่น (Graph Cluster) จัดว่าพอใช้ การเกาะกลุ่มกันชนิดที่เป็นปัญหาใหญ่คือการที่อนุภาคเล็กๆหลายอนุภาคมารวมกันจนเสียรูปทรง หรือเกิดการรวมกันโดยเสียรูปทรงทำให้เกิดอนุภาค 1 ก้อนใหญ่ เรียกปรากฏการณ์ที่ไมโครพาร์ทิเคิลรวมกันเป็นก้อนเดียวนี้ว่า Cheesing วิธีแก้ปัญหาที่นิยมคือการเติม Cross-Linking Agents เพื่อทำให้ผนังแคปซูลแข็งแรงขึ้น ช่วยลดการเกาะกลุ่มได้หรือเติมพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้ไปเคลือบรอบๆ อนุภาคไมโครพาร์ทิเคิล (Protective Colloids) นิยมใช้ทั้งพอลิเมอร์ที่มีประจุและไม่มีประจุ

ประโยชน์ของไมโครเอนแคปซูเลชัน

1. สามารถกลบกลิ่น รส ที่ไม่ดีของตัวยา โดยการเก็บกักไว้ในอนุภาค
2. สามารถแยกสารสำคัญที่เข้ากันไม่ได้ (Incompatible Materials)
3. สามารถเปลี่ยนรูปแบบของสารจากของเหลวให้อยู่ในรูปของแข็ง
4. ช่วยเพิ่มความคงตัวของสาร โดยป้องกันสารจากสภาพแวดล้อม
5. สามารถลดการระเหยของสารสำคัญได้ ในกรณีที่เป็นสารระเหยง่าย
6. สามารถทำให้ยาออกฤทธิ์เนิ่นนาน ทำให้ระดับยาหรือสาระสำคัญคงที่ (วรี ติยะบุญชัย, 2556, น.8)

เทคนิคการทำไมโครเอนแคปซูเลชั่น Melt Dispersion Technique

ด้วยเทคนิค Melt Dispersion เม็ด Solid lipid Microparticles เกิดได้จากอิมัลชั่นของน้ำมันกับน้ำ (O/W) และเกิดได้จากอิมัลชั่นของน้ำ, น้ำมันและน้ำ (W/O/W) โดยเกี่ยวข้องกับการชอบไขมัน (Lipophilic) หรือการชอบน้ำ (Hydrophilic) ของสารสำคัญแต่ละชนิด ในกรณีแรก สารที่ชอบไขมันจะละลายในไขมันหลอมเหลวในอิมัลชั่นซึ่งมาจากการรวมของน้ำกับน้ำมันที่มีสารลดแรงตึงผิว (Surfactant) เข้าช่วย แล้วจึงทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เกิดการแข็งตัวของเม็ด Particles ส่วนสารสำคัญที่ชอบน้ำจะถูกผสมลงในอิมัลชั่นไขมันหลอมเหลวที่เกิดจากน้ำกับน้ำมันรวมกัน แล้วนำไปไว้ด้านในของ Phase ชั้นนอกที่เป็นน้ำ จึงได้อิมัลชั่นแบบ W/O/W ออกมาและเมื่อทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้องจะได้เม็ด Microparticles (Battaglia, et al, 2014)

จากงานวิจัยของแพนหยวนเฟงและคณะ (Pan Yuanfeng, et al., 2014) ได้ศึกษาการใช้ Melt Dispersion Technique ในการทำเม็ด Particles จาก Paraffin Wax เพื่อเก็บกัก Cellulose โดยเริ่มจากใส่น้ำและสาร Surfactant ได้แก่ Span 60 และ Tween 40 ลงในขวด Flask เขย่าด้วยเครื่อง Magnetic Stirrer จากนั้นใส่ Paraffin Wax ผสม Microcrystalline Cellulose ที่หลอม 70 องศาเซลเซียสใน Water Bath แล้วลงไปผสม เขย่าที่ 1000 rpm จนเกิดอิมัลชั่น แล้วจึงทำให้เย็นลงในน้ำเย็นหรือ Ice Bath พร้อมทั้งเขย่าไปด้วย สุดท้ายจึงเก็บเม็ด Microparticles ที่ได้โดยใช้กระดาษกรอง No.2 กรองออกมาแล้วล้างด้วยน้ำสะอาดหรือ Ethanol

จากงานวิจัยของยุทธนา ใบมาก (Yodthong Baimar, 2009a) เรื่อง การศึกษาการเตรียม Microspheres จาก Methoxy Poly (Ethylene Glycol)-b-Poly (3-Caprolactone) (MPEG-b-PCL) โดยไม่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์หรือสารลดแรงตึงผิว ทำได้โดยนำ MPEG-b-PCL 0.5 กรัมไปหลอมในกลีเซอรอล 150 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 800 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 80-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำเม็ดไมโครพาร์ทิเคิลทั้งหมดไปเขย่าในน้ำ

กลั่นเพื่อล้างกลีเซอรอล จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงและทำ Freeze Dry เพื่อแยกเม็ดไมโครพาร์ทิเคิลออกจากน้ำ ทำซ้ำตั้งแต่ขั้นตอนเขย่าน้ำจำนวน 5 ครั้ง จึงได้เม็ดไมโครพาร์ทิเคิลออกมา

อีกงานวิจัยหนึ่งของยุทธนา ใบมาก (Yodthong Baimar, 2009b) คืองานวิจัยเรื่อง การทำ Microspheres จาก Methoxy Poly (Ethylene Glycol)-b-poly (∈-caprolactone-co-D, L-lactide) (MPEG-b-PCLDLL) ทำได้โดยนำ MPEG-b-PCL ทำปฏิกิริยากับ Methoxy Poly (Ethylene Elycol)-b-Poly (D,L-lactide) (MPEG-b-PDLL) ได้เป็น MPEG-b-PCLDLL แล้วจึงนำไปหลอมผสมกับน้ำกลั่น 150 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็ว 600–900 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยง ทำ Freez Dry จึงได้เม็ดไมโครพาร์ทิเคิลออกมา

จากงานวิจัยของมิลาโนวิคและคนอื่นๆ (Milanovic, et al., 2010) ได้ศึกษาการทำ Microencapsulation สารแต่งกลิ่นรสโดยใช้ Carnauba Wax มีวิธีการคือ นำ Carnauba Wax ไปหลอมรวมกับน้ำที่มีสารลดแรงตึงผิว Tween 20:Span 40 ในอัตรา 0.53:0.47 ใน Water Bath 95 องศาเซลเซียส เติม Ethyl Vanillin (สารสังเคราะห์กลิ่นวานิลา) ลงไป ปั่นด้วยเครื่องปั่นสองใบพัด 1200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 นาที เติมน้ำเย็น 2-5 องศาเซลเซียส ให้เม็ด Particles แข็งตัว นำไปกรอง ล้างด้วยน้ำสะอาดก่อนทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จึงได้เม็ดไมโครพาร์ทิเคิลออกมา

จากงานวิจัยของมาลิเพลลี่และคนอื่นๆ (Mallepally, et al., 2009) เรื่องการศึกษาการเก็บกักสารและการควบคุมการปลดปล่อยสารโดยใช้ Hyperbranched Polyesters มีวิธีการคือนำ Hyperbranched Polyesters Boltorn® H30 มาหลอมบน hot plate ที่ 85 องศาเซลเซียส จากนั้น เขย่ารวมกับไอบูโพรเฟ่นด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 900 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ตั้งเฟสน้ำอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เติม Poly (Vinyl Alcohol) เป็น Emulsifier ก่อนผสมสารละลายทั้งหมดเข้าด้วยกันด้วยเครื่อง Ultra Turrax Stirrer ความเร็ว 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที เติมน้ำเย็นให้เม็ด Particles แข็งตัว นำไปปั่นเหวี่ยงล้างและปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จึงได้เม็ดไมโครพาร์ทิเคิลออกมา

ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร ฉันทนา อารมณ์ดีและวัชรี คุณกิตติ (2013) ได้ทดลองการทำเม็ด Particles เพื่อเก็บกักน้ำมันตะไคร้หอม โดยเริ่มจากละลายน้ำมันตะไคร้หอมใน Cetyl Alcohol ที่ 65 องศาเซลเซียส เขย่าให้เข้ากัน 1 นาที เตรียมสารผสมที่จะใช้เป็นsurfactants โดยใช้ Poloxamer 188 และ Sodium Dodecyl Sulfate ผสมในอัตรา 35:1 ละลายในน้ำแล้วหลอมที่65 องศาเซลเซียส นำสารผสมทั้งสองชนิดผสมรวมกันจนได้อิมัลชั่น ทำให้เย็นลงใน Ice Bath ที่ 4 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 30 นาที จนได้เม็ด Microparticles ของน้ำมันตะไคร้หอม

จะเห็นได้ว่า วิธีการทำเม็ด Microparticles ด้วย Melt Dispersion Method เป็นเทคนิคที่ไม่ต้องใช้สารละลายอินทรีย์ (Organic Solvent) ซึ่งเป็นอันตรายหากมีการตกค้าง อีกทั้งยังเป็นเทคนิคที่ทำได้ง่าย จึงเหมาะสมอย่างที่ยิ่งที่จะใช้เทคนิคนี้ในการทำเม็ด Microparticles

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชอยและคนอื่นๆ (Choi, et al., 2012) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย MRSA ของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้และออริกาโน ทำการวิจัยโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย MRSA มาตรฐานจาก Korean Culture Center of Microorganisms จำนวน 7 สายพันธุ์และเชื้อแบคทีเรียตัวอย่างที่เก็บจากเต้านมวัวอักเสบเรื้อรังซึ่งผ่านการเพาะเชื้อและแยกว่าเป็นเชื้อ *S.aureus* ด้วยการย้อมสีแกรม การวิเคราะห์โคโลนี และการทดสอบ Coagulase ในเชื้อ จากนั้นทดสอบเชื้อจากเต้านมวัวว่าเป็น MRSA โดยการเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสม Oxacillin เพื่อทดสอบการดื้อยา จากการทดสอบดังกล่าวแยกเชื้อได้ 6 สายพันธุ์ ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันตะไคร้และน้ำมันออริกาโนด้วยวิธี Disc Diffusion Method พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้และออริกาโน มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ MRSA ทั้งคู่ แต่น้ำมันตะไคร้แสดง Inhibition Zone ที่กว้างกว่าน้ำมันออริกาโน โดย Inhibition Zone ของน้ำมันตะไคร้ความเข้มข้น 5% มีเส้นผ่านศูนย์กลางกว้างกว่าของน้ำมันออริการิโน 5% เป็นสองเท่า นอกจากนี้เมื่อทดสอบโดยรวมน้ำมันตะไคร้กับยาปฏิชีวนะเข้าด้วยกัน ได้ผลลัพธ์คือทั้งสองอย่างให้ผลทำงานร่วมกันและเสริมฤทธิ์กัน โดยน้ำมันตะไคร้ผสม Amoxicillin ให้ผลทำงานร่วมกัน ในขณะที่น้ำมันตะไคร้ผสม Norfloxacin ให้ผลทำงานร่วมกันและทำงานเสริมฤทธิ์กัน

อดูควู เอเลนและฟิลลิปส์ (Adukwu, Allen & Phillips, 2012) ได้ศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *S.aureus* ของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ เกรปฟรุต มะนาว Lime มะกรูดและมะนาว Lemon ทดสอบโดยใช้วิธี Disc Diffusion Method กับเชื้อ Hospital MSSA, PVL CA-MSSA, MSSA NCTC 13297, CA-MRSA(MW2) และ PVL CA-MRSA พบว่าน้ำมันมะนาว Lemon ไม่ทำให้เกิด Inhibition Zone ในขณะที่น้ำมันเกรปฟรุต น้ำมันมะนาว Lime และน้ำมันมะกรูดทำให้เกิด Inhibition Zone ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในช่วง 2.85-4.63 เซนติเมตร ส่วนน้ำมันตะไคร้ทำให้เกิด Inhibition Zone ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 8.6 เซนติเมตร แสดงให้เห็นฤทธิ์ในการต้านเชื้อที่ดีที่สุดในน้ำมันหอมระเหยทั้ง 5 ชนิด

ไนคและคนอื่นๆ (Naik, at el., 2010) ได้ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันตะไคร้ต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ เชื้อ *S.aureus, B.cereus, B.subtilis, E.coli, K.pneumonia* และ

P.aeruginosa ทดสอบด้วย วิธี Agar Well Diffusion Method โดยหยอดเชื้อลงบนจานทดลอง กระจายให้ทั่วผิวหน้า เจาะหลุมเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ใส่สารแต่ละความเข้มข้นปริมาณ 25 ไมโครลิตร บ่มที่ 37±1 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 24-48 ชั่วโมง จะปรากฏ Inhibition Zone ขึ้น พบมี Inhibition Zone เกิดขึ้น มีเส้นผ่านศูนย์กลางมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น แต่ไม่มีผลกับเชื้อ *P.aeruginosa* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ทดสอบหาค่า MIC โดยวิธี Broth Dilution Method และทดสอบหา MBC ใช้ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ตั้งแต่ 0.5–0.015 % (v/v) จากการทดสอบพบในเชื้อ *S.aureus* และ *B.cereus* มีค่า MIC 0.03–0.06 %(v/v) ค่า MBC 0.06% (v/v) เชื้อ *B.subtilis* มีค่า MIC 0.06 %(v/v) ค่า MBC 0.12% (v/v) เชื้อ *E.coli* มีค่า MIC 0.06-0.12 %(v/v) ค่า MBC 0.12% (v/v) และเชื้อ *K.pneumoniae* มีค่า MIC 0.25–0.50 %(v/v) ค่า MBC 0.50% (v/v) แสดงให้เห็นว่าน้ำมันตะไคร้สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้แม้แบคทีเรียแกรมลบจะดื้อต่อน้ำมันตะไคร้มากกว่าแกรมบวมก็ตาม

จรีรัตน์ เอี่ยมสะอาดและคนอื่นๆ (Jareerat Aiemsaard, at el., 2011) ได้ศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันตะไคร้และสารประกอบหลักของน้ำมันตะไคร้ต่อเชื้อก่อโรคเต้านมวัวอักเสบและกลไกการยับยั้งเชื้อต่อ *Staphylococcus aureus* DMST4745 โดยใช้น้ำมันตะไคร้จาก Thai China Flavours and Fragrances Industry Co. และสารประกอบ citral,geraniol และmyrcene ใช้เชื้อ *S. aureus, S.agalactiae, B.cereus, E.coli* และ *Pseudomonas Aeruginosa* โดยแยกมาจากเต้านมวัวที่อักเสบในจังหวัดขอนแก่น ใช้เชื้อ *S.aureus* DMST4745 จากกระทรวงธารณสุข ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อด้วยวิธี Broth Dilution Method พบว่าน้ำมันตะไคร้แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อตัวอย่างทุกชนิด Citral และ Geraniol แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อน้อยกว่าน้ำมันตะไคร้ในขณะที่ Myrcene ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ ผล MIC และ MBC ต่อเชื้อแต่ละชนิดคือ เชื้อ *S.aureus* DMST 4745 มีMIC 0.54 µl/ml มี MBC 0.54 µl/ml, เชื้อ *S.aureus* มีMIC 0.54 µl/ml มี MBC 0.54 µl/ml, เชื้อ *S.agalactiae* มีMIC 0.27-0.54 µl/ml มี MBC 0.27-0.54 µl/ml, เชื้อ *B.cereus* มี MIC 0.13 µl/ml มี MBC 0.13 µl/ml และเชื้อ *E.coli* มีMIC 0.54-1.09 µl/ml มี MBC 0.54-1.09 µl/ml ศึกษาการทำให้เซลล์แบคทีเรีย *S.aureus* เกิดรูรั่วโดยใช้เชื้อ *S.aureus* DMST4745 และน้ำมันตะไคร้ Citral และ Geraniol ปริมาณเท่าๆ กันให้ความเข้มข้นสุดท้ายอยู่ในช่วง 0.5-6 µl/ml เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าน้ำมันตะไคร้และ Citral ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันตะไคร้ทำให้ผนังเซลล์แบคทีเรียเกิดรูรั่วในขณะที่ Geraniol ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกับเซลล์

ฟัลเกาและคนอื่นๆ (Falcao, at el., 2012) ได้ศึกษาเรื่องผลการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ที่ได้จากการกลั่นสุญญากาศ ใช้น้ำมันตะไคร้จาก Tekton Óleo Essencial (Viamão/Brazil) ซึ่งน้ำมันหอมระเหยนี้ได้จากการกลั่นไอน้ำส่วนเหนือดินของต้น นำไปกลั่นสุญญากาศอีกครั้งในห้องปฏิบัติการ ทดสอบกับเชื้อ *S.aureus* (ATCC 25923), *P aeruginosa* (ATCC

27853) และ *Salmonella Enterica* Subsp. *Entrerica* serovar Choleraesuis (ATCC 10708) ทดสอบด้วยวิธี Bioautograpic Method โดยเริ่มจากทำ Thin Layer Chromatography ของน้ำมันหอมระเหยและจากนั้นนำแผ่น Thin Layer ไปแปะบนหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อในจานทดลองที่เพาะเชื้อแล้ว เติม *p*-iodonitrotetrazolium Violet เพื่อให้มองเห็น Inhibition Halo หรือบริเวณที่เกิดการยับยั้งเชื้อได้ขึ้น พบว่าบริเวณที่มี Citral และ Myrcene เป็นบริเวณที่ทำให้เกิด Inhibition Halo

จากข้อมูลดังที่กล่าวไปแล้วทั้งหมด จะเห็นได้ว่าน้ำมันตะไคร้มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus* ได้ รวมไปถึงเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาอย่างเชื้อ MRSA อย่างไรก็ตาม น้ำมันตะไคร้มีความคงตัวต่ำ ระเหยได้ในอุณหภูมิห้อง ดังนั้นจึงต้องมีการเก็บกักน้ำมันตะไคร้ไว้ภายในตำรับให้ได้มากที่สุดโดยพึ่งพาระบบนำส่งยาในรูปแบบไมโครพาร์ทิเคิลในการกักน้ำมันและส่งน้ำมันไปยังจุดเป้าหมายให้มากที่สุด เพื่อประโยชน์สูงสุดในการยับยั้งเชื้อของตำรับ

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1. เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการวิจัย
2. อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมี
3. ขั้นตอนการวิจัย

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการวิจัย

เชื้อแบคทีเรีย MRSA จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข 6 สายพันธุ์

MRSA DMST 20645 Lot 7570

MRSA DMST 20646 Lot 7573

MRSA DMST 20469 Lot 7571

MRSA DMST 20651 Lot 7574

MRSA DMST 20652 Lot 7575

MRSA DMST 20654 Lot 7572

อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมี

อุปกรณ์

1. แท่งแก้ว
2. หลอดหยด
3. ช้อนตัดสาร
4. หลอดทดลองขนาดใหญ่
5. โกร่งแก้วบดยา
6. จานเลี้ยงเชื้อ (Petri Dish)
7. กระบอกตวง ขนาด 25, 50, 100, 250 และ 500 มิลลิลิตร
8. บีกเกอร์ ขนาด 25, 50, 100, 250 และ 500 มิลลิลิตร
9. Erlenmeyer Flask ขนาด 100, 500 และ 1000 มิลลิลิตร
10. Volumetric Flask ขนาด 10, 25, 50, 100 มิลลิลิตร

11. Volumetric Cylinder ขนาด 10, 25, 50, 100 มิลลิลิตร

12. Sterile Syringe ขนาด 5 มิลลิลิตร (TERUMO (PHILIPINES) Corp. ประเทศฟิลิปปิน)

13. Syringe Needle 21 (0.80x25 mm) (TERUMO (PHILIPINES) Corp. ประเทศฟิลิปปิน)

14. Appendoft (DOCTOR CALIBRATION CO.,LTD ประเทศเยอรมัน)

15. ไมโครปิเปต (DOCTOR CALIBRATION CO.,LTD ประเทศเยอรมัน)

16. 96 Well Plate (บริษัท Corning จำกัด Corning.NY 14831 ประเทศสหรัฐอเมริกา)

17. Sterile Plastic Pipette (DOCTOR CALIBRATION CO.,LTD ประเทศเยอรมัน)

18. Paper Disc เกรด AA DISC 6 mm (Whatman® Ltd. ประเทศอังกฤษ)

19. pH-indicator Paper (บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน)

เครื่องมือ

1. หม้อน้ำ (Water Bath) (ยี่ห้อ Memmert ประเทศเยอรมัน)

2. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) (ยี่ห้อ Memmert ประเทศเยอรมัน)

3. ตู้เย็น (Refrigerator) (SANYO รุ่น SR-F811 MS ประเทศไทย)

4. ตู้เย็น (Refrigerator) (TOSHIBA รุ่น GR-T41KBZ ประเทศไทย)

5. Hotplate Stirrer (บริษัท DAIHANLATEH., LTD. ประเทศเกาหลี)

6. เครื่องนึ่งภายใต้ความดัน (Autocrave) (รุ่น JSAX-60 บริษัท JSR ประเทศเกาหลี)

7. เครื่องนึ่งภายใต้ความดัน (Autocrave) (รุ่นHVE-50 บริษัท HIRAYAMA ประเทศญี่ปุ่น)

8. ตู้แช่แข็ง (Freezer) (ยี่ห้อ Panasonic บริษัท พานาโซนิค (ประเทศไทย) จำกัด ประเทศไทย)

9. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Digital Balance) (บริษัท เมทเลอร์-โทเลโด ประเทศสวิสเซอร์แลนด์)

10. Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS) ศูนย์เครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

11. เครื่อง Vortex Genie 2 (ยี่ห้อ Scientific Industries ประเทศสหรัฐอเมริกา)

สารเคมี

1. น้ำมันตะไคร้ (จากบริษัท Thai China Flavours & Fragrances Industry Co.)

2. Mueller-Hinton-Broth (บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน)

3. Mueller-Hinton-Agar (บริษัท HiMedia Laboratories Pvt. Ltd. ประเทศอินเดีย)

4. Absolute Ethanol (บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน)

5. Methanol (บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน)

6. Dimethyl Sulfoxide (บริษัท หน่ำเซียง ประเทศไทย)
7. Polysorbate 80 (บริษัท หน่ำเซียง ประเทศไทย)
8. Sodium Chlorite (บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน)
9. Sodium Laureth Ether Sulfate (บริษัท หน่ำเซียง ประเทศไทย)
10. Ammonium Lauryl Sulfate (บริษัท หน่ำเซียง ประเทศไทย)
11. Glycerine (บริษัท หน่ำเซียง ประเทศไทย)
12. Coconut Fatty Acid Diethanolamide (บริษัท หน่ำเซียง ประเทศไทย)
13. Dimethyloldimethyl Hydantoin (บริษัท หน่ำเซียง ประเทศไทย)
14. Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (บริษัท หน่ำเซียง ประเทศไทย)
15. Butylated Hydroxytoluene (บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน)
16. Calcium Algenate (บริษัท หน่ำเซียง ประเทศไทย)
17. Calcium Chlorite (บริษัท หน่ำเซียง ประเทศไทย)
18. Isopropyl Myristate (บริษัท หน่ำเซียง ประเทศไทย)
19. Cetyl Alcohol (บริษัท หน่ำเซียง ประเทศไทย)
20. Poloxamer188 (บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน)
21. Sodium Dodecyl Sulfate (บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน)

ขั้นตอนการวิจัย

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันตะไคร้

เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ซื้อจากบริษัท Thai China Flavours & Fragrances Industry Co. (Thailand) ซึ่งสกัดจากพืชสมุนไพรโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ จึงต้องมีการควบคุมคุณภาพของน้ำมันหอมระเหยโดยการจำแนกองค์ประกอบน้ำมันหอมระเหย ดังนี้

1.1 เจือจางน้ำมันหอมระเหยโดยใช้น้ำมันตะไคร้ 1 ml ต่อเฮกเซน 1 ml และวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer โดยใช้สภาวะในการวิเคราะห์ซึ่งดัดแปลงจาก Kothari *et al.* (2004) ดังนี้

- Capillary Column Was Rxt-5® (30 m x 0.32 mm idx0.25 µm Film Thickness)
- Injector 250 °C; Transfer Line to MSD 250 °C
- Scanned m/z Over 35-550 amu at 1,111 amu/sec
- Oven Temperature Started With 80 °C to 250 °C at 10 °C/min
- Split Mode; Ionization Energy 0 kV

- Carrier Gas used was Helium at a Flow Rate 1 ml/min

1.2 เมื่อได้ Chromatogram ขององค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันตะไคร้แล้ว นำมาจำแนกว่าเป็น Peak ของสารประกอบชนิดใด โดยวิธีการเปรียบเทียบ Mass Spectra ของ Peak ต่างๆ ในน้ำมันหอมระเหยกับ Mass Spectra ของสารมาตรฐานต่างๆ ใน Library ของเครื่อง GC/MS โดยพิจารณาเลือกสารมาตรฐานใน Library ให้ % Matching กับ Peak ของน้ำมันหอมระเหยมากกว่าหรือเท่ากับ 85%

2. การศึกษาความไวของเชื้อ MRSA ต่อน้ำมันตะไคร้

ดัดแปลงจาก Choi และคณะ (2012) มีวิธีการดังนี้

2.1 ทำได้โดยบ่มเชื้อ ~5x10^7 CFU/mL.พร้อมกับน้ำมันตะไคร้ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลวที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.122 ถึง 250 µl/ml โดยใช้ 40% DMSO และ 1% Tween80 เป็นตัวประสานน้ำกับน้ำมันเข้าด้วยกัน บ่มเชื้อข้ามคืนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จึงได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่มองเห็นได้ (MIC) พิจารณาการยับยั้งเชื้อโดยการนำไปเทียบกับหลอดทดลองเลี้ยงเชื้อที่ไม่ใส่น้ำมันตะไคร้หรือตัวแปรควบคุม

2.2 โดยนำหลอดทดลองที่ไม่เห็นการเจริญของเชื้อมาเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง หลังบ่มเชื้อ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นที่ต่ำสุดที่เพาะเชื้อแล้วไม่เห็นการเจริญเติบโตของเชื้อบนจานทดลองจะถูกบันทึกเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่มองเห็นได้ (MBC)

3. การทดสอบการยับยั้งเชื้อMRSAของน้ำมันตะไคร้ต่อหน่วยเวลา (Time-Kill Assay)

3.1 เลือกเชื้อแบคทีเรีย MRSA เพียง Strain เดียวจากผลการวิจัยขั้นตอนที่ 2 โดยเลือก Strain ที่ดื้อต่อน้ำมันตะไคร้มากที่สุด กล่าวคือมีค่า MIC, MBC สูงสุด มาศึกษา Time Kill เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำมันตะไคร้ที่สามารถลดจำนวนเชื้อได้ในระยะเวลาสั้นๆ มีวิธีการดังหมด ดังนี้

3.2 เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย MRSA ที่ดื้อยาที่สุดในอาหารเหลว Muller-Hinton Broth ในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3.3 อ้างอิงความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้จากงานวิจัยของปิลันธนา เลิศสถิตธนกรและคนอื่นๆ (Pilanthana Lertsatitthanakorn, et al., 2014) เตรียมสารละลายจาก 1%tween20 0.1 g, 10% Dimethyl Sulfoxide (DMSO) 1 ml (ใช้ในการละลายน้ำมันตะไคร้แทนแอลกอฮอล์เพื่อไม่ให้รบกวนการฆ่าเชื้อ) น้ำมันตะไคร้ 3MBC (93.75 mg) และใช้ Mueller-Hinton-Broth ปรับปริมาตรเป็น 9 ml เตรียมสารละลายชุดที่ 2 โดยใช้น้ำมันตะไคร้ 5MBC (156.25 mg) และเตรียมสารละลายชุดที่ 3 น้ำมันตะไคร้ 10MBC (312.5 mg)

3.4 นำสารละลายของเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้นประมาณ 10^7cfu/ml มา 1 ml จำนวน 3 ชุด ผสมเข้ากับสารละลายในข้อ 2 เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex Genie 2 สุ่มตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นมา 0.1 ml เพื่อนำไปผสมกับ Normal Saline Solution ณ จุดเวลา 0, 2, 5, 10, นาที ก่อนเจือจางแบบ Serial Ten-Fold Dilution ด้วย Normal Saline Solution เพื่อหยุดปฏิกิริยาการฆ่าเชื้อ ณ จุดเวลาดังกล่าว

3.5 นำสารผสมที่เจือจางแล้วมา 100 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง Muller-Hinton Agar บ่มให้เกิดเป็นโคโลนีที่รอดชีวิต (Viable Count) ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง

3.6 เมื่อครบเวลาบ่ม นับจำนวนโคโลนีที่รอดชีวิต (Viable Count) ในหน่วย cfu/ml หาค่า Log Survivors และพล็อตกราฟระหว่างค่า Log Survivors กับจุดเวลาต่างๆ ในหน่วยนาที ซ้ำ 3 ครั้ง จะได้ค่า *D*-value เฉลี่ย (*D*-value คือ เวลาที่ใช้ในการลดจำนวนเชื้อลง 90 % ของปริมาณเชื้อเริ่มต้นซึ่งเท่ากับ 1 log) เพื่อดูว่าใช้เวลาเท่าไรที่น้ำมันตะไคร้จะลดจำนวนเชื้อได้ 90-99% เมื่อสัมผัสผิว (ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร, 2557)

3.7 ทำการทดลองกับสารละลาย 5MBC (156.25g) และ 10MBC (312.5g) ทำซ้ำ 3 ครั้ง และคำนวณเช่นเดียวกับ สารละลาย3MBC (93.75g)

4. การพัฒนาเม็ดพาร์ทิเคิล (Particles) เก็บกักน้ำมันตะไคร้

4.1 การเตรียมเม็ดบีดจาก Calcium Algenate

อ้างอิงจากหนังสือของธเนศ พงศ์จรรยากุล (2555) ทำได้โดยละลาย Calcium Algenate 0.5 g ลงในน้ำกลั่น100 ml. ผสมน้ำมันตะไคร้ 1 g และ 15% Tween 80 ปริมาตร 10 ml เข้าด้วยกันดูดด้วย Syringe และบีบผ่านหัวเข็มที่เล็กที่สุดลงในสารละลาย 10% Calcium Chlorite ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำกลั่น ผึ่งให้แห้ง ทำซ้ำโดยเพิ่มปริมาณของ Calcium Algenate เป็น 1 g และ 3 g คำนวณร้อยละการเก็บกักสารได้จากสูตร ดังนี้

4.2 การเตรียม Solid lipid Particles (SLPs)

ดัดแปลงจากวิธีของปิลันธนา เลิศสถิตธนากรและคณะ (2013) ทำได้โดยละลายน้ำมันตะไคร้ใน Cetyl Alcohol 8.1 g ที่หลอมแล้วที่ 65 องศาเซลเซียส จากนั้นละลายสารลดแรงตึงผิวผสมระหว่าง Poloxamer และ Sodium Dodecyl Sulfate ในอัตราส่วน 35:1 (Poloxamer 6.125 g และ Sodium Dodecyl Sulfate 0.175 g)ลงในน้ำกลั่น 81.4g ให้ความร้อน 65 องศาเซลเซียส นำสารผสมมารวมกัน เขย่าบนเครื่อง Vortex Genie 2 เป็นเวลา 1 นาที นำไปแช่ใน Ice Bath 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จึงได้เม็ด SLPs ของน้ำมันตะไคร้ออกมา ดึงน้ำมันตะไคร้ที่ไม่ถูกกักไว้ใน SLPs ออกจากระบบด้วยหลัก Like Dissolve Like โดยเติม Iso Propyl Myristate (IPM) ลงในสารละลายSLPs ในปริมาตรเท่ากัน ทิ้งให้แยกชั้นข้ามคืนแล้วแยก IPM ออกจาก สารละลาย SLPs

เติม IPM ลงในสารละลายSLPs ในปริมาตรเท่ากันอีกครั้ง ทิ้งให้แยกชั้นข้ามคืนแล้วแยก IPM ออกจากสารละลาย SLPs นำสารละลาย SLPsที่ได้ไปตรวจสอบและคำนวนหาร้อยละการเก็บกักสาร

4.3 หาร้อยละการกักเก็บสารสำคัญ (%Entrapment Efficiency, %EE)

ในไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งและเม็ดบีดอัลจิเนตทุกตำรับ แต่ละตำรับทำซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย ดังนี้

4.3.1 ชั่งอนุภาคของไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งมา 0.5 g และเติม Ethanol ใน Volumetric Flask ขนาด 25 mL แล้วนำไป Sodicate ในเครื่อง Ultrasonic Bath นาน 30 นาที เพื่อละลายผนังของไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง เม็ดบีดอัลจิเนตให้ใช้การบดในโกร่งแก้วบดยา ล้างด้วย Ethanol แล้วนำน้ำล้างเทลงใน Volumetric Flask ขนาด 25 mL และปรับปริมาตรด้วย Ethanol

4.3.2 นำสารละลายที่ได้มากรองผ่าน Membrane Filter และวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันตะไคร้ที่ถูกเก็บกักไว้ด้วยเครื่อง GC-MS หรือ GC-FID จากนั้นนำผลที่ได้ไปคำนวณหา %EE จาก การเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำมันตะไคร้

4.4 คัดเลือก Particles ของน้ำมันตะไคร้เพียงตำรับเดียวที่มีเหมาะจะนำพัฒนาสบู่เหลวมาทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

5. การพัฒนาตำรับสบู่เหลว

ทำการพัฒนาสบู่เหลว 5 ตำรับ โดยในแต่ละตำรับจะใส่เม็ด SLPs ลงไปเท่ากับความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ที่ได้จากผลการศึกษา Time Kill

5.1 สูตรพื้นฐานของสบู่เหลวมีดังนี้

5.1.1 Sodium Lauryl Ether Sulfate (SLES)	N/A
5.1.2 Glycerine	2 %
5.1.3 Coconut Diethanolamide (CDE)	N/A
5.1.4 Dimethyloldimethyl Hydantoin (DMDM)	0.5%
5.1.5 Butylated Hydroxytoluene (BHT)	0.02%
5.1.6 Ethylene Diamin Tetreacetic Acid (EDTA)	0.02%
5.1.7 Sodium Chloride (NaCl)	N/A
5.1.8 Lemongrass Oil (LG oil) หรือพาร์ทิเคิลของน้ำมันตะไคร้	N/A
5.1.9 Distilled Water	qs to 100

5.2 วิธีเตรียม

5.2.1 ผสม Sodium Lauryl Ether Sulfate (SLES), Glycerine, Coconut Diethanolamide (CDE), Dimethyloldimethyl Hydantoin (DMDM), Butylated Hydroxytoluene (BHT), Lemongrass Oil เข้าด้วยกัน ที่อุณหภูมิ 40 °C

5.2.2 ละลาย Ethylene Diamin Tetreacetic Acid (EDTA) และ Sodium Chloride (NaCl) ในน้ำ

5.2.3 เติมน้ำมันตะไคร้หรือเม็ด SLPs ของน้ำมันตะไคร้

5.2.4 เติมน้ำส่วนที่เหลือ เพื่อปรับปริมาตรจนได้ปริมาตรสบู่เหลวตามต้องการ และคนให้เข้ากัน (ปานทิพย์ รัตนศิลป์กัลชาญและคนอื่นๆ, 2557)

5.2.5 คัดเลือกสบู่เหลวที่มีลักษณะทางกายภาพดีที่สุดเพียงตำรับเดียว มาทำการทดลองต่อไป

6. การทดสอบความคงตัวของสบู่เหลว

6.1 เตรียมสบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้ธรรมดาตามสูตรตำรับที่ดีที่สุดเพียงตำรับเดียว (ซึ่งได้จากขั้นตอนที่ 5) เพื่อเป็นสูตรตำรับเปรียบเทียบกับสบู่เหลวที่มี SLPs น้ำมันตะไคร้

6.2 ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย MRSA ด้วย เทคนิค Disc Diffusion Method หรือเทคนิค Time Kill ที่จุดเวลา 0, 5, 10 นาที รวมทั้งเก็บข้อมูลลักษณะทางกายภาพอื่นๆ

6.3 เก็บสบู่เหลวตำรับที่มี SLPs น้ำมันตะไคร้และสบู่เหลวที่มีน้ำมันตะไคร้ธรรมดาไว้ที่ 2 สภาวะ เป็นเวลา 5 Cycles คือ สภาวะอุณหภูมิเย็น 4°C ไม่มีแสงและสภาวะอุณหภูมิ 40°C ไม่มีแสง

6.4 เมื่อครบรอบสภาวะเร่ง Freeze-Thaw ให้ทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย MRSA ด้วยอีกครั้ง เทคนิค Disc Diffusion Method หรือเทคนิค Time Kill ที่จุดเวลา 0, 5, 10 นาที รวมทั้งเก็บข้อมูลลักษณะทางกายภาพอื่นๆ

7. สถานที่ทำการทดลอง

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

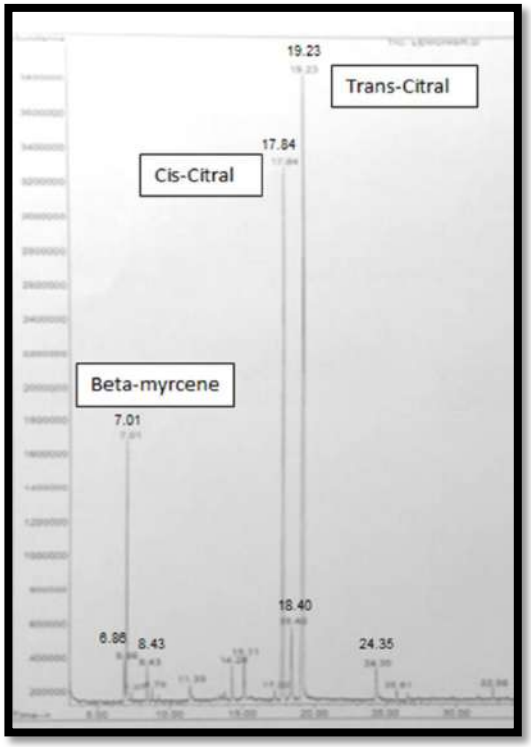
ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันตะไคร้

น้ำมันตะไคร้ที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์ในครั้งนี้เป็นน้ำมันตะไคร้จากบริษัท Thai China Flavours & Fragrances Industry Co. โดยเป็นน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากตะไคร้ชื่อ *Cymbopogon Citratus* Stapf. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบสาระสำคัญของน้ำมันตะไคร้ด้วยเทคนิค Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS) ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันตะไคร้

Number	Retention time (min)	Chemical name	CAS NO.	% Peak area
1	6.86	6-Methyl-5-hepten-2-one	110-93-0	1.48
2	7.02	beta-Myrcene	123-35-3	8.47
3	8.43	l-Limonene	5989-54-8	1.34
4	17.84	cis-Citral	106-26-3	33.65
5	18.40	trans-Geraniol	106-24-1	4.11
6	19.23	trans-Citral	141-27-5	42.91
7	24.35	Geranyl acetate	105-87-3	2.01
8	-	Unknown	-	6.03

จากตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบสารสำคัญของน้ำมันตะไคร้ด้วยเครื่อง GC/MS พบว่าน้ำมันตะไคร้มีองค์ประกอบของสาร ได้แก่ 6-Methyl-5-Hepten-2-one, Beta-Myrcene, l-Limonene, Cis-Citral, Trans-Geraniol, Trans-Citral และ Geranyl Lacetate ซึ่งจากมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 1681-2541 ของน้ำมันตะไคร้ ระบุไว้ว่า น้ำมันตะไคร้ที่ผ่านมาตรฐานต้องมีซิทราล (Citral) ไม่น้อยกว่าร้อยละ70 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม,2543) จากการวิเคราะห์จะเห็นได้ว่าผลรวมของซิทราลมีค่าเท่ากับร้อยละ 76.56 ผ่านตามมาตรฐาน



ภาพที่ 6 โครมาโตแกรมของน้ำมันตะไคร้ที่ได้จากเครื่อง GC/MS

จากภาพที่ 6 พบว่าในน้ำมันตะไคร้ประกอบด้วยสาระสำคัญ คือ Trans-Citral ซึ่งมีมากที่สุด มี Cis-Citral และมี Beta-Myrcene ด้วย

ผลการศึกษาความไวของเชื้อ MRSA ต่อน้ำมันตะไคร้

ตารางที่ 2 ค่า MIC และ MBC ของน้ำมันตะไคร้ต่อเชื้อ MRSA 6 สายพันธุ์

จากการทดสอบความไวของเชื้อ MRSA ต่อน้ำมันตะไคร้โดยวิธี Broth Microdilution Method มีค่า MIC และ MBC ดังนี้

MRSA	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
MRSA DMST 20645	7.81	7.81
MRSA DMST 20646	31.25	31.25
MRSA DMST 20649	7.81 – 31.25	7.81 – 31.25
MRSA DMST 20651	1.95	1.95
MRSA DMST 20652	1.95	1.95 – 3.9
MRSA DMST 20654	0.98 – 1.95	0.98 – 1.95

เชื้อ MRSA DMST 20645 มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 7.81 mg/ml

เชื้อ MRSA DMST 20646 มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 31.25 mg/ml

เชื้อ MRSA DMST 20649 มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 7.81- 31.25 mg/ml

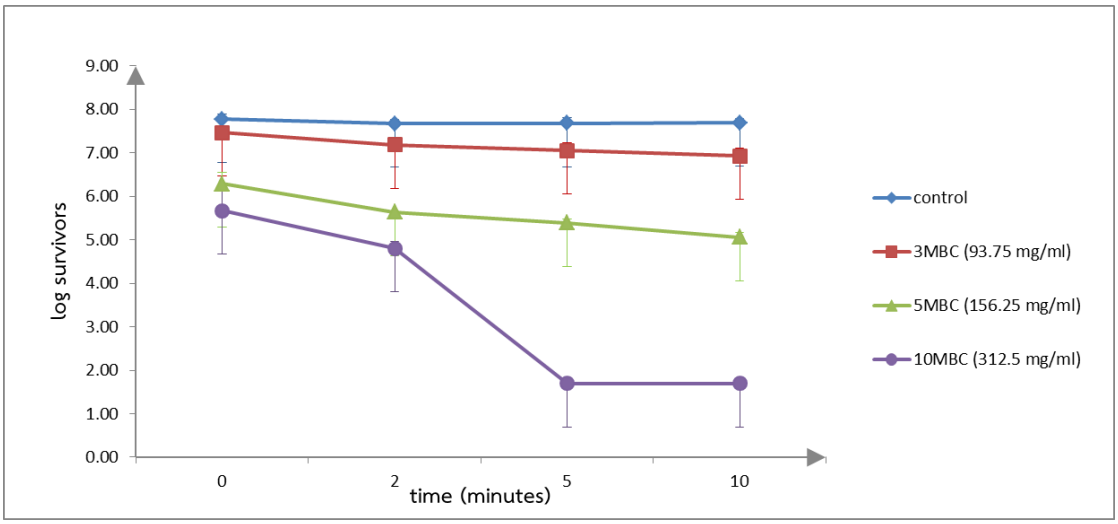
เชื้อ MRSA DMST 20651 มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 1.95 mg/ml

เชื้อ MRSA DMST 20652 มีค่า MIC เท่ากับ 1.95 mg/ml และ MBC เท่ากับ 1.95-3.9 mg/ml

เชื้อ MRSA DMST 20654 มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.98 - 1.95 mg/ml

จากผลการทดสอบ เชื้อ MRSA สายพันธุ์ DMST 20646 มีค่า MIC และ MBC สูงที่สุดหรือกล่าวคือเป็นสายพันธุ์ที่ดื้อต่อน้ำมันตะไคร้ที่สุด

การทดสอบการยับยั้งเชื้อ MRSA ของน้ำมันตะไคร้ต่อหน่วยเวลา (Time-Kill Assay)



ภาพที่ 7 Log Survivors ของตัวแปรควบคุมและน้ำมันตะไคร้ตามความเข้มข้นต่างๆ ต่อหน่วยเวลา

ผลการทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำมันตะไคร้ต่อหน่วยเวลาด้วยเทคนิค Time Kill พบว่าตัวแปรควบคุมไม่แสดงการลดลงของเชื้อ MRSA ในทุกช่วงเวลา น้ำมันตะไคร้เข้มข้น 3 MBC (93.75 mg/ml) สามารถลด Log Survivors ลงได้แต่ไม่ถึง 1 log น้ำมันตะไคร้เข้มข้น 5MBC (156.25 mg/ml) สามารถลดจำนวนเชื้อ MRSA ลงได้มากกว่า 1 log ที่จุดเวลา 5 นาที และลดได้มากกว่า 2 log ที่จุดเวลา 10 นาที น้ำมันตะไคร้เข้มข้น 10MBC (312.5 mg/ml) สามารถลดจำนวนเชื้อ MRSA ลงได้มากกว่า 2 log ที่จุดเวลา 2 นาทีและลดได้มากกว่า 3 log ที่จุดเวลา 5 นาที ถึง 10 นาที

ตารางที่ 3 การลดลงของเชื้อ MRSA เมื่อสัมผัสกับน้ำมันตะไคร้ความเข้มข้นต่างๆ ต่อหน่วยเวลา

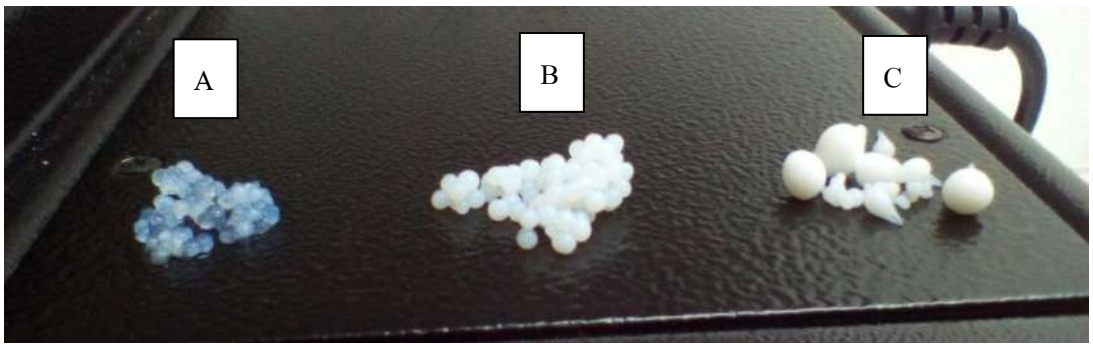
Time	control	3mbc	5mbc	10mbc
0	-	-	-	-
2*	0.10±0.02	0.28±0.15	0.65±0.30	0.87±0.62
5*	0.09±0.09	0.42±0.16	0.89±0.35	3.97±0.49
3.9710*	0.08±0.04	0.53±0.17	1.23±0.34	3.97±0.49

*การลดลงของ Log Survivor ของน้ำมันตะไคร้ทั้งสามความเข้มข้นไม่แตกต่างกัน (P>0.05)

จากตารางที่ 3 ตัวแปรควบคุมที่จุดเวลา 2 นาที ลดจำนวนเชื้อ MRSA เป็น Log Survivors ได้ 0.1±0.02, ที่จุดเวลา 5 นาที ลดจำนวนเชื้อ MRSA ได้ 0.09±0.09, ที่จุดเวลา 10 นาที ลดจำนวนเชื้อ MRSA ได้0.08±0.04 น้ำมันตะไคร้ความเข้มข้น 3MBC ที่จุดเวลา 2 นาที ลดจำนวนเชื้อ MRSA ได้ 0.28±0.15, ที่จุดเวลา 5 นาที ลดจำนวนเชื้อ MRSA ได้ 0.42±0.16 , ที่จุดเวลา 10 นาที ลดจำนวนเชื้อ MRSA ได้ 0.53±0.17,น้ำมันตะไคร้ความเข้มข้น 5MBC ที่จุดเวลา 2 นาที ลดจำนวนเชื้อ MRSA ได้ 0.65±0.30, ที่จุดเวลา 5 นาที ลดจำนวนเชื้อ MRSA ได้ 0.89±0.35, ที่จุดเวลา 10 นาที ลดจำนวนเชื้อ MRSA ได้ 1.23±0.34 น้ำมันตะไคร้ความเข้มข้น 10MBC ที่จุดเวลา 2 นาที ลดจำนวนเชื้อ MRSA ได้ 0.87±0.62, ที่จุดเวลา 5 นาที ลดจำนวนเชื้อ MRSA ได้ 3.97±0.49, ที่จุดเวลา 10 นาที ลดจำนวนเชื้อ MRSA ได้ 3.97±0.49 ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนำไปพัฒนาสบู่เหลวคือ 5MBC เนื่องจากเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ทำให้ Log Survivors ลดลงได้ 1 log

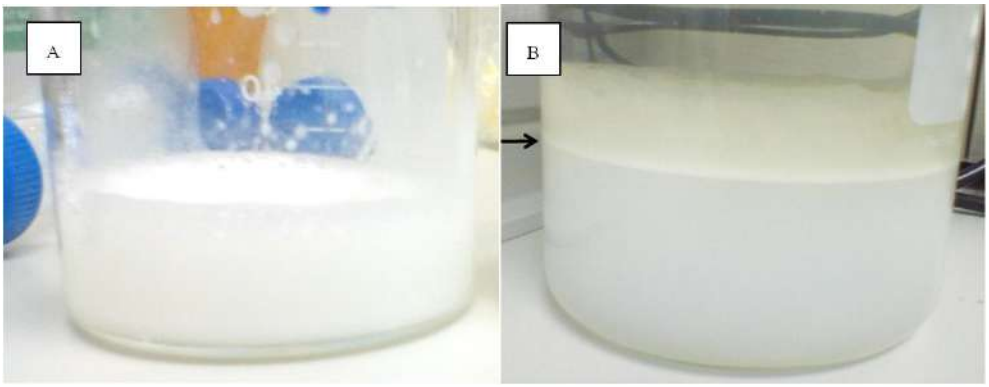
ผลการพัฒนาเม็ดพาร์ทิเคิล (Paticles) เก็บกักน้ำมันตะไคร้

ผลการเตรียมเม็ดบีดจาก Cacium Algenate



ภาพที่ 8 เม็ดบีดที่เตรียมจากโซเดียมอัลจิเนต 0.5% (ภาพ A), 1%(ภาพ B), และ 3% (ภาพ C)

เม็ดบีดที่ได้จากการเตรียมด้วยโซเดียมอัลจิเนต 0.5% มีลักษณะเป็นเม็ดกลมนิ่มใส ไม่สามารถทรงขนาดให้เป็นก้อนกลมได้ ขนาดประมาณ 2 มิลลิเมตร เม็ดบีดที่ได้จากการเตรียมด้วยโซเดียมอัลจิเนต 1% มีลักษณะเป็นเม็ดกลมนิ่ม ขนาดประมาณ 2 มิลลิเมตร เม็ดบีดที่ได้จากการเตรียมด้วยโซเดียมอัลจิเนต 3% มีความเหนียวแข็ง เม็ดบีดที่ได้ขนาดไม่สม่ำเสมอกัน



ภาพที่ 9 Solid Lipid Particles (A) และ Solid Lipid Particles ที่ผ่านการทำ Partition (B)

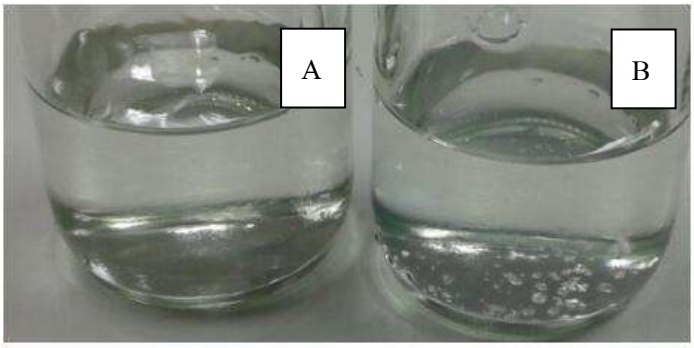
Solid Lipid Particles ของน้ำมันตะไคร้เป็นของเหลวข้นสีขาวขุ่น เมื่อผ่านการทำ Partition เพื่อดึงน้ำมันตะไคร้ที่ไม่ถูกเก็บกักออก เนื้อของ Solid Lipid Particles ลดลง

ตารางที่ 4 ร้อยละการกักเก็บน้ำมันตะไคร้ของเม็ดบีดอัลจิเนตและ Solid Lipid Particles

เม็ดบีดอัลจิเนต	ร้อยละการเก็บกักน้ำมันตะไคร้
โซเดียมอัลจิเนต 0.5%	9.73 ± 0.93
โซเดียมอัลจิเนต 1%	26.57 ±1.52
โซเดียมอัลจิเนต 3%	25.395 ± 1.04
Solid Lipid Particles	20.53 ± 1.73

จากตารางที่ 4 พบว่าเม็ดบีดที่เตรียมด้วยโซเดียมอัลจิเนต 0.5% สามารถเก็บกักน้ำมันตะไคร้ได้ร้อยละ 9.7 เม็ดบีดที่เตรียมด้วยโซเดียมอัลจิเนต 1% สามารถเก็บกักน้ำมันตะไคร้ได้ร้อยละ 27 และเม็ดบีดที่เตรียมด้วยโซเดียมอัลจิเนต 3% สามารถเก็บกักน้ำมันตะไคร้ได้ร้อยละ 25 และ Solid Lipid Particles สามารถเก็บกักน้ำมันตะไคร้ได้ร้อยละ 20.53 แต่เนื่องจาก Solid Lipid Particles มีอนุภาคเล็กกว่าเม็ดบีด จึงเหมาะที่สุดในการนำมาพัฒนาสบู่เหลว

ผลการพัฒนาตำรับสบู่เหลว



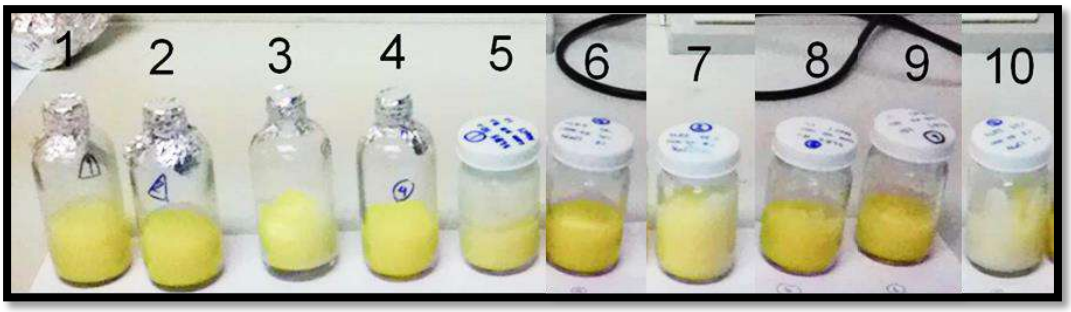
ภาพที่ 10 สบู่เหลวสูตรพื้นฐานที่เตรียมจาก SLES (ภาพ A) และ ALS (ภาพ B)

สบู่พื้นฐานที่ใช้ SLES เป็นส่วนประกอบสามารถละลายสารต่างๆ ได้จนหมด สบู่พื้นฐานที่ใช้ ALS เป็นส่วนประกอบไม่สามารถละลาย BHT ได้หมด จึงเหมาะที่จะใช้ SLES เป็น Surfactant ในสบู่เหลวที่จะพัฒนาต่อไป

ตารางที่ 5 สบู่ผสมน้ำมันตะไคร้ 5MBC (15.625%) 10 สูตร

No.	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
Ingredients										
SLES (%)	8	8	10	10	10	10	15	15	15	20
Glycerine(%)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
CDE (%)	5	5	5	5	5	10	5	10	10	5
DMDM (%)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
BHT (%)	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
EDTA (%)	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
NaCl (%)	1	3	0.5	1	3	1	1	1	2	1
LG oil (%)	15.6	15.6	15.6	15.6	15.6	15.6	15.6	15.6	15.6	15.6
Distilled water	qs to 100	qs to 100	qs to 100	qs to 100	qs to 100	qs to 100	qs to 100	qs to 100	qs to 100	qs to 100

จากตารางที่ 5 การพัฒนาสบู่เหลวขึ้น 10 ตำรับ โดยใช้ Glycerine, Dimethyloldimethyl Hydantoin, Butylated Hydroxytoluene, Ethylene Diamin Tetreacetic Acid และ Lemongrass Oil ปริมาณเท่ากันทั้ง10ตำรับคือ 2%, 0.02%, 0.02%, และ15.625% ตามลำดับ สาร Sodium Lauryl Ether Sulfate ใส่ 2% ในตำรับที่ 1, 2 ใส่ 3% ในตำรับที่ 3, 4, 5, 6 ใส่15%ในตำรับที่7, 8, 9 ใส่20% ในตำรับที่10 สาร Coconut Diethanolamide ใส่ 5% ในตำรับที่1, 2, 3, 4, 5, 7, 10 ใส่ 10% ในตำรับที่ 6, 8, 9 สาร Sodium Chloride ใส่ 0.5% ในตำรับที่ 3 ใส่ 1% ในตำรับที่ 1, 4, 6, 7, 8, 10 ใส่ 2% ในตำรับที่ 9 ใส่ 3% ในตำรับที่2 และ 5



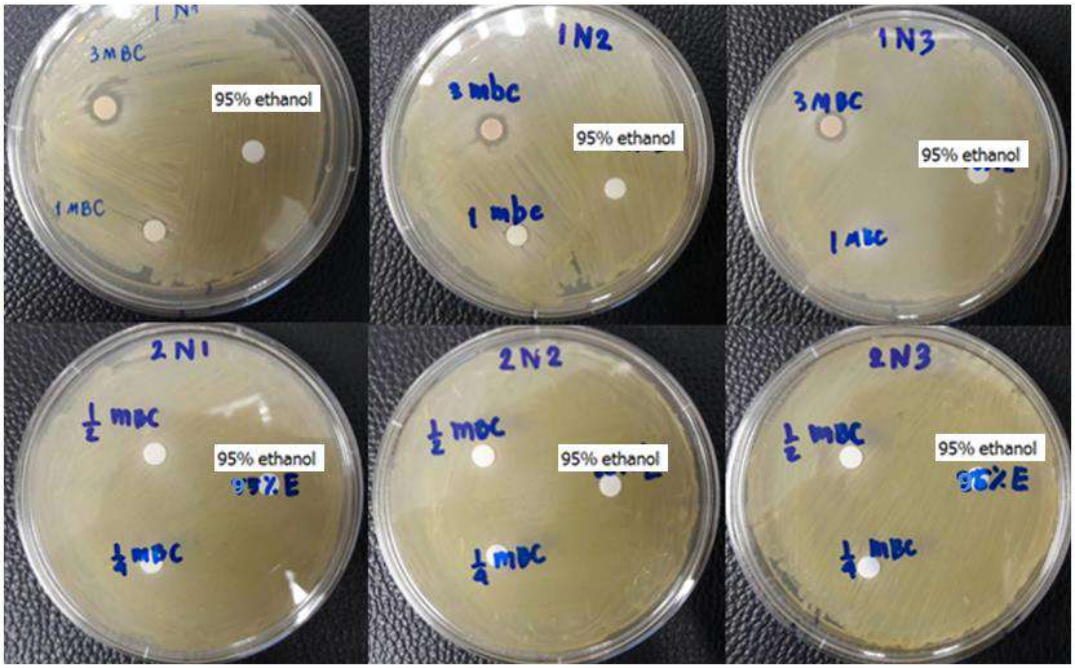
ภาพที่ 11 สบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้ 5MBC 10 สูตรหลังทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

ลักษณะทางกายภาพของสบู่เหลว 10 สูตร

1. สูตรที่ 1 เหลวมาก เทแล้วไหลคล้ายน้ำ หนืดไม่มาก สีเหลืองอ่อนขุ่น ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้น
2. สูตรที่ 2 เหลวมาก เทแล้วไหลคล้ายน้ำ หนืดไม่มาก สีเหลืองอ่อนขุ่น แยกเป็นชั้นน้ำมันลอยอยู่ในเนื้อสบู่
3. สูตรที่ 3 เหลว ไหลคล้ายโลชั่น สีเหลืองอ่อนขุ่น ไม่แยกชั้น
4. สูตรที่ 4 เหลว ไหลคล้ายโลชั่น สีเหลืองอ่อนขุ่น ไม่แยกชั้น
5. สูตรที่ 5 เหลวคล้ายน้ำ หนืดไม่มาก แยกเป็นสองชั้น
6. สูตรที่ 6 เหลว ไหลคล้ายโลชั่น สีเหลืองเข้มขุ่น เนื้อไม่เนียน เป็นลิ่ม ไม่แยกชั้น เนื้อคล้ายสังขยา
7. สูตรที่ 7 เหลวปานกลาง เหลวคล้ายโลชั่น สีเหลืองขุ่น ไม่แยกชั้น
8. สูตรที่ 8 เหลวปานกลาง ไหลคล้ายโลชั่น สีเหลืองเข้มขุ่น ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน เนื้อเนียน ไม่แยกชั้น
9. สูตรที่ 9 เหลวปานกลาง ไหลคล้ายโลชั่น สีเหลืองเข้มขุ่น เนื้อไม่เนียน เป็นลิ่ม ไม่แยกชั้น เนื้อคล้ายสังขยา

10. สูตรที่ 10 ข้นหนืดคล้ายครีม สีเหลืองขุ่น ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้น

จากลักษณะทางกายภาพ สบู่ตำรับที่ 7, 8 และ 9 มีความเหลวในระดับปานกลาง สูตรที่ 7 ให้ฟองน้อยเกินไปเมื่อเทียบกับสูตรที่ 8 และ 9 สบู่สูตรที่ 9 มีเนื้อข้นที่ไม่สม่ำเสมอเมื่อเทียบกับสูตรที่ 8 ดังนั้นสูตรที่เหมาะสมที่สุดที่จะนำไปทดสอบต่อไปคือสบู่สูตรที่ 8

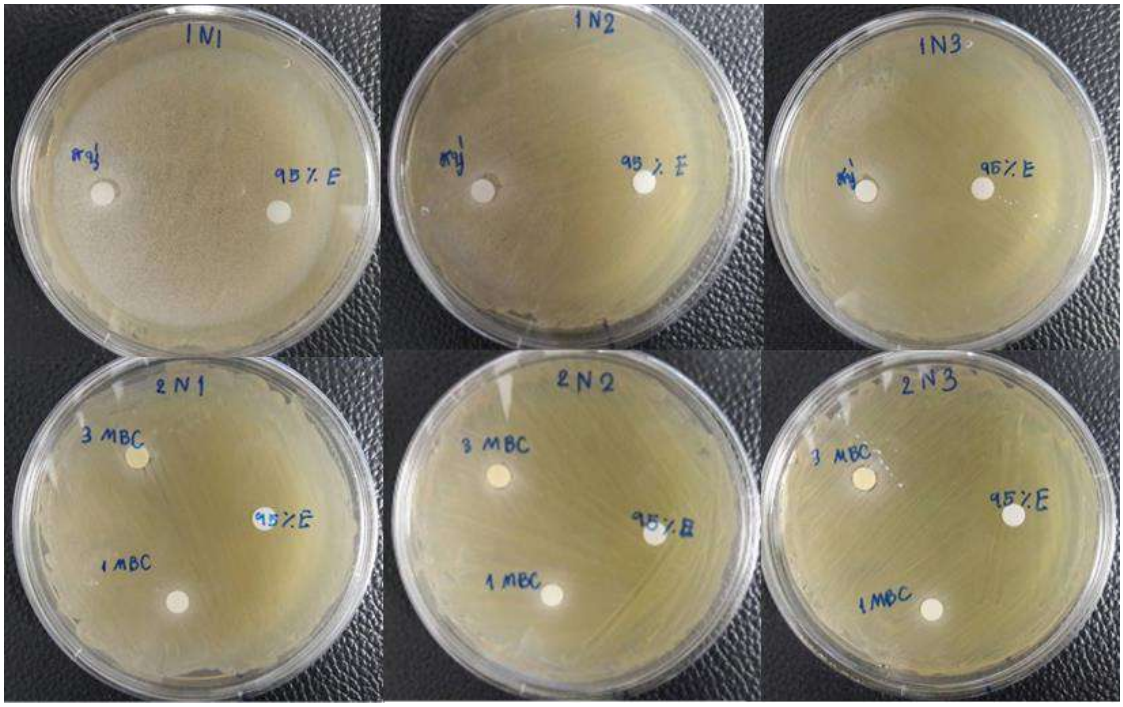


ภาพที่ 12 Inhibition Zone ของสบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้ก่อนการ Freeze-Thaw

จากภาพ สบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้ก่อนกระบวนการ Freeze-Thaw แสดง Inhibition Zone บนจานเลี้ยงเชื้อขึ้นแม้เจือจางสบู่ลงเทียบจากความเข้มข้น 5MBC เหลือ 3MBC, 1MBC, ½MBC และ ¼ MBC

ภาพที่ 13 สบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้หลังกระบวนการ Freeze-Thaw

สบู่เหลวหลังการ Freeze-Thaw มีสีที่เข้มขึ้น เนื้อสบู่ข้นเหนียวขึ้น สีไม่สม่ำเสมอทั้งขวด และเมื่อเปิดฝามีกลิ่นน้ำมันตะไคร้ที่ฉุนขึ้นมาก



ภาพที่ 14 inhibition zone ของสบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้หลังการ Freeze-Thaw

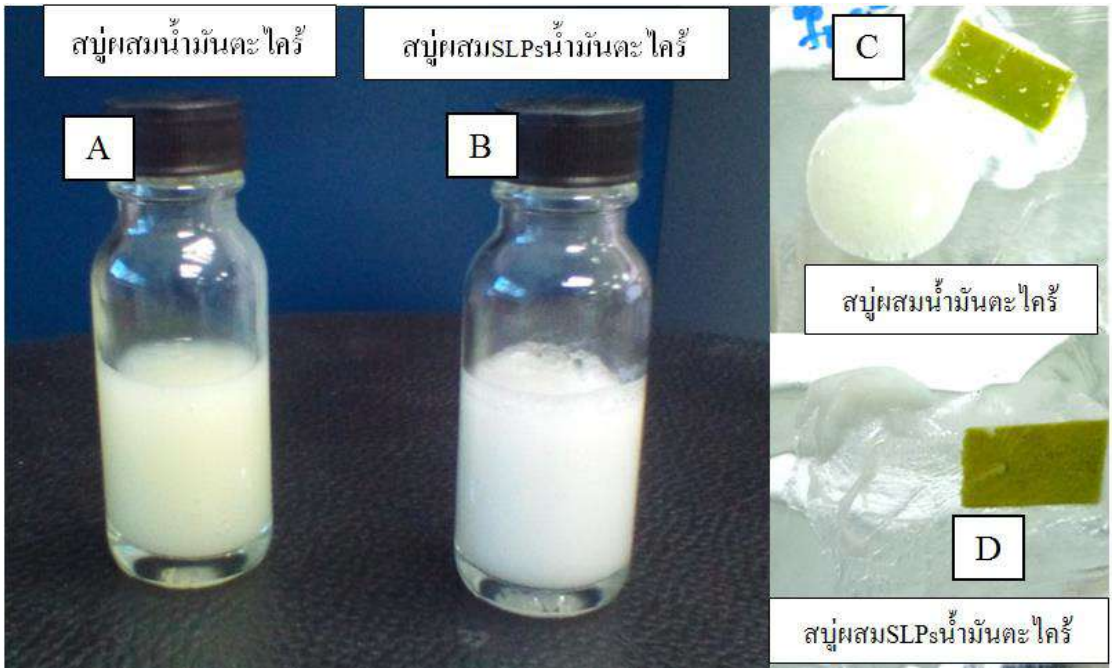
สบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้ที่ไม่ได้เจือจางเกิด Inhibition Zone ขึ้นโดยเนื้อสบู่ที่ข้นมาก ไม่ซึมเข้าสู่แผ่น Paper Disc เกิดการไหลออกด้านข้าง Paper Disc ระหว่างการทดลอง เกิดเป็น Inhibition Zone ที่ไม่เสมอรอบวง สบู่เหลวที่เจือจางลงเหลือ 3MBC พบ Inhibition Zone เพียงเล็กน้อย สบู่เหลวที่เจือจางลงเหลือ 1MBC ไม่พบ Inhibition Zone

ตารางที่ 6 Inhibition Zone ของสบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้ก่อนและหลังการ Freeze-Thaw

Conc.	Mean±SD (mm) Before freeze-thaw cycling method	Mean±SD (mm) After freeze-thaw cycling method
3MBC	10.0±0.0	6.2±0.0
1MBC	6.2±0.0	No inhibition zone
control	No inhibition zone	No inhibition zone

สบู่เหลว 5MBC ก่อนการ Freeze-Thaw ที่เจือจางเหลือ 3MBC แสดง Inhibition Zone 10 mm. สบู่เหลว 5MBC ก่อนการ Freeze-Thaw ที่เจือจางเหลือ 1MBC แสดง Inhibition Zone 6.2 mm. สบู่เหลว 5MBC หลังการ Freeze-Thaw ที่เจือจางเหลือ 3MBC แสดง Inhibition Zone 6.0 mm. สบู่เหลว 5MBC หลังการ Freeze-Thaw ที่เจือจางเหลือ 1MBC แสดง Inhibition Zone 6.0 mm. จากความเข้มข้นของสบู่เหลวที่เจือจางเท่าๆ กันก่อนและหลังการสภาวะเร่งแบบ Freeze-Thaw แสดงให้เห็นว่า มีการสูญเสียน้ำมันตะไคร้จากตำรับ จึงต้องทดลองพัฒนาการ Encapsulation ต่อไป

ผลการทดสอบความคงตัวของสบู่เหลว

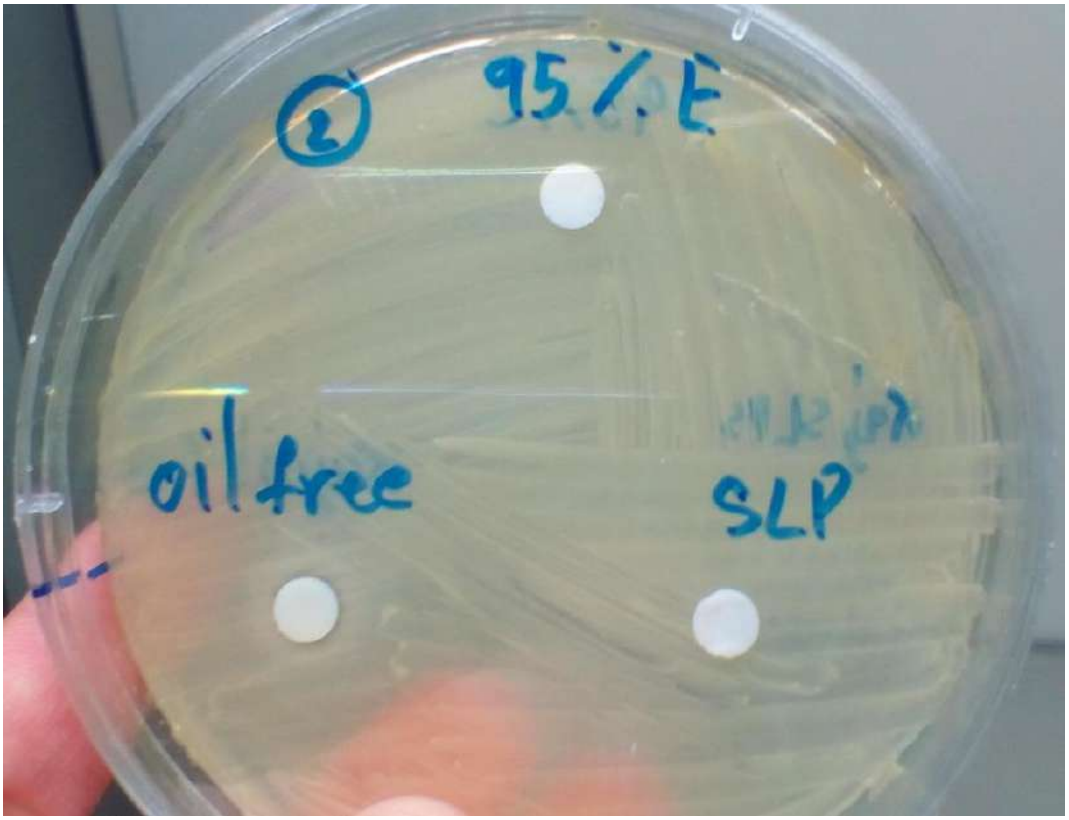


ภาพที่ 15 สบู่ผสมน้ำมันตะไคร้(A, C) สบู่ผสม SLPs ของน้ำมันตะไคร้ (B, D)

สบู่เหลวสามารถผสมSLPs น้ำมันตะไคร้ได้ในความเข้มข้น 1MBC เท่านั้น เนื่องจากเนื้อพาร์ทิเคิลมีมากและไม่สามารถผสมเพิ่มได้ในความเข้มข้นที่สูงกว่า สบู่ทั้งสองสูตรมีสีขาวขุ่นหนืด วัดค่าpH เท่ากับ 8 สังเกตได้ว่าสบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้ 1MBC มีสีเหลืองนวลมากกว่า

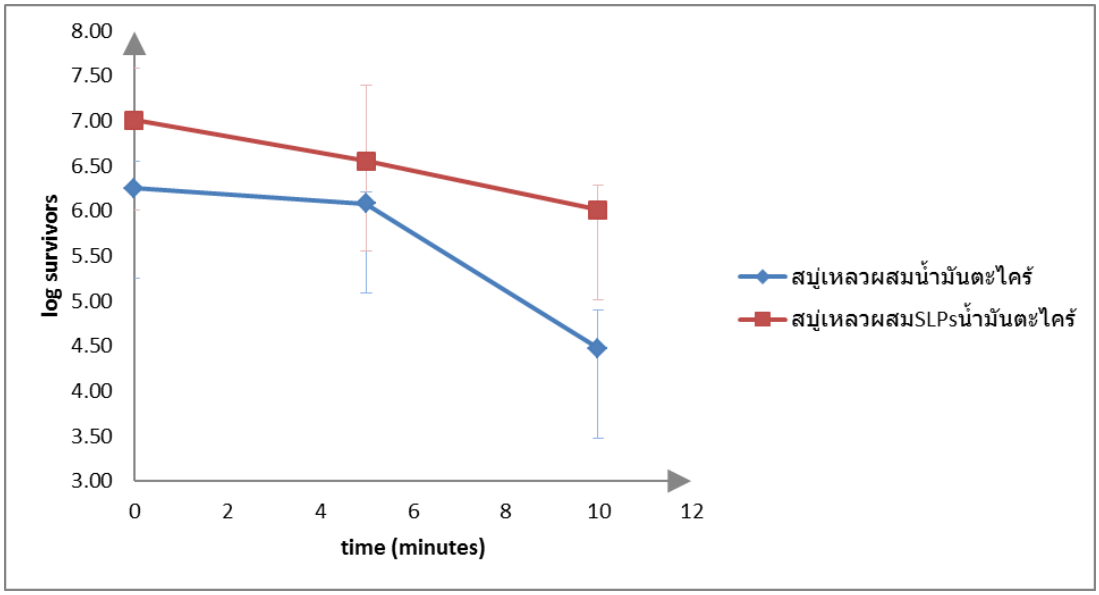
ภาพที่ 16 สบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้(Aซ้าย, Bซ้าย)
และสบู่เหลวผสม SLPs น้ำมันตะไคร้ (Aขวา, Bขวา) หลังการ Freeze-Thaw

สบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้หลังการ Freeze-Thaw มีสีเข้มขึ้น แยกชั้น กลิ่นเปลี่ยนไป ค่า pH เท่ากับ 8 สบู่เหลวผสม SLPs น้ำมันตะไคร้มีสีเหลืองนวลเข้มขึ้นจากเดิม เนื้อสบู่ไม่แยกชั้น กลิ่นฉุนขึ้น ค่า pH เท่ากับ 9



ภาพที่ 17 การทดสอบการยับยั้งเชื้อ MRSA ของสบู่เหลวทั้งสองตำรับก่อนการ Freeze-Thaw

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ MRSA ของสบู่เหลวทั้งสองตำรับก่อนการ Freeze-Thaw ด้วยเทคนิค Disc Diffusion Method ตัวแปลน้ำมันตะไคร้มี Inhibition Zone เล็กน้อย สบู่เหลวผสมSLPs น้ำมันตะไคร้ไม่แสดง Inhibition Zone ตัวแปรควบคุม 95% Ethanol ไม่แสดง Inhibition Zone จากผลการทดลอง ไม่สามารถใช้เทคนิค Disc Diffusion Method ในการทดสอบการยับยั้งเชื้อ MRSA ของสบู่เหลวทั้งสองตำรับได้จึงใช้เทคนิค Time Kill ในการทดสอบแทน



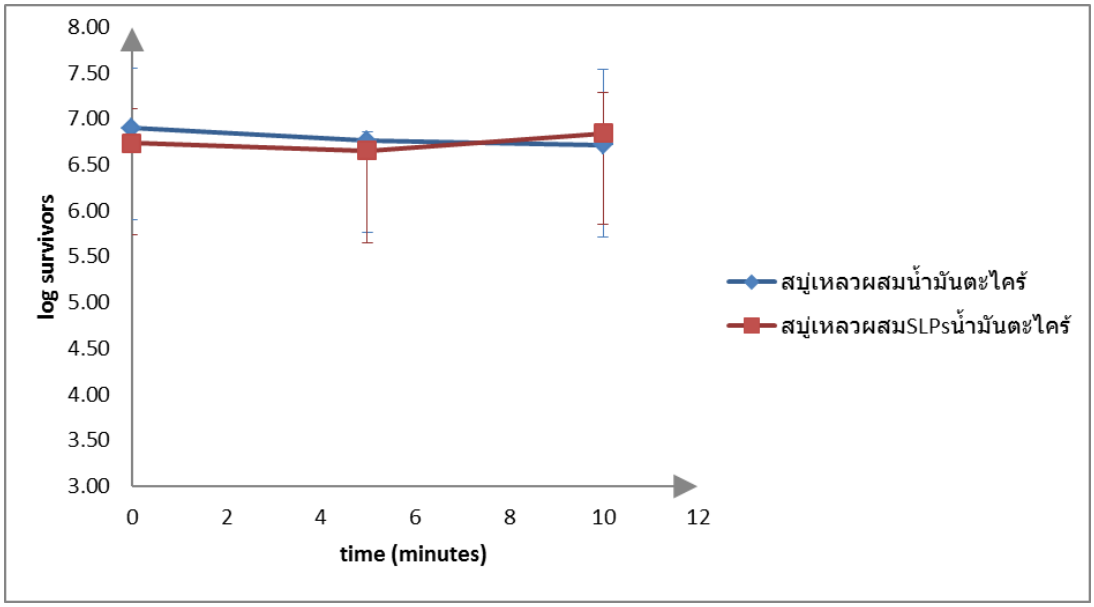
ภาพที่ 18 กราฟเปรียบเทียบค่า Log Survivors ระหว่างสบู่ทั้งสองสูตรก่อนการ Freeze-Thaw

ตารางที่ 7 การลดลงของเชื้อ MRSA เมื่อสัมผัสสบู่ทั้งสองสูตรก่อนการ Freeze-Thaw

	ก่อนการ Freeze-Thaw (Log Reduction)	
Time (min)	สบู่ผสมน้ำมันตะไคร้	สบู่ผสม SLPs น้ำมันตะไคร้
0	-	-
5*	0.17±0.43	0.45±0.74
10*	1.78±0.12	0.99±1.48

* Log Reduction ของน้ำมันตะไคร้ก่อนการ Freeze-Thaw ทั้งสองสูตรที่จุดเวลา 5 นาที และ 10 นาที ไม่แตกต่างกัน (P>0.05)

จากตารางที่ 7 และภาพที่ 18 Log Survivors ของสบู่ทั้งสองตำรับก่อนกระบวนการ Freeze-Thaw มีค่าลดลง โดยสบู่ผสมน้ำมันตะไคร้จากจุดเวลา 0 นาที ถึง 5 นาที มีค่า Log Survivors ลดลง 0.17±0.43 จากจุดเวลา 5 นาที ถึง 10 นาที มีค่า Log Survivors ลดลง 1.78±0.12 สบู่ผสม SLPs น้ำมันตะไคร้จากจุดเวลา 0 นาที ถึง 5 นาที มีค่า Log Survivors ลดลง 0.45±0.74 จากจุดเวลา 5 นาที ถึง 10 นาที มีค่า Log Survivors ลดลง 0.99±1.48



ภาพที่ 19 กราฟเปรียบเทียบค่า Log Survivors ระหว่างสบู่ทั้งสองสูตรหลังการ Freeze-Thaw

ตารางที่ 8 การลดลงของเชื้อ MRSA เมื่อสัมผัสสบู่ทั้งสองสูตรหลังการ Freeze-Thaw

	หลังการ Freeze-Thaw (Log Reduction)	
Time	สบู่ผสมน้ำมันตะไคร้	สบู่ผสม SLPs น้ำมันตะไคร้
0	-	-
5	0.14±1.42	0.08±0.28
10	0.19±0.86	-0.11±0.08

* Log Reduction ของน้ำมันตะไคร้หลังการ Freeze-Thaw ทั้งสองสูตรที่จุดเวลา 5 นาที และ 10 นาที ไม่แตกต่างกัน (P>0.05)

จากตารางที่ 8 และภาพที่ 19 Log Survivors ของสบู่ทั้งสองตำรับก่อนกระบวนการ Freeze-Thaw มีค่าลดลงน้อยมากหรือไม่ลดลง โดยสบู่ผสมน้ำมันตะไคร้จากจุดเวลา 0 นาที ถึง 5 นาที มีค่า Log Survivors ลดลง 0.14±1.42 จากจุดเวลา 5 นาที ถึง 10 นาที มีค่า Log Survivors ลดลง 0.19±0.86 สบู่ผสม SLPs น้ำมันตะไคร้จากจุดเวลา 0 นาที ถึง 5 นาที มีค่า Log Survivors ลดลง 0.08±0.28 จากจุดเวลา 5 นาที ถึง 10 นาที มีค่า Log Survivors ไม่ลดลง

บทที่ 5
สรุปผล อภิปรายและข้อเสนอแนะ

การวิจัย เรื่อง ฤทธิ์ต้านเชื้อ Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) ของน้ำมันตะไคร้และสบู่เหลวที่มีน้ำมันตะไคร้เป็นสารออกฤทธิ์ สรุปผล อภิปรายและมีข้อเสนอแนะดังนี้

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. พัฒนาพาร์ทิเคิลที่มีน้ำมันตะไคร้เป็นสารออกฤทธิ์และเพิ่มความคงตัวของน้ำมันตะไคร้ในสบู่เหลว
2. ทดสอบยืนยันฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย MRSA ของน้ำมันตะไคร้

วิธีการดำเนินการวิจัย

ทำการวิจัยโดยการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันตะไคร้ด้วยเครื่อง GC-MS ทดสอบการยับยั้งเชื้อ MRSA 6 สายพันธุ์เพื่อหาค่า MIC และ MBC ทดสอบความไวในการยับยั้งเชื้อ MRSA ต่อหน่วยเวลา พัฒนาเม็ดพาร์ทิเคิลเพื่อเพิ่มความคงตัวของน้ำมันตะไคร้ในสบู่เหลว พัฒนาตำรับสบู่เหลวที่มีน้ำมันตะไคร้เป็นสารสำคัญและทดสอบความคงตัวของสบู่เหลวผสมพาร์ทิเคิลของน้ำมันตะไคร้

สรุปผลการวิจัย

สบู่เหลวที่มีพาร์ทิเคิลมีประสิทธิภาพด้อยกว่าสบู่เหลวที่ผสมน้ำมันตะไคร้เข้าไปโดยตรง แต่การเตรียมในรูป Solid Lipid Particles สามารถเพิ่มความคงตัวทางกายภาพให้กับตำรับได้ โดยช่วยลดการระเหยออกจากตำรับจนเกิดการแยกชั้นและช่วยลดการถูกออกซิไดซ์ของน้ำมันหอมระเหย โดยสังเกตได้จาก

1. หลังผ่านสภาวะเร่ง Freeze-Thaw ประสิทธิภาพของสบู่ทั้งสองชนิดต่ำลง จากกราฟและตารางการลดลงของ Log Survivors จะเห็นได้ว่าการยับยั้งเชื้อ MRSA หลังการ Freeze-Thaw ไม่สามารถลดจำนวนเชื้อลงได้ แสดงถึงการระเหยของน้ำมันตะไคร้ออกจากตำรับ

2. การเตรียมน้ำมันตะไคร้ในรูป Solid Lipid Particles สามารถช่วยลดการระเหยและออกซิไดซ์ สังเกตได้จากมีการเปลี่ยนแปลงของสีและกลิ่นน้อยกว่าสบู่ที่ผสมน้ำมันตะไคร้ลงไปโดยตรง สบู่ที่ผสมโดยตรงมีการเปลี่ยนแปลงของสีและกลิ่นอย่างชัดเจน

3. หลังผ่านสภาวะเร่ง Freeze-Thaw สบู่เหลวผสม Solid Lipid Particles ของน้ำมันตะไคร้ยังคงเป็นเนื้อเดียวกันในขณะที่สบู่เหลวที่ผสมน้ำมันตะไคร้ลงไปโดยตรงเกิดการแยกชั้น ดังนั้น Solid Lipid Particles สามารถช่วยเพิ่มความคงตัวของตำรับได้

อภิปรายผลการวิจัย

การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำมันตะไคร้และระยะเวลาในการลดจำนวนเชื้อ MRSA (Time-Kill Assay) พบว่า ในระยะเวลา 10 นาที น้ำมันตะไคร้ความเข้มข้น 3MBC (93.25 mg/ml) ทำให้เกิด Log Survivors ที่ลดลงได้ไม่ถึง 1 log น้ำมันตะไคร้ความเข้มข้น 3MBC (156.25 mg/ml) ทำให้เกิด Log Survivors ที่ลดลงได้ถึง 1 log จึงเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นความเข้มข้นในการทดลอง

สบู่ทั้ง 10 สูตรในการทดลองมีการปรับสูตรให้ต่างกันเพื่อดูลักษณะทางกายภาพของสบู่เหลวที่เหมาะสม หลังการทดลองพบว่าสบู่สูตรที่มีความข้นหนืดเหมาะสมคือสูตรที่ 7, 8 และ 9 เนื่องจากสูตรที่ 7 ให้ฟองน้อยเมื่อเทียบกับสูตรที่ 8 และ 9 จึงตัดสูตรที่ 7 ออก เปรียบเทียบเนื้อสบู่สูตรที่ 8 และ 9 พบว่าสบู่สูตรที่ 8 มีเนื้อสบู่ที่เนียนกว่า จึงเลือกสบู่สูตรที่ 8 ไปใช้ในการวิจัย

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันตะไคร้ พบว่าในน้ำมันตะไคร้ประกอบด้วย Myrcene, Limonene, Citral, Geraniol และ Geranyl Acetate จากงานวิจัยของโอนาวันมิ, ยิเซคและโอกันวาน (Onawunmi, Yisak, & Ogunlan, 1984) ได้ทำการทดสอบ Myrcene ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ พบว่า Myrcene ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย จากงานวิจัยของชญาดา โกวิทธวงศ์และสรารัตน์ จันทบุรานันท์ (2555) ได้ทดสอบ Limonene กับเชื้อ Staphylococcus Aureus และเชื้อ MRSA พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย ส่วน Geranyl Acetate ยังไม่พบงานวิจัยยืนยันเรื่องการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

จากงานวิจัยของมิลาดิโนวิคและคณะ (Miladinovic, et al., 2014) ได้ทดสอบ Geraniol กับเชื้อ Staphylococcus Aureus สายพันธุ์ ATCC 29213 พบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 2773.6 μg/mL ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ โดยในน้ำมันตะไคร้มีสาร Geraniol จึงเป็นไปได้ว่า Geraniol มีส่วนในการยับยั้งเชื้อ

จากงานวิจัยของอโพโลนิโอและคณะ (Apolónio, et al., 2014) ได้ทดสอบความไวของเชื้อ Staphylococcus Aureus 1 สายพันธุ์และเชื้อ MRSA 2 สายพันธุ์ต่อ Citral ด้วยวิธี Agar Dilution

และ Microdilution Method พบว่ามีค่า MIC และMBC เท่ากับ 0.1-0.15 mg/ml สอดคล้องกับงานวิจัยนี้โดยกล่าวได้ว่า Citral เป็นสารสำคัญที่ยับยั้งเชื้อ MRSA ในงานวิจัยนี้

จากงานวิจัยของภิญญุภา เปลี่ยนบางช้างและคณะ (Pinyupa Plianbangchang, et al., 2007) ได้พัฒนา Solid Lipid Nanoparticles ที่บรรจุเคอร์คิวมินอยด์ซึ่งเป็นสารสกัดที่ได้จากขมิ้นชันเมื่อนำอนุภาคไขมันแข็งบรรจุเคอร์คิวมินอยด์นี้ไปเก็บในที่พ้นแสงเป็นเวลา6เดือน พบว่า มีความคงตัวทั้งทางเคมีและทางกายภาพ เมื่อนำอนุภาคมากระจายในครีมและเก็บในสภาวะพ้นแสงอีก 6 เดือน พบว่ายังมีปริมาณสารสำคัญอยู่ถึงมากกว่าร้อยละ 90 สอดคล้องกับงานวิจัยนี้โดยกล่าวได้ว่า Solid Lipid Particles สามารถช่วยเพิ่มความคงตัวของตำรับได้

จากงานวิจัยของชอยและคณะ (Choi, et al., 2012) ได้ศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้และออริกาโนต่อเชื้อ MRSA 6 สายพันธุ์และเชื้อแบคทีเรียที่เพาะมาจากวัวที่มีเต้านมอักเสบเรื้อรัง พบว่าเมื่อทดสอบด้วยเทคนิค Disc Diffusion Method น้ำมันตะไคร้ทำให้เกิด Inhibition Zone ที่ใหญ่กว่าออริกาโน สอดคล้องกับงานวิจัยนี้โดยเป็นการยืนยันว่าน้ำมันตะไคร้สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดดื้อยา MRSA ได้

จากการทดสอบความไวของเชื้อ MRSA ต่อสบู่ผสมน้ำมันตะไคร้และสบู่ผสม SLPs ของน้ำมันตะไคร้ พบว่าสบู่ทั้งสองรูปแบบสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้โดย Log Reduction ที่ลดลงของสบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้โดยตรงคือลดลง 1.78 ในขณะที่สบู่ผสม SLPs ของน้ำมันตะไคร้มี Log Reduction ลดลง 0.99 การที่สบู่เหลวผสม SLPs มีค่าการยับยั้งเชื้อที่น้อยกว่ามีสาเหตุมาจากความเหนียวหนืดของไขมันแข็งที่เป็นองค์ประกอบของ SLPs ทำให้สบู่ผสม SLPs ปลดปล่อยน้ำมันตะไคร้ออกมายับยั้งเชื้อได้ไม่ดีเท่าที่ควร เช่นเดียวกันกับสบู่ทั้งสองสูตรหลังการ Freeze-Thaw น้ำมันตะไคร้ได้ระเหยออกไปจากสบู่เหลวเป็นส่วนใหญ่ ทำให้สบู่เหลวผสมน้ำมันตะไคร้เหลือน้ำมันตะไคร้อยู่น้อยและมีค่า Log Survivors ลงลงกว่าก่อนการ Freeze-Thaw คือลดลงแค่ 0.19 และสบู่เหลวผสม SLPs สามารถปลดปล่อยน้ำมันตะไคร้ได้น้อย จึงเป็นไปได้ว่าเกิดการยับยั้งเชื้อเนื่องจากน้ำมันตะไคร้ส่วนเกินจาก SLPs m เหลือในระบบ และน้ำมันตะไคร้ที่ปลดปล่อยออกมากได้น้อยมาก ค่า Log Survivors จึงลดลงแค่ 0.08 ในระยะ 5 นาทีแรก และเมื่อน้ำมันตะไคร้หมดไปจึงควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อไม่ได้ที่จุดเวลา 10 นาที แต่ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าสบู่ผสมน้ำมันตะไคร้โดยตรงมีลักษณะทางกายภาพที่เปลี่ยนไปทั้งสีและกลิ่น ในขณะที่สบู่เหลวผสม SLPs สามารถคงสภาพทางกายภาพได้เป็นอย่างดี แสดงให้เห็นว่า SLPs สามารถช่วยปกป้องน้ำมันตะไคร้ได้ แต่ไม่เหมาะกับตำรับที่ต้องถูเพื่อให้สารสำคัญปลดปล่อยออกมา

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

1. SLPs ไม่เหมาะกับผลิตภัณฑ์ที่ต้องถูให้ปลดปล่อยน้ำมันหอมระเหย แต่เหมาะกับผลิตภัณฑ์ที่ทาทิ้งไว้แล้วให้น้ำมันหอมระเหยค่อยๆ ซึมออกมา จึงเหมาะจะนำไปพัฒนาตำรับครีมมากกว่าสบู่

2. ไขมันที่ใช้ในการพัฒนา Solid Lipid Particles สามารถใช้ได้ทั้ง Cetyl Alcohol และ Stearyl Alcohol สามารถนำมาศึกษาพัฒนาให้ได้ Solid Lipid Particles ที่เก็บกักน้ำมันหอมระเหยได้มากขึ้นต่อไปได้

บรรณานุกรม

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. (2553). **ตะไคร้แกง.** ค้นเมื่อวันที่ 12 ตุลาคม 2557. จาก http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=60

คมสัน หุตะแพทย์. (2549). **การสกัดน้ำมันหอมระเหย การใช้ประโยชน์และการทำผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหย.** กรุงเทพฯ : ออฟเซ็ทครีเอชั่น.

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯสยามบรมราชกุมารี. (ม.ป.ป.). **ตะไคร้.** ค้นเมื่อวันที่ 25 กันยายน 2557. จาก http://www.rspg.or.th/plants_data/ herbs/herbs_12_2.htm

จุไรรัตน์ แสงสวัสดิ์. (ม.ป.ป.). (2557). **การสกัดน้ำมันหอมระเหย.** ค้นเมื่อวันที่ 25 กันยายน 2557. จาก http://thongphaphum.kanchanaburi.doae.go.th/files/km.samupai.plai.pdf

ชญาดา โกวิทธวงศ์และสรารัตน์ จันทบุรานันท์. (2555). **ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของลิโมนีนนาโนอิมัลชัน.** ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

ชลลดา วชิรเดชเสถียร. (2546). **การพัฒนาผลิตภัณฑ์แชมพูผสมมะกรูดจากวัสดุเหลือใช้ของอุตสาหกรรมอาหาร.** ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ. (2555). **น้ำมันหอมระเหยและการใช้ในสุคนธบำบัด.** (พิมพ์ครั้งที่ 2). นครนายก : พีเอสพริ้นท์.

ธเนศ พงศ์จรรยากุล. (2555). **อัลจิเนต : พอลิเมอร์ธรรมชาติสู่ระบบนำส่งยา.** ขอนแก่น : คลังนานาวิทยา.

นิจศิริ เรืองรังสี. (ม.ป.ป.). (2557). **ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับน้ำมันหอมระเหย.** ค้นเมื่อวันที่ 25 กันยายน 2557. จาก http://thaicamdb.info/Downloads/PDF/สุคนธบำบัด_บทที่%202_part%201.pdf

นิติพงษ์ ศิริวงศ์และเอกชัย ชูเกียรติโรจน์. (2552). การดื้อยาปฏิชีวนะของ Staphylococcus Aureus และแนวทางการควบคุม. **สงขลานครินทร์เวชสาร**, *27* (4), 347-358.

ประณีต โอปณะโสภิต และสุวรรณี พนมสุข. (2554). **ระบบนำส่งยา.** นครปฐม : มหาวิทยาลัยศิลปากร.

ประเทืองศรี สินชัยศรี. (2547). **พรรณพืชหอมและน้ำมันหอมระเหย**. (พิมพ์ครั้งที่ 2). นนทบุรี : นีออนบุ๊คมีเดีย.

ปัจจุบัน เหมหงษา. (2541). **สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน.** กรุงเทพฯ : องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร. (2556). **รายงานการวิจัยเรื่อง การพัฒนายาขี้ผึ้งหยอดจมูกและผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดร่างกายจากน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Methicillin-Resistance Staphylococcus aureus*.** คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร. (2557). **เอกสารประกอบการเรียนรายวิชา5424151 ปฏิบัติการการทดสอบประสิทธิภาพการลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียของยาฆ่าเชื้อชนิดต่างๆ.** หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเภสัชกรรมไทย มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา.

ปานทิพย์ รัตนศิลป์กัลชาญ, เกตุแก้ว จันทร์จำรัส, ภรณ์ทิพย์ นราแหวว และอุมาภรณ์ ผ่องใส. (2557, กรกฎาคม). การพัฒนาสบู่เหลวจากสมุนไพรไทยและทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการต้านทานต่อเชื้อสแตฟฟิโลคอกคัสออเรียสที่ดื้อยาเมทิซิลิน (MRSA). **วารสาร มฉก. วิชาการ**, *18* (35), 47-60.

พิชญดา ฉายแสง. (2552). **การผลิตและการเสริมสร้างมูลค่าของน้ำมันหอมระเหยจากเศษเหลือไม้เทพทาโร.** ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม) สาขาวิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภัทรชัย กีรติสิน. (2552). **ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์.** (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ : วีเจพริ้นติ้ง.

ภาวิณี อุ่นกอง. (2554). **ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของส่วนสกัดจากพืชในวงศ์ขิงข่าในการต้าน *Staphyloccus aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาและสายพันธุ์ที่ไวต่อยาเมทิซิลลิน.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา.

ภูริทัต เมืองบุญ และอนุชา อภิสารธนรักษ์. (2550). **โรคติดเชื้อในโรงพยาบาล.** ค้นเมื่อวันที่ 30 กรกฎาคม 2557. จาก http://www.doctor.or.th/clinic/detail/7476.

มหาวิทยาลัยมหิดล. (ม.ป.ป.). (2557). **ตะไคร้**. ค้นเมื่อวันที่ 25 กันยายน 2557. จาก http://www.medplant. mahidol.ac.th/ pubhealth/index.asp

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. (ม.ป.ป.). (2557). **Hand washing.** ค้นเมื่อวันที่ 26 กรกฎาคม 2557. จาก http://medinfo.psu.ac.th/KM/DATA/ksd/ksd20002.pdf

วรี ติยะบุญชัย. (2556). **Microencapsulation**. พิษณุโลก : มหาวิทยาลัยนเรศวร.

วันดี กฤษณพันธ์. (2541). **สมุนไพรน่ารู้.** (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมพร ภูมิยานันต์. (2551). **สมุนไพรใกล้ตัว.** (พิมพ์ครั้งที่ 3) เชียงใหม่ : เอราวัณ

สมหวัง ด่านชัยวิจิตรและไพฑูรย์ บุญมา. (2555). **การควบคุมโรคติดเชื้อและการแก้ปัญหาเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาล.** ค้นเมื่อวันที่ 9 พฤศจิกายน 2556. จาก http://narst.dmsc.moph.go.th/another */meeting/1/5.doc*

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. (2543). **มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันตะไคร้.** กรุงเทพฯ : กระทรวงอุตสาหกรรม.

สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กรมวิทยาศาสตร์บริการ. (2553). **น้ำมันหอมระเหยและสุคนธบำบัด.** ค้นเมื่อวันที่ 25 มกราคม 2557. จาก http://siweb.dss.go.th/repack/ fulltext/IR22.pdf

สิริลักษณ์ มาลานิยม. (2545, กรกฎาคม). น้ำมันหอมระเหยสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทย. **สมอสาร,** *28* (325), 3-6.

อรัญญา มโนสร้อย. (2548). **น้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากสมุนไพรไทย.** เชียงใหม่ : ครองช่าง

อรุณลักษณ์ ลุลิตานนท์ และคนอื่นๆ. (2555, มกราคม). การติดตามสถานการณ์ของเชื้อ *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* ที่ไวต่อ vanomycin และ chlorhexidine ลดลงในโรงพยาบาลศรีนครินทร์. **วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด,** *24* (1), 22-28.

อะเคื้อ อุณหเลขกะ. (2554). **หลักและแนวปฏิบัติการป้องกันการติดเชื้อในโรงพยาบาล.** เชียงใหม่ : มิ่งเมือง.

อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์. (2556). **แบคทีเรียทางการแพทย์.** (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ : วีพริ้น.

Adukwu, E. C., et al. (2012, November**).** The anti-biofilm activity of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) and grapefruit (Citrus paradisi) essential oils against five strains of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Microbiology**, *113* (5), 1-18.

Andrews, J. M., et al. (2006). **Determination of Minimum Inhibitory Concentrations**. ค้นเมื่อวันที่ 23 กุมภาพันธ์ 2558, จาก http://bsac.org.uk/wp-content/uploads/2012/02/Chapter-2-Determination-of-MICs-2006updated.pdf

Apolónio, J. D., et al. (2014, May). No induction of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* and Listeria monocytogenes during continuous exposure to eugenol and citral. **FEMS Microbiol Lett,** *354* (2), 92-101.

Battaglia, L. S., et al. (2014). **Techniques for the preparation of Solid Lipid Nano and Microparticles**. Retrieved 31 August 2014, From http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/46702.pdf

Choi, J. Y., et.al. (2012, January**).** Antimicrobial Activity of Lemongrass and Oregano essential oil against standard antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* and field isolates from chronic mastitis cow**. International Journal of Phytomedicine**, *4* (1), 134-139.

Falcao, M. A., et al. (2012, December). Determination of antibacterial activity of vacuum distillation fractions of lemongrass essential oil. **Phytochemistry Reviews,** *11* (4), 405-412.

Hoellman, B. D., et al. (1998, April). Activities and Time-Kill Studies of Selected Penicillins, b-Lactamase Inhibitor Combinations, and Glycopeptides against *Enterococcus faecalis*. **American Society for Microbiology,** *42* (4), 857-861.

Jareerat Aiemsaard, et al. (2011, December). The effect of lemongrass oil and its major components on clinical isolate mastitis pathogens and their mechanisms of action on *Staphylococcus aureus* DMST 4745**. Research in Veterinary Science**, *91*(3), 31-37.

Kim, B. S., et al. (2009, March) Insulin-Loaded Microcapsules for In Vivo Delivery**. Mol. Pharmaceutics,** *6* (2), 353–365

Kothari, C. R. (2004). **Research Methodology Methods & Techniques (2nd. Revised Ed).** New Delhi : New Age International Publishers

Kulak , A. N., et al. (2004, March). Single-step fabrication of drug-encapsulated inorganic microspheres with complex form by sonication-induced nanoparticle assembly**. Chem. Commun.**, *7* (5), 576-577.

Lalko, J. F., & Api, A. M. (2006, May). Investigation of the Dermal Sensitization Potential of Various Essential Oils in the Local Lymph Node Assay**. Food and Chemical Toxicology**, *44* (5), 739–746.

Mallepally, R. R. (2009). **Encapsulation and Controlled Release of Pharmaceuticals with Biodegradable Hyperbranched Polyesters**. Engineering docterate Technical Faculty University of Erlangen-Nuremberg.

Miladinovic, D. L., et al. (2014, November). An in vitro antibacterial study of savory essential oil and geraniol in combination with standard antimicrobials. **Natural Product Communications,** *9* (11), 1629-1632.

Milanovic, J. Z., et al. (2010, January). Microencapsulation of Flavors in Carnauba Wax**. Sensors,** *10* (1), 901-912.

Naik, M. I., et al. (2010,August). Antibacterial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against some selected pathogenic bacteria. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, 3 (10), 535-538.

Onawunmi, G. O., Yisak, W. A., & Ogunlan, E. O. (1984, December). Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. **Journal of Ethnopharmacology**, *12* (3), 279-286.

Opdyke, D. L. J. (1975, Decemeber). Inhibition of Sensitization Reactions Induced by Certain Aldehydes. **Food and Cosmetics Toxicology,** *14* (3), 197–98.

Pan Yuanfeng, et al. (2014, October). Technical note: melt dispersion technique for preparing paraffin wax microspheres for cellulose encapsulation. **Wood and Fiber Science,** *46* (4), 1-6.

Pilanthana Lertsatitthanakorn, Chantana Aromdee, &Watcharee Khunkitti. (2013, January). Formulation optimization of Citronella grass oil solid lipid particles using mixture design**. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, *5* (3), 396-402.

Pilanthana Lertsatitthanakorn, et al. (2014, January). Antibacterial Activity of an Effective Essential Oil Formulated in Liquid Soap Against Skin Bacteria. **Chiang Mai J. Sci**, *41* (1) , 71-83.

Pinyupa Plianbangchang, Watcharaphorn Tungpradit **&**Waree Tiyaboonchai**.** (2007, May). Efficacy and safety of curcuminoids loaded solid lipid nanoparticles facial cream as an anti-aging agent. **Naresuan University Journal**. *15* (2), 73-81.

Yodthong Baimark. (2009b,April). Preparation of Organic Solvent/Surfactant-Free Microspheres of Methoxy Poly(Ethylene Glycol)-*b*-Poly(∈ -Caprolactone) by a melt dispersion method. **Asian Journal of Applied Sciences***, 2* (4), 341-347.

Yodthong Baimark. (2009a,September). Porous microspheres of methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(3-caprolactoneco-D,L-lactide) prepared by a melt dispersion method. **Polymer,** *50* (1), 4761-4767.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
หนังสือตอบรับลงบทความ

Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Khon Kaen University
Muang District, Khon Kaen 40002, THAILAND
Tel/Fax. +66 (0)43-362093 pharm.kku.ac.th

The Second International Conference on Herbal and Traditional Medicine 2017 (HTM 2017)
"Value-Added of Herbs and Phytotherapy: Challenges for the 21st Century"
25-27 January 2017 at Asia Hotel, Bangkok, Thailand.

8th January, 2017

Dear Ms. Pornprapha Oumnuch

We are pleased to inform you that your abstract titled "Antibacterial activity of lemongrass oil and its liquid soap against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)" has been accepted for poster presentation during The Second International Conference on Herbal and Traditional Medicine 2017 (HTM 2017), "Value-Added of Herbs and Phytotherapy: Challenges for the 21st Century" 25-27 January 2017 at Asia Hotel, Bangkok, Thailand. Further details for presentation, please see the conference website http://www.htm2017.com.

We look forward to seeing your presentation and thank you for your contribution.

Yours sincerely,

Natsajee Nualkaew

Assist. Prof. Dr. Natsajee Nualkaew
Editorial Board
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand 40002
E-mail: nnatsa@kku.ac.th

ภาคผนวก ข

ประกาศนียบัตรรับรองการเข้าร่วมนำเสนอผลงาน

ประเภท Poster Presentation

Certificate of Participation

This is to certify that

Miss Pornprapha Oumnuch

Poster Presentation

Title: **Antibacterial Activity of Lemongrass Oil and its Liquid Soap Against Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)**

The 2nd International Conference on Herbal and Traditional Medicine (HTM2017)

"Value-Added of Herbs and Phytotherapy: Challenges for The 21st Century"

January 25-27, 2017 Asia Hotel, Bangkok, Thailand

TS 36

Associate Professor Dr. Paiboon Daosodsai
Dean, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University

Dr. Denpong Patanasethanont
Chairman, the 2nd HTM 2017 Organizing Committee

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – สกุล	นางสาวภรณ์ประภา อ่วมนุช
วัน เดือน ปีเกิด	14 กันยายน 2533
สถานที่เกิด	จังหวัดชลบุรี
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	14/2 หมู่ 2 ซอย 12 ถนนมิตรสัมพันธ์ ตำบลบ้านปึก อำเภอเมืองชลบุรี จังหวัดชลบุรี รหัสไปรษณีย์ 20130
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	แพทย์แผนไทยประยุกต์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	โรงพยาบาลเมืองพัทยา ตำบลหนองปรือ อำเภอบางละมุง จังหวัดชลบุรี รหัสไปรษณีย์ 20150

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2552	แพทย์แผนไทยประยุกต์บัณฑิต สาขาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะการแพทย์แผนไทยอภัยภูเบศร มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี