การพัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่เหลวจากสารสกัดกิ่งหม่อน
พันธุ์เชียงใหม่ 60

จันทนา ปราการสมุทร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชกรรมไทย
ปีการศึกษา 2563

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

DEVELOPMENT OF LIQUID SOAP CONTAINING CHIANG MAI 60 MULBERRY (*MORUS ALBA* L.) BRANCH EXTRACT

CHANTANA PRAKARNSAMUT

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement

for Master of Science in Thai Traditional Pharmacy

Academic Year 2020

Copyright of Bansomdejchaopraya Rajabhat University

ชื่อเรื่อง	**การพัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่เหลวจากสารสกัดกิ่งหม่อน พันธุ์เชียงใหม่ 60**
ชื่อผู้วิจัย	**จันทนา ปราการสมุทร**
สาขาวิชา	**เภสัชกรรมไทย**
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	**ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร**
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	**ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เชียร ธีระวรวงศ์**

มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยาอนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชกรรมไทย

.... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ดร.คณกร สว่างเจริญ)

คณะกรรมการการสอบวิทยานิพนธ์

.... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิลาสินี หิรัญพานิช ซาโตะ)

.... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร)

.... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เชียร ธีระวรวงศ์)

.... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะ วงศ์ญาณิน)

.... กรรมการและเลขานุการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประไพ ศรีดามา)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

ชื่อเรื่อง **การพัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่เหลวจากสารสกัดกิ่งหม่อนพันธุ์เชียงใหม่ 60**

ชื่อผู้วิจัย **จันทนา ปราการสมุทร**

สาขาวิชา **เภสัชกรรมไทย**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก **ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร**

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม **ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เธียร ธีระวรวงศ์**

ปีการศึกษา **2563**

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ (1) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดจากกิ่งและใบหม่อนพันธุ์เชียงใหม่ 60 และ (2) พัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่เหลวต้านอนุมูลอิสระ และต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดกิ่งหรือใบหม่อนพันธุ์เชียงใหม่ 60 มีวิธีการดังนี้ ทำการสกัดกิ่งหม่อนด้วยวิธีการหมักใน 70 % เอทานอล และนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี 2,2 Diphenyl -1 picrylhydrazyl radical scavenging assay (DPPH assay) และทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) และ *Streptococcus pyogenes* โดยวิธี disk diffusion คัดเลือกเฉพาะสารสกัดกิ่งหม่อนเนื่องจากมีฤทธิ์สูงกว่าสารสกัดใบหม่อน มาตรวจสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีและทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังดังกล่าวด้วยวิธี broth microdilution เพื่อให้ได้ค่า MIC และ MBC ก่อนนำสารสกัดกิ่งหม่อนไปพัฒนาเป็นสบู่เหลว สถิติที่ใช้ในการวิจัยคือค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ Mann Whitney U

ผลการวิจัยพบว่า

1.จากการตรวจสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีในสารสกัดกิ่งหม่อน พบว่ากลุ่มสารสำคัญที่ตรวจพบคือ terpenoids, flavonoids และ tannins และสารสกัดกิ่งหม่อนมีค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อแบคทีเรียทั้งสี่ชนิดในช่วง 1.95 – 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 31.25 – มากกว่า 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

2.จากการพัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่เหลวต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดกิ่งหม่อน พบว่าสูตรที่ดีที่สุด (สูตร 3) ซึ่งผ่านการทดสอบความคงตัวทางกายภาพแบบเร่งนั้นมีลักษณะใส สีเขียวอ่อน มีความหนืดและตะกอนเล็กน้อย และมีกลิ่นหอม โดยค่าความเป็นกรดด่าง

ไม่มีความเปลี่ยนแปลงมากนักทั้งก่อนและหลังการทดสอบ สบู่เหลวตำรับนี้จึงเป็นอีกหนึ่งผลิตภัณฑ์ทางเลือกที่มีศักยภาพในการพัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าของกิ่งหม่อนพันธุ์เชียงใหม่ 60 ต่อไป

คำสำคัญ : หม่อนพันธุ์เชียงใหม่ 60 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง

Title	**Development of liquid soap containing Chiangmai 60 mulberry (*Morus alba* L.) branch extract**
Author	**Chantana Prakarnsamut**
Program	**Thai Traditional Pharmacy**
Major Advisor	**Assistant Professor Dr. Pilanthana Lertsatitthanakorn**
Co- advisor	**Assistant Professor Dr. Thien Thiraworawong**
Academic Year	**2020**

ABSTRACT

The purposes of this research were to (1) study antioxidant and antibacterial activity against skin pathogen of mulberry Chiang Mai 60 branches and leaves extracts and (2) develop an antioxidant and antibacterial liquid soap containing mulberry Chiang Mai 60 branches extracts. The methods consisted of mulberry Chiang Mai 60 branches and leaves extraction by maceration in 70% ethanol and the obtained crude extracts were determined antioxidant activity by 2,2 Diphenyl -1 picrylhydrazyl radical scavenging assay (DPPH assay) and determined antibacterial activity against Skin pathogen namely *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis,* Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) and *Streptococcus pyogenes* by disk diffusion method. The mulberry branches extract was chosen due to a higher activity than the leaves extract. It was studied phytochemicals compounds and antibacterial activity against skin pathogens by broth microdilution method to determine minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) followed by development of liquid soap containing the branches extract. Data are expression were mean and standard deviation and Mann Whitney U.

The finding revealed as follows:

1. According to screening the phytochemicals compound in mulberry branches extract, terpenoids, flavonoids and tannins were mostly found. The branches extract demonstrated MIC and MBC against bacterial strains in the range of 1.95 – 31.25 mg/ml and 31.25 – more than 250 mg/ml, respectively.

2. According to development of liquid soap containing the mulberry branches extract, it was found that the formula 3 exhibited the best physical stability test as compared with other

groups. This liquid soap was clear, pale green, possessing a few viscosity and precipitant including a good odor. pH of this soap did not change before and after accelerated physical stability test. Therefore, the developed liquid soap is an interesting choice for value adding of mulberry Chiang Mai 60 branches extract.

Keywords: Mulberry Chiang Mai 60, antioxidant activity, antibacterial activity against skin pathogens

กิตติกรรมประกาศ

การพัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่เหลวจากสารสกัดกิ่งหม่อนพันธุ์เชียงใหม่ 60 (*Morus alba* L.) สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาช่วยเหลือเป็นอย่างดีจากคณาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เธียร ธีระวรวงศ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.วิลาสินี หิรัญพานิช ซาโตะ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์เป็นอย่างยิ่ง ที่ให้คำแนะนำ แนวทางแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ของงานวิจัยนี้สำเร็จสมบูรณ์รวมทั้งให้กำลังใจเสมอ

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยาที่ฝึกสอนให้มีความรู้ความสามารถ ด้านสาขาวิชาเภสัชกรรมไทย และสถาบันแห่งนี้ที่เอื้ออำนวยสถานที่อุปกรณ์พร้อมทั้งห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ที่มีเครื่องมือทันสมัย ให้นักศึกษาใช้ในการฝึกภาคปฏิบัติ

คุณค่าและความสำเร็จของงานวิจัยฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบให้เป็นกตัญญูกตเวทิตาแด่บุพการี ครูบาอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และกัลยาณมิตร หวังเป็นอย่างยิ่งว่า งานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจศึกษาค้นคว้าและนำไปพัฒนาต่อยอดสังคมด้านการเกษตรในโอกาสต่อไป

จันทนา ปราการสมุทร

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ค
กิตติกรรมประกาศ		จ
สารบัญ		ฉ
สารบัญตาราง		ซ
สารบัญภาพ		ฌ
บทที่ 1	**บทนำ**	1
	ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
	สมมุติฐานการวิจัย	2
	ขอบเขตของการวิจัย	2
	ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	2
	นิยามศัพท์เฉพาะ	3
	กรอบแนวคิดในการวิจัย	4
บทที่ 2	**เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	5
	ระบบผิวหนัง	5
	โรคผิวหนัง	6
	เชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง	7
	ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของหม่อน	22
	การศึกษาทางเภสัชวิทยา	24
	อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ	27
	วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย	36
	สบู่เหลว	39
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	42

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
บทที่ 3	**วิธีการดำเนินการวิจัย**	43
	เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	46
	วิธีดำเนินการวิจัย	49
	สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลและ	51
บทที่ 4	**ผลการวิจัยและการอภิปรายผล**	52
	ผลการเตรียมสารสกัดจากใบและกิ่งหม่อน	52
	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกิ่งและใบหม่อน โดยวิธี DPPH	53
	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดกิ่งและใบหม่อน โดยวิธี Disk diffusion	53
	ผลการตรวจสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีในสารสกัดกิ่งหม่อน	55
	ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญและฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดกิ่งหม่อน โดยวิธี Broth microdilution	56
	ผลการพัฒนาสูตรตำรับสบู่เหลวต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดกิ่งหม่อน	57
	ผลการทดสอบลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์สบู่เหลวสารสกัดจากกิ่งหม่อนก่อนและหลังการเก็บในที่ร้อนสลับเย็น	58
บทที่ 5	**สรุปผล อภิปราย และข้อเสนอแนะ**	59
	สรุปผลการวิจัย	59
	การอภิปรายผลการวิจัย	62
	ข้อเสนอแนะ	62
บรรณานุกรม		64
ภาคผนวก		68
	ภาคผนวก ก ตัวอย่างภาพการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Disk diffusion (แสดงการเกิด Inhibition zone)	69
	ภาคผนวก ข เอกสารการตอบรับบทความวิจัย	71
ประวัติผู้วิจัย		73

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สรุปฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของหม่อนและส่วนของพืชที่แสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา	26
2	อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง	29
3	คุณลักษณะทางเคมีของสบู่เหลว ตามมาตรฐานเลขที่ มอก.1403-2251	40
4	สูตรตำรับสบู่เหลว	50
5	ร้อยละผลผลิตของสารสกัดกิ่งหม่อนและใบหม่อน	53
6	IC50 ของสารสกัดกิ่งหม่อนและใบหม่อน	53
7	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดกิ่งหม่อน โดยวิธี Disk diffusion	54
8	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดใบหม่อน โดยวิธี Disk diffusion	54
9	MIC และ MBC ของสารสกัดกิ่งหม่อนต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังเมื่อทดสอบด้วยวิธี Broth microdilution	55
10	ผลการตรวจสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีในสารสกัดกิ่งหม่อน	55
11	แสดงสูตรตำรับสบู่เหลวสารสกัดกิ่งหม่อน	57
12	ผลการทดสอบลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ตำรับสบู่เหลวสารสกัดกิ่งหม่อน	57

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กรอบแนวคิดในการทำวิจัย	4
2	โครงสร้างและส่วนประกอบผิวหนัง	6
3	แสดงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของหม่อนสายพันธุ์ เชียงใหม่ 60 สวนสมุนไพร สจ. อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี	23
4	กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ	364
5	การเกิดปฏิกิริยาระหว่าง DPPH radical กับสารต้านอนุมูลอิสระ	56
6	Inhibition zone ของสารสกัดกิ่งหม่อนต่อเชื้อ Epidermidis DMST 15505	70

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันปัญหาเรื่องสภาวะแวดล้อมเป็นภาวะสำคัญต่อสุขภาพผิวหนังร่างกายก่อให้เกิดความรำคาญไม่สบายเนื้อตัว รวมทั้งเกิดเม็ดผด ผื่นคัน หากไม่ได้รับการดูแลรักษาจะทำให้ให้เกิดโรคผิวหนัง อาทิเช่น ผิวหนัง บวมแดง อักเสบและเป็นหนอง เกิดการหลุดลอกลุกลามเป็นวงกว้างขึ้นทำให้สูญเสียบุคลิกภาพ และเป็นที่รังเกียจต่อผู้พบเห็นได้ รวมถึง กลายเป็นปัญหาสำคัญของคนส่วนใหญ่ ที่อยู่ในสภาพสังคมที่มีสภาวะการแข่งขันสูง มีภาวะเครียด การอุปโภคบริโภคสิ่งอำนวยความสะดวกต่างๆ มากมายซึ่งล้วนแต่เป็นเหตุปัจจัยที่ก่อให้เกิดการความเสื่อมโทรมของผิวหนังร่างกายและปัญหาของผิวหนังไ

เชื้อแบคทีเรียก็เป็นหนึ่งในเชื้อโรคที่ทำให้เกิดโรคผิวหนังการก่อโรคทางผิวหนังส่วนใหญ่คือเชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* เชื้อแบคทีเรียมีหลายสายพันธุ์และเชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* เป็นกลุ่มสำคัญที่ทำการก่อโรคเกิดจากการบุกรุกและทำลายชั้นเนื้อเยื่อโดยตรง และจากการสร้างสารคัดหลั่งหลายชนิดเช่นเอนไซม์และสารพิษต่าง ๆ ที่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อ มีปัจจัย 3 กลุ่ม คือ โครงสร้างเซลล์, เอนไซม์ และสารพิษ (อิสยา จัทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552) และกลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ที่อยู่ในกลุ่มของ MRSA เป็นเชื้อที่ดื้อต่อยากลุ่ม Penicillin และยากลุ่ม B-lactams (ภาวิณี อุ่นกอง, 2554)

"เครื่องสำอางสมุนไพร" มีการรับรู้และเข้าใจทราบกันโดยทั่วไปว่า เป็นเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสมุนไพรไม่ว่าจะเป็นจากพืช สัตว์ แร่ธาตุ และครอบคลุมถึงรูปแบบต่างๆ เริ่มตั้งแต่ผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยสมุนไพร เช่น ผงขัดหน้า ขัดผิว แชมพู ครีมนวดผม โลชั่น หรือครีมบำรุงผิว เป็นต้น ซึ่งสารธรรมชาติบางชนิดมีคุณค่ามากกว่าสารสังเคราะห์ เช่น น้ำมันที่สกัดจากพืชสมุนไพร น้ำมันหอมระเหย เพราะมีองค์ประกอบของสาระสำคัญอื่น ๆในสารสกัดธรรมชาติเหล่านี้ เช่น วิตามินต่าง ๆ และแร่ธาตุบางชนิดที่สามารถรักษาผิวหนังให้สะอาด สดชื่น รวมถึงมีสารต้านอนุมูลอิสระด้วย

วิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการพัฒนาตำรับสบู่เหลวต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดกึ่งหม่อนสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ แบคที่เรีย สายพันธุ์ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* และ *Sreaptococcus pyogenes* ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคผิวหนังโดยเลือกใช้วิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการพัฒนาตำรับสบู่เหลวต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดกึ่งหม่อนสมุนไพรที่มีฤทธิ์

ต้านเชื้อ แบคทีเรีย สายพันธุ์ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* และ *Sreaptococcus* Pyogenes ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคผิวหนังโดยเลือกใช้สารสกัดจากสมุนไพรกิ่งหม่อน สายพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่อายุตั้งแต่ 3 ปี (ตามหลักการแพทย์แผนไทย การใช้กิ่งสมุนไพรที่นำมาทำยาเพื่อให้มีสรรพคุณทางยาทางสูงสุดการ) ที่มีสารสำคัญ ได้แก่ Terpenoids Flavonoids Tannins และ Deoxy-sugar ในกลุ่มสารคาดิแอคไตรโคซายน์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราบนผิวหนังได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดจากกิ่งและใบหม่อนพันธุ์เชียงใหม่ 60

2. พัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่เหลวต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรีย จากสารสกัดกิ่งหรือใบหม่อน

สมมุติฐานการวิจัย

1. สารสกัดกิ่งหม่อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังได้

2. สบู่เหลวสารสกัดกิ่งหม่อน มีศักยภาพต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรีย

ขอบเขตของการวิจัย

1. ทำการสกัดสารสำคัญจากใบและกิ่งหม่อนโดยวิธีการหมักด้วยเอทานอล

2. ทำการศึกษาคุณภาพวิเคราะห์การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของกิ่งหม่อน และใบหม่อน ศึกษาปริมาณวิเคราะห์การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี Antioxidant Testing – Free Scavenging (DPPH)

3. ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคบนผิวหนังของร่างกายจากสารสกัดกิ่งและใบหม่อน ในระดับความเข้มข้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้

4. พัฒนาตำรับสบู่เหลวต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดกิ่งหม่อน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สารสกัดจากสมุนไพรหม่อนที่ออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคบนผิวหนัง

2. ทราบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดกิ่งหม่อนที่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคบนผิวหนัง

3. ได้ผลิตภัณฑ์สบู่เหลวทำความสะอาดร่างกายจากสารสกัดกิ่งหม่อนสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคบนผิวหนัง

4. ทำให้เกิดมูลค่าเพิ่มทางเศรษฐกิจของพืชตระกูลหม่อน ที่เหลือจากการตัดแต่งกิ่งทิ้งไปอย่างเปล่าประโยชน์ให้มีคุณค่าและสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรของประเทศอย่างยั่งยืนและเพื่อต่อยอดภูมิปัญญาท้องถิ่นให้เกิดประโยชน์เชิงพาณิชย์สร้างสรรค์สู่มาตรฐานสากล

นิยามศัพท์เฉพาะ

MIC หมายถึง minimum inhibitory concentration คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่ยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียที่มองเห็นได้

MBC หมายถึง minimum bactericidal concentration คือ ความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่ทำให้แบคทีเรียรอดชีวิตน้อยกว่า 0.1% ของจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้น

Disk diffusion method หมายถึง การที่ให้สารต้านเชื้อจุลชีพปริมาณแน่นอนแพร่ออกจากแผ่นกระดาษกรอง (Filter paper Disc) รูปกลมออกไปทุกทิศทางเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพที่เพาะเลี้ยงบนผิวหน้าอาหารแข็งหลักจากการบ่มเชื้อในสภาวะที่เหมาะสมจะนำจานเพาะเชื้อออกมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยวัดจากขอบวงที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพผ่านแผ่นกระดาษกรองไปยังของวงอีกด้านหนึ่ง ใช้หน่วยวัดเป็นมิลลิเมตร

Broth microdilution method หมายถึง การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในหลอดทดลองโดยใช้สารที่ต้องการทดสอบที่ความเข้มข้นต่างกันผสมกับเชื้อแบคทีเรีย เพื่อหาค่า MIC

MRSA คือ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* หรือเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่สามารถทนหรือดื้อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม methicillin ได้

ผลิตภัณฑ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดกิ่งหม่อน หมายถึง กิ่งหม่อนที่มีอายุตั้งแต่ 3 ปีขึ้นที่นำมาสกัดให้ได้ สารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรีย

สารสกัดกิ่งหม่อน หมายถึง กิ่งหม่อนใช้เฉพาะกิ่งมีอายุตั้งแต่ 3 ปีขึ้นไป นำมาอบแห้งแล้วสกัดด้วย ethanol 70% มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรีย

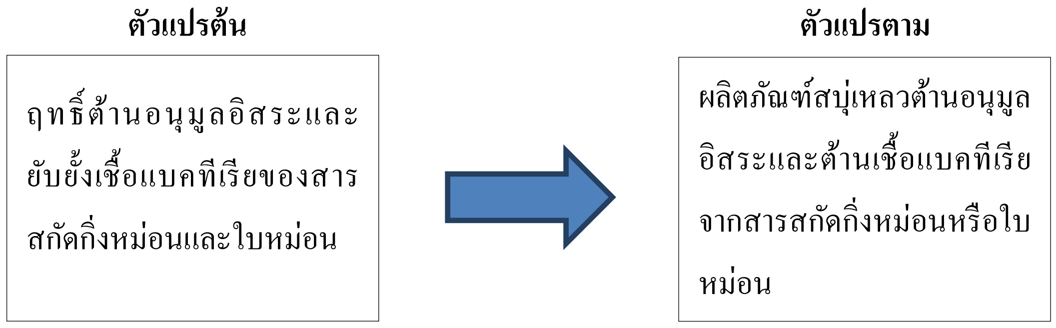
ฤทธิ์ทางพฤกษเคมี หมายถึง สาระสำคัญที่มีอยู่ในกิ่งหม่อน

การพัฒนาผลิตภัณฑ์สารสกัดกิ่งหม่อน หมายถึง การนำสารสกัดจากกิ่งหม่อนมาทำเป็นผลิตภัณฑ์สบู่เหลวใช้ทำความสะอาดร่างกายและรักษาผิวหนัง

สบู่เหลว หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นของเหลวใส มีความหนืด บางที่เรียกว่าเจลอาบน้ำ หากมีลักษณะครีมขุ่นเรียกว่าสบู่เหลว และถ้ามีลักษณะเป็นครีมข้นมีความหนืด เรียกว่าครีมอาบน้ำ

สมุนไพรหม่อน หมายถึง *Morus sp.* อยู่ในวงศ์ Moraceace และมีชื่อสามัญ Mulberry tree มี 3 สายพันธุ์ คือ White Mulberry ,Red Mulberry และ Black Mulberry

กรอบแนวคิดในการวิจัย



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดในการวิจัย

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การทำวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของสมุนไพรกิ่งหม่อน ประโยชน์ของของสมุนไพรที่เกษตรกรตัดกิ่งทิ้งไปอย่างเปล่าประโยชน์ นำมาสกัดและหาสารสำคัญในการหาสารสำคัญต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรีย เพื่อพัฒนาตำรับสบู่เหลวและการทดสอบทางกายภาพของผลิตภัณฑ์สบู่เหลว โดยได้นำเสนอตามหัวข้อดังต่อไปนี้

1. ผิวหนัง
2. โรคผิวหนัง
3. เชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง
4. สมุนไพรที่เกี่ยวข้อง
5. การศึกษาทางเภสัชวิทยา
6. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ
7. วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย
8. สบู่เหลว
9. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ผิวหนัง

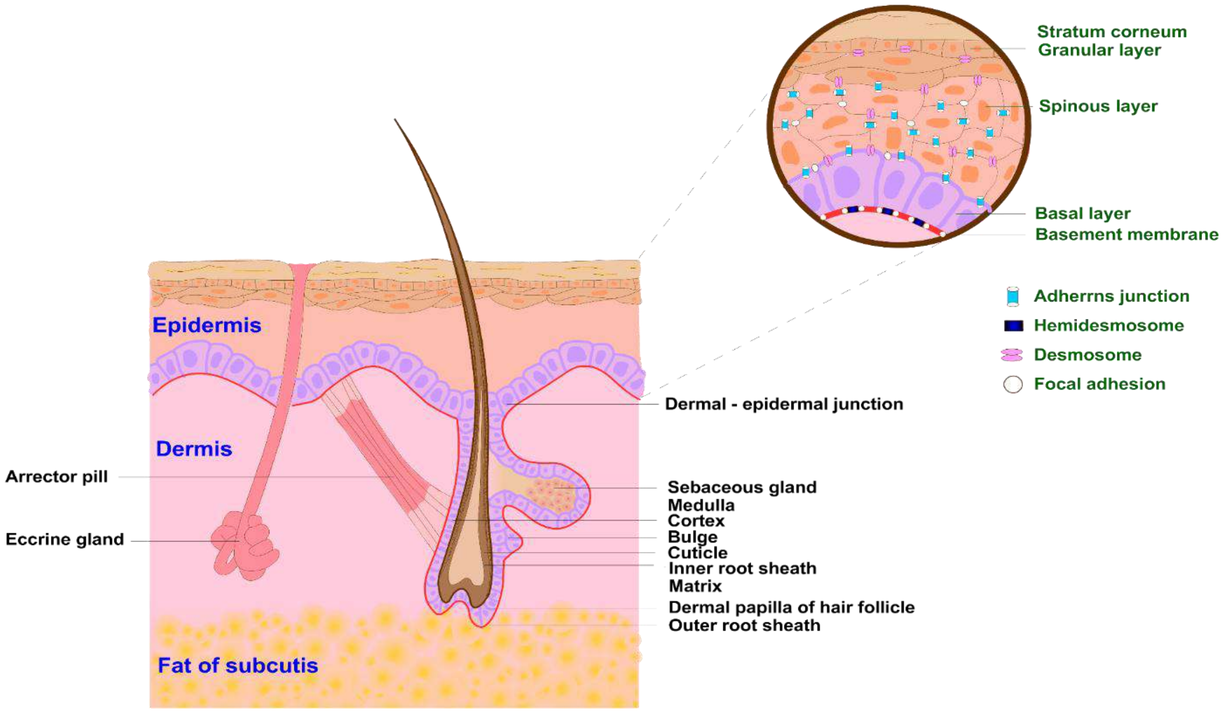
ผิวหนัง คือสิ่งปกคลุมชั้นนอกสุดที่มีลักษณะอ่อนนิ่มและยืดหยุ่นของสัตว์มีกระดูกสันหลัง ซึ่งภายในมีปลายประสาทรับความรู้สึกมากมายรับรู้ถึงการสัมผัส การกด ความเจ็บ หนาว เย็น ระบบผิวหนังมีหน้าที่สำคัญในการควบคุมอุณหภูมิของร่างกาย เป็นอวัยวะที่ขับเหงื่อ และไขมัน ซึ่งเป็นด่านแรกในการป้องกันอันตรายจากภายนอกรวมทั้งควบคุมการสูญเสียนย้ำออกจากร่างกาย โครงสร้างผิวหนังมนุษย์แบ่งเป็น 3 ชั้น ตามลำดับ ดังนี้

1. ผิวหนังกำพร้า (Epidermis) เป็นผิวหนังชั้นนอกสุด ช่วยปกป้องผิวจากจากสารพิษ แบคทีเรีย ไวรัส รวมทั้งมลภาวะต่าง ๆ ที่ได้สัมผัส ประกอบด้วยเซลล์เรียงซ้อนกันเป็นชั้นบาง ๆ อีก 5 ชั้นย่อย โดยเซลล์ชั้นในจะเลื่อนตัวดันเซลล์ชั้นบนหรือชั้นนอกสุด ให้หลุดเป็นขี้ไคลออกไป ผิวหนังกำพร้าไม่มีหลอดเลือด เส้นประสาทรวมถึงต่อมต่าง ๆ หากผิวหนังชั้นนี้ได้รับอันตราย จะ

ไม่ค่อยรู้สึกแต่อย่างใด หนังกำพร้าเป็นทางผ่านของรูเหงื่อ เส้นขนและไขมัน ชั้นนี้มีเซลล์เม็ดสี (Melanin) มีปริมาณมากน้อยแตกต่างกันในแต่ละคน

2. ผิวหนังแท้ (Dermis) เป็นผิวหนังชั้นล่างถัดมาจากชั้นผิวหนักำพร้าที่มีความหนาและยืดหยุ่นสูง ช่วยให้ผิวมีสุขภาพดีโดยมีหลอดเลือดฝอย ปลายประสาทรับความรู้สึก ระบบประสาทอัตโนมัติควบคุมการทำงานของต่อมไขมัน ต่อมเหงื่อ และรากขน/ผม กระจายอยู่ทั่วไปในชั้นหนังแท้

3. ผิวหนังชั้นไขมัน (Hypodermis) เป็นชั้นที่อยู่ในสุดของผิวหนัง ประกอบด้วยไขมัน คอลลาเจน หลอดเลือดที่มาหล่อเลี้ยง ความหนาของชั้นใต้ผิวหนังจะแตกต่างกันไปตามอวัยวะ และเพศ ผิวหนังชั้นนี้ช่วยในการรับแรงกระแทก เป็นฉนวนกันอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง และยึดเหนี่ยวระบบผิวหนังไว้กับร่างกาย



ภาพที่ 1 Introduction to dermatology พญ.สิริพรรณ สังข์มาลา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลาศรีนครินทร์

โรคผิวหนัง

โรคผิวหนัง (Skin Disease) หมายถึงโรคที่ทำให้ลักษณะของผิวหนังมีผื่นคัน เป็นตุ่ม วงด่างขาว เป็นก้อนเล็ก ๆ ขึ้นตามผิวหนังบนร่างกาย มีอาการคัน ปวด แสบร่วมด้วย มีสาเหตุการเกิดโรคหลายประการอาทิเช่น การติดเชื้อ แพ้การใช้ยา ปรสิต แม้แต่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย หรือไวรัส หรือเชื้อ

รา รวมทั้งสภาวะแวดล้อมในปัจจุบัน ลักษณะโรคผิวหนังนี้มักเป็นกลุ่มอาการโรคที่รุนแรง จะเกิดขึ้นในบริเวณหนังกำพร้า ส่วนใหญ่ เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus pyogenes* และชั้นผิวหนังแท้ จากเชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ *Staphylococcus epidemies*

อาการของโรคผิวหนัง อาการของโรคผิวหนังจะมีอาการรุนแรงมากน้อยเพียงใด ขึ้นอยู่กับสาเหตุและปัจจัยทำให้เกิดโรค ทั่วไป มักพบจะมีอาการเป็นผื่นแดง เป็นตุ่มนูน หรือเป็นจุด ๆ เป็นวง ๆ เป็นตุ่มนูน พองแผล กรณีโรคผิวหนังที่เกิดในชั้นผิวหนังแท้ จะเป็นแผลตุ่มนูน มีอาการ คัน เจ็บแสบ บริเวณนั้นจะมีรอยแดง หากอักเสบมากจะมีเลือดไหลออกร่วมด้วย

การรักษาโรคผิวหนัง มีหลายแนวทางขึ้นอยู่กับลักษณะอาการของโรคและสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนัง มีทั้งรักษาหายและไม่หาย หากโรคผิวหนังนั้นเกิดจากโรคเอดส์เป็นต้น

เชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง

เชื้อแบคทีเรีย เป็นสิ่งมีชีวิตประเภทหนึ่งที่มีขนาดเล็ก มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น ส่วนใหญ่มีเซลเดียว และมีโครงสร้างเซลล์ที่ไม่ซับซ้อนมากนักแบ่งได้หลายกลุ่ม ดังนี้

1. แบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus*

เชื้อสกุล *Staphylococcus* เป็นเชื้อที่พบอาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมทั่วไปและพบอาศัยอยู่ตามผิวหนัง ต่อมใต้ผิวหนัง และเยื่อเมือกบุผิวในคน การก่อโรคของเชื้อกลุ่ม *Staphylococcus* มักพบได้หากมีบาดแผลบริเวณผิวหนังหรือเยื่อเมือกบุผิว ทำให้เชื้อสามารถเข้าสู่ร่างกายและก่อให้เกิดโรคได้ สปีชีส์ที่พบก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในคนได้บ่อยชนิดหนึ่ง คือ *Staphylococcus aureus* (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

เชื้อสกุล *Staphylococcus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลม (Gram-positive cocci) จัดอยู่ในวงศ์ Staphylococcaceae ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-1.5 ไมครอน มีการเรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น (grape-like cluster) ชื่อเชื้อมาจากภาษากรีกคือ “staphylé” แปลว่าพวงองุ่น (a bunch of grapes) จำนวนเซลล์ในแต่ละกลุ่มไม่แน่นอน จัดอยู่ในพวก facultative anaerobe หรือแบคทีเรียที่เจริญได้โดยมีออกซิเจนหรือไม่มีออกซิเจนก็ได้ เชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี โดยเจริญได้ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-เบส (Potential of Hydrogen Ion, pH) อยู่ระหว่าง 4.8-9.4 สามารถเจริญในที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึง ร้อยละ 10 และเจริญได้ที่อุณหภูมิแตกต่างกันตั้งแต่ 18-40 องศาเซลเซียสเชื้อสามารถทนความแห้งและทนความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสได้นาน 30 นาที เชื้อสร้างเอนไซม์ catalase ได้ซึ่งใช้เป็นคุณสมบัติในการจำแนกเชื้อ *Staphylococcus aureus* ออกจาก *Staphylococcus* สปีชีส์อื่น เชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* ภายหลังเพาะเลี้ยงนาน 24 ชั่วโมง เชื้อ

Staphylococcus aureus จะให้โคโลนีสีขาว-เหลือง ขอบเรียบ มันวาว มีลักษณะคล้ายเนย (butyrous) (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

การก่อโรคของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus*

การก่อโรคของเชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* ที่สำคัญเกิดจากการบุกรุกและทำลายชั้นเนื้อเยื่อโดยตรง และจากการสร้างสารคัดหลั่งหลายชนิดเช่นเอนไซม์และสารพิษต่างๆที่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อ มีปัจจัย 3 กลุ่ม คือ โครงสร้างเซลล์, เอนไซม์ และสารพิษ

1. โครงสร้างเซลล์ ส่วนประกอบของเซลล์แบคทีเรียโดยเฉพาะโปรตีนที่ผนังเซลล์ (cell wall protein) ได้แก่ โปรตีน A จะไปเกาะติดกับส่วน crystallizable fragment (Fc) ของอิมมูโนโกลบูลินชนิด IgG (Immunoglobulin; IgG) ซึ่งเป็นส่วนที่ปกติแอนติบอดีใช้ในการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้เกิดการยับยั้งการกลืนเข้ากินแบคทีเรียของเม็ดเลือดขาว นอกจากนี้สารโปรตีนหลายชนิดในบริเวณผิวเซลล์มีส่วนในการช่วยให้เชื้อสามารถเกาะติดกับส่วนประกอบต่างๆของเนื้อเยื่อ เช่น เส้นใย Collagen, Fibronectin และ Elastin

2. เอนไซม์ เชื้อ *Staphylococcus aureus* จัดเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงในการก่อโรคสูงกว่าสปีชีส์อื่นๆ ในกลุ่ม ส่วนหนึ่งเกิดจากเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์หลายชนิดที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการก่อโรค ได้แก่

2.1 Coagulase แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือส่วนที่อยู่บนผนังเซลล์หรือ 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

2.2 Catalase หลังจากเซลล์เม็ดเลือดขาวจับกินเชื้อแบคทีเรียโดยขบวนการ Phagocytosis จะเกิดการสร้างสาร Hydrogen Peroxide และอนุมูลอิสระที่เป็นพิษเพื่อทำลายเชื้อแปลกปลอม เอนไซม์ Catalase มีฤทธิ์ในการสลาย Hydrogen Peroxideให้กลายเป็นน้ำและออกซิเจนเพื่อปกป้องเซลล์แบคทีเรียจากการถูกทำลายในเซลล์เม็ดเลือดขาว

2.3 Hyaluronidase (Spreading Factor) ออกฤทธิ์สลายกรด Hyaluronic ที่พบเป็นส่วนประกอบของ Connective tissue ทำให้เชื้อสามารถแพร่กระจาย ก่อให้เกิดการติดเชื้อลุกลามในชั้นเนื้อเยื่อได้

2.4 Staphylokinase (Fibrionolysin) ออกฤทธิ์เปลี่ยน Plasminogen เป็น Plasmin ทำให้เกิดการของสลายก้อนลิ่มของเส้นใย fibrin ในบริเวณที่ติดเชื้อ จึงมีส่วนช่วยในการกระจายลุกลามของเชื้อในชั้นเนื้อเยื่อ

2.5 Lipase มีฤทธิ์สลายสารไขมัน จึงมีบทบาทสำคัญในการติดเชื้อในชั้นผิวหนังและใต้ผิวหนัง ซึ่งประกอบด้วยต่อมไขมันและเนื้อเยื่อไขมัน

2.6 β-lactamase เชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* มีการพัฒนาการดื้อยา penicillin ขึ้นอย่างรวดเร็วภายหลังจากเริ่มมีการใช้ยาทางคลินิก ซึ่งเป็นผลจากการสร้างเอนไซม์ β-lactamase โดยยีนส์บนพลาสมิดและทำให้เชื้อดื้อต่อยาต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม β-lactams อื่นอีกหลายชนิด ปัจจุบันสายพันธุ์ของเชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* ส่วนใหญ่สร้างเอนไซม์ β-lactamase ได้

3. สารพิษที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์หรือเอกโซทอกซิน (exotoxin)

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

3.2 Toxic Shock Syndrome Toxin 1 (TSST-1) เดิมชื่อ Staphylococcal enterotoxin F หรือ pyrogenic exotoxin C พบการสร้างสารพิษชนิดนี้ในเชื้อ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ที่อาศัยอยู่บริเวณช่องคลอด สารพิษนี้จัดเป็น superantigen มีความสามารถกระตุ้นระบบต่างๆของร่างกาย ทำให้ผู้ป่วยมีอาการไข้สูง มีผื่น เจ็บคอ อุจจาระร่วงชนิดเป็นน้ำ (watery diarrhea) มีภาวะขาดน้ำ (dehydration) คลื่นไส้ อาเจียน ในบางรายมีอาการรุนแรง อาจเกิดอาการช็อก ตับไตวายและเสียชีวิตในที่สุด

3.3 Exfoliative Toxin หรือ Exfoliatin หรือ Epidermolysin เป็นสารพิษที่มีฤทธิ์ในการทำลายผิวหนังชั้นหนังกำพร้า (Epidermal layer) ทำให้ชั้นหนังกำพร้าหลุดลอกออกไป ก่อให้เกิดกลุ่มอาการผิวหนังหลุดลอก (Staphylococcal Scalded Skin Syndrome; SSSS) หรือโรคริตเทอร์ (Ritter’s disease)

3.4 Cytolytic toxin เป็นกลุ่มของสารพิษที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์ เพื่อทำลายเซลล์ของร่างกาย ได้แก่ Hemolysin หรือ Staphylolysin ชนิดแอลฟา, บีตา, และเดลตา ฮีโมไลซิน มีฤทธิ์ทำลายเม็ดเลือดแดง ส่วน staphylococcal หรือ Penton-Valentine Leukocidinมีฤทธิ์ทำลายเม็ดเลือดขาวและป้องกันการกลืนกินของเม็ดเลือดขาว (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

โรคติดเชื้อที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ลักษณะสำคัญของโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* คือเกิดการอักเสบเป็นหนองในตำแหน่งที่ติดเชื้อที่เรียกว่า suppurative (หรือ pyogenic) infection หรือมักทำให้เกิดฝีหนอง (abscess) โดยเฉพาะในบริเวณผิวหนังและชั้นเนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง เอนไซม์ coagulase กระตุ้นการจับกลุ่มของเส้นใย fibrin ทำให้เกิดการสร้างผนังขึ้น ล้อมรอบรอยโรคเกิดเป็นก้อนฝี ซึ่งภายในประกอบด้วยเนื้อเยื่อที่เน่าตายรวมตัวกันเป็นหนอง อย่างไรก็ตาม เชื้อจากรอยโรคอาจแพร่กระจายเข้าสู่เลือดไปยังส่วนต่างๆของร่างกาย ทำให้สามารถก่อโรคติดเชื้อตามระบบได้ โรคติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่สำคัญได้แก่

1. โรคติดเชื้อของชั้นผิวหนัง ได้แก่

1.1 Impetigo พบได้บ่อยในเด็กเล็ก ส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* อาการเริ่มจากมีผื่นเป็นจุดแดง (macule) ซึ่งต่อมาจะกลายเป็นตุ่มหนอง (pustule) และแตกออกเป็นสะเก็ดแห้งกรัง เชื้อสามารถกระจายสู่บริเวณข้างเคียงได้รวดเร็ว ทำให้เห็นผื่นแดงและตุ่มหนองปนกันอยู่ทั่วไป

1.2 Folliculitis เป็นการอักเสบเป็นหนองภายในรูขุมขน ทำให้เป็นตุ่มหนองบวมแดงขนาดเล็ก

1.3 Furuncle (boil) เป็นการอักเสบรุนแรงของรูขุมขน เกิดเป็นฝีหนองขนาดใหญ่และมีเนื้อเยื่อเน่าตาย มีอาการเจ็บปวด

1.4 Carbuncle เป็นฝีหนองขนาดใหญ่ที่เกิดจากการรวมตัวกันของฝี Furuncle ในตำแหน่งข้างเคียงและมีการขยายขนาดลุกลามเนื้อเยื่อชั้นลึก เชื้อสามารถกระจายเข้าสู่กระแสเลือด ทำให้ผู้ป่วยมีไข้สูง หนาวสั่น และเกิดการติดเชื้อตามระบบร่วมด้วยได้

1.5 Wound Infection ผู้ป่วยที่มีบาดแผลจากอุบัติเหตุหรือแผลผ่าตัด ทำให้เชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่อาศัยบนผิวหนังหรือบนวัตถุแปลกปลอมที่ทะลุผ่านชั้นผิวหนังสามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อของบาดแผล ทำให้แผลบวม แดง เจ็บ และมีหนองปน

1.6 Staphylococcal Scalded Skin Syndrome (SSSS) อาจเรียกว่า Ritter's Disease ตามชื่อแพทย์ผู้อธิบายโรคนี้เป็นครั้งแรกคือ Gottfried Ritter von Rittershain ในปีค.ศ.1878

ผู้ป่วยส่วนใหญ่เป็นทารกและเด็กเล็ก เกิดจากการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ที่สร้าง exfoliative toxin อาการเริ่มจากการบวมแดงของผิวหนังอย่างเฉียบพลันและกระจายไปทั่วตัวอย่างรวดเร็วใน 1-2 วัน ต่อมาจะกลายเป็นตุ่มน้ำขนาดใหญ่ ภายในมีสารน้ำใสที่มักตรวจไม่พบเซลล์เม็ดเลือดขาวหรือ เชื้อก่อโรคเนื่องจากการเกิดโรคเป็นผลจากสารพิษ จากนั้นจึงเกิดการหลุดลอกออกของผิวหนังชั้น epithelium อาการหายไปได้เองและมีการสร้างผิวหนังใหม่ขึ้นแทนใน 1 - 2 สัปดาห์หลังจากที่ร่างกายมีการสร้างแอนติบอดีต่อสารพิษ อัตราการเสียชีวิตต่ำ ยกเว้นแต่มีภาวะแทรกซ้อนจากการติดเชื้อซ้ำในระหว่างที่ร่างกายไม่มีผิวหนังชั้น epithelium ปกคลุม การลอกของผิวหนังดังกล่าวไม่ทำให้เกิดแผลเป็น

1.7 Bullous Impetigo มักพบในทารกและเด็กเล็ก ผู้ป่วยมีตุ่มน้ำขนาดใหญ่คล้ายโรค SSSS แต่เกิดขึ้นเฉพาะที่ไม่กระจายไปทั่วร่างกาย ทั้งนี้เป็นผลจากการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ที่มีการสร้างสารพิษจำเพาะซึ่งทำให้เกิดอาการเฉพาะที่เท่านั้นเช่น สายพันธุ์ phage type 71 สารน้ำภายในตุ่มน้ำมีเชื้อแบคทีเรียอยู่ ทำให้เป็นแหล่งแพร่เชื้อที่สำคัญ

2. โรคติดเชื้อในระบบไหลเวียน ภาวะติดเชื้อในเลือด (Bacteremia) จากเชื้อ *Staphylococcus aureus* พบได้บ่อย ส่วนใหญ่เกิดจากการลุกลามของเชื้อในบริเวณผิวหนังเข้าสู่กระแสเลือด นอกจากนี้ยังพบเป็นการติดเชื้อในโรงพยาบาลได้จากการติดเชื้อของบาดแผลผ่าตัดหรือการใส่สายให้สารน้ำทางเส้นเลือด เชื้อที่อยู่ในเลือดอาจทำให้เกิดการติดเชื้อของอวัยวะอื่นโดยเฉพาะโรคลิ้นหัวใจอักเสบเฉียบพลัน (acute infective endocarditis) ซึ่งถือเป็นภาวะที่อันตรายและมีอัตราการเสียชีวิตสูง เชื้อ *Staphylococcus aureus* ถือเป็นสาเหตุก่อโรคดังกล่าวที่พบได้บ่อยที่สุด โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีประวัติฉีดยาเสพติดเข้าทางเส้นเลือดถือเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญ ในบางราย เชื้อที่เจริญเป็นกลุ่มก้อนบนลิ้นหัวใจที่เรียกว่า vegetation อาจหลุดเข้าสู่กระแสเลือดไปอุดตันเส้นเลือดที่ไปเลี้ยงอวัยวะอื่นๆ ทำให้เนื้อเยื่อตายจากการขาดเลือดและการทำงานของอวัยวะนั้นล้มเหลวอย่างรวดเร็วได้ เรียกภาวะดังกล่าวว่า Embolism

3. โรคติดเชื้อของระบบหายใจ โรคติดเชื้อในทางเดินหายใจที่สำคัญได้แก่ โรคปอดบวม (pneumonia) โดยได้รับเชื้อได้จาก 2 ทางคือทางเลือด (hematogenous pneumonia) และทางการสำลักสารคัดหลั่งในช่องปาก (aspisaton pneumonia) เชื้อที่ผ่านมาทางกระแสเลือด เกิดจากมีการติดเชื้อในตำแหน่งอื่นๆเช่นบาดแผลหรือลิ้นหัวใจ การสำลักเชื้อลงสู่ปอด มักพบได้ในเด็กเล็ก ผู้สูงอายุ ผู้ที่มีการติดเชื้อไวรัสในทางเดินหายใจ เช่น chronic obstructive pulmonary disease (COPD) ในบางรายอาจทำให้เกิดฝีหนองขึ้นในปอด (lung abscess) ผู้ป่วยบางส่วนอาจเกิดการติดเชื้อชนิดเป็นหนองภายในช่องเยื่อหุ้มปอด (empyema) ร่วมด้วย

4. โรคติดเชื้อของระบบทางเดินอาหาร ที่พบได้บ่อยได้แก่โรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นผลจากการได้รับสารพิษ enterotoxin ที่เชื้อสร้างขึ้นในอาหารมากกว่าการได้รับเชื้อเข้าสู่ทางเดินอาหารโดยตรง (intoxication) เชื้อที่ปนเปื้อนในอาหารมักมาจากผู้ปรุงอาหารที่มีการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* บริเวณผิวหนัง หรือเป็นพาหะนำเชื้อที่ไม่แสดงอาการ การปรุงอาหารด้วยความร้อนสามารถฆ่าเชื้อได้ แต่ไม่สามารถทำลายฤทธิ์ของสารพิษเนื่องจากเป็น การได้รับสารพิษเข้าสู่ร่างกาย ผู้ป่วยจึงเกิดอาการได้อย่างรวดเร็ว อาการมักเริ่มภายใน 2-8 ชั่วโมงภายหลังกินอาหารที่ปนเปื้อนสารพิษ ส่วนใหญ่มีอาการอาเจียนรุนแรง ถ่ายเหลวและปวดท้องโดยไม่มีไข้ อาการหายได้เองภายใน 24 ชั่วโมงการให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียสำหรับการรักษาโรคติดเชื้อของระบบทางเดินอาหารนั้นไม่มีความจำเป็นเนื่องจากส่วนใหญ่ไม่ได้เกิดจากการติดเชื้อภูมิคุ้มกันต่อสารพิษเกิดขึ้นเพียงระยะสั้น ทำให้ผู้ป่วยสามารถเกิดโรคซ้ำได้การให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลานานในผู้ป่วยบางรายอาจทำให้เกิดการติดเชื้อในลำไส้ (enterocolitis) เชื้อประจำถิ่นในลำไส้ลดลงอย่างมาก จนทำให้เกิดการติดเชื้ออื่นๆได้ง่าย เชื้อ *Staphylococcus aureus* พบเป็นสาเหตุได้ไม่บ่อยเมื่อเทียบกับเชื้อ *Clodtridium difficle* ที่พบเป็นสาเหตุสำคัญสำหรับการติดเชื้อของลำไส้ในภาวะดังกล่าว

5. โรคติดเชื้อของกระดูกและข้อ การติดเชื้อของกระดูกและกล้ามเนื้อ (osteomyelitis) ส่วนใหญ่ได้รับเชื้อผ่านทางกระแสเลือด ในบางรายอาจได้รับเชื้อโดยตรงจากบาดแผลที่ลุกลามจากชั้นผิวหนัง ในเด็กมักเกิดการติดเชื้อในตำแหน่ง metaphysis ของกระดูกท่อนยาว (long bone) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่เลือดมาเลี้ยงจำนวนมาก ในผู้ใหญ่ส่วนใหญ่พบการติดเชื้อของกระดูกสันหลัง การติดเชื้อในบริเวณ metaphysis ของกระดูกท่อนยาวในผู้ใหญ่มักทำให้เกิดเป็นฝีหนองที่เรียกว่า Brodie’s abscess ทำให้เกิดไข้สูงร่วมกับอาการเจ็บปวดเฉียบพลันในตำแหน่งที่ติดเชื้อ การรักษาอาจอาศัยการผ่าตัดร่วมกับการให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็นสาเหตุที่พบบ่อยสำหรับโรคข้ออักเสบติดเชื้อ (septic arthritis) ในเด็กและในผู้ใหญ่ส่วนใหญ่พบเป็นภาวะแทรกซ้อน จากการฉีดสารเข้าข้อ หรือในผู้ที่มีความพิการของข้ออยู่เดิม อาการสำคัญคือข้อบวมแดงและปวด ภายในข้อจะเกิดการอักเสบเป็นหนอง เชื้ออาจพลัดเข้าสู่กระแสเลือดและกระจายไปสู่ข้ออื่นๆได้

6. ระบบสืบพันธุ์กลุ่มอาการ Toxic shock syndrome (TSS) เกิดจากการติดเชื้อสายพันธุ์ที่สามา รถสร้างสารพิษ toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) ผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษนี้แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่สัมพันธ์กับการมีประจำเดือน (menstruating TSS) และกลุ่มไม่สัมพันธ์กับ การมีประจำเดือน (non-menstruating TSS) ในกลุ่มที่สัมพันธ์กับการมีประจำเดือนพบได้ในผู้หญิงที่ใช้ผ้าอนามัยชนิดสอด (tampon) ซึ่งเชื้อสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและสร้างสารพิษ

ในเลือดที่ถูก ดูดซับอยู่ในผ้าอนามัยภายในช่องคลอด ในกลุ่มที่ไม่สัมพันธ์กับการมีประจำเดือน มักเกิดจากการติดเชื้อของบาดแผล ซึ่งพบทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ การติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* เฉพาะที่นี้ก่อให้เกิดการสร้าง TSST-1 ปล่อยเข้าสู่กระแสเลือดโดยไม่พบเชื้อในเลือด สารพิษนี้มีคุณสมบัติเป็น superantigen ที่สามารถกระตุ้นให้มีการหลั่ง cytokine หลายชนิดในปริมาณสูงผิดปกติ ทำให้ผู้ป่วยเกิดอาการไข้สูงเฉียบพลัน มีผื่นแดงและเกิดการหลุดลอกของผิวหนังกระจายไปทั่วตัว รวมถึงบริเวณฝ่ามือและฝ่าเท้า การทำงานของระบบไหลเวียนเลือดผิดปกติ ทำให้มีการเสียสารน้ำออกนอกเส้นเลือด ความดันเลือดลดต่ำลง การทำงานของระบบต่างๆล้มเหลวและเกิดอาการช็อกได้ หากผู้ป่วยได้รับการรักษาที่ถูกต้องทันท่วงที อัตราการเสียชีวิตจากโรคนี้จะลดลงอย่างมาก แอนติบอดีต่อสารพิษที่ร่างกายสร้างขึ้นหลังเกิดโรคสามารถป้องกันการเกิดโรคซ้ำได้ แต่พบว่าผู้ป่วยส่วนน้อยที่เป็นโรค TSS มีการสร้างแอนติบอดีดังกล่าวการกระจายของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ผ่านทางกระแสเลือดอาจทำให้เกิดโรคติดเชื้อในอวัยวะอื่นๆที่อาจพบได้แต่ไม่บ่อย เช่นโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningitis) และโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ

นอกจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* จะพบเป็นสาเหตุก่อโรคในคนได้บ่อยแล้ว ปัญหาสำคัญในปัจจุบันที่พบเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องคือการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ดื้อยาโดยเฉพาะยากลุ่ม penicillinase-resistant penicillins เช่น methicillin ซึ่งเป็นยาหลักในการรักษา เรียกเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ว่า methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* หรือ MRSA (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

ปัญหาและกลไกการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*

ยา penicillin G เป็นยาปฏิชีวนะตัวแรกของโลกที่นำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ โดยโครงสร้างยาในส่วน β-lactam จะเข้าไปจับกับส่วน PBPs (penicillin binding proteins) ที่ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาการสร้างพันธะของโมเลกุล peptidoglycan ในผนังเซลล์แบคทีเรียเมื่อ PBPs ถูกยับยั้ง การสร้างผนังเซลล์จึงไม่สมบูรณ์เกิดการยับยั้งเชื้อขึ้น หลังจากนั้นการนำ penicillin G ออกไปใช้อย่างไม่ถูกวิธีทำให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการกลายพันธุ์และดื้อยาขึ้นโดยเชื้อแบคทีเรียได้พัฒนาการสร้างเอนไซม์ penicillinase ขึ้นซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม β-lactamase ไปสลาย β-lactam ในโครงสร้างของยากลุ่ม penicillins เกิดการดื้อต่อยา penicillin หรือยาที่มีโครงสร้างใกล้เคียงในการรักษา ยีนส์ควบคุมการสร้างเอนไซม์ penicillinase พบอยู่บนพลาสมิดที่สามารถถูกถ่ายทอดได้ ทำให้การดื้อยาเกิดการกระจายได้รวดเร็ว ปัจจุบันสายพันธุ์มากกว่า 90% ของเชื้อในกลุ่ม *staphylococcus* สามารถสร้างเอนไซม์นี้ เพื่อแก้ปัญหาการดื้อยานี้ จึงมีการพัฒนายากึ่งสังเคราะห์ที่อยู่ในกลุ่ม penicillinase-resistant penicillins (PRP) ขึ้น เช่น nafcillin, oxacillin และ methicillin โดยยากลุ่มนี้สามารถทนต่อเอนไซม์ penicillinase แต่ไม่นานก็มีการดื้อยาเกิดขึ้นอีก โดยเชื้อ

แบคทีเรียได้สร้าง PBP ชนิดพิเศษที่เรียกว่า PBP2a ขึ้น ซึ่ง PBP2a มีคุณสมบัติจับกับยาในกลุ่ม β-lactams ได้ต่ำมาก ยากลุ่ม PRP จึงใช้ไม่ได้ผล เชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยากลุ่ม PRP นี้เรียกว่า methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) จากการศึกษาพบว่าเชื้อในกลุ่ม MRSA มีลักษณะการดื้อยาแบบผสม (heteroresistance) คือมีการผสมของแบคทีเรียกลุ่มที่ดื้อยาปนอยู่กับกลุ่มที่ไวต่อยา ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อที่มียีนส์ดื้อต่อยานั้น มีเพียงส่วนน้อยที่สามารถแสดงออกถึงคุณสมบัติการดื้อยา (ประมาณ 10^{-3} ถึง 10^{-7}) อุณหภูมิและชนิดของอาหารเพาะเชื้อมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะ การดื้อยา โดยทั่วไปเชื้อที่ดื้อยามีอัตราการเจริญที่ช้ากว่าเชื้อที่ไวต่อยา จึงอาจไม่เห็นลักษณะการดื้อยาหากอบเชื้อในระยะเวลาที่ไม่เหมาะสมคือน้อยกว่า 24 ชั่วโมงดังนั้นการทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธีที่ไม่เหมาะสมอาจตรวจไม่พบเชื้อดื้อยา 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 *Staphylococcus aureus* ที่ลดความไวต่อยาในกลุ่ม glycopeptides ที่เรียกว่า glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus* (GISA) รวมถึงพบการดื้อยาได้ในเชื้อกลุ่ม coagulase-negative staphylococci กลไกการดื้อยากลุ่ม glycopeptides ในเชื้อกลุ่ม *Staphyloccus* นั้นยังไม่ทราบแน่ชัด (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และ วัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

การเพิ่มขึ้นอย่างเป็นของอุบัติการณ์ของแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะมีปัจจัยมาจากการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างแพร่หลายทางด้านการเกษตรและปศุสัตว์ โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาตามคลินิก การใช้ยาปฏิชีวนะอย่างไม่เหมาะสมส่งผลให้เชื้อได้พัฒนาการดื้อยาปฏิชีวนะอย่างต่อเนื่อง เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ทำให้มียีนส์ส่วนที่กำหนดการดื้อยาเกิดขึ้น อาจปรากฏอยู่บนโครโมโซมหรือพลาสมิด ส่วนใหญ่มักเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงหรือเหนี่ยวนำการสร้างเอนไซม์หรือโปรตีนบางชนิด กลไกการดื้อยาที่พบได้บ่อยจำแนกเป็น 4 ประเภท

1. การทำลายฤทธิ์ของยาด้วยเอนไซม์

แบคทีเรียดื้อยาหลายชนิดสามารถสร้างเอนไซม์มายับยั้งหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยา มีผลทำให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ได้เนื่องจากยาไม่สามารถเข้าจับกับบริเวณยับยั้งของเชื้อได้ ซึ่งพบเป็นกลไกหลักที่สำคัญและพบบ่อยที่สุดในกลไกการดื้อยา ยาที่นิยมนำมาใช้ในทางคลินิกเป็นยาปฏิชีวนะกลุ่ม β-lactams จากการใช้ยาปฏิชีวนะในกลุ่มดังกล่าวพบแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิดที่ดื้อต่อยากลุ่มนี้ เช่น *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อ

ยา Penicillin หรือ Cephalosporins เนื่องจากเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ β-lactamase ที่สามารถย่อยสลายส่วนวงแหวน β-lactam ของยาบางชนิดทั้ง 2 กลุ่ม ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ คือ Penicilloic acid และ Crphalosporoic acid ที่ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ

2. การเปลี่ยนแปลงเป้าหมายการออกฤทธิ์ของยา

กลไกการดื้อยาปฏิชีวนะประเภทนี้เกิดจากแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ มีการเปลี่ยนแปลงลำดับที่สำคัญของยีนส์ที่เกี่ยวข้องกับตำแหน่งที่ใช้ในการสร้างเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยา ทำให้ยาไปจับกับเป้าหมายได้ลดลง แบคทีเรียจึงไม่ถูกยับยั้งด้วยยาปฏิชีวนะนั้นๆ เช่น การดื้อยากลุ่ม β-lactams ของเชื้อ MRSA โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ PBP ที่ยาจะไปจับไปเป็น PBP2a ซึ่งจับกับยาได้ต่ำ ลักษณะการดื้อยานี้เป็นผลมาจากการได้รับยีนส์ *mecA* และการสร้างผนังเซลล์โดยไม่ใช้ D-Ala-D-Ala-containing pentapeptide ที่เป็นเป้าหมายของ Glycoside ของเชื้อ Enterococci ทำให้เชื้อดื้อยากลุ่ม Glycopeptides รวมทั้งเกี่ยวข้องการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนบนยีนส์ที่สร้าง DNA Gylases และ Topoisomerases เชื้อจึงดื้อต่อยากลุ่ม Quinolones

3. การลดการผ่านของสารเข้าเซลล์

ยาปฏิชีวนะที่นำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยจำเป็นต้องมีระดับความเข้มข้นของยาในบริเวณเป้าหมายสูงพอที่จะออกฤทธิ์และมีผลต่อการเจริญของเชื้อได้ ดังนั้นการขัดขวางไม่ให้ยาจากภายนอกเซลล์เข้ามาภายในเซลล์ย่อมทำให้เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้จากกลไกการดื้อยาดังกล่าว พบเชื้อดื้อยาหลายชนิดแสดงการลดการผ่านของยาเข้าเซลล์โดยอาศัยกลไกต่างๆ เช่น เชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยา Cycloserine พบมีการสูญเสียของ Alanine Transport System ที่เกี่ยวข้องกับการส่งผ่านยาเข้าเซลล์ เชื้อบางชนิดที่ดื้อต่อยา Tetracycline พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของ Porins ซึ่งเป็นโปรตีนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ที่นำสารเข้าเซลล์ เชื้อแบคทีเรียจะลดจำนวน Porins ลงเพื่อลดการนำยาเข้าสู่เซลล์ เป็นต้น

4. การเพิ่มปริมาณการผลิตสารและเอนไซม์เพื่อแข่งกับปริมาณยา

ยาปฏิชีวนะบางชนิดมีสูตรโครงสร้างคล้ายสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิซึม ทำให้เกิดการแย่งจับเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการ หากเชื้อสามารถเพิ่มปริมาณการผลิตสารดังกล่าวเพื่อแข่งกับปริมาณยา สามารถแย่งจับเอนไซม์กลับคืนมาเพื่อดำเนินการเมทาบอลิซึมต่อไปได้ เช่น การเพิ่มระดับของ *p*-Aminobenzoic Acid ส่งผลให้เชื้อสามารถดื้อยากลุ่ม Sulfonamides ขณะเดียวกันหากมีการเพิ่มปริมาณของเอนไซม์ชนิดที่ถูกขัดขวางการทำงานด้วยยาปฏิชีวนะ เชื้อจึงดื้อต่อยาที่มีคุณสมบัติดังกล่าว ถึงแม้ว่าเอนไซม์บางส่วนจะถูกขัดขวางแต่ยังมีเอนไซม์ส่วนที่เหลือยังคงทำหน้าที่ต่อไปได้ เช่น การเพิ่มปริมาณการผลิตเอนไซม์

Xanthosine Monophosphate Aminase ทำให้เชื้อดื้อต่อ Psicofuranine ได้หรือถ้ามีการเพิ่มเอนไซม์ Dihydropteroate Synthetase ย่อมมีผลทำให้เชื้อดื้อยากลุ่ม Sulfonamides และเพิ่ม Dihydrofolate Reductase มีผลทำให้เชื้อดื้อต่อยา Trimethoprim ได้

จากกลไกการดื้อยาที่กล่าวมาข้างต้นเห็นได้ว่า เชื้อแต่ละชนิดมีวิธีการดื้อยาชนิดเดียวกันในกลไกที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อและยีนส์ที่บงการการดื้อยาว่าเป็นยีนส์บนโครโมโซมหรือพลาสมิด (ภาวิณี อุ่นกอง, 2554)

เชื้อ Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Staphylococcus aureus เป็นเชื้อที่แสดงออกถึงการปรับตัวในการดื้อยาปฏิชีวนะอย่างต่อเนื่อง ในสมัยก่อนไม่มียาต้านจุลชีพพบมีอัตราการตายจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* สูงถึงร้อยละ 90 นักวิทยาศาสตร์จึงคิดค้นยาต้านจุลชีพเพื่อลดอัตราการตาย พบว่าปี ค.ศ.1940 ยา Penicillin G ถูกนำมาใช้ใน การรักษาและสามารถลดอัตราการตายจากโรคติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้มาก แต่ในปี ค.ศ.1942 เริ่มพบ การดื้อยา Penicillin G จนกระทั่งปี ค.ศ.1948 พบว่ายา Penicillin G ไม่สามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในปี ค.ศ.1959 ยา Methicillin เป็นยาที่นำมาใช้รักษาโรคติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยา Penicillin G แต่ต่อมาในปี ค.ศ.1961 เริ่มมีรายงานการพบเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยา Methicillin (MRSA) นอกจากนี้ยังพบเชื้อดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายกลุ่ม เช่น Tetracyclines, Sulfonamides, Macrolides, Cephalosporines, Chloramphenicol และ Quinolones เป็นต้น เชื้อที่ไวต่อยาในกลุ่ม Penicillins จะจัดอยู่ในกลุ่มที่เรียกว่า MSSA ความรุนแรงของเชื้อ MRSAและ MSSA ไม่ต่างกันแต่การติดเชื้อ MRSA มีความสำคัญมากกว่า เพราะเชื้อ MRSA ไม่สามารถรักษาให้หายได้ด้วยยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาการติดเชื้อ *Staphylococcus* ทั่วไป และหากเชื้อ MRSA แพร่กระจายทำให้เกิดการระบาดขึ้นในโรงพยาบาล จะส่งผลกระทบรุนแรงต่อผู้ป่วยและโรงพยาบาล

เชื้อ MRSA ดื้อต่อยากลุ่ม Penicillin และยากลุ่ม β-lactams อื่นๆซึ่งการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่ม β-lactams ต่อเชื้อจะทำโดยยาจะเข้าจับกับเอนไซม์ที่เรียกว่า PBP ในเชื้อ *Staphylococcus* ซึ่ง PBP ทำหน้าที่เกี่ยวกับปฏิกิริยา Transpeptidation และCarboxypeptidation ซึ่งสำคัญสำหรับ Cross Linking ของ Peptidoglycan Back Bone ในผนังเซลล์ของแบคทีเรียโดย β-lactam ออกฤทธิ์ทำให้ PBP ทำงานไม่ได้จึงเกิดการแตกสลายของชั้น Peptidoglycan ส่งผลให้เชื้อตาย เชื้อ *Staphylococcus 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 ต่ำจึง

มีผลทำให้ PBP2a ในเชื้อดื้อยาทำหน้าที่แทน PBP ปกติ จึงทำให้ β-lactam ออกฤทธิ์ไม่ได้ซึ่งยีนส์ที่ควบคุมการสร้าง PBP2a คือ *mecA* ส่วนการดื้อยาในกลุ่ม Macrolides ไม่แตกต่างจากการดื้อยากลุ่มอื่น คือมีการเปลี่ยนแปลงเป้าหมายการลดการนำยาเข้าสู่เป้าหมายซึ่งอาจเป็นการลดการซึมผ่านหรือการขับยาออกจากเซลล์และทำให้ยาหมดฤทธิ์ (ภาวิณี อุ่นกอง, 2554)

การแบ่งประเภทตามกลไกการดื้อยาของเชื้อ MRSA

1. True Methicillin-Resistant *Staphylococcus 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 ดื้อยาโดยการสร้างPBP2a จากยีนส์ *mecA*

2. BorderlineOxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA)

การดื้อยาของเชื้อ BORSA มีลักษณะที่แสดงออกแบบ Non-heterogeneous มีระดับค่า MIC ของยา Oxacillin น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 μg ต่อml แต่ต่อมาภายหลังพบว่าเชื้อดังกล่าวดื้อต่อยา Oxicillin เพิ่มขึ้นโดยมีระดับค่าMIC อยู่ระหว่าง 2-8 μg ต่อml 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

3. Modified-Resistant *Staphylococcus 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 105สิ่งส่งตรวจ ระหว่างปี ค.ศ. 1994-1996 พบผู้ติดเชื้อสายพันธุ์ MODSA จำนวน 22 สิ่งส่งตรวจ คิดเป็นร้อยละ 21 เมื่อนำมาทดสอบความไวต่อยา Amoxicillin-Clavulanate, Ampicillin-Sulbactam และ Erythomycin พบว่า MODSA ทุกสายพันธุ์ไวต่อยาปฏิชีวนะดังกล่าว และไวต่อยา Chloramphenicol คิดเป็นร้อยละ 72 และมีระดับค่า MIC ของยา Oxacillim เท่ากับ 64 µg/ml

4. Methicillin-Aminoglycoside-Resistant *Staphylococcus 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)

การรักษาและการป้องกัน

การรักษาผู้ป่วยในรายที่เกิดฝีหนองขึ้น ยาต้านเชื้อแบคทีเรียอาจไม่สามารถผ่านผนังของฝีเข้าสู่รอยโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นการรักษาโรคติดเชื้อกลุ่ม *staphylococcus* ที่เป็นฝีหนองควรต้องเจาะระบายหนองและเนื้อเยื่อเน่าตายในตำแหน่งที่ติดเชื้อออก หรือทำการล้างทำความสะอาดแผลที่ติดเชื้อ ร่วมกับการให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสม ในปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนสำหรับป้องกันการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ส่วนหนึ่งเป็นผลจากเชื้อปัจจัยก่อโรคที่หลากหลาย การทดสอบในสัตว์ทดลองพบว่าสาร polysaccharide จากแคปซูลของเชื้อ *Staphylococcus aureus* มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจนที่สามารถกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีได้ดี แต่ยังจำเป็นต้องทำการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมต่อไปสำหรับการใช้ในคน (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และ วัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553. ; ภัทรชัย กีรติสิน, 2552)

โรคติดเชื้อที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่พบบริเวณผิวหนังของคน พบอุบัติการณ์การติดเชื้อในผู้ป่วยที่มีการใส่อุปกรณ์ทางการแพทย์เข้าสู่ร่างกาย เช่น สายสวนปัสสาวะ ลิ้นหัวใจเทียม การใช้เครื่องช่วยหายใจ การให้สารน้ำทางเลือด เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในโรงพยาบาล (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553)

การวินิจฉัยแยกเชื้อ *Staphylococcus epidermidis*

เชื้อ *Staphylococcus epidermidis* จะให้ผลไวต่อยาโนโวไบโอซิน มีวงใสๆขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 16 – 27 มิลลิเมตร และการทดสอบฟอสฟาเทส จะให้ผลบวก (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553)

2. กลุ่มไพโอจินิกสเตรปโตค็อกไค (*pyogenic streptococci*)

เชื้อกลุ่มนี้ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อที่ทำให้เกิดอาการอักเสบ มีไข้ และเป็นหนอง มีการสลายเม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่เป็นแบบบีตา-ฮีโมไลซิส และสามารถจำแนกตาม Lancefield grouping ได้ เนื่องจากที่ผนังเซลล์จะมีคาร์โบไฮเดรต ประกอบด้วยเชื้อหลายชนิด ได้แก่ *Streptococcus pyogenes* (group A B - hemolytic streptococci)

เชื้อ *Streptococcus pyogenes*

เชื้อ Streptococci ส่วนใหญ่ที่ประกอบด้วยแอนติเจนของ Group A จะเป็น *Streptococcus pyogenes* ซึ่งเป็นเชื้อ ที่เก่าแก่ที่ก่อโรคในมนุษย์ เชื้อ *Streptococcus pyogenes* เป็นเชื้อก่อโรคหลักในมนุษย์และทำให้เกิดการบุกรุกเฉพาะบริเวณหรือทั่วร่างกาย รวมทั้งทำให้เกิดความผิดปกติทางภูมิคุ้มกัน

ลักษณะโดยทั่วไปของเชื้อ

เชื้อจะมีรูปร่างกลมหรือรีและมีการเรียงตัวเป็นโซ่ การแบ่งตัวของเชื้ออาจแบ่งใน แนวตั้งฉากกับแกนยาวของสายโซ่ ส่วนใหญ่ของสายโซ่อาจแตกออกเป็นลักษณะ Diplococci ในบางครั้ง อาจเห็นเป็นลักษณะคล้ายท่อน ความยาวของสายจะแตกต่างกันและขึ้นกับสภาพแวดล้อม เชื้อ Streptococci จะติดสีแกรมบวก อย่างไรก็ตาม ถ้าเชื้อมีอายุมากหรือเชื้อตายจะสูญเสียความสามารถในการติดสี แกรมบวกและอาจพบเป็นสีแกรมลบ ใน Streptococci บางตัวสามารถเกิดการเปลี่ยนสีหลังจากบ่มข้ามคืน

การเพาะเลี้ยง

เชื้อ Streptococci สามารถเจริญในอาหารแข็งเห็นเป็นโคโลนีลักษณะคล้ายจาน เส้นผ่านศูนย์กลาง 1-2 มิลลิเมตร เชื้อ *Streptococcus pyogenes* จะเกิด ß-hemolysis ส่วนในสปีชีส์อื่นจะให้รูปแบบของ hemolysis ที่แตกต่างกัน

ลักษณะการเจริญ

เชื้อจะมีการใช้กลูโคสเพื่อสร้างพลังงานและจะได้กรดแลคติคเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย การเจริญของ Streptococci จะไม่ดีนักในอาหารแข็งหรืออาหารเหลว แม้กระทั่งมีการส่งเสริมการเจริญในเลือดหรือ ในสารที่ได้จากเนื้อเยื่อก็ตาม ความต้องการสารอาหารของเชื้อจะแตกต่างกันในแต่ละสปีชีส์ โดยเฉพาะ เชื้อที่ก่อโรคในมนุษย์มักจะต้องการปัจจัยที่ใช้ในการเจริญจำนวนมาก การเจริญและการเกิด hemolysis จะเกิดได้ดีถ้าบ่มในสภาวะที่มี CO_2 ร้อยละ 10 เชื้อก่อโรคที่ทำให้เกิด hemolysis จะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เชื้อ Streptococci จะเป็น Facultative anaerobe สามารถเจริญได้ทั้งสภาวะ Aerobe และ Anaerobe ได้ ยกเว้น Peptostreptococci ที่จัดเป็น Obligate Anaerobe

ความหลากหลายของเชื้อ

ความหลากหลายของเชื้อสามารถเห็นได้จากความแตกต่างของลักษณะโคโลนีของเชื้อ ซึ่งส่วนใหญ่มักพบในสายพันธุ์ของ *Streptococcus pyogenes* โดยจะพบลักษณะโคโลนี 2 ลักษณะ คือ โคโลนีที่มีลักษณะ เป็นผิวด้านหรือโคโลนีที่มีลักษณะเป็นมันวาว โคโลนีที่เห็นลักษณะเป็นผิวด้านเกิดจากเชื้อที่สร้าง M Protein จำนวนมากและมักจะเป็นสายพันธุ์ที่มีความรุนแรง ส่วนโคโลนีของ *Streptococcus pyogenes* ที่เป็นมันวาว เกิดจากเชื้อที่สร้าง M Protein จำนวนน้อย และมักจะไม่รุนแรง

การก่อโรคของเชื้อ *Streptococcus pyogenes*

1. โรคคออักเสบ (Pharyngitis หรือ Streptococcal Sore Throat) เชื้อ *Streptococcus pyogenes* เป็นสาเหตุสำคัญในการก่อให้เกิดโรคคออักเสบเป็นอันดับหนึ่งที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย พบบ่อยในเด็กอายุ 5-15 ปี ในคนปกติจะพบเชื้อนี้อาศัยอยู่ในลำคอประมาณ ร้อยละ 15-20 โดยไม่ก่อให้เกิดโรค โรคคออักเสบจะมีอาการเจ็บคอ ต่อมทอนซิลบวมโตมีสีแดง อาจมีหนอง เป็นไข้ ไอ ปวดศีรษะ ต่อมน้ำเหลืองใต้คางโต บางครั้งอาจลุกลามถึง หูชั้นกลาง ทำให้เกิดหูชั้นกลางอักเสบ (Otitis Media) และเกิดโรคปอดบวมได้

2. กลุ่มอาการติดเชื้อบริเวณผิวหนัง (Pyodermal Infection) ได้แก่ ผิวหนังอักเสบ (Impetigo) ไฟลามทุ่ง (Erysipelas) เซลล์และเนื้อเยื่ออักเสบ (Cellulitis)

2.1 ผิวหนังอักเสบ (Impetigo) เป็นการติดเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ที่บริเวณ ผิวหนัง พบในเด็กอายุ 2-5 ปี การติดเชื้อมักเริ่มจากมีตุ่มน้ำเล็กๆ ที่ผิวหนัง แล้วจะแตก ออกเป็นตุ่มหนอง มักเกิดขึ้นบริเวณหน้า แขนและขา

2.2 ไฟลามทุ่ง (Erysipelas) เป็นโรคติดเชื้อที่เกิดบริเวณชั้นผิวหนังและ เนื้อเยื่อชั้นใต้ผิวหนัง (Subcutaneous Tissue) จะมีอาการไข้ ปวดศีรษะ หนาวสั่น

อาเจียน ที่บริเวณผิวหนังจะอักเสบบวมแดงแล้วลุกลามอย่างรวดเร็ว มักพบภายหลังจากการเป็นโรคคอ อักเสบที่เกิดจากการติดเชื้อ *Streptococcus pyogenes* (Streptococcal Sore Throat)

2.3 เซลล์และเนื้อเยื่ออักเสบ (cellulitis) เป็นการติดเชื้อลึกลงใต้ชั้นผิวหนัง เมื่อมีบาดแผล ทำให้ผิวหนังบวมแดง และมีการลุกลามสู่ต่อมน้ำเหลืองอย่างรวดเร็ว ทำให้มีอาการไข้

3. ไข้ดำแดง (Scarlet Fever) เกิดจากเชื้อ *Streptococcus pyogenes* สายพันธุ์ที่มีการสร้าง สเตรปโตค็อกคัลไพโอจินิกเอกโซทอกซิน ผู้ป่วยจะมีอาการผื่นขึ้นเฉียบพลันเป็นปื้นแดง เริ่มจากทรวงอก คอ แขน ขา บางรายอาจพบจุดเลือดออก (Petechiae) ในคนผิวคล้ำอาจพบ ลักษณะขรุขระคล้ายกระดาษทราย (sandpaper) ไม่พบขึ้นแดง รอบปากจะมีสีขาว ผู้ป่วยมัก เจ็บคอและคอแดงร่วมด้วย

4. กลุ่มอาการช็อกที่เกิดจากสารพิษของเชื้อสเตรปโตค็อกคัส (Streptococcal Toxic Shock Syndrome: STSS) เกิดจากการติดเชื้อ *Streptococcus pyogenes* สายพันธุ์ที่สร้างสเตรปโตค็อกคัลไพโอจินิกเอกโซทอกซิน ผู้ป่วยจะมีอาการคล้ายกับกลุ่มอาการช็อกที่เกิดจากสารพิษ ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* (Toxic Shock Syndrome: TSS) โดยจะมีอาการเป็นผื่นแดง ระบบหายใจ ล้มเหลว อุจจาระร่วง ช็อกและอาจเสียชีวิตได้

5. ภาวะไข้หลังคลอด (Puerperal Sepsis) เกิดจากการติดเชื้อที่กล้ามเนื้อมดลูก (Endometrium) ในระหว่างคลอด ทำให้เชื้อแพร่เข้าสู่กระแสเลือด

6. อาการแทรกซ้อนภายหลังการติดเชื้อ *Streptococcus pyogenes* (post streptococcal sequelae) จะทำให้เกิดอาการแทรกซ้อน 2 โรค ได้แก่ ไข้รูมาติกชนิดเฉียบพลัน (acute rheumatic fever) และกรวยไตอักเสบชนิดเฉียบพลัน (acute glomerulonephritis)

6.1 ไข้รูมาติกชนิดเฉียบพลัน จัดเป็นโรคออโตอิมมูน (Autoimmune Disease) เกิดขึ้นภายหลังจากการเป็นโรคคออักเสบ มีสาเหตุจากการติดเชื้อ *Streptococcus pyogenes* มักพบในผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษาอย่างถูกต้องหรือผู้ป่วยที่เป็นโรคคออักเสบชนิดเรื้อรัง กลไกการเกิดโรคเนื่องจากร่างกายมีการสร้างแอนติบอดีต่อโปรตีนเอ็มของเชื้อ ซึ่งแอนติบอดีนี้ จะทำปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม (Cross Reaction) กับเนื้อเยื่อหัวใจ โดยเฉพาะลิ้นหัวใจ เกิดการ ทำลายเนื้อเยื่อหัวใจ ทำให้มีอาการกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ ลิ้นหัวใจอักเสบ ข้ออักเสบหลายข้อ โดยเฉพาะข้อใหญ่ๆ ได้แก่ ข้อเข่า ข้อเท้า ข้อศอก และมีผื่นแดงตามตัว แขน ขา ผู้ป่วยที่ เป็นโรคนี้ จะมีความแรงหรือไตเตอร์ของแอนติบอดีต่อสเตรปโตไลซินโอ (Antistreptolysin 0. ASO Titer) ในระดับสูง ใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการวินิจฉัยโรคไข้รูมาติกชนิดเฉียบพลันได้

6.2 กรวยไตอักเสบชนิดเฉียบพลัน เกิดขึ้นภายหลังจากการเป็นโรคคอ อักเสบหรือโรคพุพองตามผิวหนังที่เกิดจากการติดเชื้อ *Streptococcus pyogenes* สายพันธุ์เนไฟรโทจินิก (Nephritogenic Strain) มีกลไกการเกิดโรคคือ การเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน ที่เป็นตัวเชื้อและแอนติบอดี (antigen-antibody; Ag-Ab Complex) จะไปเกาะบริเวณ โกลเมรูไล (Glomeruli) ของไต ซึ่ง Ag- Ab complex จะไปกระตุ้นคอมพลีเมนต์ ทำให้เกิด การอักเสบของกรวยไต ไตบวม ไตทำงานผิดปกติ ความดันโลหิตสูง มีเลือดและโปรตีนใน ปัสสาวะ (Hematuria and Proteinuria) (อิส-ยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553; อรองค์ พริ้งศุลกะ, 2555)

สมุนไพรที่เกี่ยวข้อง

หม่อนพันธุ์เชียงใหม่ 60 (สำนักงานข้อมูลสมุนไพรคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2559)

ข้อมูลทั่วไป

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Morus* sp.

ชื่อวงศ์ : Moraceace

ชื่อสามัญ : Mulberry tree

ชื่ออื่น : หม่อน มอน (อีสาน) ซึมเอียะ(จีน)

ส่วนที่ใช้เป็นยา : กิ่งที่มีอายุ 3 ปี ขึ้นไป

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

- เป็นไม้พุ่มต้นสูงประมาณ 3-5 เมตร ใบเป็นใบเดี่ยว เปลือกต้นสีน้ำตาลแดง ออกเรียงสลับรูปรีกว้าง ปลายใบแหลม โคนใบมนและเว้าเป็นรูปหัวใจ ขอบใบจักเป็นฟันเลื่อย มีขนละเอียดกระจายทั่ว ดอก ออกเป็นช่อกระจุกตามซอกใบ แต่ละช่อประกอบด้วยดอกย่อยขนาดเล็กจำนวนมาก “ผล” ติดเป็นพวงหรือเป็นช่อรูปทรงกระบอ**ก** ผลอ่อนสีเขียวแล้วเปลี่ยนเป็นสีแดงอมชมพู เมื่อผลสุกเป็นสีดำสนิท รสชาติหวานหอมกรอบรับประทานอร่อยมาก มีดอกและติดผลดก ขยายพันธุ์ด้วยการตอนกิ่งและปักชำกิ่ง ผลสุกแปรรูปได้หลายอย่าง เป็นพืชตามธรรมชาติของหนอนไหม มีอายุ 80-100 ปี ถิ่นกำเนิดในแถบเอเชีย อยู่ในกลุ่มเดียวกับพืชตระกูลเบอรี่ เช่น บลูเบอรี่ ราสเบอรี่ เจริญเติบโตได้ดีตั้งแต่เขตอบอุ่นถึงเขตร้อน (สถานการณ์หม่อน กรมหม่อนไหม ยุทธศาสตร์ 5ปี (60-64) ปี 20ปี (60-79)

หม่อนเป็นพืชเศรษฐกิจที่เริ่มนิยมปลูกกันมากทางภาคเหนือและตะวันออกฉียงเหนือ นอกจากจะใช้เลี้ยงหนอนไหมแล้ว ยังสามารถนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆได้หลายอย่าง เช่น อาหาร เครื่องดื่มน้ำผลไม้ แยม ไวน์ ชาใบหม่อนและเครื่องสำอาง เป็นต้น

ภาพที่ 2 แสดงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของหม่อนสายพันธุ์ เชียงใหม่ 60 สวนสมุนไพร สจ. อ.มวกเหล็กถ่ายเมื่อ วันที่ 12 พ.ย. 2562 และ 18 เม.ย. 2563

หม่อน : Mulberry มี 3 สายพันธุ์ ได้แก่

1. White Mulberry : *Morus alba* L. ใบขนาดใหญ่ ผลเล็ก เมื่อสุกรสเปรี้ยว ไม่นิยมรับประทาน ใช้เลี้ยงไหม

2. Black Mulberry : *Morus nigra* L. ใบขนาดเล็ก ผลใหญ่ เมื่อสุกผลสีม่วง-ดำ รสเปรี้ยวอมหวาน นิยมรับประทาน

3. Red Mulberry : *Morus rubra* L. ใบขนาดใหญ่ ผลใหญ่เมื่อสุกผลสีแดง-ดำ รสหวานอมเปรี้ยว นิยมรับประทาน

ปัจจุบันมีการพัฒนาสายพันธุ์ Mulberry สำหรับรับประทาน มากกว่า 20 สายพันธุ์ เพื่อให้ได้ผลผลิตและปริมาณที่มีคุณภาพ ได้แก่สายพันธุ์เชียงใหม่ 60 นครราชสีมา 60 สกลนคร 72 ศีรษะเกษ 33 เป็นต้น

สารประกอบทางเคมี

หม่อนมีสารประกอบทางเคมีที่สำคัญหลายชนิด ได้แก่

1.สารกลุ่ม Alkaloids พบทั้งในใบและราก

2. สารกลุ่ม Flavonoids พบทั้งในใบ เนื้อไม้ กิ่ง และเปลือกราก

3. สารกลุ่ม Stilbenoids. พบทั้งในราก ใบ เปลือกไม้และลำต้น

4. สารกลุ่ม Terpinoids พบทั้งในกิ่ง

5. สารกลุ่ม Saponins พบในกิ่ง

6. สารกลุ่ม Tannins พบในกิ่ง

7. สารกลุ่ม Cardiac Glycosidesพบในกิ่ง

สรรพคุณ และรสยาไทย

ตำรายาไทย : ต้น รสหวาน ฝาด ใบ รสหวาน มัน ราก รสจืด ผล หวาน เปรี้ยว ทางการแพทย์แผนโบราณใช้ส่วนต่าง ๆ ของหม่อนเป็นยา เช่น ใบ กิ่ง ลำต้น เปลือกราก เป็นยาแก้ตัวร้อน ไอ กระหายน้ำ ยาระบาย ขับพยาธิเป็นต้น พบว่าในมัลเบอร์รี่ มีสารแอนโธไซยานินสูงมาก ช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันโรคมะเร็ง ลดการเกิดโรคเกี่ยวกับหลอดเลือดหัวใจ หากรับประทานผลสุกอย่างต่อเนื่อง จะช่วยลดการตายของเซลล์ประสาท ไม่เสี่ยงต่อการเป็นโรคอัลไซเมอร์ และบำรุงสายตาให้แจ่มใส ทางการแพทย์แผนไทย หม่อนเป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งที่ถูกใช้เป็นยาขับเหงื่อ บำรุงตับและไต เพื่อปรับสมดุลธาตุของร่างกายให้สมบูรณ์ (Wuttidhammavad W, 2007)

การศึกษาทางเภสัชวิทยา

1. ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (anti-bacterial activity)

MoHamed และคณะ (2013) ได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิดของสารสกัดหยาบ โดยเมทานอลกับแก่นและเปลือกไม้หม่อน ได้แก่ *Bacillus c ereus, Staphylococcus aureus, Eschericchia coli* ในหลอดทดลองโดยการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารสกัดด้วยวิธี disc diffusion agar

2. ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory activity)

Aditya-Rao และคณะ (2013)ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบในหนูขาวสายพันธุ์ Albino ด้วยวิธีการเหนี่ยวนำ ให้เกิดการอักเสบแบบเฉียบพลันโดยการฉีดคาราจีแนน (carrageenan-induced rat paw edenna) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในบริเวณอุ้งเท้าหลังข้างขวาของหนูขาว หลังจากได้รับสารสกัดหยาบส่วนเมธานอลส่วนคลอโรฟอร์มและ ส่วนปิโตรเลียมของใบหม่อน กลุ่มควบคุมเชิงบวกได้รับอินโดเมธาซิน (indonmethacin) ขนาด 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ด้วยการฉีดเข้าทางช่องท้อง และวัดปริมาตรของอุ้งเท้าหนูหลังจาก ฉีดคาราจีแนนที่ 1, 2 ,3 และ 4 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดหยาบ ส่วนเมธานอล ส่วนคลอโรฟอร์มและส่วนปิโตรเลียมของใบหม่อน ในขนาดเดียวกันคือ 200 และ 400มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ฉีดเข้าทางช่องท้องของหนูขาว แสดงฤทธิ์ต้านการอักเสบ บริเวณอุ้งเท้าของหนูขาวในทุกช่วงเวลาเช่นเดียวกับอินโดเมธาซิน โดยสารสกัดหยาบส่วนเมธานอลมีฤทธิ์ต้านการอักเสบมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบส่วนคลอโรฟอร์ม และสารสกัด หยาบส่วนปิโตรเลียมอีเทอร์ มีร้อยละยับยั้งเฉลี่ยของการอักเสบ คือ ร้อยละ41.32, 32.49 และ 25.66

3. ฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือด (anti-hyperlipidemic activity)

Ana และ Mauren (2010) ศึกษาผลของสารสกัดหยาบส่วนน้ำของใบหม่อนต่อการลดระดับไขมันในเลือดในภาวะ ที่มีไขมันในเลือดสูงในหนูขาว ที่ถูกเหนี่ยวนำ ให้มีระดับไขมันในเลือดสูงด้วยการได้รับอาหารร่วมกับ โคเลสเตอรอล โดยการป้อนทางปาก และให้สารสกัด หยาบส่วนน้ำของใบหม่อนขนาด โดย การป้อนทางปาก วันละ 1 ครั้ง ต่อเนื่อง 14 วัน และวัด ระดับโคเลสเตอรอลรวม (total cholesterol) แอลดีแอล โคเลสเตอรอล (low density lipoprotein cholesterol) เอช ดีแอลโคเลสเตอรอล (high density lipoprotein cholesterol) และไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ในเลือด พบว่าสาร สกัดหยาบส่วนนของใบหม่อน สามารถลดระดับ TC, LDL และ TG ซึ่งเป็นไขมันชนิดไม่ดีที่จะ นำไปสู่การเกิดภาวะหลอดเลือดแข็งตัว และสามารถเพิ่มระดับ HDL ซึ่งเป็นไขมันชนิดดีในหนูที่มีภาวะไขมันในเลือดสูงได้

4. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant activity)

Sonvong และ Prasitpuriprecha (2012) ได้ศึกษาถึงฤทธิ์ป้องกันอนุมูลอิสระไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (HO) ในหลอดทดลอง โดยวิธีการหาสารสกัดหยาบส่วนน้ำและส่วนเอธิลอะซิเตทของใบหม่อนที่ ความเข้มข้น 0.75, 12.5, 25, 50, 100, 200, 400 และ 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในเซลล์เพาะเลี้ยงเมลาโนมาของหนู สภาวะที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่า ทั้งสารสกัดส่วนน้ำและส่วน เอธิลอะซิเตท ความเข้มข้น 800 มีฤทธิ์ ป้องกันอนุมูลอิสระ H,0, มากที่สุด

5. ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด (hypoglycemic activity)

Wang และคณะ (2013) ได้ศึกษาฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดของผลหม่อนในหนูถีบจักร ซึ่งงดอาหารและน้ำนาน 8 ชั่วโมงก่อนทำการเหนี่ยวนำ ให้มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงด้วยสเตรปโตโซโทซิน (streptozolocin, STZ) ขนาด 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการ ฉีดเข้าทางช่องท้องของหนู โดยหนูถีบจักรที่จะนำมาทดสอบต้องมีค่า ระดับน้ำตาลในเลือด (fasting blood glucose, FBS) มากกว่า 10 มิลลิโมลต่อลิตร จากนั้นหนูจะได้รับสารสกัดส่วน เอธิลอะซีเตทของผลหม่อนขนาด 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม โดยการป้อนทางปาก วันละ 2 ครั้ง ต่อเนื่องเป็นเวลา 14 วัน กลุ่มควบคุมเชิงบวกได้รับเมทฟอร์มิน (nnetornin) ขนาด 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการป้อนทางปาก ทำการเก็บเลือด จากเส้นเลือดดำที่หางของหนูถีบจักร นำไปตรวจวัดค่า FBG พบว่าสารสกัดส่วนเอธิลอะซีเตทของผลหม่อนขนาด 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถลด ระดับน้ำตาลในเลือดในลักษณะที่สัมพันธ์กับขนาดของสารสกัด

6. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (anti-tyrosinase activity)

Chang และคณะ(2011) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลองของสารสกัดหยาบส่วนเอธานอลของกิ่งหม่อน โดยวิธี dopachrome พบว่า สารสกัดที่ความเข้มข้น 15, 30, 45 และ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ได้ร้อยละ 40, 60, 65, และ78 มีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) คือ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่ Kyungmee (2012) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลอง ด้วยวิธี dopachrome เหมือนกัน พบว่า IC_{50} สารสกัดหยาบส่วนเมธานอลของใบ และรากหม่อนต่อเอนไซม์ไทโรซิเนส มีค่าเท่ากับ 200, 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสารสกัดหยาบ ส่วนเมธานอลของผลหม่อนเป็น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

7. ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (cytotoxic activity)

Deepa และคณะ (2013) ได้ศึกษาความ เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมนุษย์ เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (HCT-15) และเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ในหลอดทดลอง ด้วยวิธี MTT ของสารสกัดหยาบส่วนเมธานอลของใบหม่อนที่ความ เข้มข้น 5-20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกลุ่มควบคุมเชิงบวก คือ ซิสพลาติน (Cisplatin) ที่ความเข้มข้น 0.5-10 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร ได้พบว่า สารสกัดหยาบส่วนเมธานอลของใบหม่อน สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งทั้ง 2 ชนิดได้โดยความ เข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น ส่งผลลดการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็ง และความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้ง เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และเซลล์มะเร็งเต้านมได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) คือ 13.8 และ 9.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ขณะที่ IC_{50} ของซิสพลาตินที่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และ เซลล์มะเร็งเต้านม คือ 1 และ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 1 สรุปฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของหม่อนและส่วนของพืชที่แสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา	ส่วนของพืชที่แสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา	เอกสารอ้างอิง
ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย	ใบ แก่นไม้ เปลือกไม้	Alisson *et. al.*, 2015 Mohamed *et. al.*, 2013
ฤทธิ์ต้านการอักเสบ	ใบ	Aditya- Rao *et. al.*, 2013 Choi and Hwang, 2015
ฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือด	ใบ	Ana and Mauren, 2012
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	ใบ ผล ราก	Somvong and Prasitpuriprecha, 2012

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา	ส่วนของพืชที่แสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา	เอกสารอ้างอิง
ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด	ใบ ผล	Marija *et. al.*, 2012 Sangthaweesuk *et. al.*, 2009 Wang *et. al.*, 2013
ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส	กิ่ง ใบ ผล ราก	Chang *et. al.*, 2011 Kyungmee, 2012
ความเป็นพิษต่อเซลล์ มะเร็งลำไส้ใหญ่(HCT-15) มะเร็งเต้านม (MCF-7)	ใบ	Chang *et. al.*, 2013

หม่อน เป็นพืชสมุนไพรที่ทางการแพทย์แผนไทย นำมาใช้ประโยชน์เป็นยา เพื่อแก้ร้อนในกระหายน้ำ ขับเหงื่อแก้ไอ แก้ไข้ ตัวร้อน แก้ธาตุไม่ปกติ บำรุงตับ ไต นอกจากนี้หม่อนยังเป็นพืชเศรษฐกิจและถูกนำมาแปรรูปเป็นอาหาร เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ทางด้านเครื่องสำอางชำระล้าง บำรุงผิวพรรณ เพื่อเพิ่มมูลค่าสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกร จากรายงานการศึกษาพบว่าหม่อนมีสารประกอบทางเคมีหลายชนิด ตามที่ได้กล่าวไว้ตอนต้น

อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

ความหมายของอนุมูลอิสระ คือ สารที่เกิดจากกระบวนการเผาผลาญอาหารในร่างกาย รวมถึงจากมลพิษต่าง ๆ จากสภาพแวดล้อม เช่น ฝุ่น ควันบุหรี่ ควันรถยนต์ โอโซน โลหะหนัก ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้ จะเข้ามาทำลายโครงสร้าง และหน้าที่ของผนังเซลล์ ก่อให้เกิดความผิดปกติเซลล์ถูกทำลายและเสื่อมได้เร็ว เกิดเป็นโรคชรา หรือแก่ก่อนวัย โรคภัยต่างๆ เกิดได้ง่ายขึ้น อาทิ โรคหลอดเลือด และ หัวใจขาดเลือด ร่วมถึงโรคที่เกิดจากความเสื่อมของระบบต่างๆ ในร่างกาย และสามารถเกิดการกลายพันธุ์ของเซลล์ที่ ที่พัฒนาไปสู่เซลล์มะเร็งได้

อนึ่ง ประเด็นสำคัญคือร่างกายจะสร้างอนุมูลอิสระนี้ตลอดเวลา เซลล์ต่างๆ จะเสื่อมลงเรื่อยๆแบบไม่มีวันหยุด ทำให้แก่ลงทุกวัน ร่างกายก็จะเสื่อมสภาพถดถอยลง ด้วยเหตุนี้ จึงจำเป็นต้องมีกลไกควบคุมสารนี้ เพื่อให้ลุกลามได้ช้าลง รวมทั้งการทำร้ายร่างกายช้าลงด้วย

ฮอรี่วิว (Halliwell,1991) ได้กล่าวว่า อนุมลูอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่อยู่ในวงอิเล็กตรอนวงนอกสุด (outer orbital) เนื่องจากการมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยว (unpaired electron) อยู่ในวงโคจรของโมเลกุลทำให้ไม่เสถียร ทำให้อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความไวในการ

เข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก โดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดมาใหม่จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (Chain reaction) ต่อกันไปเรื่อย ๆ โดยที่อนุมูลอิสระมีสมบัติเหมือนสารทั่วๆ ไป ตรงที่ความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิ ความเป็นกรดเบส (pH) และความชื้น เป็นต้น

โรเบิร์ต ฟลอยด์และ คัลเดอรอน (Roberfroid and Calderon,1995) ได้กล่าวว่า อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสภาวะที่เป็นกลางทางไฟฟ้า และอนุมูลในสภาวะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีทั้งที่เป็นประจุบวกและประจุลบ สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมลูอิสระ คือ อิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระจะแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล $R^{\bullet}$ แทนอะตอมหรือโมเลกุลขออนุมูลอิสระที่ไม่จำเพาะเจาะจง ซึ่งอนุมูลอิสระมีทั้งที่เป็นประจุบวก ($R^{\bullet +}$) เช่น อนุมูล pyridiny ($NAD^{+\bullet}$) และประจุลบ ($R^{\bullet -}$) เช่น อนุมูล superoxide ($O_2^{\bullet -}$) หรือเป็นกลาง เช่น อนุมูล peroxyl (ROO หรือ อนุมูล thiyl ($RS^{\bullet}$) เป็นต้น ซึ่งจากคำจำกัดความนี้ส่งผลให้อะตอมของธาตุและสารละลายหลายชนิดถูกจัดเป็นอนุมูลอิสระด้วย เช่น คลอรีนอะตอม ($Cl^{\bullet}$) และซิลเวอร์อะตอม ($Ag^{\bullet}$) เป็นต้น

อนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$), superoxide anion radical ($O_2^{\bullet -}$) เป็นต้น อนุมูลเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก การเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายกลไกที่แตกต่างกัน ดังนี้

ก. การแตกของพันธะโควาเลนซ์แบบไอโมไลซิส (imolysis)

$$A : B \longrightarrow A^{\bullet} + B^{\bullet}$$

ข. การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัว ให้แก่อะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า

$$A + e^{-} \longrightarrow A^{\bullet -}$$

ค. การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัว จากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า

$$A \longrightarrow A^{\bullet +} + e^{-}$$

อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องต่างๆในทางชีววิทยาที่สามารถเป็นตัวตั้งต้นทั้ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระได้อีกหลายชนิด สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือกลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (Reactive oxygen species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (Reactive nitrogen species, RNS) และกลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive chlorine species, RCS) สารบางชนิดสามารถจัดอยู่ได้ 2 กลุ่ม เช่น เปอร์ออกซีไนไตรท์ (peroxynitrite) ตัวอย่างอนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องแสดงในตารางที่ 1 (โอภา และคณะ, 2549)

ตารางที่ 2 อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง

อนุมูลอิสระ	**สารที่เกี่ยวข้อง**
Reactive oxygen species (ROS)	
Superoxide, Superoxide anion ($O_2^{-\bullet}$)	H_2O_2
Hydroxyl ($HO^{\bullet}$)	Ozone (O_3)
Hydroperoxyl ($HO_2^{\bullet}$)	Hypobromous acid (HOBr)
Peroxyl ($RO_2^{\bullet}$)	Hypochlorous acid (HOCl)
Alkoxyl ($RO^{\bullet}$)	Singlet oxygen ($O_2{}^1\Delta g$)
Carbonate ($CO_3^{-\bullet}$)	Organic peroxides (ROOH)
Carbon dioxide ($CO_2^{-\bullet}$)	Peroxynitrite ($ONOO^-$)
	Peroynitrous acid (ONOOH)
Reactive nitrogen species (RNS)	
Nitric oxide ($NO^{\bullet}$)	Nitrous acid (HNO_2
Nitrogen dioxide ($NO_2^{\bullet}$), ($NO_2^{-\bullet}$)	Nitrosyl cation (NO^+), Nitroxyl anion (NO^-)
	Dinitrogen tetroxide (N_2O_4)
	Dinitrogen trioxide (N_2O_3)
	Peroxynitrite ($ONOO^-$)
	Peroynitrous acid (ONOOH)
	Peroxynitrite ($ONOO^-$)
Reactive chlorine species (RCS)	
Atomic chlorine ($Cl^{\bullet}$)	Peroynitrous acid (ONOOH)

ที่มา : โอภา และคณะ (2549 น. 315-365)

ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation)

ก้าเซอร์ (Graces, 2006) ได้กล่าวว่า ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาที่โมเลกุลหรืออะตอมมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากวงโคจรให้กับโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน เรียกสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนว่า ตัวรีดิวซ์ (reducer agent) และเรียกสารที่ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนว่า ตัวออกซิไดซ์ (oxidizing agent) โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันมักจะเกี่ยวข้องกับออกซิเจน นอกจากนี้ออกซิเดชันยังหมายถึงการเสียไฮโดรเจนอะตอมออกจากโมเลกุลอีกด้วย ปฏิกิริยาออกซิเดชันและอนุมูลอิสระมีความเกี่ยวข้อง เนื่องจากปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดอนุมูลอิสระของสาร

ต่างๆได้หลายชนิด และอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารอื่นๆเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป

ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ

ฮัดสัน (Hudson, 1990)ได้กล่าว อนุมูลอิสระจะเกิดปฏิกิริยาที่เป็นแบบปฏิกริยาลูกโซ่ แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นแรกเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกสร้างหรือผลิตขึ้น เรียกขั้นตอนนี้ว่า ขั้นตอนอินนิทิเอชัน (Initiation Step) ขั้นที่สองเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระตัวอื่นต่อๆกันไป เรียกว่าขั้นพรอพาเกชัน (Propagation Step) และขั้นสุดท้าย เรียกว่า ขั้นเทอร์มิเนชัน (Termination Step) เป็นขั้นหยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระเป็นขั้นตอนที่มีการรวมกันของอนุมูลอิสระ 2 อนุมูล ได้เป็นสารที่มีความเสถียร

ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพ จะพบอนุมูลอิสระของออกซิเจนชนิดต่างๆ เกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา การเกิดอนุมูลอิสระเหล่านี้ มีสาเหตุมาจากปัจจัยต่างๆ ทั้งภายนอกและภายใน

1. อินนิทิเอชัน (Initiation Step**)**

โรเบิร์ต ฟลอยด์และ คัลเดอรอน (Roberfroid and Calderon,1995) กล่าวว่าอนุมูลอิสระเกิดมาจากกลไกต่างๆกันได้หลายวิธี คือ การแตกพันธะของโมเลกุลที่เรียกว่าฮอโมลิซิส (Hemolysis) หรือการแตกพันธะเนื่องจากแสง (Photolysis) หรือผลของรังสี (Radiolysis) หรือมาจากปฏิกิริยารีด็อกซ์ (Redox Reaction)ซึ่งปฏิกิริยาทั้ง 4 จัดเป็นกลไกพื้นฐานในการสร้างอนุมูลอิสระจากสาร บอนด์ โฮโมไลซิส (Bond Hemolysis) โมเลกุลของสารอินทรีย์ที่มีอิเล็กตรอนวงนอกสุด (Valence Electron) เป็นจำนวนคู่แล้วในทางทฤษฎีสามารถแยกออกจากกันให้ผลลัพธ์เป็นอนุมูลอิสระได้ เมื่ออยู่ในสภาวะที่อุณหภูมิปกติ การที่อิเล็กตรอนคู่ในพันธะโควาเลนซ์สามารถแยกจากกันทำให้อะตอมแต่ละตัวได้นั้น ต้องเป็นโมเลกุลที่มีพลังงานระหว่างพันธะที่อ่อนมาก เช่นไดซัลไฟด์ (Disulfide) และการเกิดปฏิกิริยาจะมีอัตราที่ช้ามาก จึงคาดว่าไม่น่าจะเกิดในระบบของสิ่งมีชีวิตได้ ตัวอย่าง Bond Homolysis แสดงดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ROOR} \longrightarrow 2\text{RO}^{\bullet}$$

โฟโตไลซิส (Photolysis)

เป็นการแตกพันธะของโมเลกุลจากการดูดพลังงานแสง เช่น แสงอัลตร้าไวโอเลต ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น ที่พบมากคือการแตกพันธะของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide, H_2O_2) กลายเป็นอนุมูลไฮดรอกซิลแรดิคัล (Hydroxyl radical, $HO^{\bullet}$) ในสิ่งมีชีวิตพลังงานแสงจะถูกดูดโดยโมเลกุลที่มีความไวต่อแสง เช่น รงควัตถุและสารแอโรมาติกคาร์บอนบางชนิด หลังดูดพลังงานแสงแล้วจะทำให้โมเลกุลนั้นอยู่ในสถานะที่กระตุ้น

(Excited State) จึงต้องมีการปลดปล่อยพลังงานออกมาเพื่อให้โมเลกุลกลับเข้าสู่สถานะพื้น (Ground State) เหมือนเดิม และวิธีหนึ่งของการคายพลังงาน คือ การแตกพันธะของโมเลกุลเกิดเป็นอนุมูลอิสระ 2 ตัว คือ

$$OCl \longrightarrow RO^{\cdot} + Cl^{\cdot}$$

$$(RCOO)_2 \longrightarrow 2RCOO$$

เรดิโอไลซิส (Radiolysis)

พลังงานจากรังสีชนิดต่างๆ เช่น รังสีแกมมา รังสีเอ็กซ์ และอิเล็กตรอนที่มีพลังงานสูงสามารถทำให้เกิดการแตกพันธะโควาเลนซ์ของโมเลกุลสารได้ โดยเฉพาะโมเลกุลจะให้อนุมูลประจุบวก ($H_2O^{\cdot +}$) และอนุมูลไฮดรอกซิลแรดิคัล ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นตัวที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์สูง ทำให้เกิดอนุมูลอิสระออกมามากมาย นอกจากนี้รังสียังทำให้เกิดอนุมูลอิสระได้โดยตรงจากสารองค์ประกอบเคมีของเซลล์อีกด้วย โดยเฉพาะสามารถก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันไม่อิ่มตัวในร่างกายสิ่งมีชีวิต ซึ่งปฏิกิริยานี้นับเป็นจุดเริ่มต้นที่สำคัญของปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ

2. ปฏิกิริยารีดอกซ์

ฮัดสัน (Hudson, 1990) กล่าวว่า ปฏิกิริยารีด็อกซ์หรือเรียกอีกอย่างว่าปฏิกิริยาออกซิเดชีน-รีดักชัน เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นทั่วไปในระบบทางชีววิทยา ปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันบางชนิดมีประโยชน์ แต่มปฏิกิริยาออกซิเดชันบางชนิดก่อให้เกิดความเสียหาย โดยสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระได้ ที่สำคัญคือโมเลกุลของอนุมูล Superoxide ($O_2^{\cdot -}$) ซึ่งเป็นสารมัธยันต์ (Intermediate) ในกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรียและเยื่อหุ้มนิวเคลียส นอกจากนี้ปฏิกิริยารีด็อกซ์ของไอออนโลหะในร่างกาย จัดเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการเกิดอนุมูลอิสระเช่นกัน โดยเฉพาะ ไอร์ออน (II) ไอออน (Fe^{2+}) และคอปเปอร์(II) ไอออน(Cu^{2+}) โดยไอออนโลหะเปรียบเสมือนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยารีดอกซ์

3. ขั้นพรอพาเกชัน (Initiation Step)

เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระมีการทำปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระของสารอื่น ซึ่งปฏิกิริยาจะดำเนินต่อๆกันไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ ได้อนุมูลอิสระชนิดใหม่ออกมาตลอดเวลา จัดเป็นการเปลี่ยนตำแหน่งของอิเล็กตรอนที่ไม่เข้าคู่ (Unpaired Electron) ซึ่งสามารถแบ่งกลไกของปฏิกิริยาในขั้นพรอพาเกชันได้ 3 ชนิด ที่มีความเกี่ยวของกับระบบทางชีววิทยาที่เกี่ยวกับสิ่งมีชีวิต ดังนี้

ก. การถ่ายทอดอะตอมหรือกลุ่มของอะตอม (Atom or Group Transfer)

จัดเป็นกลไกที่เกิดมากที่สุดในลำดับของพรอพาเกชัน โดยปฏิกิริยาจะเกี่ยวของกับการดึงไฮโดรเจน ดังสมการ

$$Cl^{\bullet} + RH \longrightarrow HCl + R^{\bullet}$$

$$R^{\bullet}_1 + R_2C \longrightarrow R_1Cl + R^{\bullet}_2$$

ข. การถ่ายทอดอิเล็กตรอน (Electron Transfer)

โรเบิร์ต ฟลอยด์และ คัลเดอรอน (Roberfroid and Calderon,1995) กล่าวว่า เป็นการถ่ายทอดอิเล็กตรอนจากอนุมูลอิสระที่เป็นกลางหรือมีประจุลบไปให้โมเลกุลที่ไม่ใช้อนุมูลอิสระ (Non-Radical Molecule) ซึ่งเป็นกลไกที่สำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชันไขมันในสิ่งมีชีวิต (Lipid Peroxidation)

ค. การเติมอนุมูลอิสระ (Addition of Radicals)

เป็นการเติมกลุ่มอนุมูลอิสระเข้าไปในโมเลกุลต่างๆ ดังสมการ

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet}$$

ตัวอย่างของปฏิกิริยานี้ ได้แก่ การเติมอนุมูลอิสระของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ปฏิกิริยาออกซิเดชันโมเลกุลของไขมัน (Lipid Peroxidation) เฟรนเกล (Frankel, 1979) ได้แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันแสดงดังสมการ

Chain Initiation :

$$L\text{-}H \longrightarrow L^{\bullet} + \text{radical} - H$$

Chain Propagation :

$$L^{\bullet} \longrightarrow L\text{-}O\text{-}O^{\bullet}$$

$$L\text{-}O\text{-}O^{\bullet} \longrightarrow L\text{-}O\text{-}O\text{-}H + L^{\bullet}$$

Chain Termination :

$$L^{\bullet} + L^{\bullet} \longrightarrow L - L$$

4. ขั้นเทอร์มิเนชัน (Chain termination)

เป็นขั้นหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ ประกอบด้วย กลไกหลัก 3 ชนิด คือ

ก. การรวมตัวกันของอนุมลูอิสระ (Homolinking and Cross-Linking of Radicals)

โรเบิร์ต ฟลอยด์และ คัลเดอรอน (Roberfroid and Calderon, 1995) ได้กล่าวว่าการรวมตัวกันของอนุมูลอิสระ เป็นการรวมตัวกันของอนุมูลอิสระ 2 โมเลกุล โดยการนำอิเล็กตรอนที่ไม่มีคู่ของแต่ละโมเลกุลอนุมูลอิสระมาสร้างพันธะกัน ได้เป็นสารโมเลกุลใหม่ที่มีพันธะรวมกัน หากเป็นการรวมตัวกันระหว่างอนุมูลอิสระ 2 โมเลกุลที่เป็นชนิดเดียวกัน เรียกโมเลกุลสารใหม่ว่า Homodimer แต่ถ้าเป็นการรวมตัวของอนุมูลอิสระต่างชนิดกันเรียก Heterodimer ซึ่งกลไกนี้เป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการสร้างสารชีวโมเลกุลที่มีความเสถียรขึ้นมาใหม่ภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น โปรตีนกรดนิวคลีอิก และไขมัน เป็นต้น การรวมตัวกันของอนุมูลอิสระเป็นสมการ

$$ROO^{\bullet} + L^{\bullet} \longrightarrow ROOR$$

$$2ROO^{\bullet} \longrightarrow ROO\text{-}OOR$$

$$R^{\bullet} \longrightarrow R\text{-}R$$

ข. การกำจัดอนุมูลอิสระ (Radical Scavenging)

คำว่า scavenge หมายถึง การกำจัดเอาขยะและสิ่งที่ไม่จำเป็นออกไป ซึ่งในกรณีนี้เปรียบอนุมูลอิสระได้กับสิ่งที่ไม่ต้องการ ซึ่งการกำจัดออกจะกระทำโดยสารกลุ่มหนึ่งที่เรียกว่า Scavenger หรือสารต้านออกซิเดชัน (Antioxidant) เช่น สารประกอบฟีนอลิกซึ่งจัดเป็น Radical Scavenger ที่มีประสทธิภาพ รวมทั้งวิตามินซี วิตามินอี วิตามินเอ เป็นต้น

ค. การถ่ายทอดอิเล็กตรอน (Electron Transfer)

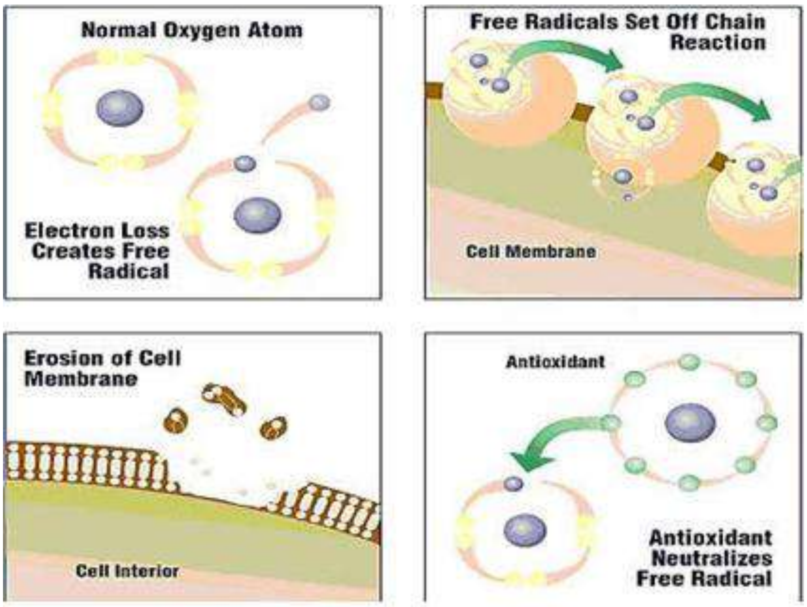
เป็นการถ่ายทอดอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่ของอนุมูลอิสระออกจากโมเลกุล หรือเป็นการรับเอาอิเล็กตรอน 1 ตัวจากภายนอกมาเข้าคู่กับอิเล็กตรอนเดิมที่ยังมีที่ว่างอยาในโมเลกุล ทำให้สภาวะการเป็นอนุมูลอิสระหมดไป เช่น อนุมูล Superoxide ($O_2^{\bullet-}$) เกิดการถ่ายทอดอิเล็กตรอนกลายเป็นโมเลกุลออกซิเจนปกติ (O_2) เป็นต้น

ความหมายของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ คือสารที่ทำหน้าที่ยับยั้งหรือลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งเป็นต้นตอของการเกิดอนุมูลอิสระ (free radical)ที่เป็นโทษต่อร่างกายหากร่างกายมีสารชนิดนี้เป็นจำนวนมากจะทำให้ระบบการทำงานต่าง ๆในร่างกายเสื่อมสภาพลงอย่างรวดเร็วเกิดอาการเจ็บป่วย หรือเป็นสารที่สามารถขจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกาย สารเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับ (Scavenge) สารต้านอนุมูลอิสระจะทำลายอนุมูลอิสระ

โดยการให้หรือรับอิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระจึงทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่สิ้นสุดลง แต่สารต้านอนุมูลอิสระจะไม่กลายเป็นอนุมูลอิสระเมื่อทำปฏิกิริยากันเนื่องจากจากตัวมันเองจะมีความคงตัวทั้งในรูปอิเล็กตรอนครบและอิเล็กตรอนขาดหรือเกิน สารต้านอนุมูลอิสระมีหลายชนิดทั้งที่ได้จากธรรมชาติและที่มนุษย์สังเคราะห์ขึ้นสารต้านอนุมูลอิสระในอาหารมีบทบาทสำคัญในการปกป้องสุขภาพ ซึ่งจากหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ทำให้ทราบว่าสารต้านอนุมูลอิสระนั้นสามารถลดการเสี่ยงสำหรับโรคเรื้อรังรวมไปถึงโรคมะเร็ง และโรคหัวใจ ต้นกำเนิดอันดับแรกของสารต้านอนุมูลอิสระนั้นส่วนใหญ่เกิดขึ้นในธรรมชาติโดยจะพบในผักและผลไม้

Lillian Langseth (1995) ได้กล่าวว่า ภาวะปริมาณอนุมูลอิสระที่มีมากเกินกว่าที่ระบบสารต้านอนุมูลอิสระจะจัดการได้ผลลัพธ์คือจะเกิดภาวะที่เรียกว่าความตึงเครียด (Oxidative stress) ขึ้นมาซึ่งจะส่งผลกระทบต่างๆต่อเซลล์สิ่งมีชีวิตภาวะที่เกิดขึ้นนี้เป็นสภาวะที่เกิดการขาดความสมดุลระหว่างอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากปัจจัยต่าง ๆ และสารต้านอนุมูลอิสระในภาพที่ 4 ได้แสดงถึงความสมดุลระหว่างอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นกับการป้องกันด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจากแผนภาพจะเห็นว่าแหล่งการเกิดของอนุมูลอิสระจะถูกถ่วงน้ำหนักอย่างเหมาะสมโดยการป้องกันด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ถ้าหากมีการผลิตอนุมูลอิสระที่เพิ่มมากขึ้นจากแหล่งใดแหล่งหนึ่งหรือระบบการป้องกันเกิดการลดลงจะทำให้ความสมดุลนี้เกิดภาวะความตึงเครียดได้



ภาพที่ 3 กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ

ที่มา : (chemical-engineering.com 2012, ออนไลน์)

แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งตามแหล่งที่มาได้ 2 ชนิด คือ

สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์

สารต้านอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้น จะประกอบไปด้วยสารประกอบจำพวกฟีโนลิก (Phenolic) สังเคราะห์ 5 ชนิดได้แก่ Propyl Gallate, 2-Butylated Hydroxyanisole, 3-butylated Hydroxyanisole, BHT (Butylated Hydroxytoluene) และ Tertiary Butylydroquinone เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันอันเป็สาเหตุให้อาหารมีกลิ่น สี สารสังเคราะห์เหล่านี้มีประสิทธิภาพและการคงตัวสูงกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติโดยทั่วไป แต่มีข้อจำกัด คือ ความปลอดภัยในการปริโรค

สารสต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ

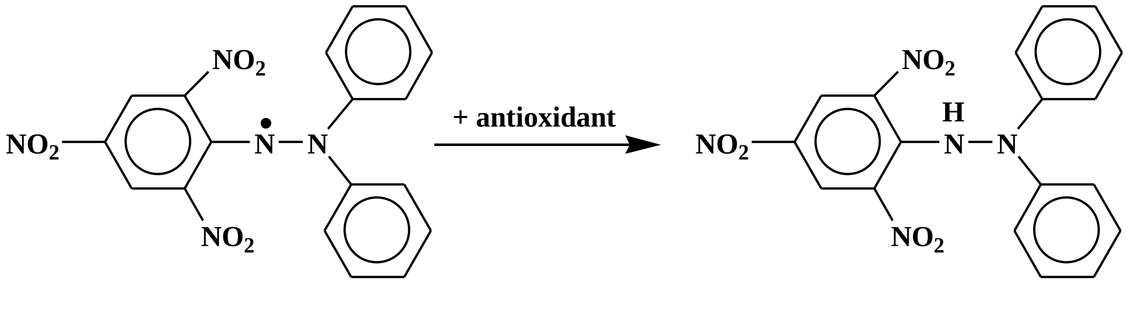
แวน เอเคอร์ และคณะ (Van acker *et. al.*, 2002) ได้กล่าวว่า สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติจะมีความสนใจและการพัฒนาค้นคว้าอย่างกว้างขวางมากในปัจจุบัน เนื่องจากมีแนวความคิดเรื่องกลับสารธรรมชาติและเชื่อในความปลอดภัย ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้พบได้ทั้งในจุลชีพ สัตว์ และพืชที่มีวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบตาแคโรทีน และสารที่ไม่มีคุณค่าทางโภชนาการ (Non-nutrient) ซึ่งมีโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก โดยเฉพาะพอลิฟีนอล เช่น แซนโทน และฟาโวนอยด์ ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของหมู่ Aromatic Hydroxyl ตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป โดยหมู่ที่ทำหน้าที่ (Functional Group) เหล่านี้มีคุณสมบัติในการดักจับอนุมูลอิสระต่างๆ ไม่ให้ไปกระตุ้นหรือก่อให้เกิดปดิริยาออกซิเดชันได้ ซึ่งทำให้อนุมูลอิสระ แก่อนุมูลอิสระเหล่านั้น

การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

ในการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระนั้นมีอยู่ด้วยกันหลายวิธีสำหรับการเลือกใช้แต่ละวิธีนั้นควรใช้เกณฑ์ในการพิจารณาโดยเรียงลำดับความสำคัญดังนี้ คือ ความเฉพาะเจาะจง ความคงตัว ความถูกต้องแม่นยำ ความสัมพันธ์ระหว่างวิธีวิเคราะห์กับอาการหรือโรค นอกจากนี้ควรคำนึงถึงความยากง่ายในการวิเคราะห์ เครื่องมือที่ใช้ กลไกของปฏิกิริยาและจุดยุติ เป็นต้น โดยรายละเอียดของแต่ละวิธีที่นิยมใช้ในการตรวจสอบหาสารต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นในผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Natural Product) ในงานวิจัยนี้ใช้วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals (DPPH) ซึ่งมีรายละเอียด ดังนี้

วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals (DPPH)

ฟิลิปมอลินิวซ์ (Philip Molyneux, 2004) กล่าวว่า DPPH คือ อนุมูลอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้อีกเพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ และเมื่อได้รับอะตอมไฮโดเจนจากโมเลกุลอื่นจะทำให้สารดังกล่าวไม่เป็นอนุมูลอิสระดังภาพที่ 5 ดังนั้นการศึกษาความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ จึงเป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการรวมตัวกับ DPPH ซึ่งอยู่ในรูปของอนุมูลอิสระที่เสถียรในตัวทำละลาย โดยในการทดสอบจะให้ DPPH (สีม่วงเข้ม) ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในระยะเวลาที่กำหนด แล้วจึงทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ซึ่งจะแปรผันกับความเข้มข้นของ DPPH ดังนั้นการลดลงของความเข้มข้นของ DPPH (สีอ่อนลง)จะบ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำการทดสอบ เมื่อไม่นานมานี้ได้มีตัวแปรอีกตัวหนึ่งที่ถูกแนะนำให้ใช้สำหรับการอธิบายผลการทดลองที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH คือ ค่า “Efficient Concentration” หรือค่า EC_{50} (หรืออีกชื่อหนึ่งเรียกค่า IC_{50}) ซึ่งค่านี้หมายถึงค่าความเข้มข้นของสารตั้งต้น (Substrate) หรือในที่นี้ก็คือสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถทำให้อนุมูลอิสระ DPPH ลดลงครึ่งหนึ่งหรือร้อยละ 50



Diphenylpicrylhydrazyl (free radical) **Diphenylpicrylhydrazine (nonradical)**

ภาพที่ 5 การเกิดปฏิกิริยาระหว่าง DPPH radical กับสารต้านอนุมูลอิสระ

ที่มา : (Philip Molyneux, 2004)

วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

Dilution Susceptibility Test หรือ การทดสอบ MIC

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Dilution Test จะเป็นการทดสอบในเชิงปริมาณ เพราะสามารถทราบค่าความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรที่ทำลายเชื้อได้ นิยมใช้

ทดสอบเชื้อที่เจริญได้ช้า หรือใช้ทดสอบยืนยันผล วิธี Diffusion ที่ให้ความไวปานกลางหรือดื้อยา เพื่อทดสอบว่าจะสามารถใช้สารสกัดสมุนไพร นั้นในปริมาณสูงๆ ได้ และใช้ทดสอบความไวของเชื้อรา ที่ไม่ใช้อากาศในการดำรงชีพ (Anaerobe) หลักการโดยทั่วไปของวิธีทดสอบแบบ Broth และ Agar Dilution Susceptibility test จะคล้ายคลึงกัน คือ จะเจือจางสารสกัดสมุนไพรใน Medium ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นจึงใส่เชื้อลงใน หรือ บน Medium ที่มีสมุนไพร ภายหลังการบ่มเพาะให้ดูค่า MIC ทั้งนี้โดยสังเกตความขุ่นหรือใสของ Broth และมีหรือไม่มีเชื้อเจริญขึ้นบน Agar

Broth Dilution Test

เป็นการทดสอบหาความไวของเชื้อต่อสมุนไพรที่ละเอียดวิธีหนึ่ง การทดสอบนี้จะทำให้ ทราบทั้ง MIC และ MBC ของสมุนไพรนั้นๆ กับเชื้อแบคที่เรียที่ทำการทดสอบ หลักการโดยทั่วไปของวิธีนี้คือ เลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวซึ่งมีสารสกัดสมุนไพรในปริมาณต่าง ๆ กันผสมอยู่ และสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อ

วิธีการทำ Broth Dilution Test

วิธีการนี้ยังสามารถแบ่งเป็น Macrodilution (หรือ Tube) test และ Microdilution Dilution Test

Broth Macrodilution Test จะทำในหลอดทดลอง โดยทำการเจือจางสารสกัดสมุนไพร Stock Solution ด้วยตัวเจือจาง หรือด้วย Broth ในลักษณะลดลงทุก 2 เท่า (2-fold Serial dilution) ไปเรื่อย ๆ ปริมาตรสุดท้ายที่อยู่ในหลอด เท่ากับ 0.5 มิลลิลิตร และต้องมีหลอดควบคุมที่ไม่ มีสารสกัดสมุนไพรด้วย

เตรียมเชื้อที่ทดสอบให้ได้ขนาด โดยอาจใช้วิธีเทียบความขุ่นกับ McFarland เบอร์ 0.5 หรืออาจใช้การวัดความขุ่นด้วย spectrophotometer แล้วเจือจางลงเพื่อให้ได้ขนาดเชื้อที่

Broth Microdilution Test ทำใน Microtiter Plate 96-well โดยเจือจาง Stock Solution ด้วย Broth แบบ 2-fold Serial Dilution มีหลุมควบคุมเป็น Broth ที่ไม่มีสารสกัดสมุนไพร ในแต่ละหลุมจะมีปริมาตรเท่ากับ 50 ไมโครลิตร จากนั้นใส่เชื้อที่ปรับขนาดแล้ว (ใช้เชื้อประมาณ 105 CFU/มิลลิลิตร) 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมแล้วปิดฝาก่อนนำไปบ่ม จากนั้นอ่านค่า MIC โดยดู ความขุ่นด้วยตาเปล่า หรือ อาจใช้สารบางอย่างที่สามารถบ่งชี้การเจริญของเชื้อได้เพื่อให้อ่านค่าได้ง่ายขึ้น

วิธีการทดสอบ Microbicidal Activity

การทดสอบ MBC หรือ MFC จะทำต่อเนื่องจากการหาค่า MIC ซึ่งนิยมทำจาก Broth Dilution Test โดยการ Subculture เชื้อ จาก Broth ที่ไม่มีเชื้อขึ้นตั้งแต่ช่วงค่า MIC ขึ้นไป streak บน agar plate เพื่อให้เปรียบเทียบได้ชัดขึ้น ควรเพาะจากหลอด control ที่ไม่มีสารสกัด

สมุนไพรด้วย จากนั้นนำ plate ไปบ่มแล้วดูการเจริญของเชื้อเพื่ออ่านค่า MBC หรือ MFC โดยที่ความเข้มข้น ดังกล่าวจะต้องไม่มีเชื้อขึ้นหรือเกือบไม่มีเชื้อขึ้น (ร้อยละ 99.9 ของเชื้อถูกฆ่า)

Agar Dilution Test

เป็นการทดสอบความไวของเชื้อแบบปริมาณวิเคราะห์โดยมีหลักการทดสอดคล้ายคลึงกับ broth dilution method ต่างกันเพียงชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่านั้น กล่าวคือทำการทดสอบโดยการเจือจางสารทดสอบในอาหารวุ้น และถ่ายเชื้อลงบนผิวของอาหารวุ้น ข้อดีของวิธีนี้คือ สามารถทำการทดสอบเชื้อหลายชนิดบนอาหารเลี้ยงเชื้อจานเดียวกันได้ วิธีนี้สามารถหาค่า MIC ได้ แต่ไม่สามารถหาค่า MBC หรือ MFC ได้ ค่าความเข้มข้นของสารที่น้อยที่สุดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อเป็นค่า MIC

วิธีการทำ Agar Dilution Test

นำ stock solution มาเจือจางด้วยน้ำหรือตัวเจือจางที่เหมาะสมจนได้ความเข้มข้นเป็น 10 เท่า ของความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบ แล้วจึงใส่ใน agar medium ซึ่งหลอมไว้ (45-50 องศาเซลเซียล) การเตรียมขนาดเชื้อด้วยวิธีการเดียวกับที่ทำใน broth dilution test แต่เจือจางขนาดเชื้อลงให้ได้ขนาดเชื้อซึ่งเมื่อแตะลงบน agar แล้วให้ได้เชื้อประมาณ 1×104 ตัวต่อจุด เมื่อแตะเชื้อลงบน agar ทดสอบแล้ว ต้องทิ้งให้ซึมหมดก่อนคว่ำ plate นำไปบ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียสนาน 16-20 ชั่วโมง (เชื้อที่เจริญช้าอาจให้นานมากกว่า 48 ชั่วโมง) แล้วอ่านค่า MIC ที่ความเข้มข้นที่จะต้องไม่มีเชื้อขึ้นเลย

Agar Diffusion Test

วิธีที่ใช้แพร่หลายมากที่สุด คือ Disc Diffusion Method (Kirby-Bauer) เนื่องจากสะดวก ประหยัด และใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่นๆ วิธีนี้เป็นการทดสอบในเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลได้ว่าเชื้อมีความไวต่อการทดสอบหรือไม่ ไม่อาจทราบค่า MIC หรือ MBC หรือ MFC ได้ ที่ไม่เหมาะในการทดสอบเชื้อที่เจริญช้า และเชื้อราที่ไม่ใช้อากาศในการดำรงชีพ หลักการทั่วไปคือ การทำให้สารสกัดสมุนไพร ที่มีในแผ่นกระดาษกรอง (Paper Disc) ที่เตรียมไว้ก่อนซึมไปในอาหาร เลี้ยงเชื้อที่ได้กระจายเชื้อ (Spread) ในจำนวนที่เหมาะสมไว้ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงให้เชื้อเจริญเติบโต อ่านผลการทดสอบโดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition Zone ซึ่งจะเห็นเป็นวงใสไม่มีโคโลนีเชื้อรอบๆ แผ่น Disc ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแปรตามขนาดของ Inhibition Zone วิธีการนี้โดยทั่วไปมักทำการทดสอบสมุนไพรเพียงความเข้มข้นเดียว และใช้เป็นการตรวจกรองฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในเบื้องต้น นอกจากขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใสที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวของเชื้อที่ทดสอบแล้ว ยังอาจขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ขนาดโมเลกุลของสารสกัดสมุนไพร ความสามารถในการละลาย หรือซึมไปใน

อาหารเลี้ยงเชื้อของสมุนไพร อัตราการเจริญของเชื้อ ภาวะความเป็นกรด-ด่าง และส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ ตลอดจนระยะเวลาในการเพาะเชื้อ

สำหรับแหล่งรองรับสมุนไพร (Drug Reservoir) ที่ใช้ มักใช้เป็นกระดาษซับวงกลม (Filter Paper Dish) หรืออาจเรียกว่า Dish Sensitivity Test หรือ อาจเป็นหลุมที่เจาะลงในเนื้อ Agar

วิธีการทำ Agar Diffusion Test

เตรียมเชื้อเพื่อใช้ในการทดสอบโดยเพิ่มจำนวนเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด เหลว วัดความขุ่นของเชื้อเพื่อให้ได้จำนวนเชื้อราเหมาะสมกับการทดสอบแล้ว Spread เชื้อบน Mueller-hinton Agar ให้ทั่ว จุ่มกระดาษกรองปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ในสารละลายสกัดสมุนไพร และวางลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อควรทำกลุ่มควบคุม คือ กระดาษกรองปลอดเชื้อที่จุ่มในตัวทำละลายสมุนไพรด้วย หรืออาจใช้วิธีการเจาะหลุม (hole – plate diffusion) (เส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) แล้วหยดสารละลายสมุนไพรลงไปประมาณ 30 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มเชื้อนาน 72 ชั่วโมง แล้ววัดเส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition Zone โดยเทียบกับกลุ่มควบคุมบวกที่ใช้ Disc ยาปฏิชีวนะที่ทราบปริมาณยาที่แน่นอน

การแปรผลของวิธีนี้จะสามารถบอกได้เพียงว่าสมุนไพรที่ความเข้มข้นนั้นๆ สามารถ ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้มากหรือน้อยตามขนาดของบริเวณที่ใสเท่านั้น และอาจใช้การ เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่เกิดจากยาปฏิชีวนะมาตรฐานก็ได้ (ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร, พิทัย กาญบุตร และสาธร พรตระกูลพิพัฒน์, 2551)

สบู่เหลว

สบู่เหลว หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่เตรียมขึ้นในรูปของเหลว หรือลักษณะผง ซึ่งเมื่อใช้ ตามที่ระบุบนฉลาก ก็จะสามารถชำระล้างคราบไข ฝุ่นละออง เหงื่อไคล และสิ่งสกปรกออกจากผิวหนังภายนอกร่างกายได้ โดยไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ สบู่เหลวเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการทำความสะอาดและรักษาผิวหนัง ที่ใช้บ่อยที่สุดสำหรับโรคเกี่ยวกับผิวหนัง มีการพัฒนา ผสมผสานระหว่างเทคโนโลยีทางด้านเครื่องสำอาง และการรักษาทางด้านการแพทย์ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์บำรุงรักษาผิวหนัง และให้มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคหรือคุณสมบัติทางยา

สบู่เหลวประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิว ใช้ขจัดสิ่งสกปรกออกจากผิวหนัง สามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ ดังนี้

1. สบู่เหลวแท้ : สบู่เหลวที่มีเกลือโซเดียม เกลือโพแทสเซียม เกลือแอมโมเนีย หรือเกลือแอมีนของกรดไขมันของน้ำมัน หรือไขมันจากพืช และหรือสัตว์เป็นองค์ประกอบสำคัญ

2. สบู่เหลวผสม: สบู่เหลวที่มีสบู่เหลวแท้กับสารลดแรงตึงผิว สังเคราะห์ ผสมอยู่ด้วย

3. สบู่เหลวสังเคราะห์: สบู่เหลวที่มีสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์เป็นองค์ประกอบสำคัญ

ตารางที่ 3 คุณลักษณะทางเคมีของสบู่เหลว ตามมาตรฐานเลขที่ มอก.1403-2251

		สบู่เหลวแท้	**สบู่เหลวผสม**	**สบู่เหลวสังเคราะห์**
1	ไขมันทั้งหมด ร้อยละโดยน้ำหนักไม่น้อยกว่า	15	12	ไม่กำหนด
2	ความเป็นกรดด่าง	8-11	4-8	8-10
3	ด่างอิสะ(คำนวณเป็น NaOH) ร้อยละโดยน้ำหนักไม่เกิน	0.05	0.05	0.05
4	สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ ร้อยละโดยน้ำหนัก ไม่น้อยกว่า	2.0	2.0	2.0
5	สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ ร้อยละโดยน้ำหนัก ไม่น้อยกว่า	ไม่กำหนด	ไม่กำหนด	8

ธเนศวร นวลใย เจลอาบน้ำสูตรชุมชนบ้านเต่า มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลรัตนโกสินทร์ 2558

ลักษณะของสบู่เหลว

สบู่เหลว มีชื่อเรียกได้หลายชื่อขึ้นอยู่กับลักษณะที่เห็น ถ้าเป็นลักษณะ**ใส**มีความหนืดอาจเรียกว่า เจลอาบน้ำ (Shower gel) หากเป็นลักษณะ**ครีมขุ่น**จะนิยมเรียกว่าสบู่เหลว (Liquid bath soap) ถ้าเป็นลักษณะที่เป็น**ครีมข้นมีความหนืด** เรียกว่า ครีมอาบน้ำ (Shower cream) การเรียกชื่อจะขึ้นอยู่กับลักษณะของเนื้อสบู่เหลวที่ผลิตออกมา

หน้าที่หรือสมบัติที่ดีของสบู่เหลว มีดังนี้ (พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. 2544)

1. สามารถทำความสะอาดเส้นผมและหนังศีรษะได้อย่างหมดจด

2. เมื่อใช้สระผมไม่ทำให้เส้นผมเหนียว หวียากเส้นผมหลังสระต้องลื่น อ่อนนุ่มเป็น ประกายแวววาวและยืดหยุ่นตัวได้ดี

3. ไม่ทำลายไขมันตามธรรมชาติของเส้นผม ไม่ทำให้ผมแห้งกรอบ หรือทำให้หนังศีรษะแห้งจนเกินไป

4. เกิดฟองปริมาณมาก สม่ำเสมอ ฟองคงทนบนผมแม้ขณะที่มีน้ำมันหรืสกปรกมาก

5. ล้างออกได้ง่ายโดยน้ำธรรมดา และน้ำกระด้าง

6. ไม่ทำให้เกิดการแพ้หรือการระคายเคืองหรือผิวหนังอักเสบหรือผมร่วง

7. ไม่ทำให้แสบตาหรือเป็นอันตรายต่อเยื่อตา

8. มีกลิ่นหอม ไม่ก่อให้เกิดความระคายเคือง

9. มีความคงตัวที่ดี สี กลิ่น และความหนืดไม่เปลี่ยนแปลงแม้เมื่อถูกแสงแดด

การตั้งตำรับสบู่เหลว

ควรประกอบด้วยสารที่ทำหน้าที่หลักอย่างน้อย 3 ประการ

1. สารลดแรงตึงผิวหลัก (Principle or primary surfactants)

ได้แก่ สารชำระล้าง (Detergents) ซึ่งทำหน้าที่ทำความสะอาดเส้นผมและหนังศีรษะ การชำระล้างบางครั้งอาจเป็นชนิดประจุบวก ชนิดประจุลบ หรือชนิดไม่มีประจุ และชนิดแอนโฟเทอริก (Amphoteric) ก็ได้ ซึ่งสารแต่ละชนิดมีทั้งข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกันไป ไม่มีสารใดที่มีคุณสมบัติสมบูรณ์แบบตามสมบัติของแชมพูที่ดีข้างต้น การเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวนั้น ต้องคำนึงถึงความสามารถในการชำระล้าง คุณภาพของฟอง การระคายเคือง ผลต่อเส้นผม และการเข้ากันได้ดีกับสารอื่นในสูตร สี กลิ่น ความหนืด ความบริสุทธิ์ ไม่ก่อมลภาวะและควรคำนึงถึงราคาเป็นอันดับสุดท้าย

2. สารช่วยลดแรงตึงผิว (Auxiliary or secondary surfactants)

ได้แก่ สารที่ช่วยเสริมคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวหลักที่ขาดไปบางประการ เช่น ช่วย เพิ่มฟอง ช่วยเพิ่มการชำระล้าง ช่วยปรับสภาพของเส้นผม สารเหล่านี้เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ไม่นิยมใช้เดี่ยว ๆ ในแชมพูเพราะมีสมบัติไม่เต็มที่ตามต้องการ เช่น อำนาจการชำระล้างไม่เพียงพอ หรือ อำนาจการชำระล้างดีแต่เกิดฟองน้อย หรือทำให้เกิดการระคายเคือง เป็นต้น

3. สารเสริมผลิตภัณฑ์สบู่เหลว (Shampoo additives)

เป็นสารที่ช่วยเสริมให้ผลิตภัณฑ์สบู่เหลวมีสมบัติตามรูปแบบฟอร์มที่ต้องการ หรือช่วย เสริมความคงสภาพ ความสวยงาม ความน่าใช้ของผลิตภัณฑ์ ซึ่งได้แก่ สารแต่งสี สารแต่งกลิ่น สารทำให้ใส สารช่วยทำให้แชมพูข้น สารช่วยทำให้ทึบแสง สารปรับสภาพเส้นผมโดยการเคลือบมัน เป็นต้น

ส่วนประกอบที่สำคัญของสบู่เหลว

Texapon N 40	หัวเชื้อสบู่

Comperlan KD	เพิ่มความหนืด
Glycerin	ให้ความชุ่มชื่น
Hydantoin	สารกันเสีย
Perfume	น้ำหอม
Color	การตกแต่งสีสันให้ผลิตภัณฑ์น่าใช้
Water	
สารสกัดจากกิ่งหม่อน	ต้านอนุมูลอิสระ

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปฏิวิทย์ ลอยพิมาย และคณะ (2555)ได้ทำศึกษาการเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบ ฟีนอลิก รวมของเปลือกผลไม้ ได้ทำการเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของเปลือกผลไม้เหลือทิ้ง 10 ชนิด ได้แก่ ส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulata*) ส้มโอ (*Citrus maxima Merr.*) กล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum Linn.*) มะไฟ (*Baccaurea ramiflora Lour.*) แตงโม (*Citrullus vulgaris*) สับปะรด (*Ananas comosus Merr.*) แคนตาลูป (*Cucumis melo var.*) มะละกอ (*Carica papaya L.*) มะม่วงดิบ และมะม่วงสุก (*Mangifera indica L.*) ทำการวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (1,-1 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging และ total antioxidant capacity) และสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่า เปลือกมะม่วงดิบ (IC_{50} เท่ากับ 2.32) และมะม่วงสุก(IC_{50} เท่ากับ 2.31)มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระรวมสูงสุด เมื่อทำการศึกษาสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่า เปลือกมะม่วงดิบมีสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด เท่ากับ 72.8 mg GAE/กรัมน้ำหนักแห้ง ดังนั้นเปลือกมะม่วงดิบจึงเป็นแหล่งที่ดีของสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิก

ยลดา ศรีเศรษฐ์ และคณะ (2559) ได้ทำศึกษา ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของหม่อน โดยการทบทวนรายงานการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและสารประกอบทางเคมีรวมถึงความเป็นพิษและประโยชน์ของหม่อนพบว่า สารประกอบทางเคมีหลายชนิด ได้แก่อัลคาลอยด์ พบในใบ และราก ฟลาโวนอยด์พบในใบ เนื้อไม้ และเปลือกราก สติลบีนอยด์ พบในใบ เปลือกไม้ ลำต้น และราก ทางเภสัชวิทยามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย พบในใบ แก่นไม้ และเปลือกไม้ การต้านการอักเสบ พบในใบ การต้านอนุมูลอิสระ พบในใบ ผล และราก การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส พบในกิ่ง ใบ ผล และราก ดังนั้นเห็นได้ว่าฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของหม่อน มีศักยภาพและมีความเหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางยา และผลิตภัณฑ์ส่งเสริมสุขภาพ

บทที่ 3
การดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาการวิจัยแบบทดลอง (Experimental Research) ซึ่งผู้วิจัยได้ดำเนินการศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับวิธีการดำเนินการวิจัยตามลำดับ ดังนี้

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

สมุนไพร

ต้นหม่อนสายพันธุ์ เชียงใหม่ 60 ได้มาจากศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์บรมราชินีนาถ สระบุรี กรมหม่อนไหม กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และนำมาเพาะปลูกที่ ตำบลมวกเหล็ก อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี (ซึ่งกรมหม่อนไหมได้ตรวจสอบข้อมูล ณ แปลงที่ปลูกและแหล่งที่มาของต้นพันธุ์เชียงใหม่ 60 (เป็นชื่อที่เกษตรกรใช้เรียกในบางพื้นที่) เป็นสายพันธุ์เดียวกันกับ พันธุ์เชียงใหม่)

เครื่องมือ

1. เตาอบ (Oven, ยี่ห้อ Memmert, รุ่น UN 260)
2. เครื่องระเหยระบบสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator with cooling system, ยี่ห้อ Heidolph, รุ่น S/N 200020687 0215)
3. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, ยี่ห้อ Memmert, รุ่น WNB 14-45)
4. เครื่องอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS Spectrophotometer, ยี่ห้อ PG Instruments, รุ่น T80)
5. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, LABTECH)
6. เครื่องกวนสารให้ความร้อน (Hot Plate stirrer, ยี่ห้อ Jlabtech, รุ่น LMS - 100)
7. เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Balance 4 Position, ยี่ห้อ Mettlertoledo, รุ่น New classic MS)
8. เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 2 ตำแหน่ง (balance 2 position, ยี่ห้อ Mettlertoledo, รุ่น New classic MS)
9. เครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixers & Shakers, ยี่ห้อ Scientific Industries, รุ่น Vortex Genie 2)
10. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave, ยี่ห้อ Hirayama, รุ่น HVE 50)

11. ตู้บ่มเชื้อ (Cooled Incubator, ยี่ห้อ Velp scientifica , รุ่น FOC2251)
12. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuges, ยี่ห้อ Hettich, รุ่น MIKRO 220R)
13. อ่างอัลตราโซนิก (Ultrasonic bath, ยี่ห้อ witeg, รุ่น WUC-DO3H)
14. เครื่องวัดค่าหลายพารามิเตอร์ (Multi-parameter analyser , ยี่ห้อ Consort, รุ่น C3010)

วัสดุและอุปกรณ์

1. บีกเกอร์ (Beaker)
2. หลอดหยดสาร (Dropper)
3. กระบอกตวง (Graduated cylinder)
4. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)
5. ฐานตั้งเหล็ก (Base and stand)
6. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
7. กรวยกรอง (Hirsch funnel)
8. หลอดทดลอง (Test tube)
9. ตะแกรงวางหลอดทดลอง (Test tube rack)
10. ปิเปตต์ (Measuring pipette)
11. ลูกยางดูดสารเคมี (Rubber pipette bulb)
12. แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)
13. กรวยแยก (Separatory funnel)
14. ขวดก้นกลม (Round bottom flask)
15. กระดาษกรอง (Filter paper)
16. เตาไฟฟ้า (Hot plate)
17. ไมโครปิเปตต์ (Micropipette)
18. อะลูมิเนียมฟลอยด์ (Aluminium foil)
19. สติกเกอร์กระดาษ (Paper label)
20. ปากกาเคมี
21. 96 well microtiter plate
22. เพลส (Plate)
23. 6 mm paper disc
24. Loop

25. กระจกนาฬิกา (Watch glass)

สารเคมี

1. Distilled water
2. Sulphuric acid, H_2SO_4 ((A.R. grade) (QReC^{TM}, New Zealand)
3. Ethanol, C_2H_5OH, (A.R. grade) (Merck, Germany)
4. Lead (II) acetate, $(CH_3COO)_2$ Pb•$3H_2O$) (A.R. grade) (Ajax Finechem, Australia)
5. Sodium sulfate, Na_2SO_4), (A.R. grade) (Merck, Germany)
6. Formaldehyde, CH_2O (A.R. grade) (Carlo erba, Italy)
7. Ammonia solution, NH_3 (A.R. grade) (QReC^{TM}, New zealand)
8. Hydrochloric acid, HCl (A.R. grade) (Ajax Finechem, Australia)
9. Gelatin agar (Lab grade) (HiMedia Laboratories, India)
10. Potassium bromide, KBr (Ajax Finechem, Australia)
11. Potassium bromate, $KBrO_3$ (Panreac Quimica Sau, E.U.)
12. Ferric chloride or Iron (III) chloride hexahydrate, $FeCl_3$• $6H_2O$ (A.R. grade) (Merck, Germany)
13. Acetic acid, CH_3COOH) (A.R. grade) (Merck, Germany)
14. Mercuric (II) chloride, $HgCl_2$), (A.R. grade) (Ajax Finechem, Australia)
15. Cadmium iodide, CdI_2 (A.R. grade) (Sigma-aldrich, Spain)
16. Bismuth (III) nitrate, $Bi(NO_3)_3$•$5H_2O_2$, (A.R. grade) (Merck, Germany)
17. Ascorbic Acid, $C_6H_8O_6$, (A.R. grade) (Daejung, Korea)
18. Iodine, I_2, (A.R. grade) (Ajax Finechem, Australia)
19. Picric acid, $C_6H_3N_3O_7$, (A.R. grade) (USA)
20. Tannic acid, $C_{76}H_{52}O_{46}$, (A.R. grade) (Daejung, Korea)
21. Potassium iodide, KI, (A.R. grade) (Merck, Germany)
22. Sodium chloride, NaCl, (Lab grade) (Alpha chemika, USA)
23. 3,5-dinitrobenzoic acid), (A.R. grade) (Sigma-aldrich, Sweden)
24. Sodium hydroxide, NaOH), (A.R. grade) (Merck, Germany)
25. Dichloromethane, CH_2Cl_2), (A.R. grade) (Burdick & Jackson, Korea)
26. Potassium hydroxide, KOH), (A.R. grade) (Ajax Finechem, Australia)

27. Ether, $(C_2H_5)_2O$), (J.T. Baker, USA)
28. 3,5–dinitrosalicylic acid, $C_7H_4N_2O_7$, (A.R. grade) (Tokyo chemical Industry, Japan)
29. Sodium sulfite, Na_2SO_3 (Gammaco, Thailand)
30. Potassium sodium tartrate, $C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$ (A.R. grade) (Sigma-aldrich, Spain)
31. Hydrogen peroxide, H_2O_2 (Ajax Finechem, Australia)
32. α-naphthol, $C_{10}H_7OH$ (Sigma-aldrich, USA)
33. Muller - Hinton broth (Himedia, India)
34. Muller - Hinton agar (Oxoid, United Kingdom)
35. Ampicilin (Oxoid, United Kingdom)
36. Norfox (Oxoid, United Kingdom)

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมสารสกัดจากกิ่งและใบหม่อน

นำใบและกิ่งหม่อนสด จากต้นเดียวกัน ล้างทำความสะอาด จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิท จากนั้นนำมาลดขนาดโดยการหั่น แล้วนำไปหมักกับเอทานอลร้อยละ 70 เป็นเวลา 3 วัน และเขย่าขวดที่หมักสารวันละ 8 ชั่วโมง เมื่อครบ 3 วันแล้ว กรองเอาสารสกัดนำไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน จนได้สารสกัดเข้มข้น เก็บใส่ขวดทึบแสง ปิดสนิท ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อไว้ใช้ในการทดสอบต่อไป

3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกิ่งหม่อนและใบหม่อน โดยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay)

1. เตรียมสารละลายตัวอย่าง (stock solution) ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm โดยชั่งสารตัวอย่าง 0.1 กรัม ละลายในเอทานอล10 มิลลิลิตร และเตรียมสารละลาย DPPH ให้มีความเข้มข้น 0.2 mM

2. จากนั้นเตรียมสารละลายตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ (sample) ให้มีความเข้มข้นในช่วง 500 - 3,000 ppm จาก stock solution เข้มข้น 10,000 ppm โดยปิเปตต์เอทานอล และเติม DPPH radical ลงไปในสารละลายแต่ละความเข้มข้นในอัตราส่วน 1 : 1 (สารสกัด : DPPH)

3. ใส่ Sample ลงใน 96 well แล้วใช้เทคนิค Two-fold dilution

4. เติม DPPH ทุกหลุม 50 µl ที่มี Sample หลุมที่ H7-8 เติม DPPH 100 µl และ H10-12 เติม EtOH 100 µl

5. นำสารแต่ละความเข้มข้นไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยแต่ละความเข้มข้นทำการวัด 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน (ascorbic acid)

6. คำนวณ % radical scavenging จากสมการ และคำนวนหาค่า IC_{50} จากผลการทดลองที่ได้คำนวนหา % radical scavenging

$$\% \text{ radical scavenging} = [1-(A_{sample}/A_{control})] \times 100$$

เมื่อ A_{sample} = ค่า absorbance ที่วัดได้ของสารละลายที่ผสมกับ DPPH แล้ว

$A_{control}$ = ค่า absorbance ที่วัดได้ของ DPPH และตัวทำละลายที่ใช้

คัดเลือกสารสกัดจากกิ่งหรือใบของหม่อนจากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH method โดยเลือกสารสกัดที่มีค่า IC_{50} เฉลี่ยต่ำกว่า (ซึ่งแสดงถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่า) มาศึกษาในขั้นตอนต่อไป

3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคผิวหนังของสารสกัดจากกิ่งหรือใบหม่อน

3.3.1 การศึกษาความไวของเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธี Disk diffusion เชื้อที่ใช้ทดสอบมี ดั ง นี้ *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505, Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* DMST 20646 (MRSA) แ ล ะ *Streptococcus pyogenes* DMST 17020

1. นำเชื้อที่ต้องการทดสอบมาเกลี่ยเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller - Hinton agar (MHA)

2. เตรียม เอทานอลร้อยละ 95 และสารสกัดที่เจือจางด้วย เอทานอลร้อยละ 95 ให้มีความเข้มข้น 200, 400 และ 800 µL/ml

3. นำสารละลาที่ปรับความเข้มข้นแล้ว ปริมาตร 30 µL หยดลงบน perper disc ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที

4. วางแผ่นยา Ampicillin และ Norfloxacin บนอาหาร MHA ที่มีเชื้อ

5. วาง Paper disc ของสารสกัดและ เอทานอลร้อยละ 70 บนอาหาร MHA ที่มีเชื้อ

6. บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยใช้ Vernir caliper วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (Inhibition zone) รอบ paper disc

7. ทำซ้ำ 3 ครั้งต่อเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด

3.3.2. การศึกษาความไวรับของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผิวหนังต่อสารสกัดกิ่งหรือใบหม่อน โดยวิธี broth microdilution method

อ้างอิงตามวิธีของ Choi, J.-Y. et al. (2012) ทำโดยบ่มเชื้อ ~5x10^{7}CFU/ml ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว (Muller - Hinton broth, MHB) ที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.098 ถึง 800 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มเชื้อข้ามคืนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จึงได้ผล Minimal Inhibitory Concentration (MIC) มา ซึ่งค่า MIC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่มองเห็นได้ พิจารณาการยับยั้งเชื้อโดยการนำไปเทียบกับ well เลี้ยงเชื้อที่ไม่ใส่สารสกัดหรือ well ควบคุม

จากนั้นหาค่า Minimum bactericidal concentration (MBC) โดยนำ well ที่ไม่เห็นการเจริญของเชื้อจากการหาค่า MIC มาเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (MHA) หลังบ่มเชื้อ 24 ชั่วโมง อ่านค่า MBC คือค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ทำให้ปริมาณเชื้อลดลง 99% กล่าวคือไม่พบโคโลนีเจริญบนอาหาร MHA

3.4 การวิเคราะห์กลุ่มสารพฤกษเคมีในสารสกัดกิ่งหรือใบหม่อน

การเตรียมตัวอย่าง

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัด ใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือการเกิดตะกอน ดังนี้

การตรวจสอบแอนทราควิโนน (Antraquinones) ใช้วิธีการทดสอบของบอร์นทราเกอร์ (Borntrager’s test) ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก (sulfuric acid H_2SO_4) ร้อยละ 10 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร นาไปอุ่นในเครื่องต้มน้ำ (water bath) 5 นาที แล้วกรองส่วนที่ไม่ละลายออก และปล่อยที่อุณหภูมิห้องให้สารละลายเย็นลง นาสารละลายมาสกัดด้วยการเติมคลอโรฟอร์ม (chloroform) 5 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งไว้ให้แยกชั้น ดูดชั้นคลอโรฟอร์มออกมาเติมสารละลายแอมโมเนีย (ammonia-NH_3) ร้อยละ 10 จำนวน 3 หยด สารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีชมพูแดง แสดงว่ามีแอนทราควิโนน

การตรวจสอบเทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) ใช้การทดสอบของซาลโควสกี (Salkowski test) ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม สกัดสีออก ด้วยการเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าแล้ว ทิ้งไว้ให้เกิดการแยกชั้น ดูดชั้นของปิโตรเลียมอีเทอร์ออก ทำซ้ำ 3 ครั้ง แล้วเติมคลอโรฟอร์มปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Concentration H_2SO_4) จานวน 5 หยด สารละลายเกิดสีน้ำตาลแดงระหว่างรอยต่อ แสดงว่ามีเทอร์พีนอยด์

ตรวจสอบฟลาโวนอยด์ (Flavonols) ใช้การทดสอบของไคอาดินิน (Cyadinin test) ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายสารสกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 50 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ตัดลวดแมกนีเซียม (magnesium ribbon) ชิ้นเล็ก ๆ ใส่ลงไป 3 ชิ้น นาไปอุ่นในเครื่องต้มน้ำ (water bath) 5 นาที และหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (Concentration HC1) จานวน 5 หยด เขย่าให้เข้ากัน สารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีส้มแดง แสดงว่ามีฟลาโวนอยด์

การตรวจสอบซาโปนิน (Saponins) ใช้การทดสอบการเกิดฟอง (Frothing test) ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร นาไปอุ่นในเครื่องต้มน้า (water bath) 5 นาที นำมาเขย่าอย่างแรง สารละลายมีฟอง แสดงว่ามีซาโปนิน

การตรวจสอบแทนนิน (Tannins) ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องต้มน้ำ (water bath) 5 นาที กรองเอาส่วนที่ไม่ละลายออก หยดสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ร้อยละ 10 จำนวน 5 หยด ลงไปในของเหลวที่ได้จากการกรอง แล้วเขย่าให้เข้ากัน สารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีน้าเงินดำ แสดงว่ามีแทนนิน

การตรวจสอบแอลคาลอยด์ (Alkaloids)ใช้การทดสอบของดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's test) ชั่งสารสกัด0.2 กรัม ละลายด้วยกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ร้อยละ 2 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องต้มน้ำ (water bath) 5 นาที แล้วกรองเอาส่วนที่ไม่ละลายออก หยดน้ำยาดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) จำนวน 5 หยด แล้วเขย่าให้เข้ากัน สารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีส้มและมีตะกอน แสดงว่ามีแอลคาลอยด์ วิธีเตรียมน้ำยาดราเจนดอร์ฟ ชั่งโพแทสเซี่ยมไอโอไดด์ (potassium iodide) 16 กรัม บิสมัท (bismuth (III) nitrate) 0.85 กรัม ตวงน้ำกลั่นปริมาตร 80 มิลลิลิตร ผสมทั้ง 3 เข้าด้วยกัน นำส่วนผสมที่ได้มา ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมกรดอซิติกปริมาตร 10 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร

การตรวจสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiac glycosides) โครงสร้างพื้นฐานของคาร์ดิแอกไกลโคไซด์เป็นสารจำพวกสเตอรอยด์ มีสเตอรอยด์นิวเคลียส (steroid nucleus) คาร์บอนตาแหน่ง 17 มีวงแหวนแลกโตนที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated lactone ring) และมีน้ำตาลดีออกซี (deoxy-sugar) การทดสอบ ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม สกัดสีออกด้วย ปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าแล้ว ทิ้งไว้ให้เกิดการแยกชั้น ดูดชั้นของปิโตรเลียมอีเทอร์ออก ทำซ้ำ 3 ครั้ง ละลายสารสกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 80 ปริมาตร 6 มิลลิลิตร แล้วแบ่งใส่หลอดทดลองออกเป็น 3 หลอด

-หลอดที่ 1 ทดสอบสเตอรอยด์ (steroids) ด้วยวิธีการทดสอบของลีเบอร์แมน (Liebermann test) โดยเติมกรดแกลเชียลแอซีติก (glacial acetic acid) ปริมาตร 0.5

มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Concentration H_2SO_4) จานวน 3 หยด สารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำเงินและน้ำเงินเขียว แสดงว่ามีสเตียรอยด์

-หลอดที่ 2 ทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด (cardiac glycosides) ส่วนวงแหวนแลกโตนที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated lactone ring) ด้วยการเติมน้ำยาเคดเด (Kedde reagent) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน สารละลายเปลี่ยนเป็นสีม่วง แสดงว่ามีส่วนวงแหวนแล็กโทน

-หลอดที่ 3 ทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด (cardiac glycosides) ส่วนน้ำตาลดีออกซี (deoxy-sugar) ด้วยวิธีการทดสอบของเคลเลอร์คิเลียนิ (Keller-Kiliani test) โดยเติมสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) จำนวน 3 หยดลงในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากัน สารละลายเปลี่ยนเป็นสีดำ รินกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Concentration H_2SO_4) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ให้ค่อย ๆ ไหลลงข้างหลอด สารละลายปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก แสดงว่ามีส่วนน้าตาลดีออกซี (ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์, วรางคณา สบายใจ และสิริมาส นิยมไทย, 2556, น.726)

3.5 การตั้งตำรับสบู่เหลวจากสารสกัดกิ่งหรือใบหม่อน และศึกษาความคงตัวทางกายภาพของสบู่เหลว

3.5.1 นำค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่เลือกมา ที่สูงกว่าหรือเท่ากับ MBC และสูงกว่าค่า IC_{50} มาตั้งตำรับสบู่เหลว 4 สูตรตำรับ โดยใช้สารทำความสะอาดแตกต่างกัน ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 1 แสดงสูตรตำรับสบู่เหลว

ส่วนประกอบ	หน้าที่ของส่วนประกอบ	ปริมาณที่ใช้ (% w/w)	
		กลุ่มที่ 1 ใส่กลิ่น	กลุ่มที่ 2 ใส่สี ใส่กลิ่น
สารสกัดกิ่งหรือใบหม่อน	Active ingredient	สูงกว่า MBC	สูงกว่า MBC
Texapon N 40 หรือ Texapon NA	Primary surfactant	11.4	11.4
Comperlan KD	Thickener	3	3
Glycerin หรือ Propylene glycol	Emollient	3	3

Hydantoin	Preservative	3	3
Perfume	สารแต่งกลิ่น	qs	qs
Colorant	สารแต่งสี	-	qs
DI Water	ตัวทำละลาย	qs to 100%	qs to 100%

*หมายเหตุ : การปรับสูตรตำรับขึ้นกับผลการทดลอง

ขั้นตอนการตั้งตำรับสบู่เหลว

1. ชั่งสารต่างๆ ปริมาณตามที่กำหนดไว้ในตาราง
2. ผสม น้ำ, Texapon n-40, Comperlan KD และ Glycerin ผสมให้เข้ากัน
3. จากนั้นรอให้อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส แล้วเติม, DMDM hydantoin เกลือ และสารสกัดกิ่งหรือใบหม่อน
4. เติมสารแต่งสีและกลิ่น
5. เก็บสบู่เหลวที่ผสมเรียบร้อยแล้วไว้ในขวดภาชนะ เพื่อใช้สำหรับทำการทดลองต่อไป

3.5.2 นำสบู่เหลวทุกตำรับมาเก็บไว้ในที่ร้อนสลับเย็น โดยเก็บไว้ในตู้อบอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียล 24 ชั่วโมง และเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียล 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำเช่นนี้ 5 รอบ วัดคุณลักษณะทางกายภาพของสบู่เหลวทุกตำรับโดยวัดก่อนและหลังเก็บในที่ร้อนสลับเย็น (ก่อนเริ่มรอบที่ 1 และหลังสิ้นสุดรอบที่ 5) ดังนี้

1. ความหนืด ตรวจวัดด้วยเครื่อง Brookfield viscometer
2. pH ตรวจวัดด้วยเครื่อง pH meter
3. สี กลิ่น การแยกชั้น และการตกตะกอน ตรวจวัดโดยการสังเกต

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

1. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกิ่งหม่อนและใบหม่อน โดยวิธี 2,2-Diphenyl-1 -picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay) แสดงผลโดยใช้ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation)

2.การวิเคราะห์ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดกิ่งหม่อนด้วยวิธี Disk diffusion เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของกลุ่มตัวยาระหว่าง Norfloxacin Ampicillin และตัวยาจากกิ่งหม่อนแต่ละระดับความเข้มข้น 250, 500 และ1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้คอมพิวเตอร์โปรแกรมสำเร็จรูป ด้วยสถิติ Mann Witney U test

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

จากการศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่เหลวต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดกิ่งหม่อน พันธุ์เชียงใหม่ 60 โดยเตรียมสารสกัดจากใบและกิ่งหม่อนพันธุ์เชียงใหม่ 60 ซึ่งใช้วิธีหมักกับ เอทานอลร้อยละ 70 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกิ่งหม่อนและใบหม่อน โดยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay) และการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดสมุนไพรกิ่งหรือใบหม่อน โดยวิธี Disk diffusion เชื้อที่ใช้ทดสอบมีดังนี้ *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505, Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* DMST 20646 (MRSA) และ *Streptococcus pyogenes* DMST 17020 จากผลการทดสอบเบื้องต้นดังกล่าวพบว่าสารสกัดจากกิ่งหม่อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง สูงกว่าสารสกัดจากใบหม่อนอย่างชัดเจน จึงนำสารสกัดจากกิ่งหม่อนมาตรวจหากลุ่มสารพฤกษเคมี 7 กลุ่มได้แก่ แอนทราควิโนน (Antraquinones), เทอร์พีนอยด์ (Terpenoids), ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids), ซาโปนิน (Saponins), แทนนิน (Tannins), แอลคาลอยด์ (Alkaloids) และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiac glycosides) โดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสี หรือการตกตะกอน จากนั้นนำสารสกัดกิ่งหม่อนไปศึกษาฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังโดยวิธี Broth microdilution เพื่อให้ได้ค่า MIC และ MBC นำสารสกัดกิ่งหม่อนมาพัฒนาเป็นเวชสำอางคือสบู่เหลวต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรีย และวัดคุณลักษณะทางกายภาพของสบู่เหลวทุกตำรับโดยวัดก่อนและหลังเก็บในที่ร้อนสลับเย็น (เก็บในตู้อบอุณหภูมิ 45°C 24 ชั่วโมง และเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำเช่นนี้จำนวน 5 รอบ) โดยวัดความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield viscometer ตรวจวัด pH ด้วยเครื่อง pH meter และตรวจวัดสี กลิ่น การแยกชั้น และการตกตะกอน โดยการสังเกต และบันทึกลักษณะดังกล่าว ซึ่งแสดงผลการทดลองดังต่อไปนี้

4.1. ผลการเตรียมสารสกัดจากใบและกิ่งหม่อน

การเตรียมสารสกัดจากกิ่งและใบหม่อนสดของต้นหม่อนสายพันธุ์ เชียงใหม่ 60 ซึ่งได้จากกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และนำมาเพาะปลูกที่ตำบลมวกเหล็ก อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี มาล้างทำความสะอาด อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิท และลดขนาดโดยการหั่นแล้วนำไปหมักกับเอทานอลร้อยละ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 สำหรับใบหม่อน และอัตราส่วน 1 ต่อ 7 สำหรับกิ่งหม่อน ทำการหมักโดยเขย่าสลับหยุดพักเป็นเวลา 3 วัน

กรองสารสกัดกิ่งหม่อนและใบหม่อนที่ได้ และนำไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนจน ได้สารสกัดที่มีลักษณะเหนียวหนืดข้น และมีสีเขียวแก่อมน้ำตาลเข้ม ได้ร้อยละผลผลิต (% yield extract) ของสารสกัดดังแสดงในตารางที่ 5 บรรจุสารสกัดในขวดทึบแสง ปิดสนิท และเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อไว้ใช้ในการทดสอบต่อไป

ตารางที่ 1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดกิ่งหม่อนและใบหม่อน

ส่วนของสมุนไพร	**น้ำหนักสมุนไพรแห้ง (กรัม)**	**น้ำหนักสารสกัด (กรัม)**	**ร้อยละผลผลิตของสารสกัด (% w/w)**
ใบหม่อน	200	35.61	17.81
กิ่งหม่อน	800	85.50	10.69

4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกิ่งหม่อนและใบหม่อน โดยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay)

ตารางที่ 2 IC_{50} ของสารสกัดกิ่งหม่อนและใบหม่อน

ชนิดของสารสกัด	**IC_{50}* (Mean ± SD)**
สารสกัดใบหม่อน	มากกว่า 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**
สารสกัดกิ่งหม่อน	3.621 ± 0.472 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

* IC_{50} คือค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่จับอนุมูลอิสระ DPPH ได้ ร้อยละ 50

** เนื่องจาก การทดลองทั้ง 3 ครั้ง มีค่ามากกว่า 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแสดงว่าต้องใช้ปริมาณสารสกัดจากใบจำนวนมากถึงจะมีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดกิ่งและใบหม่อน โดยวิธี Disk diffusion

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดกิ่งหม่อน โดยวิธี Disk diffusion

เชื้อแบคทีเรีย	**Inhibition Zone (มิลลิเมตร)**					
	สารสกัดกิ่งหม่อน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			**Norfloxacin**	**Ampicillin**	**Negative (70% ethanol)**
	250	**500**	**1,000**			
Staphylococcus aureus DMST 8840	6.67 ± 1.15	7.00 ± 1.00	7.00 ± 0.50	10.00 ± 1.73	7.67 ± 0.76	-
Staphylococcus epidermidis DMST 15505	-	-	-	-	16.47 ± 0.15	-
Streptococcus pyogenes DMST 17020	8.07 ± 1.30	8.30 ± 1.57	9.90 ± 1.91	32.80 ± 1.39	19.33 ± 1.12	-
MRSA DMST 20646	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดใบหม่อน โดยวิธี Disk diffusion

เชื้อแบคทีเรีย	**Inhibition Zone (มิลลิเมตร)**					
	สารสกัดใบหม่อน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			**Norfloxacin**	**Ampicillin**	**Negative (70% ethanol)**
	250	**500**	**1,000**			
Staphylococcus aureus DMST 8840	-	6.83± 1.04	6.83±1.04	9.00±2.00	10.33 ±2.08	-
Staphylococcus epidermidis DMST 15505	6.67 ± 0.58	6.50±0.50	7.17 ± 0.76	8.33±1.53	7.83±0.76	-
Streptococcus pyogenes DMST 17020	-	-	6.17 ± 0.29	7.67±0.58	7.83±0.76	-
MRSA DMST 20646	-	-	6.33 ± 0.29	6.67±0.58	7.17±0.76	-

จากผลการวิจัยในข้อ 4.1 ถึง 4.3 พบว่าสารสกัดจากกิ่งหม่อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังเมื่อทดสอบด้วยวิธี disk diffusion สูงกว่าสารสกัดจากใบหม่อน จึงนำสารสกัดจากกิ่งหม่อนมาตรวจหากลุ่มสารพฤกษเคมี 7 กลุ่ม และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มเติมก่อนพัฒนาตำรับเวชสำอาง ดังนี้

4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญและฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดกิ่งหม่อน โดยวิธี Broth microdilution

ตารางที่ 5 MIC และ MBC ของสารสกัดกิ่งหม่อนต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังเมื่อทดสอบด้วยวิธี Broth microdilution

เชื้อแบคทีเรีย	MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	MBC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
Staphylococcus aureus DMST 8840	7.81	125
Staphylococcus epidermidis DMST 15505	1.95	>250
Streptococcus pyogenes DMST 17020	15.62	>250
MRSA DMST 20646	7.812 – 31.25	31.25

4.5. ผลการตรวจสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีในสารสกัดกิ่งหม่อน

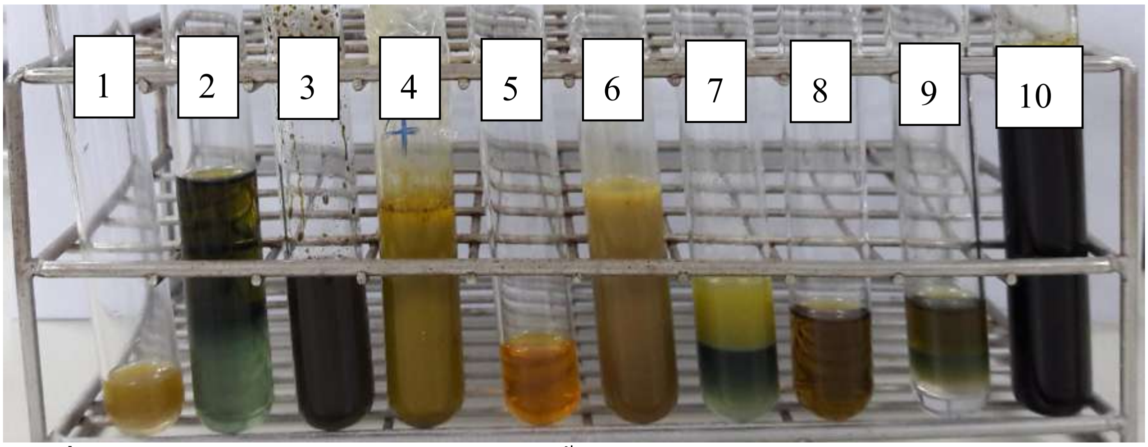
ตารางที่ 6 ผลการตรวจสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีในสารสกัดกิ่งหม่อน

ตรวจสอบกลุ่มสารสำคัญ	ผลการตรวจสอบ	ผลที่ได้
1. กลุ่มสารแอนทราควิโนน (Antraquinone)	ไม่มีการเปลี่ยนสีเป็นสีชมพูแดง	-
2. กลุ่มสาร เทอร์พีนอยด์ (Terpenoid)	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลแดงระหว่างรอยต่อชัดเจน แสดงว่ามีเทอร์พีนอยด์	+
3. กลุ่มสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)	เกิดสีส้มแดง แสดงว่ามีฟลาโวนอยด์	+
4. กลุ่มสารซาโปนิน (Saponin)	เขย่าให้เกิดฟองทิ้งไว้ 30 ฟองไม่มีฟองแสดงว่าไม่มีซาโปนิน	-
5. กลุ่มสารแทนนิน (Tannin)	เปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินดำ แสดงว่ามีสารแทนนิน	+
6. กลุ่มสารแอลคาลอยด์ (Alkaloid)	ไม่เกิดสีส้มและมีตะกอนแสดงว่าไม่มีแอลคาลอยด์	-

ตรวจสอบกลุ่มสารสำคัญ	ผลการตรวจสอบ	ผลที่ได้
7.1 สารสเตอร์รอยด์ (Steroids)	ไม่เกิดสีน้ำเงินและน้ำเงินเขียว แต่เกิดการแยกชั้นของสาร	-
7.2 วงแหวนแลกโตนที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated lactone ring)	ไม่เกิดสีม่วงและไม่เกิดการแยกชั้น แสดงว่าไม่มีคาร์ดิแอกไกลโคไซด์	-
7.3 น้ำตาลดีออกซี (deoxy-sugar))	ไม่เกิดวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก	-

หมายเหตุ - หมายถึงการตรวจสอบไม่พบสารพฤกษเคมี

\+ หมายถึงการตรวจสอบพบสารพฤกษเคมี



ภาพที่ 1 ผลการตรวจสอบกลุ่มสารพฤกษเคมี ดังนี้ (1) กลุ่มสารแอนทราควิโนน (2) กลุ่มสารเทอร์พีนอยด์ (3) กลุ่มสารฟลาโวนอยด์ (4) กลุ่มสารซาโปนิน (5) กลุ่มสารแทนนิน (6) กลุ่มสารแอลคาลอยด์ (7) สารสเตอร์รอยด์ (8) วงแหวนแลกโตนที่ไม่อิ่มตัว (9) น้ำตาลดีออกซี (10) ตัวเปรียบเทียบ

จากการตรวจสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีในสารสกัดกิ่งหม่อน พบว่ากลุ่มสารที่ตรวจพบคือ Terpenoids, Flavonoids และ Tannins

4.6 ผลการพัฒนาสูตรตำรับสบู่เหลวต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดกิ่งหม่อน

4.6.1 นำค่าความเข้มข้นของสารสกัดกิ่งหม่อนที่สูงกว่าหรือเท่ากับ MBC และสูงกว่าค่า IC_{50} มาตั้งตำรับสบู่เหลว 4 สูตรตำรับ โดยใช้สารเพิ่มความชุ่มชื้นและสารเพิ่มความหนืดแตกต่างกัน ดังแสดงตารางที่ 11

ตารางที่ 7 แสดงสูตรตำรับสบู่เหลวสารสกัดกิ่งหม่อน

ส่วนประกอบ	**ปริมาณที่ใช้ (% w/w)**			
	สูตร 1	**สูตร 2**	**สูตร 3**	**สูตร 4**
สารสกัดกิ่งหม่อน	5	5	5	5
Texapon N 8000	8	8	8	8
Glycerin	-	-	0.6	0.6
Propylene glycol	0.6	0.6	-	-
Sodium chloride	0.50	0.50	0.50	0.50
Hydantoin	0.6	0.6	0.6	0.6
Perfume	qs.	-	qs.	-
Colorant	qs.	qs.	qs.	qs.
DI Water	qs. to 100%	qs. to 100%	qs. to 100%	qs. to 100%

คุณสมบัติแต่ละสูตรตำรับที่พัฒนามีลักษณะดังนี้

- สูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 ใส่ Propylene glycol พบว่าสูตรนี้ มีลักษณะเหมือนกัน คือ สบู่เหลวใส สีเขียวอ่อนๆไม่หนืด และมีตะกอนเล็กน้อย เพียงแต่สูตร 2 มีกลิ่นหอม
- สูตรที่ 3 และสูตรที่ 4 ใส่ Glycerin พบว่าสูตรนี้ มีลักษณะเหมือนกัน คือสบู่เหลวใส เขียวอ่อนๆมีความหนืด และมีตะกอนเล็กน้อย เพียงแต่สูตร 3 มีกลิ่นหอม

จากคุณสมบัติและลักษณะดังกล่าวจึงนำทั้ง 4 สูตร ไปทดสอบทางกายภาพตามขั้นตอนต่อไป

4.7 ผลการทดสอบลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์สบู่เหลวสารสกัดจากกิ่งหม่อน ก่อนและหลังการเก็บในที่ร้อนสลับเย็น

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ตำรับสบู่เหลวสารสกัดกิ่งหม่อน

สูตร	**pH**		**ตะกอน**		**สี**	
	ก่อน	**หลัง**	**ก่อน**	**หลัง**	**ก่อน**	**หลัง**
1	5.053±0.021	4.863±0.006	-	มี	เขียวอ่อน	เขียวเข้ม
2	5.067±0.006	4.920±0.044	-	มี	เขียวอ่อน	เขียวเข้ม
3	5.293±0.095	4.960±0.010	-	มี	เขียวอ่อน	เขียวเข้ม
4	5.630±0.384	4.943±0.023	-	มี	เขียวอ่อน	เขียวเข้ม

การวัดค่า pH ของสบู่ พบว่าทั้งสูตร 1 2 3 และ 4 ก่อนการทดสอบ มีค่า pH เท่ากับ 5.053±0.021, 5.067±0.006, 5.293±0.095 และ 5.630±0.384 ตามลำดับ มีค่า pH เท่ากับ 4.863±0.006, 4.920±0.044, 4.960±0.010 และ 4.943±0.023 ตามลำดับ

การสังเกตการตกตะกอน พบว่าทั้งสูตร 1, 2, 3 และ 4 ก่อนการทดสอบ ไม่มีการตกตะกอน หลังการทดสอบ ทั้ง 4 สูตร มีการตกตะกอน

การสังเกตสี พบว่าทั้งสูตร 1 2 3 และ 4 ก่อนการทดสอบ มีสีเขียวอ่อน หลังการทดสอบ ทั้ง 4 สูตร มีสีเขียวเข้ม

บทที่ 5
สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดจากกิ่งหม่อนพันธุ์เชียงใหม่ 60

2. พัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่เหลวต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรีย จากสารสกัดกิ่งหม่อน มีผลการวิจัย ดังนี้

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดจากกิ่งและใบหม่อน
2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
3. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคผิวหนัง
4. การวิเคราะห์กลุ่มสารพฤกษเคมี
5. การตั้งตำรับสบู่เหลวและศึกษาความคงตัวทางกายภาพ

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษานี้พบว่า

1. ผลการเตรียมสารสกัดจากกิ่งและใบหม่อน โดยการหมักใน เอทานอลร้อยละ 70 เมื่อระเหยตัวทำละลายออกพบว่าสารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะเหนียวหนืดข้น และมีสีเขียวแก่อมน้ำตาลเข้ม ได้ร้อยละผลผลิตของสารสกัดกิ่งหม่อนเท่ากับ 10.69 และสารสกัดใบหม่อนเท่ากับ 17.81

2. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกิ่งและใบหม่อนโดย วิธี2,2Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging assay (DPPH assay)

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกิ่งและใบหม่อนพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดที่จับอนุมูลอิสระ DPPH ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) มีค่าเท่ากับ 3.621 ± 0.472 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมากกว่า 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lee-Wen Chang *et al.* (2011) ซึ่งได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลจากกิ่งและเปลือกรากของหม่อน โดยวิธี

DPPH radicals scavenging assay พบว่าสารสกัดจากกิ่งหม่อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงมากที่ความเข้มข้น 0 - 100 μg/ml โดยแสดงค่า Scavenging effects อยู่ในช่วง 0 - 37% และสอดคล้องกับการศึกษาของปัญญาดา ปัญญาทิพย์ และคณะ (2556) ซึ่งพบว่าสารสกัดใบหม่อนพันธุ์หมีมีค่า IC_{50} ต่ออนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 75.86 μg/ml ทั้งนี้คาดว่าสารกลุ่ม flavonoids ที่พบในสารสกัดกิ่งหม่อนส่งผลให้เกิดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจาก Pourmorad *et al.* (2006) พบว่าสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงจะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงด้วย

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดกิ่งและใบหม่อน

3.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดกิ่งหม่อนด้วยวิธี Disk diffusion

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดกิ่งหม่อนที่ความเข้มข้น 250, 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดกิ่งหม่อนทุกความเข้มข้น มีค่า Inhibition zone สูงสุดต่อเชื้อ *Streptococcus pyogenes* DMST 17020 รองลงมาคือเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840 แต่ไม่แสดง Inhibition zone ต่อเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505 และ MRSA DMST 20646 จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบหม่อนที่ความเข้มข้น 250, 500, 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดใบหม่อนทุกความเข้มข้น มีค่า Inhibition zone สูงสุดต่อเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* DMST 1550 มีค่า Inhibition zone ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840 ที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่แสดงค่า Inhibition zone ต่อเชื้อ *Streptococcus pyogenes* DMST 17020 และ MRSA DMST 20646 ที่ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเท่านั้น จึงเลือกใช้สารสกัดกิ่งหม่อนมาศึกษาในขั้นตอนต่อไป ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mohamed *et al.* (2013) ที่ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนเมทานอลของแก่นและเปลือกไม้หม่อน ในการยับยังเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และพบว่าสารสกัดจากแก่นและเปลือกไม้หม่อนมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดดังกล่าวได้ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดกิ่งหม่อนด้วยวิธี Broth microdilution

จากตารางแสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธี Broth microdilution พบว่าสารสกัดกิ่งหม่อนมีค่า MIC และ MBC ค่อนข้างต่ำต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* (7.812 และ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบด้วยวิธี Disk diffusion อาจกล่าวได้ว่าฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดกิ่งหม่อนมีความสัมพันธ์กับชนิดของกลุ่มสารพฤกษเคมีที่ตรวจพบในสารสกัด เนื่องจากสารกลุ่ม flavonoids สามารถ adhere กับเชื้อจุลินทรีย์และเกิด complex

กับผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ในขณะที่สารกลุ่ม terpenoids สามารถยับยั้งการส่งอิเล็กตรอนภายในเซลล์ ส่งผลให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ถูกยับยั้งและจุลินทรีย์ตายในที่สุด (Rojas *et al.*, 1992)

4. ผลการทดสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

จากการทดสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีในสารสกัดกิ่งหม่อน พบว่ากลุ่มสารที่ตรวจพบคือ terpenoids, flavonoids และ tannins ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ สุดารัตน์ หอมหวล (2553) ที่ระบุว่าสารที่พบในเนื้อไม้หม่อนคือ morin ซึ่งเป็นสารกลุ่ม Flavonoids ในลำต้นมี steroidal sapogenin ซึ่งเป็นสารกลุ่ม saponins และในเปลือกมี α-amyrin ซึ่งเป็นสารกลุ่ม Terpenoids ทั้งนี้สารสกัดกิ่งหม่อนพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ไม่พบสารกลุ่ม saponins อาจเนื่องจากภูมิประเทศและฤดูกาลปลูกซึ่งส่งผลต่อชนิดของสารพฤกษเคมีในกิ่งหม่อนที่นำมาทดสอบ

5. ผลการพัฒนาสูตรตำรับสบู่เหลวต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดกิ่งหม่อน

จากผลการพัฒนาสูตรตำรับสบู่เหลวต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดกิ่งหม่อน พบว่า สูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 ใส่ Propylene glycol พบว่าสูตรนี้ มีลักษณะเหมือนกัน คือสบู่เหลวใส สีเขียวอ่อนๆไม่หนืด และมีตะกอนเล็กน้อย สูตรที่ 3 และสูตรที่ 4 ใส่ Glycerin พบว่าสูตรนี้ มีลักษณะเหมือนกัน คือสบู่เหลวใส เขียวอ่อน ๆ มีความหนืด และมีตะกอนเล็กน้อย

6. ผลการทดสอบลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์สบู่เหลวสารสกัดจากกิ่งหม่อนก่อนและหลังการเก็บในที่ร้อนสลับเย็น

จากผลการทดสอบลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์สบู่เหลวสารสกัดจากกิ่งหม่อน ก่อนและหลังการเก็บในที่ร้อนสลับเย็นพบว่ามีค่า pH ของสบู่เหลวทั้ง 4 สูตร ก่อนทดสอบ มีค่า pH เท่ากับ 5.053±0.021, 5.067±0.006, 5.293±0.095 และ 5.630±0.384 ตามลำดับ และหลังทดสอบมีค่า pH เท่ากับ 4.863±0.006, 4.920±0.044, 4.960±0.010 และ 4.943±0.023 ตามลำดับ

การตกตะกอน พบว่าทั้ง 4 สูตร ก่อนทดสอบ ไม่มีการตกตะกอน หลังทดสอบ ทั้ง 4 สูตร มีการตกตะกอน เนื่องจากสารสกัดจากกิ่งซึ่งรวมถึงเปลือกมีน้ำยางปนอยู่ อาจเป็นที่มาของตะกอน

การสังเกตสี พบว่าทั้ง 4 สูตร ก่อนการทดสอบ มีสีเขียวอ่อน หลังการทดสอบ ทั้ง 4 สูตร มีสีเขียวเข้ม ทุกสูตรตำรับมีคุณลักษณะเป็นไปตามมาตรฐาน มอก. เอส 14-2561 สบู่เหลวสมุนไพร (2561) คือจะต้องมีค่า pH อยู่ที่ 4-8 อย่างไรก็ตามสูตรที่ดีที่สุดคือสูตร 3 เนื่องจากสูตร 3 และ 4 มีลักษณะใส ไม่แยกชั้น สีสม่ำเสมอ มีความหนืดพอเหมาะเมื่อทดสอบโดยการเอียงภาชนะ แต่สูตร 3 มีกลิ่นหอมกว่าสูตร 4 ในขณะที่สูตร 1 และ 2 มีความหนืดต่ำเกินไป เมื่อเอียงภาชนะพบว่ามีลักษณะเหลวคล้ายน้ำ

อภิปรายผลการวิจัย

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบหรือการตรวจสอบสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบกิ่งหม่อน ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70 พบสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และแทนนิน (Tannins) ซึ่งสารพฤกษเคมีกลุ่มฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีรายงานว่าสารสกัดจากพืชที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงจะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง (Pourmorad *et al.* ,2006) และสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์สามารถยับยั้งการส่งอิเล็กตรอนภายในเซลล์ ส่งผลให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ถูกยับยั้งและจุลินทรีย์ตายในที่สุด (Rojas *et al.*, 1992) อนึ่งงานวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mohamed *et al.* (2013) ที่ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนเมทานอลของแก่นและเปลือกไม้หม่อนในการยั้บยังเชื้อแบคทีเรีย

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาสารสกัดกิ่งหม่อนพันธุ์เชียงใหม่ 60 เป็นเวชสำอางทำความสะอาดร่างกาย คือสบู่เหลวที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง และเลือกสูตรที่ 3 เนื่องจากสูตรนี้ เมื่อได้ทดสอบทดสอบลักษณะทางกายภาพแล้วมีลักษณะเหลวใส มีกลิ่นหอม สีเขียวอ่อน ๆ มีความหนืดพอเหมาะ และมีตะกอนเล็กน้อย เนื่องจากกิ่งหม่อนมียาง ซึ่งยางเหนียวนี้ไม่สามารถละลายในน้ำได้ อนึ่ง สบู่สูตร 3 ค่าความเป็นกรดด่างไม่เปลี่ยนแปลงมากนักทั้งก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวโดยการเก็บในอุณหภูมิร้อนสลับเย็นเป็นเวลา 15 วัน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าผลิตภัณฑ์สบู่เหลวสารสกัดจากกิ่งหม่อนพันธุ์เชียงใหม่ 60 มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรีย และเป็นอีกหนึ่งทางเลือกของผลิตภัณฑ์ชำระล้างร่างกายที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียรวมถึงเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าของกิ่งหม่อนพันธุ์เชียงใหม่ 60 ต่อไปในอนาคต

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะการนำงานวิจัยไปใช้

ผลการวิจัยนี้สามารถบอกคุณภาพวิเคราะห์ของสารสกัดกิ่งหม่อนซึ่งสกัดด้วยวิธีการหมักในเอทานอลร้อยละ 70 ได้ และทราบว่าสบู่เหลวนี้มีคุณสมบัติชำระล้างร่างกาย สามารถต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรีย ได้อย่างเชิงประจักษ์

ข้อเสนอแนะครั้งต่อไป

ควรมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสารสกัดกิ่งหม่อนพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่แตกต่างกันออกไปนอกเหนือจากสบู่เหลวเช่น สบู่ก้อน แชมพูสระผม เจลอาบน้ำ เป็นต้น รวมทั้งมีการทดลองในอาสาสมัครเพื่อทดสอบคุณภาพและคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ ว่าให้ผลต่อสุขภาพผิวอย่างไร ซึ่ง

จะเป็นการนำวัตถุดิบเหลือใช้คือกิ่งหม่อนมาพัฒนาให้ได้ผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ ตลอดจนเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กิ่งหม่อนที่เกษตรกรต้องตัดทิ้งไปอย่างเปล่าประโยชน์

ข้อจำกัด

ไม่ได้วิเคราะห์เชิงปริมาณเพื่อหาปริมาณสารสำคัญแต่ละชนิดในสารสกัดกิ่งหม่อน (การตรวจสอบกลุ่มสารพฤกษเคมีเบื้องต้นเป็นเพียงคุณภาพวิเคราะห์)

บรรณานุกรม

ฐานิดา รองสุพรรณ และสมใจ ขจรชีพ. (2560). ปริมาณแอนโทไซยานินฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากซังข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงด้วยวิธีการสกัดแบบ อัลตราโซนิก. **วารสารวิจัยราชภัฏพระนคร สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. *14* (1). 47-61.

เทียนทิพย์ กสิกรณ์, ปัญญดา ปัญญาทิพย์, ชวลิต โยงรัมย์, อรวรรณ ดอกเกี๋ยง, บรรลือ สังข์ทอง และเพลินทิพย์ ภู่ทองกิ่ง. (2562). ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวมและเมลาโทนินของใบหม่อน 5 พันธุ์. **วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก**. *17* (3). 428-430.

ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร, พิทัย กาญบุตร และสาธร พรตระกูลพิพัฒน์. (2551). การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ. **ประชุมวิชาการสัตวแพทย์ มข. ครั้งที่ 9 “สัตวแพทย์ทางเลือกวันนี้”.** 11-12 มิถุนายน 2551 ณ ห้องประชุมใหญ่ คณะสตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ปัญญดา ปัญญาทิพย์, ปิยะสุดา โทสวนจิตร, สุธาสินี ทัพพสารพงศ์, ปราโมทย์ มหคุณากร, เพลินทิพย์ ภูทองกิ่ง และบรรลือ สังข์ทอง. (2556). การวิเคราะห์ปริมาณเมลาโทนินและการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ สารสกัดจากใบหม่อน. **การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานระดับชาติ The 5th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2013 “Pharmacy Profession Moving Forward to ASEAN Hamonization”** วัน ที่ 16-17 กุมภาพันธ์ 2556 ณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสารคาม. 58-59.

พิมพร ลีลาพรพิสิ. (2543). **เครื่องสำอางเพื่อความสะอาด** (พิมพ์ครั้งที่ 2). (เชียงใหม่). คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ภัทรชัย กีรติสิน. (2552). **ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์** (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.

ภาวิณี อุ่นกอง. (2554). **ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของส่วนสกัดจากพืชในวงศ์ขิงข่าในการต้าน Staphyloccusaureus สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาและสายพันธุ์ที่ไวต่อยาเมทิซิลลิน**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา.

ยลดา ศรีเศรษฐ์ กนกวรรณ จารุกำจร, วรัญญา จตุพรประเสริฐ. (2559) ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของหม่อน. วารเภสัชศาสตร์อีสาน 2559; 12(4) : 14-27

วิชุดา จันทร์ข้างแรม. (2561). **ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอลจากหม่อน (Morus alba *Linn.*) และกาวไหม (Bombyx mori.) เพื่อการตั้งสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิว**. คณะวิทยาศาสร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว.

ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์, วรางคณา สบายใจ และสิริมาส นิยมไทย. (2556). การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมี และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของใบข่อยดำ. **วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น**. 41(3), 723-730.

สุดารัตน์ หอมหวล. (2553). **หม่อน**. ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. สืบค้น 15 พฤษภาคม2563, จาก http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=125

อรอนงค์ พริ้งศุลกะ. (2555). **จุลชีวะวิทยาทางการแพทย์ : แบคทีเรียก่อโรค** (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: จรัลสนิทวงศ์การพิมพ์.

อิสยา จันทร์วิทยานุชิตและวัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์. (2553). **แบคทีเรียทางการแพทย์** (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิยาลัย.

Aditya – Rao, S. J., Ramesh, C. K., Basavaraj, P., and Jamuna, K.S. (2013). Evaluation of anti - inflammatory analgesic activities in tree Morus species, **Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical**, *4* (3), 822-830

Aftab, N, Likhiwitayawuid, K, & Vieira, A. (2010). Comparative antioxidant activities and synergismof resveratrol and cxyresveratrol. **Natural Product Research**, *24*. 1726-1733.

Alisson, M. O., Matheus, S. M., Gabriela, C. S., Edeltrudes, O. L., Paloma, L. M., Patrícia, M. G., Ivone, A. S. & Thiago, H. N. (2015). Evaluation of toxicity and antimiccrobrial activity of an ethanolic extrax from leaves of Morus *alba* L. Moraceae. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, *2015*, 1-7.

Ana, B. Z., & Mauren, D. M. (2010). Hypotriglyceridemic effect of *Morus alba* L., Moraceae, leave in hyperlipidemic rat. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, *20* (1), 130-133.

Barry, H. (1991). Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry, and role in human disease. **The American Journal of Medicine**, *91* (3), S14-S22.

Chang, L. W., Juang, L. J., Wang, B. S., Wang, M. Y., Tai, H. M., Hung, W. J., Chen, Y. J. & Huang, M. H. (2011). Antioxidant and antytyrosinase activity of mulberry (*Morus alba* L.) twigs and root bank. *Food chem Toxical*, 49, 785 -779

Choi, J.-Y., Damte, D., Lee, S.-J., Kim, J.-C. & Park, S.-C. (2012). 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.

Deepa, M., Sureshkumar, T., Satheeshkumar, P. K. & Priya, S. (2013). Antioxidant rich *Morus alba* leaf extract inducedapoptosis in human colon and breast cancer cells by the downregulation of nitric oxide produced byinducible nitric oxide synthase. **Nutrition and Cancer**, *65* (2), 305-310.

Garces, J. (2006). **Oxidation**. [Online]. Available from http://www. kangenwaterreport.com/what -isredox/ [2008, April 11].

Hudson, B. J. F. (1990). **Food Antioxidants**. England: Elsevier Science.

Kyungmee, G. (2012). Physiological and whitening effects of *Morus alba* extracts. *Journal of the Chosun Natural Science*, *5* (1), 46-52.

Lillian, L. (1995). **Oxidants, antioxidants, and disease prevention.** NW Washington, ILSI Press.

Mohamed, S., Hussein, A., Yousry, G. & Abdwl-Wahab, E. S. (2013). Biological activity of extracts form *Morus* alba L. *Albizzia lebbeck* (L.)., Casuarina glauca Sieber against the growth of some pathogenic bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, *2* (1), 9-22.

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J. & Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**, *5* (11), 1142-1145.

Roberfroid, M. B. & Calderon, P. B. (1995). **Free Radicals and Oxidation Phenomena in Biological Systems**. New York: Marcel Dekker.

Rojas, A., Hernandez, L., Pereda-Miranda, R. & Mata, R. (1992). Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, *35* (3), 275-283.

Somvong, K. & Prasitpuriprecha, C. (2012). Antioxidant and melanogenesis stimulating activities of some thai traditional medicine plant extracts for grey heir treatment. **Isan Journal of Pharmaceutical Sciences**, *8* (1), 125-134.

Wang, W., Xu, Y. & Fu, Y. (2012). Efferth T. In vitro antioxidant and antimicrobial activity of extracts from Morus *alba* L.leaves ,stems and fruits. **Chinese Medical Journal**, *40* (2), 349-356.

Wang, Y., Xiang, L., Wang, C., Tang, C. & He, X. (2013). Antidiabetic and antioxidant effects and phytochemical of mulberry fruit (*Morus alba* L.) polyphenol enhanced extract. **Public Library of Science One**, *8* (7), 1-10.

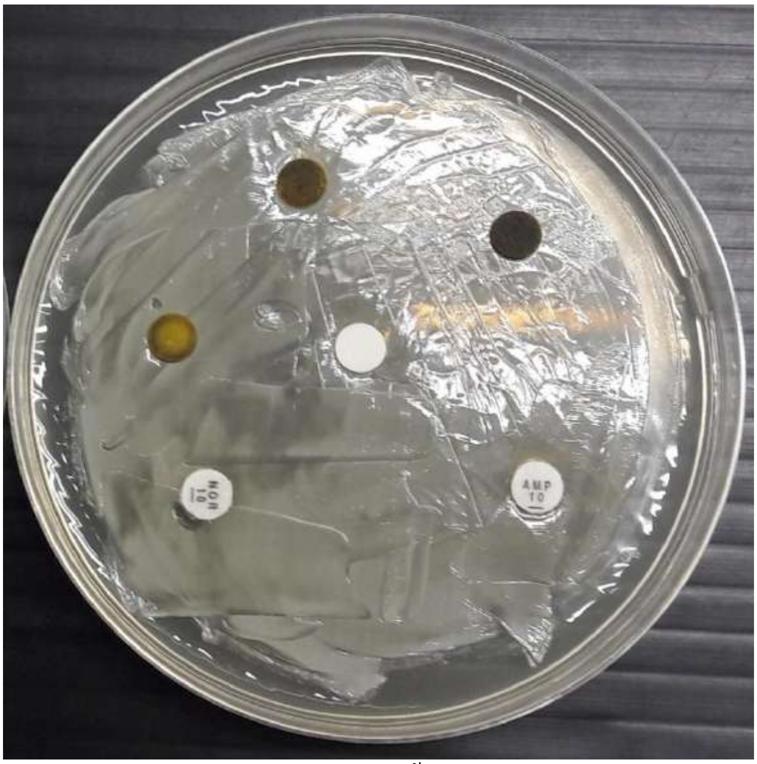
Wuttidhammaved, W. (2007). **The Rattanakosin pharmacy ancient book**. Bangkok: Odian store

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ตัวอย่างภาพการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Disk diffusion

(แสดงการเกิด Inhibition zone)



ภาพที่ 1 Inhibition zone ของสารสกัดกิ่งหม่อนต่อเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505

ภาคผนวก ข

เอกสารการตอบรับบทความวิจัย

ที่ อว 8606/1437

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ถนนบรมราชชนนี เขตตลิ่งชัน กรุงเทพฯ 10170

26 มิถุนายน 2563

เรื่อง ตอบรับการนำเสนอผลงานวิจัย

เรียน นางจันทนา ปราการสมุทร

ตามที่ท่านได้สมัครนำเสนอผลงานวิจัย ในโครงการประชุมวิชาการบัณฑิตศึกษาระดับชาติ ครั้งที่ 10 เรื่อง "การยกระดับคุณภาพการศึกษาและพัฒนามนุษย์ในศตวรรษที่ 21" ในวันที่ 25 - 26 มิถุนายน 2563 บัณฑิตวิทยาลัย ขอเรียนให้ทราบว่าผลงานวิจัยของท่าน เรื่อง "ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดกิ่งหม่อนพันธุ์เชียงใหม่ 60" ได้รับการคัดเลือกให้นำเสนอด้วยโปสเตอร์ ซึ่งจะได้รับการเผยแพร่ผลงานวิจัยในรูปแบบรายงานการประชุมแบบออนไลน์ (Proceeding online) พร้อมทั้งได้รับใบประกาศนียบัตรรับรองการนำเสนอผลงานในครั้งนี้

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

ขอแสดงความนับถือ

(รองศาสตราจารย์ ดร.จุไรรัตน์ นันทานิช)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

สำนักงานคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
โทร. 0-2849-7502-3

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – นามสกุล นางจันทนา ปราการสมุทร

วันเดือนปีเกิด 26 ตุลาคม 2498

สถานที่เกิด จังหวัดสมุทรปราการ

สถานที่อยู่ปัจจุบัน 444 ถนนจรัญสนิทวงศ์ 69 แยก 12 แขวงบางพลัด เขตบางพลัด กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10700

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2518 การศึกษาระดับมัธยมต้นและปลายโรงเรียนวัดแจงร้อน กรุงเทพมหานคร

พ.ศ. 2522 การศึกษาระดับปริญญาตรี ศศ.บ. (ศิลปศาสตร์บัณฑิต) มหาวิทยาลัยรามคำแหง

พ.ศ. 2548 การศึกษาระดับปริญญาตรี พท.บ. (แพทย์แผนบัณฑิต) มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช

พ.ศ. 2538 การศึกษาระดับปริญญาโท พบ.ม. (พัฒนบริหารศาสตร์มหาบัณฑิต) สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์ (NIDA)

พ.ศ. 2541 การศึกษาระดับปริญญาตรี ศศ.ม.(ศิลปศาสตร์บัณฑิต)มหาวิทยาลัยรามคำแหง

ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน อาจารย์ประจำคณะสาธารณสุขศาสตร์และสิ่งแวดล้อม สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยปทุมธานี