บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

สมุนไพรสามารถผลิตเมทาบอไลท์ทุติยภูมิ (Metabolite Secondary) ที่มีคุณสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์เป็นจำนวนมากและสามารถใช้ได้ทุกส่วนของพืชไม่ว่าจะใช้เดี่ยวหรือใช้ร่วมกันก็มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ และองค์ประกอบของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่พืชผลิตขึ้นน่าจะมีส่วนสำคัญในการใช้เป็นแหล่งของยาต้านจุลินทรีย์ได้ ซึ่งสารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยอะซิโตนให้ประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Salmonella typhimurium* สูงที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) 195.7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Tantipaibulvut et al., 2012)

จุลินทรีย์เป็นสาเหตุให้เกิดโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลซึ่งเป็นปัญหาสำคัญที่พบในผู้ป่วยที่เข้ารักษาตัวในโรงพยาบาล (admit) ไม่ว่าจะเป็นการติดเชื้อในกระแสเลือด ทางผิวหนังและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน(soft tissue) (Saonuam et al., 2008) ส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจาก *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus* sp. โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Staphylococcus aureus* มีแนวโน้มจะดื้อยามากขึ้น (Tilloton et al., 2008; Dowzicky and Park, 2008) โดยปกติการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อจะต้องใช้ยาที่เป็นพวก antibiotic ซึ่งจะส่งผลข้างเคียงที่รุนแรงกับผู้ป่วยอย่างมาก (Khotaei et al., 2008)

เหงือกปลาหมอดอกสีขาว (*Acanthus ebracteatus* Vahl.) อยู่ในวงศ์ Acanthaceae เป็นพืชสมุนไพรที่ขึ้นตามป่าชายเลนในแถบเอเชียตะวันตกเฉียงใต้ (Southern Asia) พบได้ในประเทศมาเลเซีย ไทย และจีนใช้รักษาอาการไอ ม้ามโต (heptoplenomegary) โรคตับอักเสบ โรคหืด โรคผิวหนัง และการอักเสบ (Sittiwet et al., 2009) ซึ่งในเหงือกปลาหมอจะมีสาร alkaloids, flavonoids, tritepenoids, sterols, aliphatic glycosides, lignans, phenolic glycosides, quaternary amino acids และpoly saccharidesgg เป็นองค์ประกอบ (Hokputsa et al., 2004; Kanchanapoom et al., 2001) ในประเทศไทยทั้งเหงือกปลาหมอดอกสีขาว (*Acanthus ebracteatus* Vahl.) และเหงือกปลาหมอดอกสีม่วง (*Acanthus ilicifolius* Linn.) ใช้เป็นยาระบายและรักษาโรคไขข้ออักเสบ (arthritis)ได้ (Laupattarakasem et al., 2003) มีงานวิจัยที่ระบุว่าสารสกัดเหงือกปลาหมอมีคุณสมบัติต้านแบคทีเรีย (antimicrobial) ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidative) ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) และต้านมะเร็ง (anti carcinogenic activities) ได้ (Sittiwet et.al., 2009 ; Wu et.al., 2003)

จากคุณสมบัติของสมุนไพรเหงือกปลาหมอในด้านต่างๆ ผู้วิจัยมีความสนใจศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดเหงือกปลาหมอและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ครื่องสำอางที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ

แบคทีเรียก่อโรค นอกจากนั้นผู้วิจัยได้มุ่งเน้นหาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในสมุนไพรเหงือกปลาหมอเพราะเชื่อว่าสมุนไพรเหงือกปลาหมอสามารถนำมาผลิตเป็นยาต้านจุลินทรีย์และสารต้านอนุมูลอิสระทดแทนยาที่ต้องผลิตจากสารเคมีได้

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในสารสกัดสมุนไพรเหงือกปลาหมอและผลิตภัณฑ์จากสารสกัดสมุนไพรเหงือกปลาหมอ

2. เพื่อศึกษาทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและสารประกอบฟีโนลิกในสารสกัดสมุนไพรเหงือกปลาหมอ

ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. สกัดใบ และลำต้น สมุนไพรเหงือกปลาหมอขาวที่นำมาจาก จ. สมุทรปราการ ด้วยทำละลาย เอทานอลและเฮกเซน (ดัดแปลงจากวิธีของ Jagtap NS และคณะ. 2009)

2. ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *C. albicans*, *S.aureus, P. aeruginosa*, *B. cereus* และ *E. coli* ของสารสกัดเหงือกปลาหมอทั้งหมด 2 วิธีคือ

2.1 การทดสอบหาบริเวณวงใสของการยับยั้ง (Inhibition zone) ด้วยวิธี Disc diffusion

2.2 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration, MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Bactericidal Concentration, MBC)

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีโนลิกและสารประกอบฟลาโวนอย์ดจากสารสกัดใบและลำต้นเหงือกปลาหมอ

4. ทดสอบทำผลิตภัณฑ์ (pre formulation) แชมพู ครีมนวดผม เจลบำรุงผิว น้ำยาล้างมือและสบู่เหลว จากสารสกัดเหงือกปลาหมอ เพื่อคัดเลือกผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพมากที่สุด ในการทำเครื่องสำอางยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้

5. การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศทั้งหมด (Total aerobic plate count) ในสารสกัดและสารบริสุทธ์เหงือกปลาหมอและผลิตภัณฑ์จากสารสกัด

6. การตรวจวิเคราะห์ชนิดของจุลินทรีย์ตามมาตรฐาน โดยดูจากการพบจุลินทรีย์ *C. albicans*, *S. aureus, P. aeruginosa*, *B. cereus* และ *E. coli* ในผลิตภัณฑ์จากสารสกัดเหงือกปลาหมอหรือไม่ ด้วยวิธี Microbial limit test

คำจำกัดความที่ใช้ในการทำวิจัย

1. จุลินทรีย์ (Microorganism)

หมายถึง สิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว หรือหลายๆเซลล์ โดยแต่ละเซลล์เป็นอิสระจากกัน ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าจึงจำเป็นต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ ได้แก่ แบคทีเรีย รา และยีสต์ เป็นต้น เราสามารถพบจุลินทรีย์ได้ทุกสภาพแวดล้อม เพราะจุลินทรีย์บางชนิดสามารถปรับตัวอาศัยอยู่ได้ เช่น ในบริเวณภูเขาไฟ ใต้ทะเลลึก หรือภูเขาไฟธรรมดา ใต้มหาสมุทรที่มีความกดดันของน้ำสูงๆ ในน้ำแข็งที่มีอุณหภูมิเย็นจัด บริเวณที่มีสภาพความเป็นกรดด่างสูง หรือแม้กระทั่งในบริเวณที่ไม่มีออกซิเจนส่วนใหญ่

2. *Candida albicans*

เป็นเชื้อยีสต์ที่มีอยู่ทั่วไปตาม ช่องปาก ทางเดินอาหาร ผิวหนัง โดยปกติมันก็จะอยู่กับเราได้โดยไม่เป็นอันตรายแต่หากภูมิคุ้มกันอ่อนแอหรือได้รับยาปฏิชีวนะเข้าไปเชื้ออื่นๆที่มีประโยชน์ในร่างกายอ่อนแอลงก็จะยอมให้เจ้าตัวนี้เพิ่มจำนวนมันจะกลายเป็นเชื้อฉวยโอกาส ก่อให้เกิดโรคผิวหนังได้เช่น เป็นขาวๆที่ช่องปาก เล็บ (creamy-white or bluish-white patches) หรือเป็นผื่นแดงๆ (red rush) เป็นสากๆ (scaly) เกิดการอักเสบตามผิวหนัง (inflammation) หรือแม้กระทั่ง คันและอักเสบบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์

3. *Staphylococcus aureus*

เป็นแบคทีเรียรูปร่างกลม แกรมบวกอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม อาศัยอยู่ตามผิวหนัง ลำคอ จมูก และลำไส้ของคนเป็นต้นเป็นแบคทีเรียที่เด่นในเรื่องผิวหนัง เนื่องจากโดยปกติมันอาศัยตามผิวหนังของคนเราหากมีบาดแผลหรือรอยถลอก เชื้อนี้จะสามารถเข้าสู่ร่างกายทางบาดแผลนี้และทำให้เกิดหนองถ้าในภาวะที่ร่างกายมีความต้านทานต่ำ เชื้อนี้ก็จะเข้าแทรกซ้อนได้และสามารถติดต่อจากคนสู่คนผ่านการสัมผัสแผล หนอง นอกจากนี้อาจทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดต่อไปได้

4. *Pseudomonas aeruginosa*

เป็นแบคทีเรียรูปร่างแท่งแกรมลบ อาศัยอยู่ในน้ำ ดิน ของเน่าเสีย บางครั้ง พบในลำไส้ของคนและสัตว์เชื้อนี้มักจะแทรกซ้อน เช่น กรณีร่างกายได้รับอุบัติเหตุเกิดบาดแผล หรือรับการผ่าตัดร่าง กายจะมีความต้านทานน้อยลงเมื่อได้รับเชื้อนี้เข้าไปอาจทำให้ถึงตายได้ซูโดโมนาส *(Pseudomonas)* นี้ยังดื้อต่อยาฆ่าเชื้อโรคบางชนิดได้ดังนั้นจึงเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดอาการแทรกซ้อนได้ง่าย เมื่อร่างกายอ่อน แอที่สำคัญในทางเครื่องสำอาง คือ หากเกิดการติดเชื้อที่ตาจะก่อให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อในตาซึ่งจะทำให้ตาบอดได้

5. *Escherichia coli*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (gram negative bacteria) รูปร่างเป็นแท่ง (rod shape) สามารถก่อให้เกิดโรคที่ต่างๆ ในอวัยวะต่างๆ ของร่างกายได้ แต่ที่เด่นคือในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ *Proteus Eschericia* และ *Klebsiella*

6. การสกัดเย็น (Maceration)

คือ ขบวนการสกัดสารสำคัญออกจากพืชโดยวิธีหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น ขวดปากกว้าง ขวดรูปชมพู่ หรือโถ เป็นต้น ทิ้งไว้ 7 วัน หมั่นเขย่าหรือคนบ่อยๆ เมื่อครบกำหนดเวลาจึงค่อยๆ รินเอาสารสกัดออก พยายามบีบเอาสารละลายออกจากกากให้มากที่สุด รวมสารสกัดที่ได้นำไปกรอง การสกัดถ้าจะสกัดให้หมดจดอาจจำเป็นต้องสกัดซ้ำหลายๆ ครั้ง วิธีนี้มีข้อดีที่สารไม่ถูกความร้อน แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก

7. บริเวณวงใสของการยับยั้ง (Inhibition zone)

คือบริเวณที่ยับยั้งเชื้อ วิธีนี้จะสามารถตรวจสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะ ซึ่งขนาดของบริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของยา ปริมาณเชื้อการเจริญของเชื้อบนอาหาร

8. MIC

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) หมายถึง วิธีหาปริมาณหรือความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารทดสอบที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญจุลินทรีย์ หน่วยที่ใช้โดยทั่วไปคือ มคก. (μg, mcg, microgram) ต่อ มล. (ml, milliliter) หรือหน่วยสากล (IU, international unit) ต่อ มล. ค่า MIC นำมาใช้เป็นค่าเปรียบเทียบเพื่อดูความไวของเชื้อหนึ่งๆ ต่อยาต้านทานจุลินทรีย์หลายๆ ชนิด

9. Minimum Bactericidal Concentration, MBC

เป็นการทดสอบหาความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ สามารถบอกค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถทำลายการเจริญของแบคทีเรีย

10. Total aerobic plate count

คือ วิธีการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ ที่นิยมใช้สำหรับการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ โดยดูจากจำนวนโคโลนี (colony) ที่เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ การนับจำนวนด้วยวิธี plate count จึงเป็นการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (viable count)

11. สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

คือสารประกอบที่สามารถป้องกัน ยับยั้ง หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งการหายใจก็เป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ (free radical) ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ และสารต้านอนุมูลอิสระจะมีความสามารถในการเข้าจับกับสารอนุมูลอิสระและยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ในร่างกายสามารถสร้างสารต้านอนุมูลอิสระได้อยู่แล้ว เช่น กลูต้าไธโอน (Glutathione) แต่ไม่พอต่อการนำไปใช้งานเพื่อกำจัดอนุมูลอิสระ จึงต้องได้รับสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างเองไม่ได้จากภายนอกเพิ่ม เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแครอทีน วิตามินเอ ซึ่งได้จากการรับประทานผัก ผลไม้

12. สารประกอบฟีนอล (phenolic compounds)

เป็นสารที่พบตามธรรมชาติใน ผัก ผลไม้เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่วเมล็ดแห้ง เมล็ดธัญพืช ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต ซึ่งมี มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลิสระ (antioxidant) สามารถละลายได้ในน้ำ

13. สารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoids compounds)

มีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระ พบในเม็ดสีชนิดละลายในน้ำของผัก ผลไม้ เมล็ดธัญพืช ใบไม้ และเปลือกไม้ ฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ ที่พบประกอบกลุ่มต่างๆ ดังนี้

แคเทคิน (Catechin) มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย กลุ่มสแตฟไฟโลคอกคัส (Staphylococcus) ซึ่งดื้อต่อยาหลายชนิด พบมากในชาเขียว น้ำองุ่น และ ไวน์องุ่น

เรสเวอราทรอล (Resveratrol) มีคุณสมบัติในการ ลดความเสี่ยงของโรคหัวใจและเส้นเลือดในสมองตีบ โดยการยับยั้งการก่อตัวของลิ่มเลือดและไขมันชนิดแอลดีแอล (LDL) ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี และยังพบว่า มันยังช่วยยับยั้งการสร้างเซลล์มะเร็ง และสามารถเปลี่ยนเซลล์มะเร็งร้ายให้กลับคืนเป็นเซลล์ปกติได้ พบในในผิวและเมล็ดขององุ่น (ไวน์แดง) และถั่วลิสง

โปรแอนโทไซยานิดินส์และแอนโทไซยานิดินส์ (Proanthocyanidins & Anthocyanidins, PCOs) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า โอลิโกเมอริก โปรแอนโทไซยานิดินส์ (OPCs) มันจึงสามารถช่วยปกป้องสมองและเนื้อเยื่อประสาทจากการเข้าทำลายของอนุมูลอิสระได้ พบมากใน สารสกัดจากเมล็ดองุ่น และเปลือกสน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ด้านวิชาการ

1.1 นำองค์ความรู้ที่สามารนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง และมีการดำเนินกิจกรรมที่ส่งผลดีต่อทั้งชุมชน การดำเนินงานขององค์การบริหารส่วนตำบล และโรงเรียนจากการดำเนินโครงการวิจัย

1.2 การบูรณาการการทำงานวิจัยของนักวิจัยระหว่างมหาวิทยาลัยและหน่วยงานภายนอก

1.3 ข้อมูลทางวิชาการด้านฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในสารสกัดหญ้าคาซึ่งเป็นข้อมูลสำหรับการพัฒนาต่อยอดด้านเครื่องสำอางและยารักษาโรค

2. ด้านนโยบาย

2.1 สนับสนุนนโยบายยุทธศาสตร์การวิจัยรายประเด็นด้านความหลากหลายทางชีวภาพ ด้านการสนับสนุนการใช้ประโยชน์ความหลากหลายทางชีวภาพและเพิ่มมูลค่าความหลากหลายทางชีวภาพ

3. ด้านเศรษฐกิจ สังคมและชุมชน

3.1 การเพิ่มมูลค่าให้กับพืชสมุนไพรพื้นบ้านในประเทศและการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

3.2 ส่งเสริมและสร้างจิตสำนึกในการอนุรักษ์พันธุ์พืชสมุนไพรพื้นบ้าน

3.3 การถ่ายทอดผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมายชุมชนท้องถิ่น สร้างองค์ความรู้เพื่อเพิ่มมูลค่าความหลากหลายทางชีวภาพและใช้ประโยชน์ความหลากหลายทางชีวภาพ

4. การเผยแพร่ผลงาน วิจัยในวารสารวิจัย

4.1 การเผยแพร่บทความวิจัยในวารสารระดับชาติ จำนวน 1 บทความ

4.2 การเผยแพร่บทความวิจัยในวารสารระดับนานาชาติ จำนวน 1 บทความ

4.3 การเผยแพร่บทความวิจัยในการประชุมวิชาการ