บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ยางพารา

ยางพารามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Hevea brasiliensis* Mull. Arg. จัดอยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae มีชื่อเรียกสามัญว่า para rubber ยางพาราเป็นพืชยืนต้นใบเลี้ยงคู่ขนาดใหญ่ นิยมปลูกทั่วไปในหลายทวีปทั่วโลก ทั้งนี้พบว่ายางพาราที่ปลูกในทวีปเอเชียมีขนาดลำต้นเล็กกว่ายางพาราที่เจริญในป่าลุ่มน้ำอเมซอน ประเทศบราซิลและแถบทวีปอเมริกาใต้ ซึ่งยางพาราที่พบนี้อาจมีความสูงถึง 40 เมตร (สำนักงานพัฒนาการวิชาการการเกษตร, 2558) ยางพารามีการจำแนกทางอนุกรมวิธาน (Taxonomic classification) ดังนี้

Kingdom Plantae
Division Magnoliophyta
Class Magnoliopsida
Order Malpighiales
Family Euphorbiaceae
Genus *Hevea*
Species *brasiliensis*

2.1.1 ลักษณะของยางพารา

ใบยางพารา (Leaf) เป็นใบประกอบ โดยทั่วไป 1 ก้านใบจะมีใบย่อย 3 ใบ มีหน้าที่หลักในกระบวนการสังเคราะห์แสง การหายใจ และการคายน้ำ ใบยางจะแตกออกมาเป็นชั้น ๆ เรียกว่า ฉัตร (Leaf storey) ระยะเวลาเริ่มแตกฉัตรจนถึงใบในฉัตรแก่เต็มที่ใช้เวลาประมาณ 2 - 3 เดือน ทั้งนี้ยางพาราจะผลัดใบในฤดูแล้งของทุกปี ยกเว้น ยางต้นเล็กที่ยังไม่แตกกิ่งก้านสาขาหรือมีอายุไม่ถึง 3 ปี จะไม่ผลัดใบ (สุณิสา ราชจินดา และคณะ, 2557) ลักษณะใบยางพารา แสดงดังภาพที่ 2.1

ลิขสิทธิ์ของม ณี

ภาพที่ 2.1 ลักษณะใบยางพารา
ที่มา: สำนักงานพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ, 2558

ยางพารามีระบบรากแก้วซึ่งหยั่งลงดิน มีความยาวประมาณ 2.5 เมตร ทำหน้าที่ยึดเกาะและพยุงลำต้นไม่ให้โค่นล้ม รากแก้วจะมีรากแขนงยาวประมาณ 7 - 10 เมตร แผ่ไปทางด้านข้าง โดยรากจะเจริญอยู่ในระดับผิวดินบริเวณทรงพุ่ม ทำหน้าที่ดูดยึดน้ำและธาตุอาหารส่งไปยังใบเพื่อใช้ในขบวนการการสังเคราะห์ด้วยแสง

ยางพาราที่มีอายุน้อยลำต้นจะมีเปลือกสีเขียว แต่เมื่ออายุมากขึ้นสีของเปลือกเปลี่ยนเป็นสีเทาอ่อน เทาดำ หรือน้ำตาล ทั้งนี้เปลือกของลำต้นยางพารา สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วน คือ เปลือกแห้ง (Cork) เป็นส่วนที่เป็นเปลือกแข็งชั้นนอกสุด เปลือกแข็ง (Hard bark) เป็นชั้นถัดเข้ามาจากเปลือกแห้ง ประกอบด้วย เซลล์พาเรนไคมา(Parenchyma cell) และ Disorganized sieve tube ซึ่งมีท่อน้ำยาง (Latex vessel) ที่มีอายุมากอยู่กระจัดกระจายไม่ต่อเนื่อง และส่วนสุดท้ายคือ เปลือกอ่อน (Soft bark) เป็นส่วนในสุดของเปลือกติดกับเนื้อเยื่อแคมเบียม (Cambium) ประกอบด้วยพาเรนไคมา (Parenchyma cell) และซีฟทิวบ์ (Sieve tube) ซึ่งมีท่อน้ำยางเวียนขึ้นจากซ้ายไปขวาทำมุม 30 - 35 องศากับแนวดิ่ง ดังนั้นในการกรีดเพื่อเอาน้ำยางจึงต้องกรีดลงจากซ้ายไปขวา เพื่อตัดท่อน้ำยางให้ได้จำนวนมากที่สุด โดยน้ำยางที่ได้ คือส่วนของไซโทพลาซึมที่อยู่ในท่อ ทั้งนี้หลังจากกรีดแล้วเปลือกจะเจริญได้เหมือนเดิมโดยใช้เวลา 7 - 8 ปี

ช่อดอก (Compound raceme) เกิดตามซอกปลายกิ่ง มีลักษณะเป็นช่อสั้น ๆ ตรงฐานของกลุ่มใบใหม่ ช่อดอกของยางพาราจะมีกิ่งแขนงมากซึ่งเกิดขึ้นพร้อมกับใบใหม่ที่ผลัดหลังจากผลัดใบ นอกจากนี้ดอกตัวผู้และดอกตัวเมียจะแยกกันแต่อยู่บนช่อเดียวกัน (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, ม.ป.ป.)

เมล็ดของยางพารามีขนาดใหญ่ เนื้อแน่นเป็นมันวาว รูปร่างกลมถึงรี หนักประมาณ 3.6 กรัม มีสีน้ำตาลอ่อนถึงสีเทา เปลือกหุ้มเมล็ดจะมีลาย ผลอ่อนมีสีเขียว ในขณะที่ผลแก่จะมีสีน้ำตาลและแข็ง รวมทั้งยังมีจุดน้ำตาลเข้มประปราย ผลของยางพาราเป็นแบบ Capsule โดยทั่วไปมี 3 เมล็ด เมื่อแก่ผลจะแตกออกเกิดเสียงดัง ทั้งนี้เมื่อผลสุก ผลชั้นในจะแตกออกเป็น 6 ส่วน และเมล็ดจะถูกดีดออกไป (Orasiri, 2009)

ส่วนที่นำมาขยายพันธุ์จะส่งผลให้ลำต้นมีลักษณะแตกต่างกันออกไป กล่าวคือ หากทำการปลูกจากเมล็ดจะทำให้ส่วนล่างสุดมีขนาดใหญ่มากเรียกว่า เท้าช้าง ในขณะที่การปลูกจากเมล็ดต้นอ่อนพบว่ายางพาราจะมีการเจริญเร็วทำให้เกิดช่วงปล้องยาว ส่งผลให้ลำต้นมีลักษณะเป็นรูปกรวย และหากปลูกโดยใช้ต้นติดตาจะทำให้ลำต้นมีลักษณะเป็นทรงกระบอก และมีความสูงโดยเฉลี่ยของต้นเท่ากับ 30 – 40 เมตร

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

2.1.2 ประโยชน์และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของยางพารา

ยางธรรมชาติเป็นพอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติยืดหยุ่น เหนียว ต้านทานต่อการขัดถูสูง และสามารถป้องกันการซึมผ่านของน้ำและอากาศได้ดี จึงสามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์จากยางพาราที่โครงสร้างมีความพรุนสูง สามารถนำมาบรรจุยายับยั้งเชื้อโรค นำมาใช้รักษาแผลเรื้อรัง โดยช่วยทำให้แผลหายเร็วขึ้น โดยมีศักยภาพในการดูดซับของเหลวบริเวณบาดแผลได้ดี ไม่เกิดการระคายเคืองเมื่อใช้แผ่นยาแปะและลอกออกจากแผลได้โดยไม่เจ็บ อีกทั้งยางพารายังมีความสามารถในการส่งเสริมการงอกของเส้นเลือดฝอยใหม่ได้ (วีรศักดิ์ สมิทธิพงศ์, 2558) ยางพารายังสามารถต้านการเกิดมะเร็งเต้านมได้

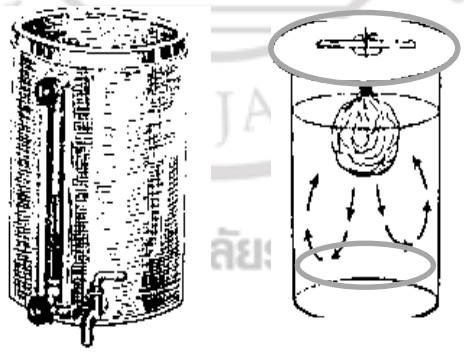
โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF – 7 และ MDA – MB 231 ในหลอดทดลองได้ (Lee et al., 2012) นอกจากนี้ยังสามารถสร้างฮอร์โมน Oxytocin ซึ่งเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นกล้ามเนื้อปัสสาวะ ลดการเสียเลือดและกระตุ้นการหลั่งน้ำนม (Barros et al., 2016) เมล็ดยางพารามีโอเมกา – 3 ช่วยกระตุ้นการทำงานของสมอง และยับยั้งการทำงานของสารที่ก่อให้เกิดการอักเสบ รวมทั้งช่วยลดระดับไตรกลีเซอร์ไรด์ (Triglyceride) ในเลือด (Hamidah et al., 2013) นอกจากนี้ยางพารายังสามารถนำมาสร้าง β - glucuronidase ซึ่งเป็นแอนติบอดีลูกผสม สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด (Arokiaraj et al., 2015)

2.2 การสกัดสารสมุนไพร

2.2.1 วิธีการสกัดสารจากสมุนไพร (เดือนเต็ม ทองเผือก และวัชรี วรัจฉรียกุล, 2553)

การสกัดเป็นวิธีที่สำคัญวิธีหนึ่งที่ได้สารสำคัญจากพืชสมุนไพร การสกัดสามารถทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายชนิด เช่น คุณสมบัติของสาร ชนิดและประเภทของสาร ชนิดของตัวทำละลาย รวมถึงความคงตัวของสารที่ให้ความร้อน วิธีการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรที่นิยมใช้มี 3 วิธี ได้แก่

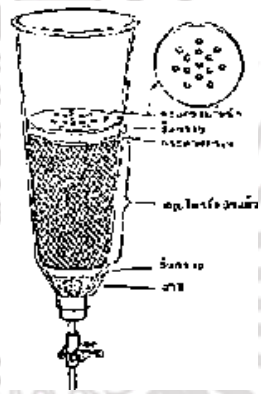
1. วิธีมาเซอเรชัน (Maceration) เป็นการสกัดองค์ประกอบที่สำคัญจากสมุนไพร โดยการหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายจนเนื้อเยื่อสมุนไพรมีความอ่อนนุ่ม สามารถนำตัวทำละลายเข้าไปละลายองค์ประกอบของพืชสมุนไพรอยู่ภายในได้ การหมักสมุนไพรควรทำในภาชนะหรืออุปกรณ์ที่ปิดสนิทเพื่อป้องกันไม่ให้กันตัวทำละลายระเหยออกมาได้ ทั้งนี้ระยะเวลาที่ใช้ในการหมักประมาณ 48 – 90 ชั่วโมง ระหว่างการหมักควรมีการเขย่าสารสกัดเป็นระยะหรือครั้งคราว เพื่อให้ตัวทำละลายสัมผัสกับสมุนไพรได้เต็มที่ อย่างไรก็ตามวิธีการนี้เป็นการสกัดสมุนไพรที่มีเนื้อเยื่อไม่แข็งแรงมากนัก เช่น ดอก และใบ ซึ่งสามารถทำให้อ่อนนุ่มได้ง่าย วิธีการนี้มีข้อดี คือ สารจะไม่ถูกความร้อน จึงสามารถรักษาฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดี และเป็นวิธีที่ง่าย แต่มีการสิ้นเปลืองของตัวทำละลายเนื่องด้วยมีการสกัดซ้ำหลายครั้ง



ภาพที่ 2.2 ลักษณะของอุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดสารด้วยวิธี Maceration
ที่มา: สมศักดิ์ นวลแก้ว, 2556

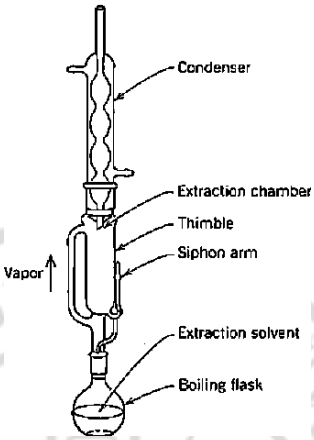
ลิขสิทธิ์ย ลัย พรรณี

2. เพอร์โคเรชัน (Percolation) เป็นการสกัดองค์ประกอบที่สำคัญจากสมุนไพร โดยตัวทำละลายถูกปล่อยให้ไหลผ่านไปยังสมุนไพรช้า ๆ เพื่อละลายองค์ประกอบสำคัญออกจากสมุนไพร เครื่องมือที่ใช้เรียกว่า เพอร์โคเลเตอร์ (Percolator) ลักษณะมี 2 คอลัมน์ โดยเป็นปลายเปิดทั้ง 2 ด้าน ด้านบนจะเปิดกว้างกว่าด้านล่าง เพื่อความง่ายต่อการบรรจุสมุนไพร และอีกปลายด้านล่างสามารถเปิด – ปิดได้ เพื่อสามารถความคุมอัตราการไหลของสารสกัด ทั้งนี้ก่อนการสกัดจะต้องทำให้สารพองตัวเต็มที่ โดยหมักกับตัวทำละลายเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วค่อย ๆ บรรจุสมุนไพรแต่ละชั้นลงในเพอร์โคเลเตอร์ ทำการปล่อยตัวทำละลายให้ไหลผ่านสมุนไพรในอัตราเร็วอย่างเหมาะสม ทั้งนี้สามารถเติมตัวทำละลายลงไปใหม่ได้เรื่อย ๆ จนองค์ประกอบภายในที่ต้องการในสมุนไพรไหลออกมาจนหมด ข้อดีของวิธีการนี้ คือ เป็นขั้นตอนที่ง่ายเหมาะกับสารที่ถูกทำลายหรือสูญเสียสภาพเมื่อถูกความร้อน ข้อเสีย คือ ใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน และเปลืองตัวทำละลาย



ภาพที่ 2.3 ลักษณะของอุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดสารด้วยวิธี Percolation
ที่มา: สมศักดิ์ นวลแก้ว, 2556

3. การสกัดแบบต่อเนื่อง (Continuous extraction) เป็นการสกัดองค์ประกอบที่สำคัญจากสมุนไพรด้วยเครื่อง Soxhlet extractor การสกัดด้วยวิธีนี้เป็นระบบปิด โดยการใช้ตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำ เมื่อได้รับความร้อนตัวทำละลายในภาชนะจะระเหยขึ้นไปและ กลั่นตัวลงมาในกรวยทิมเบอร์ (Thimble) ซึ่งมีลักษณะเป็นทรงกระบอกคล้ายหลอดทดลองแต่เป็นกระดาษ บริเวณปลายด้านหนึ่งจะเปิด อีกด้านจะปิดซึ่งบรรจุสมุนไพรไว้ ตัวทำละลายจะไหลผ่านสมุนไพรซ้ำไปเรื่อย ๆ จนองค์ประกอบของสมุนไพรถูกสกัดออกมา วิธีการนี้มีข้อดี คือ เหมาะสมกับการสกัดสารที่ทนต่อความร้อน ใช้ตัวทำละลายน้อยจึงไม่สิ้นเปลือง ข้อเสีย คือ สารสำคัญบางชนิดอาจสลายตัวระหว่างทำการสกัด



ภาพที่ 2.4 ลักษณะของอุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดสารด้วยวิธี Soxhlet extractor
ที่มา: Sithole, 2010

2.2.2 การเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสมต่อการสกัด (ณรงค์ศักดิ์ สารใจ, 2553)

การเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสมต่อการสกัดขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายขององค์ประกอบสำคัญที่ต้องการ ซึ่งคุณสมบัติของตัวทำละลายที่ดีจะต้องไม่เป็นพิษ หรือก่อเกิดอาการข้างเคียง สามารถละลายสารที่ทำการสกัดได้ดี ไม่ระเหยยาก หรือง่ายเกินไป รวมทั้งไม่ก่อให้เกิดการติดไฟ หรือก่อประกายไฟได้ง่าย ไม่ละลายหรือละลายส่วนองค์ประกอบอื่นที่ไม่ต้องการได้น้อย สามารถหาได้ง่าย พบได้ทั่วไป และราคาไม่แพง

2.2.3 ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด (วลัยรัตน์ เลขการ และคณะ, 2558)

ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัด ได้แก่

1. แอลกอฮอล์ จัดเป็นตัวทำละลายที่ดี มีความไวต่อการละลายและระเหยได้ดีกว่าน้ำ แต่มีราคาแพงกว่าน้ำ นอกจากนี้แอลกอฮอล์ยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ แอลกอฮอล์ที่นิยมใช้ได้แก่ เมทานอล จัดเป็นตัวทำละลายที่สามารถละลายได้กว้างมาก นิยมใช้ในการสกัดสารสำคัญที่มีขั้ว แต่นิยมใช้เอทานอลในการสกัดมากกว่า เนื่องจากมีความพิษน้อยกว่าและราคาถูก

2. น้ำ จัดเป็นตัวทำละลายที่ดี ราคาถูก และสามารถหาได้ง่าย น้ำมีจุดเดือดสูงจึงต้องใช้ความร้อนสูงในการระเหยน้ำออก ซึ่งความร้อนนี้อาจทำลายองค์ประกอบที่สำคัญหรือทำให้สารสำคัญได้รับความเสียหายได้ นอกจากนี้น้ำยังสามารถละลายองค์ประกอบที่ไม่ต้องการ เช่น แป้ง และน้ำตาลออกมาได้ สิ่งเหล่านี้เป็นแหล่งอาหารที่ดีของจุลินทรีย์ จึงทำให้เน่าหรือบูดได้ ดังนั้นจึงไม่นิยมนำน้ำมาใช้เป็นตัวทำละลายอย่างเดียว แต่เหมาะกับการใช้ร่วมกับสารละลายชนิดอื่น โดยเฉพาะกรด หรือแอลกอฮอล์

3. น้ำผสมแอลกอฮอล์ เป็นตัวทำละลายนิยมใช้อย่างกว้างขวาง มีคุณสมบัติในการละลายองค์ประกอบที่สำคัญในสมุนไพรใกล้เคียงกับแอลกอฮอล์ แต่มีราคาถูกกว่า และช่วยป้องกันการบูดเสียขององค์ประกอบต่าง ๆ ที่ถูกสารสกัดออมา

2.2.4 สารที่แยกได้จากสมุนไพร

สารที่แยกได้จากพืชสมุนไพรสามารถจำแนกได้ 2 ชนิด คือ

1. สารปฐมภูมิ (Primary metabolite) เป็นสารที่พบอยู่ทั่วไปในพืชชั้นสูง มีความจำเป็นต่อการดำรงชีพของพืช โดยมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ตัวอย่างสารปฐมภูมิ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน กรดนิวคลิอีก และกรดอะมิโน เป็นต้น

2. สารทุติยภูมิ (Secondary metabolite) เป็นสารที่ไม่จำเป็นต่อการดำรงชีพของพืช โดยพืชสร้างขึ้นมาเพื่อวัตถุประสงค์เฉพาะ เช่น การล่อหรือไล่แมลงศัตรูพืช หรืออาจสร้างขึ้นเพื่อรักษาบาดแผล หรือสร้างขึ้นเพื่อป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ เป็นต้น ทั้งนี้จะพบสารทุติยภูมิของพืชแต่ละชนิดแตกต่างกัน เช่น แคโรทีนอยด์ อัลคาลอยด์ สเตอรอยด์ ฟลาโวนอยด์ ลิกนิน แทนนิน คุมาริน ลิกนิน และน้ำมันหอมระเหย เป็นต้น (กัลทิมา พิชัย, 2555)

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติของตัวทำละลายบางชนิดที่ใช้ในการสกัดสารจากสมุนไพร

ตัวทำละลาย	คุณสมบัติ
1. แอลกอฮอล์ (Alcohol)	เป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจาก มีอำนาจการละลายได้กว้าง มีความเป็นสารพิษต่ำ และสามารถกำจัดออกได้ง่าย โดยไม่ต้องใช้ความร้อนสูง แอลกอฮอล์ที่นิยมใช้มี 2 ชนิด ได้แก่ เอทานอล (Ethanol) และ เมทานอล (Methanol)
2. น้ำ (Water)	เป็นตัวทำละลายที่หาได้ง่าย สะดวก ราคาถูก ไม่เป็นสารพิษ ไม่ไวไฟ และสามารถสกัดได้หลายชนิด แต่ข้อเสีย คือ เกิดการปนเปื้อนง่าย ดังนั้นก่อนที่นำมาใช้ต้องมีการปราศจากเชื้อ
3. เมทิลลีน คลอไรด์ (Methylene chloride)	เป็นอิมัลชัน ประกอบด้วยของเหลวตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป ซึ่งปกติไม่ผสมหรือรวมเป็นเนื้อเดียวกัน จึงทำให้แห้งหรือระเหยได้ยาก
4. อีเทอร์ (Ether)	เป็นตัวทำละลายที่ละลายสารได้อย่างจำกัด เกิดการ oxidize และมีการปล่อยพลังงานออกมา ได้โดยไม่สามารถละลายสารทั่วไปหรือสารชนิดอื่นที่มีอยู่ในสมุนไพรได้
5. อะซีโตน (Acetone)	เป็นตัวทำละลายที่มีกลิ่นฉุน และสามารถกำจัดไขมันได้ดี
6. เฮกเซน (Hexane)	เป็นตัวทำละลายที่มีราคาถูก เหมาะกับสารละลายที่ไม่มีขั้ว
7. เอสเทอร์ (Ester)	เป็นตัวทำละลายที่สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ง่าย ซึ่งทำให้ตัวยามีความเข้มข้นขึ้น
8. คลอโรฟอร์ม (Chloroform)	สามารถละลายสารได้เกือบทุกชนิด แต่ไม่นิยมนำมาใช้เพราะเป็นสารที่อาจก่อให้เกิดมะเร็งได้

ที่มา: กัลทิมา พิชัย, 2555

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

2.2.5 สารที่ใช้ทำเจลล้างมือ

องค์ประกอบของสารที่ใช้ทำเจลล้างมือ มีดังนี้

1. คาร์โบพอล (Carbopol 940) ลักษณะเป็นผงสีขาว สามารถละลายน้ำและตัวทำละลายอื่น ๆ ได้ดี มีคุณสมบัติในการก่อเนื้อเจล ทำให้เกิดความหนืด จึงนิยมนำมาใช้ในการสร้างผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ รวมทั้งเป็นเบสเจล (Gel base) ทั้งนี้จะต้องปรับ pH ให้มีค่าประมาณ 6 - 7 เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีความหนืดที่ดีและเนื้อใส นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการดูดความชื้นในอากาศ และยังคงตัวในอุณหภูมิสูง ทำให้ไม่เสื่อมสภาพเมื่อถูกความร้อน (เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น, 2553)

2. ไตรเอทาโนลามีน (Triethanolamine) เป็นส่วนผสมระหว่างเอมีน และแอลกอฮอล์ จึงสามารถละลายในน้ำและแอลกอฮอล์ได้ ลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสีไปจนสีเหลือง และมีกลิ่นคล้ายแอมโมเนีย ไตรเอทาโนลามีนมีคุณสมบัติเป็นเบสอ่อน เมื่อทำปฏิกิริยากับกรดจะเกิดเกลือหรือสบู่ นิยมใช้เป็นองค์ประกอบของสารทำความสะอาดสิ่งทอ เครื่องสำอางกลุ่มชำระล้าง หรือเป็นสารตัวกลางสำหรับอิมัลชัน แวกซ์ และสารกำจัดวัชพืช รวมทั้งใช้ในกระบวนการนำกลับ (Recover) ของไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมปิโตรเลียม (เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น, 2553)

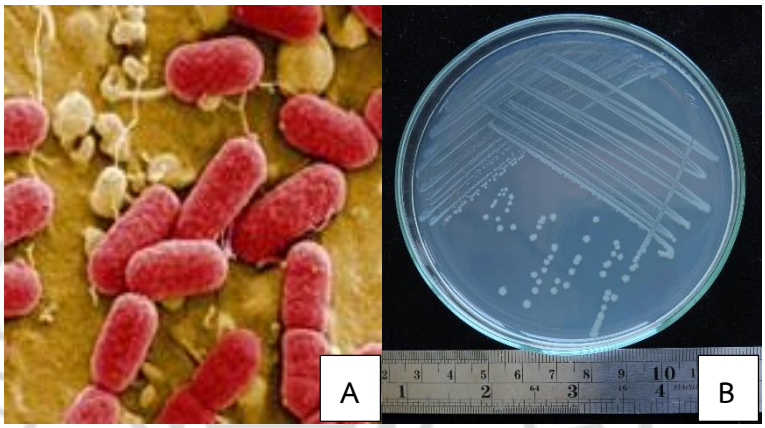
3. โพรไพลีน ไกลคอล (Prolylene glycol) เป็นสารที่มีความบริสุทธิ์สูง มีลักษณะเป็นของเหลวใสคล้ายน้ำมัน สามารถละลายในน้ำและผสมกับสารอื่นได้ง่าย ช่วยลดการสูญเสียน้ำของผิวและกักเก็บความชุ่มชื้น (Humectant) ได้ ช่วยเพิ่มความเสถียร (Stability) เมื่ออุณหภูมิเกิดการเปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ยังเป็นสารช่วยหล่อลื่น ทำให้เนื้อครีมหรือเนื้อเจลมีความลื่น การเก็บรักษาควรเก็บในอุณหภูมิห้อง ปิดฝาขวดให้สนิท แล้วมิดชิดจากแสงแดดหรือความร้อน (จันทร์เจ้า ลองจีวิตี้, 2554)

4. แอลกอฮอล์ (Alcohol) เป็นสารประกอบอินทรีย์ มีลักษณะเป็นของเหลว ไม่มีสี มีความคงตัว ระเหยง่าย มีกลิ่นเฉพาะตัว ผลิตได้จากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี และกระบวนการหมักวัตถุดิบจำพวกแป้ง และน้ำตาลด้วยจุลินทรีย์ นิยมนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตสารเคมีชนิดอื่นหรือนำมาใช้ประโยชน์โดยตรง เช่น ใช้เป็นตัวทำละลาย เครื่องดื่ม เชื้อเพลิง รวมทั้งสามารถนำมาใช้ในการทำความสะอาดบาดแผลเนื่องจากแอลกอฮอล์มีฤทธิ์ในการทำลายสารพันธุกรรมของจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นการใช้แอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 70 ทาทำความสะอาด และฆ่าเชื้อทางผิวหนังจึงเกิดประโยชน์สูงสุด นอกจากนี้ควรเก็บรักษาแอลกอฮอล์ในภาชนะบรรจุที่ปิดฝามิดชิด และห่างจากแหล่งจุดติดไฟ (อภัย ราษฎรวิจิตร, 2554)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

2.3 แบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษา

2.3.1 *Escherichia coli*

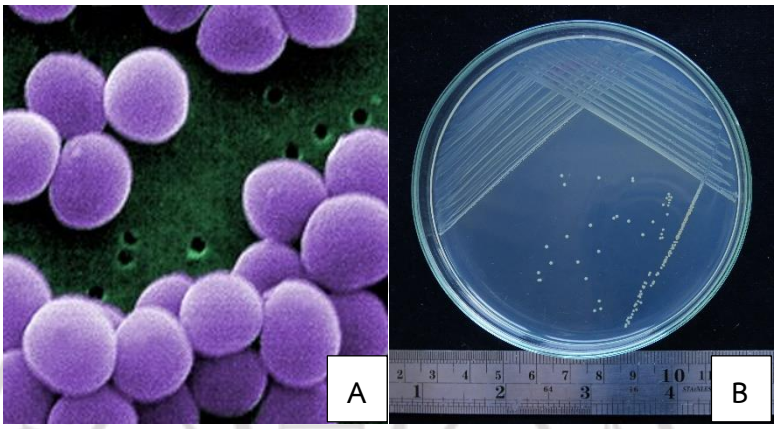


ภาพที่ 2.5 แสดงลักษณะของเซลล์ *E. coli* (A) และลักษณะของโคโลนีของ *E. coli* (B)
ที่มา : จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์, 2554

จัดอยู่ใน **Kingdom** Monera
Phylum Proteobacteria
Class Gamma Proteobacteria
Order Enterobacteriales
Family Enterobacteriaceae
Genus *Escherichia*
Species *coli*

E. coli จัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) มีลักษณะเป็นรูปแท่ง (Rod shape) ไม่สร้างสปอร์ (Non - spore forming bacteria) จัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae (ภาพที่ 2.5) สามารถเจริญในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobe) เชื้อชนิดนี้เป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (Coliform) ประเภท (Fecal coliform) ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์ และสัตว์เลือดอุ่น จึงสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะของอาหารได้ นอกจากนี้ยังพบว่า *E. coli* เป็นเชื้อประจำถิ่น (Normal Flora) โดยสภาวะปกติไม่ก่อโรคร้ายแรง แต่เมื่อเข้าสู่ระบบต่าง ๆ ของร่างกายสามารถทำให้เกิดการติดเชื้อที่รุนแรงได้ เช่น ก่อให้เกิดโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ และติดเชื้อในกระแสเลือด เป็นต้น โดยความรุนแรงของโรคขึ้นกับสารพิษที่สร้างขึ้นของแต่ละสายพันธุ์ เช่น Enterohaemorrhagic *E. coli* สามารถสร้างสารพิษ Shiga ทำให้ถ่ายเป็นมูกเลือด ปวดท้องอย่างรุนแรง และสามารถทำให้เม็ดเลือดแดงแตกและไตวายได้ นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งมีอาการทั่วไป คือ ท้องร่วง ปวดท้อง ไข้ต่ำ คลื่นไส้ และอ่อนเพลีย เป็นต้น (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2558; สถาบันวิจัยสาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2557;)

2.3.2 *Staphylococcus aureus*

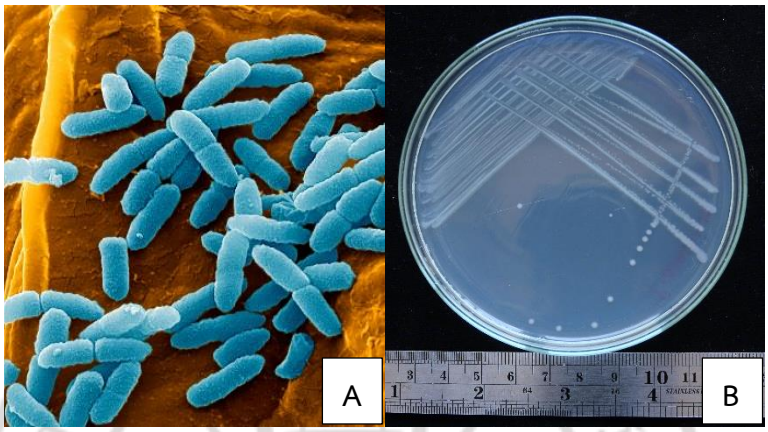


ภาพที่ 2.6 ลักษณะของเซลล์ *S. aureus* (A) และลักษณะของโคโลนีของ *S. aureus* (B)
ที่มา: นฤมล ตปนียะกุล และวาสนา คงสุข, 2558

จัดอยู่ใน **Kingdom** Monera
Phylum Firmicutes
Class Bacilli
Order Bacillales
Family Staphylococcaceae
Genus *Staphylococcus*
Species *aureus*

S. aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) จัดอยู่ในวงศ์ Micrococcaceae รูปร่างกลม (Cocus) อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม จึงมีลักษณะคล้ายพวงองุ่น ส่วนใหญ่ไม่สร้างแคปซูล ไม่สร้างสปอร์และไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ (ภาพที่ 2.6) แบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือที่ไม่มีออกซิเจน โดยหากอยู่ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะสามารถสลายน้ำตาลกลูโคสให้กรดอินทรีย์ รวมทั้งให้ผลบวกในการทดสอบคะตะเลส (Catalase) สามารถพบ *S. aureus* ได้ในร่างกายของคนและสัตว์เลือดอุ่น เช่น บริเวณผม คอ ในจมูก และผิวหนัง โดยพบว่าจมูกเป็นแหล่งสำคัญที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนในอุจจาระและในอาหาร นอกจากนี้ยังสามารถพบเชื้อชนิดนี้ได้ในคนที่มีบาดแผลบริเวณผิวหนัง ซึ่งก่อให้เกิดความผิดปกติแก่ร่างกายหรือก่อให้เกิดการติดเชื้อบริเวณบาดแผล เป็นฝีหรือแผลอักเสบ (Varname and Evan, 1991) รวมทั้งเป็นเชื้อสาเหตุก่อโรคอาหารเป็นพิษชนิด Intoxication ซึ่งเกิดจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเอนทีโรทอกซิน (Enterotoxin) ที่เชื้อสร้างขึ้น (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2558)

2.3.3 *Pseudomonas aeruginosa*

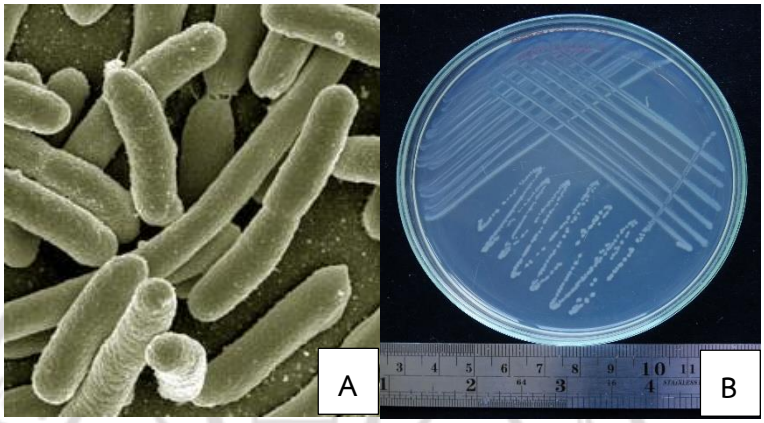


ภาพที่ 2.7 ลักษณะของเซลล์ *P. aeruginosa* (A) และลักษณะของโคโลนีของ *P. aeruginosa* (B)
ที่มา: Berger, 2016

จัดอยู่ใน **Kingdom** Monera
Phylum Proteobacteria
Class Gamma Proteobacteria
Order Pserdomonadales
Family Pseudomonadaceae
Genus *Pseudomonas*
Species *aeruginosa*

P. aeruginosa เป็นแบคทีเรียแกรมลบ จัดอยู่ในวงศ์ Pseudomonadaceae มีรูปร่างแท่ง เชื้อชนิดนี้เป็นแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในการดำรงชีวิต (Aerobic) สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา (Flagella) 1 เส้นที่ติดอยู่ตรงหัว (ภาพที่ 2.7) ปกติจะพบ *P. aeruginosa* กระจายในดิน น้ำ ขยะ หรือในพืช รวมทั้งยังเป็นแบคทีเรียประจำ (Normal flora) ในลำไส้คน นอกจากนี้ *P. aeruginosa* สามารถทำให้เกิดโรคในคน สัตว์ แมลง ต้นไม้ และจัดเป็นเชื้อฉวยโอกาส (Opportunistic pathogen) ที่สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อกับผู้ที่ภูมิคุ้มกันต่ำ หรือผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาล ทั้งนี้ *P. aeruginosa* สามารถแพร่กระจายได้ภายในโรงพยาบาลโดยบุคคล ผ่านทางผิวหนัง อาหาร อุปกรณ์และเครื่องมือทางการแพทย์ เป็นต้น ซึ่งการติดเชื้อนี้เป็นปัญหาอย่างมากในโรงพยาบาลจนผู้ป่วยมีการติดเชื้อรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิต เนื่องจากโรคติดเชื้อจาก *P. aeruginosa* มีการดื้อยาปฏิชีวนะมาก ทำให้ยากต่อการรักษา (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2558; ภัทรชัย กีรติสิน, 2551)

2.3.4 *Klebsiella pneumoniae*

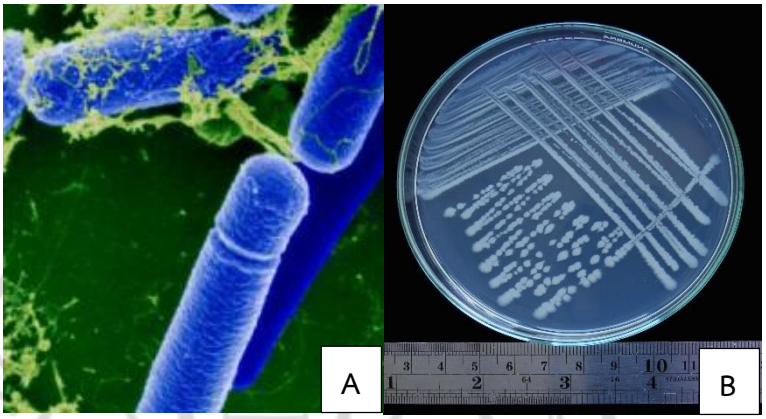


ภาพที่ 2.8 ลักษณะของเซลล์ *K. pneumoniae* (A) และลักษณะของโคโลนีของ *K. pneumoniae* (B)
ที่มา: Correlati, 2016

จัดอยู่ใน **Kingdom** Monera
Phylum Proteobacteria
Class Gamma Proteobacteria
Order Enterobacteriales
Family Enterobacteriaceae
Genus *Klebsiella*
Species *pneumoniae*

Klebsiella sp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน จัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae สามารถเจริญได้ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนหรือไม่มีออกซิเจน ไม่สร้างสปอร์ ไม่สามารถทนความร้อนสูง สามารถเคลื่อนที่โดยอาศัย peritrichous flagella หรือไม่เคลื่อนที่ (ภาพที่ 2.8) *Klebsiella* sp. สามารถพบได้ในธรรมชาติ น้ำ ดิน อาจพบได้ในอาหารจำพวกขนม นม และน้ำแข็ง แบคทีเรียชนิดนี้สามารถก่อให้เกิดโรคได้ เช่น ก่อโรคอุจจาระร่วง หรือก่อให้เกิดการอักเสบในอวัยวะต่าง ๆ เช่น โพรงจมูกอักเสบ และก่อโรคระบบทางเดินหายใจซึ่งส่วนมากเกิดกับวัยกลางคนหรือวัยสูงอายุที่มีปัญหาสุขภาพมาก่อน เช่น โรคเรื้อรังเกี่ยวกับปอดและหลอดลม โรคพิษสุราเรื้อรัง หรือโรคเบาหวาน เป็นต้น นอกจากนี้ยังเป็นเชื้อสาเหตุโรคติดเชื้อทางระบบทางเดินปัสสาวะ ทำให้แผลติดเชื้อ เป็นฝี หนอง และเป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาล ทั้งนี้ *Klebsiella* สามารถจำแนกได้ 3 species ได้แก่ *K. pneumoniae, K. ozaenae* และ *K. rhinoscleromatis* โดยเฉพาะ *K. pneumoniae* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ (Nosocomial infection) เช่น ก่อให้เกิดการติดเชื้อในโพรงจมูก ลำคอ และเป็นสาเหตุของโรคปอดอักเสบ (นิตยา อินทราวัฒนา และมุทิตา วนาภรณ์, 2558; พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2558)

2.3.5 *Bacillus subtilis*



ภาพที่ 2.9 ลักษณะของเซลล์ *B. subtilis* (A) และลักษณะของโคโลนีของ *B. subtilis* (B)
ที่มา: Ruz, 2011

จัดอยู่ใน **Kingdom** Monera
Phylum Firmicutes
Class Bacilli
Order Bacillales
Family Bacillaceae
Genus *Bacillus*
Species *subtilis*

B. subtilis เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อน จัดอยู่ในวงศ์ Bacillaceae เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาและสามารถสร้างแคปซูลได้ (ภาพที่ 2.9) *Bacillus* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลางระหว่าง 30 - 45 องศาเซลเซียส เชื้อชนิดนี้ต้องการออกซิเจนในการเจริญ แต่บางชนิดเป็น Facultative anaerobe นอกจากนี้ยังสามารถสร้างสปอร์ (Spore) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่สามารถทนต่อความร้อน ความแห้งแล้ง สารเคมี และสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ อย่างไรก็ตาม *Bacillus* ยังเป็นจุลินทรีย์สำคัญที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารเสื่อมเสีย และเกิดกลิ่นเหม็น (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2559)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

2.4 การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ (ณรงค์ศักดิ์ สารใจ, 2553)

การทดสอบความไวของจุลินทรีย์ต่อสารต้านจุลชีพ เป็นการทดสอบความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหรือความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถต้านหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ทั้งนี้การทดสอบความไวของเชื้อจุลินทรีย์ต่อสารต้านจุลชีพมีวิธีที่นิยมหลายวิธีทั้งทดสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (Agar medium) และอาหารชนิดเหลว (Broth medium) อย่างไรก็ตามการทดสอบนี้มีหลักการ 2 แบบ ได้แก่

2.4.1 Dilution susceptibility test

การทดสอบทั้ง Agar และ Broth dilution susceptibility test มีการทดสอบคล้ายกัน เนื่องจากสารทดสอบจะถูกเจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน จากนั้นจึงทำการใส่เชื้อทดสอบลงในสารทดสอบที่เจือจางไว้ ภายหลังจากการบ่มเชื้อทำการตรวจดูความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum inhibitory concentration, MIC) ซึ่งสังเกตจากความใสหรือขุ่นในอาหารเหลวหรือบนอาหารวุ้นแข็ง ทั้งนี้การทดสอบด้วย Agar และ Broth dilution มีความแตกต่างกันเล็กน้อย กล่าวคือ Agar dilution susceptibility test เป็นการตรวจการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์และทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลายชนิดภายในเวลาเดียวกัน ในขณะที่ Broth dilution susceptibility test สามารถตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของ pH ในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ รวมทั้งสามารถตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงรูปร่างภายใต้ของกล้องจุลทรรศน์และทดสอบสารออกฤทธิ์ที่สามารถทำลายสารที่ต้องการทดสอบได้ อย่างรวดเร็ว

2.4.2 Diffusion test

เป็นการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพวิธีการหนึ่งโดยอาศัยหลักการที่ว่าเมื่อทดสอบสารชนิดหนึ่งที่อยู่ใน Agar medium ซึ่งทำการบ่มเชื้อจุลินทรีย์ไว้ ให้ทำการสังเกตว่าภายหลังการบ่มเชื้อ สารทดสอบสามารถแพร่ผ่านเข้าไปแล้วเกิดบริเวณใสขึ้นหรือไม่ เพราะบริเวณใสเป็นขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางซึ่งเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ทั้งนี้วิธีการทดสอบนี้มักทำการทดสอบเพียงความเข้มข้นเดียว การทดสอบความไวของสารด้วย Diffusion test สามารถทำได้หลายวิธีด้วยกัน ได้แก่

1. Cylinder cup diffusion

วิธีนี้อาศัยการแพร่ของสารเข้าไปในเนื้อวุ้น เพื่อไปยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ซึ่งวิธีนี้จะใช้ห่วงวงแหวนแทนกระดาษกรอง โดยวางลงบนผิวหน้าอาหารจากนั้นจึงทำการเติมตัวอย่างที่ทำการทดสอบลงไป

2. Agar disc diffusion

วิธีการนี้เป็นการทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยมีหลักการ คือ ใช้แผ่นกระดาษกรองที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางตามความเหมาะสมซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้วนำมาจุ่มลงในสารละลายที่ทำการทดสอบ จากนั้นผึ่งให้แห้ง และนำมาวางบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่เกลี่ยเชื้อไว้แล้ว เมื่อครบกำหนดเวลาให้ทำการสังเกตวงใสเกิดขึ้น โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม หากวงใสมีขนาดกว้างกว่าชุดควบคุม 3.0 มิลลิเมตร ถือว่าเชื้อมีความไวต่อสารที่ทดสอบ (Sensitive) และหากมีวงใสขนาด 2 – 3 มิลลิเมตร ถือว่าเชื้อมีความไวปานกลางต่อสารที่ทดสอบ (Intermediate) และหากค่าวงใสน้อยกว่า 2 มิลลิเมตร แสดงว่าเชื้อทดสอบนั้นต้านทานต่อสารที่นำมาทดสอบ (Resistance)

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญหรือทำลายเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (Minimum inhibitory Concentration, MIC และ Minimum Bactericidal Concentration, MBC) การทดสอบนี้เป็นการประเมินค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการมีการให้ค่าละเอียดมากขึ้น เพื่อศึกษาว่าสารทดสอบมีประสิทธิภาพหรือความสามารถ

ในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อที่ทดสอบเพียงใด เพื่อใช้เป็นแนวทางในการรักษาผู้ป่วย หรือพัฒนาผลิตภัณฑ์หรือยาที่มีส่วนผสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป ซึ่งทั้ง 2 วิธีมีวิธีการวัดดังนี้

1. ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (Minimum inhibitory Concentration, MIC) คือ ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบในปริมาณที่กำหนดให้ วิธีการตรวจสอบนี้สามารถทดสอบได้ ทั้งในอาหารเหลวและอาหารแข็ง แต่นิยมตรวจสอบในอาหารเหลวมากกว่า เนื่องจากสามารถอ่านค่าความขุ่นจากเครื่องมือได้ ทั้งนี้การหาค่า MIC สามารถทำได้ในหลอดทดลองและจานหลุมขนาดเล็ก (Microtiter plate) ซึ่งหน่วยที่ใช้วัดทั่วไป คือ ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หรือตามหน่วยสากล (UI, International Unit) /มิลลิลิตร

2. ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบในการทำลายการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) คือ ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่มีประสิทธิภาพในการทำลายการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ถึง 99.99 เปอร์เซ็นต์ หน่วยที่ใช้วัดทั่วไป คือ ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หรือตามหน่วยสากล (UI, International Unit) /มิลลิลิตร

2.5 การทดสอบความสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียต่อหน่วยเวลา (Growth curve) (พิมพร ทองเมือง, 2558)

การตรวจสอบการเจริญของจุลินทรีย์สามารถทำโดยการวัดการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์หรือมวลชีวภาพ (Biomass) ของประชากรต่อหนึ่งหน่วยเวลา เรียกว่า อัตราการเจริญเติบโต (Growth rate) โดยเวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนประชากรจากเดิมเป็น 2 เท่า เรียกว่า Generation time หรือ Doubling time ทั้งนี้ระยะเวลานี้จะแตกต่างกันไปในแต่ละ Species ในสภาวะแวดล้อมหนึ่ง ๆ การเติบโตของจุลินทรีย์สามารถบอกได้โดยการวัดความขุ่น (Turbidity) ของจุลินทรีย์ในอาหารเหลว การเพิ่มขนาดของโคโลนีบนอาหารแข็ง หรือการเพิ่มของจำนวนเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เป็นต้น โดยการวัดนั้นต้องเทียบกับหน่วยเวลา

แบคทีเรียสามารถเพิ่มจำนวนด้วยการแบ่งเซลล์จาก 1 เป็น 2 (Binary fission) โดยเซลล์รุ่นลูกแต่ละเซลล์มีลักษณะเหมือนเซลล์แม่ทุกประการ และเมื่อกระบวนการแบ่งเซลล์สิ้นสุด จำนวนเซลล์หรือมวลชีวภาพ (Biomass) จะเพิ่มเป็น 2 เท่า การเจริญเติบโตของแบคทีเรียสามารถแบ่งออกเป็น 4 ระยะ ต่อไปนี้

1. ระยะ Lag phase ระยะนี้เป็นระยะที่เริ่มต้นใส่แบคทีเรียลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงเป็นระยะที่แบคทีเรียเริ่มมีการปรับตัวแต่ยังไม่มีการแบ่งเซลล์ และยังไม่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์

2. ระยะ Logarithmic phase หรือ Exponential phase หรือ Log phase จัดเป็นระยะที่แบคทีเรียมีการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนแบบ 2 เท่า อย่างรวดเร็วในอัตราคงที่ จึงเป็นระยะที่เซลล์ของแบคทีเรียมีอัตราของการเจริญเติบโตมากที่สุด

3. ระยะ Stationary phase เป็นระยะที่เซลล์แบคทีเรียจะใช้สารอาหารจนเกือบหมด ระยะนี้จัดเป็นระยะที่แบคทีเรียมีจำนวนสูงสุดและคงที่ โดยจะไม่มีการเพิ่มจำนวนอีก แม้ว่าแบคทีเรียจะมีการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นแต่จะอัตราการเกิดเท่ากับอัตราการตาย

4. ระยะ Death phase เป็นระยะที่แบคทีเรียตายลงได้อย่างรวดเร็ว และมีอัตราการตายเพิ่มมากขึ้น โดยจำนวนเซลล์ลดลงเป็น Exponential หรือ Logarithm เนื่องจากมีการใช้สารอาหารหมดไป อีกทั้งมีการสะสมของเสียและสารพิษที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึม (Metabolism pathway) เกิดมากขึ้น

2.6 การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ทางยา

ความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ยา (Stability) คือ ความสามารถของผลิตภัณฑ์ในการคงสภาพด้านคุณภาพ ความคงตัวทางเคมีของยาในตำรับ ความแรง เอกลักษณ์ และความบริสุทธิ์ การตรวจสอบความคงตัวนั้นมีความสำคัญทุกกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับยา ตั้งแต่กระบวนการผลิตจนถึงการเก็บรักษา เช่น ในโรงงานที่ทำการผลิต ในร้านยา และในบ้านของผู้บริโภค อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของยาในเภสัชภัณฑ์ไม่ได้ขึ้นอยู่กับปริมาณของตัวยาสำคัญเท่านั้น แต่ยังขึ้นกับคุณสมบัติทางเภสัชกรรมอื่น ๆ ด้วย เช่น อัตราเร็วในการแตกตัว และอัตราการละลายของยา เป็นต้น ดังนั้นการตรวจสอบความคงตัวของยาจึงต้องรวมการตรวจสอบคุณสมบัติอื่นด้วย และสอดแทรกทุกขั้นตอนของการผลิตและจัดจำหน่ายเภสัชภัณฑ์ (นัยนา สันติยานนท์, 2551)

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Singh และ Kuman (2015) ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของยางพาราที่พบในประเทศอินเดีย โดยใช้บิวทานอล อะซิโตนและคลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย ผลการทดลองพบว่า ใบยางพารามีองค์ประกอบทางเคมี คือ ฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ แทนนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ สตรียรอยด์ และอื่นๆ เป็นต้น นอกจากนี้สารสกัดจากใบยางพารายังสามารถต้านการเจริญของเชื้อทดสอบคือ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Klebsilla pneumoniae* ได้ดีกว่ายาปฏิชีวนะเพนนิซิลิน และแอมพิซิลิน โดยสารสกัดจากใบยางพารา เพนนิซิลิน และแอมพิซิลิน มีค่า MIC ต่อเชื้อ *E.coli* เท่ากับ 0.300, 0.280 และ 0.260 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ฤทธิ์ต้านการเจริญของ *P. aeruginosa* มีค่า MIC เท่ากับ 0.360, 0.320 และ 0.340 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนเชื้อ *K. Pneumoniae* มีค่า MIC เท่ากับ 0.380, 0.300 และ 0.310 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Shahwar และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากพืช 9 ชนิด ในวงศ์ Euphorbiaceae, Lauraceae, Malvaceae และ Balsaminaceae โดยใช้คลอโรฟอร์ม ปิโตรเลียมอีเทอร์ เอทิลอะซิเตท และเมทานอล ต่อ n - butanol เป็นตัวทำละลาย พบว่า เมื่อตรวจสอบปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin- Ciocalteu สารสกัดจากพืชมีปริมาณฟีนอลิกรวมระหว่าง 30.5 ถึง 547.0 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยต้นอบเชยลังกาและต้นแกงมีฤทธิ์สูงสุดโดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 96.8 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สารสกัดเอทิลอะซิเตทของละหุ่งสามารถแสดงค่าออกซิเดชันของไขมัน (FTC) สูงสุดได้เท่ากับ 79.3 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้สารสกัดคลอโรฟอร์มของต้นแก่นมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.2 กรัม/มิลลิลิตร

Daruliza และคณะ (2011) ทำการศึกษาสารสกัดจากน้ำยางพาราชนิด C - serum ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* จากการทดลองพบว่า น้ำยางพาราสามารถต้านการเจริญ

ของเชื้อ *A. niger* ได้อย่างจำเพาะเจาะจง แต่ไม่สามารถต้านการเจริญของ *Candida candidas* นอกจากนี้ C - serum ที่สกัดได้ที่ความเข้มข้นต่ำแสดงค่า LC_{50} เท่ากับ 98.4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งด้วยวิธี Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Lee และคณะ (2012) ได้ศึกษาสารจากน้ำยางพาราชนิด B - serum ในการต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งเต้านม 2 ชนิด ได้แก่ MCF - 7 และ MDA - MB231 ผลการทดลองพบว่าน้ำยางชนิด B - serum และสาร DBP มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งชนิด MDA - MB231 ได้ แต่มีผลข้างเคียงกับเซลล์ปกติเล็กน้อย

Zhang และคณะ (2014) ศึกษาคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียของยางธรรมชาติที่เติมนาโนซิลเวอร์ที่เตรียมจากสารสกัดน้ำของใบของว่านหางจระเข้ให้มีขนาดประมาณ 20 นาโนเมตร จากการทดลองพบว่าสารทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้ ทั้งนี้ประสิทธิภาพของการยับยั้งขึ้นอยู่กับปริมาณของอนุภาคนาโนซิลเวอร์และวิธีที่ใช้ในการสังเคราะห์วัสดุนาโน

ทัศนีย์ ปัญจานนท์ และคณะ (2548) ได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดผลยอที่สกัดด้วยเมทานอล และน้ำกลั่น ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และเชื้อแบคทีเรียรูปท่อนแกรมลบ ได้แก่ *Shigella dysenteriae, E. coli* AD group, *S. sonnei, Aeromonas hydrophila* และ *Shigella* sp. รวมทั้งศึกษาผลของสารสกัดต่อการเจริญของเชื้อประจำถิ่น คือ *Enterobacter agglomerans*, *Citrobacter freundii* และ *E. coli* ด้วยวิธี Disc diffusion และ Broth dilution ผลการทดลองพบว่า สารสกัดผลยอมีค่าวงใสการยับยั้งเชื้อทดสอบระหว่าง 7 – 13 มิลลิลิตร ซึ่งจัดว่ามีประสิทธิภาพต่ำกว่าเมื่อเทียบกับยาต้านเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ แอมพิซิลิน คลอแรมฟีนิคอล และซีฟลาโลทริน ที่ความเข้มข้น 5 - 30 ไมโครกรัมต่อแผ่น อย่างไรก็ตาม สารสกัดจากผลยอใช้ได้ผลในการรักษาหลายชนิด เช่น ลดความดันเลือด ต้านการอักเสบ แก้ปวด ลดเบาหวาน และรักษาโรคติดเชื้อ

อำไพ คำรอด (2548) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 25923 ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 3 ชนิด คือ ข่า ไพร และลูกกระวาน โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน เอทานอล และเมทานอล ด้วยวิธี Disc diffusion ผลปรากฏว่า สารสกัดหยาบจากข่าที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ได้

ในปี พ.ศ. 2550 สุภาพร พงษ์มณี และกัญณาญาภัค สนามพล ได้ศึกษาการสกัดสารจากพืชสมุนไพรเพื่อยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร โดยใช้พืชผักสมุนไพร 24 ชนิด และเชื้อก่อในโรคอาหาร 2 ชนิด คือ *S. aureus* TISTR 029 และ *S. typhimurium* TISTR 292 เมื่อทำการสกัดด้วยไอน้ำและเอทานอล 95% พบว่า สารสกัดด้วยไอน้ำของผักแขยง (*Limnophila aromatica* Merr.) สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้มากที่สุด โดยมีขนาดวงใสการยับยั้งเท่ากับ 9.5 มิลลิเมตร ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในขณะที่สารสกัดด้วยเอทานอล 95% จากน้ำคั้นสดของกระถิน (*Leucaena leucocephala (Lam.)* de Wit.) กวางตุ้ง (*Brassica chinensis* L.) และใบแค (*Sesbania grandiflora* (L.) Deav.) มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. typhimurium* มากที่สุด โดยมีขนาดวงใสการยับยั้งเท่ากับ 8.0 มิลลิเมตร ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

วัชรินทร์ กันหา (2551) ได้ทำการทดสอบสารสกัดหยาบจากเหง้ากระวานต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *S. aureus, E. coli, P. aeruginosa* และยีสต์ 1 สายพันธ์ คือ *Candida albicans*

ด้วยวิธี Disc diffusion และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เมทานอล ไดคลอโรมีเทน และปิโตรเลียมอีเทอร์ จากการทดลองพบว่า ส่วนสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด คือส่วนสกัดหยาบจากปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยสามารถยับยั้งเชื้อได้ 2 ชนิด คือ *S. aureus* และ *E. coli* โดยมีค่าวงใสการยับยั้งเท่ากับ 30 และ 25 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสามารถยับยั้ง *C. albicans* เท่ากับ 35 มิลลิเมตร ในขณะที่ส่วนสกัดหยาบจากไดคลอโรมีเทน เมทานอลของเหง้ากระวานสด และส่วนสกัดหยาบจากเมทานอลของเหง้ากระวานแห้ง ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด แต่เมื่อนำมาทดสอบความสามารถต่อการทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ พบว่าส่วนสกัดหยาบจากเมทานอลของเหง้ากระวานสดเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ซึ่งมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับ Buthyl hydroxyl toluene (BHT) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระทางการค้า

ปี พ.ศ. 2554 ภาวนา พนมเขต และคณะ ได้ทำการศึกษาสารสกัดจากพืช 6 ชนิด ได้แก่ ใบกระโดน (*Barringtonia acutangula* (L.) Gaertn.) ผักเสี้ยน (*Cleome gynandra* Linn.) ผักแขยง (*Limnophila geoffray*i Bonati.) บวบเหลี่ยม (*Luffa acutangula* (Linn.) Roxb.) บัวบก (*Centella asiatica* (L.) Urban.) และชะพลู *(Piper sarmentosum* Roxb.) โดยใช้เมทานอล เอทิลอะซิเตท และน้ำเป็นตัวทำละลาย ในการต้านเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* สายพันธุ์ H1038, A2, G207 และสายพันธุ์ที่แยกเชื้อได้จากผู้ป่วยด้วยวิธี Broth dilution และ Disc diffusion พบว่าสารสกัดเมทานอลของใบกระโดนแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *B. pseudomallei* ทั้ง 4 สายพันธุ์ที่นำมาทดสอบ โดยมีค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ โดยมีค่าเท่ากับ 4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดจากพืชชนิดอื่นไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *B. pseudomallei*

จาณียา ขันชะลี และคณะ (2554) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดเมทานอลจากพืชสมุนไพร 6 ชนิด คือ กระชาย ขมิ้น ดองดึง คนทา หนอนตายอยาก และประคำดีควาย ที่ความเข้มข้น 0, 10,000, และ 20,000 ppm ตามลำดับ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Olidium heveae* Steinm. และ *Phytophthora palmivora* Butl. ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดคนทาไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิด ในขณะที่สารสกัดจากกระชาย ขมิ้น ดองดึง คนทา หนอนตายอยาก และประคำดีควายมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P. palmivora* ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm โดยมีค่าการยับยั้งเท่ากับ 14, 58, 28, 85 และ 53% ตามลำดับ ในขณะที่ความเข้มข้น 20,000 ppm สามารถต้านการเจริญได้เท่ากับ 3, 1.5, 60, 63 และ 95% ตามลำดับ นอกจากนี้ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *O. heveae* ได้เท่ากับ 11, 19, 16, 12 และ 41% ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 20,000 ppm สามารถยับยั้งได้เท่ากับ 60, 1.8, 24, 27 และ 50.7% ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวสามารถสังเกตได้ว่า กระชายมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีที่สุดจึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาเตรียมเป็นสารสกัดใช้ในการรักษาโรคเส้นดำ โรคราแป้ง และโรคใบร่วงที่เกิดจากเชื้อราในยางพารา นอกจากนี้เมื่อทำการตรวจสอบด้วยเทคนิคสเปกโตรสโคปีพบผลึกจำนวน 4 ชนิด คือ Pinostrobin Pinocembrin และ Cardamonin โดยผลึกชนิดที่ 4 รอผลการวิเคราะห์ทางสเปกโตรสโคปีเพิ่มเติม

จิราภรณ์ บุราคร และเรือนแก้ว ประพฤติ (2555) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *K. pneumoniae* ATCC27736, *E. coli* ATCC25922,

S. epidermidis ATCC12228 และ *S. aureus* ATCC6538 ของพืชสมุนไพรพื้นบ้านไทยจำนวน 7 ชนิดโดยใช้น้ำ เมทานอล และเอทานอลเป็นตัวทำละลาย ด้วยวิธี Agar well diffusion ผลการทดลองพบว่า สารสกัดฟักแม้วที่สกัดด้วยเมทานอลแสดงการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. epidermidis* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยวงใสการยับยั้งเท่ากับ 20.46 และ 35.23 มิลลิเมตร ตามลำดับ ทั้งนี้สารสกัดเมทานอลของสะระแหน่และชะพลูแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *K. pneumoniae* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยวงใสการยับยั้งเท่ากับ 19.15 มิลลิเมตร และ 24.77 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Microdilution พบว่า สารสกัดเมทานอลของฟักแม้วต่อเชื้อ *E. coli* และ *S. epidermidis* แสดงค่า MIC เท่ากับ 7.81 และ 2.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดน้ำของสะระแหน่ และสารสกัดเมทานอลของชะพลูแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *K. pneumoniae* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 15.62 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และค่า MIC ของสารมาตรฐาน chloramphenicol ที่ยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae, E. coli, S. epidermi*dis และ *S. aureus* เท่ากับ 15, 7, 31 และ 7 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

นภาพร ศิลาฤทธิ์ และเนตรทราย เดชวีระพานิชย์ (2556) ได้นำใบสาบเสือสดและแห้งมาทำการสกัดด้วยวิธีการสกัดเย็น โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด คือน้ำกลั่น เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และเมทานอล พบว่า สารสกัดน้ำของใบสาบเสือสดได้สารสกัดหยาบมากที่สุดคือ 11.06 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำสารที่สกัดได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารซาโปนิน พบว่า สารสกัดเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ของใบสาบเสือสดมีสารซาโปนินมากที่สุดคือ 0.48 กรัม/มิลลิลิตร เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบสาบเสือในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *S. aureus* ด้วยวิธี disc diffusion พบว่า สารสกัดเมทานอลของใบสาบเสือแห้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. subtilis* และ *S. aureus* ได้ดีที่สุด จากนั้นนำสารสกัดเมทานอลของใบสาบเสือแห้งมาทดสอบหาค่า MIC โดยวิธี broth dilution พบว่า สารสกัดเอทานอลจากใบสาบเสือแห้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* และ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 99.67 และ 11.07 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพของเจลสมุนไพรจากสารสกัดเมทานอลของใบสาบเสือแห้ง พบว่าเจลสมุนไพรที่อัตราส่วนสารสกัด 6 มิลลิลิตร/3 เปอร์เซ็นต์ ไคโตซานมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ได้ดีที่สุด และอัตราส่วนสารสกัด 2 มิลลิลิตร/1 เปอร์เซ็นต์ ไคโตซานมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด

จากรายงานการวิจัยเป็นจำนวนมากได้สนับสนุนการนำสมุนไพรรวมทั้งผลิตผลที่ได้จากธรรมชาตินำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เช่น การนำมาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร หรือใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ในรูปแบบต่าง ๆ อาทิ ครีม โลชั่น โรออน และเจลต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเจลล้างมือ ซึ่งได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายเนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ได้ง่าย สามารถใช้แทนสบู่เหลวหรือสบู่ก้อนในกรณีที่เดินทางไปยังบริเวณที่ไม่สะดวกล้างมือด้วยน้ำ เพราะสามารถใช้เจลล้างมือทดแทนผลิตภัณฑ์ดังกล่าวได้ ตลอดจนมีหน่วยงานของภาครัฐได้สนับสนุนการใช้เจลล้างมือเพื่อยับยั้งเชื้อก่อโรคเมื่อเกิดการระบาดของโรคชนิดต่าง ๆ อีกทั้งกรรมวิธีการผลิตผลิตภัณฑ์เจลล้างมือสามารถทำได้ง่าย และประชาชนทั่วไปสามารถซื้อองค์ประกอบที่จะนำมาทำผลิตภัณฑ์ได้ง่าย

จากร้านสะดวกซื้อต่าง ๆ ด้วยเหตุดังกล่าว ผลิตภัณฑ์เจลล้างมือจึงเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในเขตเมืองและชนบท

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลล้างมือยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบางชนิดด้วยสารสกัดจากใบยางพารา เพื่อนำพืชที่มีอยู่ในท้องถิ่นและหาได้ง่ายมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เจลล้างมือยับยั้งแบคทีเรีย

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี