หัวข้อวิจัย การศึกษาสารยับยั้งการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคในสารสกัดพลูเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์

ผู้ดำเนินการวิจัย นางทิฐิมา ภาคภูมิ
หน่วยงาน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

ปี พ.ศ. 2558

ในการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดใบพลูที่สกัดด้วยเอทานอลและโพรพิลีนไกลคอล โดยใช้จุลินทรีย์ 4 ชนิดตามมาตรฐานเครื่องสำอาง มอก. 152 - 2555 คือ *Staphylococcus aurues*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* และ *Candida albican*s พบว่าสารสกัดใบพลูสามารถต้านเชื้อได้ทุกตัว สารสกัดใบพูลด้วยเอทานอลต้านเชื้อ *S. aurues* ได้ดีที่สุด โดยมีบริเวณยับยั้งเชื้อ 2.93 ± 0.28 เซนติเมตรที่ความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) เพียง 3.125 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในการตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ใส่สารสกัดใบพลู ซึ่งได้แก่ แชมพู และสบู่เหลว นั้นไม่พบแบคทีเรีย ยีสต์ และราที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศเกินกว่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (ไม่เกิน 1,000 CFU/มิลลิลิตร) นอกจากนี้ในการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระรวม พบว่าสารสกัดใบพลูด้วยเอทานอล มีค่าสารต้านอนุมูลอิสระจากวิธี DPPH assay, ABTS assay และ FRAD assay เท่ากับ 3,653.01 ± 57.72, 17,261 ± 697.00 และ 3,616.99 ± 41.49 mg TAEC/g_{dw} ตามลำดับและมีปริมาณฟีนอลิกจากวิธี Folin - Ciocalteu ที่สูงถึง 538.33 ± 13.48 mg GAE/g_{dw} ในขณะที่สารสกัดใบพลูด้วยโพรพิลีนไกลคอลก็ให้ผลการทดสอบเป็นที่น่าพอใจเช่นกัน ดังนั้นสารสกัดใบพลูจึงมีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่นอกจากจะสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่สำคัญได้แล้วยังสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระซึ่งเป็นตัวการของริ้วรอยได้อีกด้วย นอกจากนั้นผลการวิเคราะห์สาระสำคัญในใบพลู พบสารสกัดพลูในโพลีเอทิลีนไกลคอลพบยูกลีนอล ที่เวลา 19.5 นาที และเมื่อนำพื้นที่ใต้พีคเปรียบเทียบกับกราฟมาตราฐาน จะมีความเข้มข้นเท่ากับ 0.69 ppm ส่วนสารสกัดพลูในเอทานอลไม่พบยูกลีนอล ดังนั้นสารสกัดใบพลูจึงมีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่นอกจากจะสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่สำคัญได้แล้วยังสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระซึ่งเป็นตัวการของริ้วรอยได้อีกด้วย

Research title The study of the active suppression inhibit pathogens in products extracted from *Piper betle* Linn.

Researcher MRs. Thitima Parkpoom

Organization Science and Technology Department
Suan Dusit University

Year 2015

Abstract

From the test of antimicrobial capacity of the leaf extract of *Piper betle* Linn, extracted from ethanol and propylene glycol, using four pathogens according to the Thai Industrial Standards 152-2555: *Staphylococcus aurues*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Candida albican*s, it was found that the extract could inhibit all bacterial growth. The extract from ethanol inhibited *S. aurues* with the best result having inhibition zone of 2.93 ± 0.28 cm at the concentration of 12.50 mg/ml. It had minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) Only 3.125 and 6.25 mg/ml, respectively. From the test of microbiological contamination of shampoo and liquid soap with the extract, there were no excess of aerobic bacteria, yeasts, or molds according to the cosmetic standard (not more than 1,000 CFU/ml). Moreover, from DPPH assay, ABTS assay, and FRAD assay, the extract had free radical scavenging activities of 3,653.01 ± 57.72, 17,261 ± 697.00, and 3,616.99 ± 41.49 mg TAEC/g_{dw}, respectively. The total phenolic compound with Folin-Ciocalteu reagent was as high as 538.33 ± 13.48 mg GAE/g_{dw}. Meanwhile, the extract from propylene glycol also provided the satisfied results. In addition, the propylene glycol extract of *Piper betle* Linn. showed that the concentration was 0.69 ppm when compare with the standard graph of eugenol at 19.5 min. But not detected the eugenol in the ethanol extract of *Piper betle* Linn.

So, the of leaf extract of *Piper betle* Linn. is very promising to be developed for cosmetic products which not only inhibit relevant bacteria, but also scavenge free radicals which are the cause of wrinkles.

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัย การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดพลูที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง สำเร็จได้เนื่องจากบุคคลหลายท่านได้กรุณาช่วยเหลือให้ข้อมูล ข้อเสนอแนะ คำปรึกษา ความคิดเห็นและกำลังใจ นอกจากนั้นต้องขอขอบคุณ สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

ทิฐิมา ภาคภูมิ

2558

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตการวิจัย	3
สมมติฐานการวิจัย	4
คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	7
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	8
แนวคิด ทฤษฎี	8
High performance liquid chromatographic	9
สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants)	11
การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity determination)	12
สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)	13
เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค	14
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	15
กรอบแนวคิดในการวิจัย	22

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	23
อุปกรณ์และสารเคมี	23
ขั้นตอนการวิจัย	24
การเตรียมสารสกัดจากใบพลูด้วยสารละลายอินทรีย์	24
การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดพลู	25
การตรวจหา Total aerobic plate count	26
การเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์	27
การตรวจวิเคราะห์ชนิดของจุลินทรีย์ตามมาตรฐาน	28
การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระโดยรวม	29
การวิเคราะห์สารสำคัญในพลู	30
บทที่ 4 ผลการวิจัย	31
สารสกัดพลู	31
การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aurues*, *P. aeruginosa* *C. albicans* และ *E.coli* ของสารสกัดใบพลู	32
การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศทั้งหมด (Total aerobic plate count)	35
การตรวจวิเคราะห์ชนิดของจุลินทรีย์ตามมาตรฐาน (Microbial limit test)	35
ผลการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระโดยรวมและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม	36
ผลการทดลองการวิเคราะห์สารสำคัญในพลู	38

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	41
สรุปผลการวิจัย	41
อภิปรายผล	41
ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้	43
บรรณานุกรม	44
บรรณานุกรมภาษาไทย	44
บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ	45
ภาคผนวก	51
ภาคผนวก ก	52
ประวัติผู้วิจัย	57

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	แสดงสูตรแชมพูจากสารสกัดใบพลู	27
3.2	แสดงสูตรสบู่เหลวจากสารสกัดใบพลู	28
4.1	ลักษณะทางกายภาพ และเปอร์เซ็นต์ผลผลิตของสารสกัดใบพลูที่แช่ด้วยตัวทำละลาย	31
4.2	แสดงบริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aurues*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* และ *E.coli* ของสารสกัดใบพลู	33
4.3	การเจือจางในอาหารเหลว (Broth Dilution inhibit Bacteria) ของสารสกัดใบพลู	34
4.4	แสดงค่า MIC และ MBC ของสารสกัดใบพลูในการยับยั้งเชื้อ *S. aurues*, *P. aeruginosa, C. albicans* และ *E. coli*	35
4.5	แสดงสารต้านอนุมูลอิสระโดยรวมเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH assay, ABTS assay, FRAP assay และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบพลู	37

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
4.1	แสดงผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดของจุลินทรีย์ตามมาตรฐาน *S. aureus, P. aeruginosa, C. albicans* และ *E. coli*	36
4.2	แสดง Chromatogram แสดงระยะเวลาที่สารมารตรฐานยูกลีนอลแยกออกที่เวลา 19.40 นาที ที่ความเข้มข้น 30 ppm	38
4.3	แสดงกราฟมาตรฐานยูกลีนอล (Eugenol)	39
4.4	แสดง Chromatogram ของสารสกัดพลูในชั้นโพลีเอทิลีนไกลคอล	39
4.5	แสดง Chromatogram ของสารสกัดพลูในชั้นเอทานอล	40