การยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* โดยใช้แผ่นฟิล์มบริโภคผสมสารสกัดมะรุม

Inhibition of *Streptococcus pyogenes* by edible film containing *Moringa oleifera* Lam. extracts

สุกัญญา จันทนู ภัสสร ยืนตระกูล และ ชวนพิศ จิระพงษ์*

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

สมุทรปราการ 10540

Sukanya Jantanu, Phatson Yuentrakul and Chaunpis Jirapong*

Division of Biological Science, Faculty of Science and Technology, Huachiew Chalermprakiet University,

Samutprakarn 10540

บทคัดย่อ

สารสกัดจากธรรมชาติและยาสมุนไพรเป็นทางเลือกในการใช้เป็นยาเพื่อยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค และพบว่ามีสรรพคุณในการรักษาโรคเจ็บคอที่เกิดจากการติดเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ในการศึกษาครั้งนี้ได้นำสารสกัดจากมะรุมมายับยั้งเชื้อ *S. pyogenes* โดยการสกัดสารจากใบ กิ่ง ฝัก (เนื้อในฝัก) ดอก เมล็ด และรากมะรุมด้วยตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคโดยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดจากเมล็ดมะรุมสามารถยับยั้งเชื้อได้ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้งสูงสุดเท่ากับ 31.33 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดจากดอก ฝัก ราก กิ่ง และใบมะรุม ตามลำดับ ฝักและรากมะรุมมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ เท่ากับ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบ เท่ากับ 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทดสอบด้วยวิธี microbroth dilution นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากรากมะรุมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงและสารสกัดจากเมล็ดมะรุมมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง ทั้งนี้จากการประยุกต์ใช้สารสกัดจากเมล็ดมะรุมที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นแผ่นฟิล์มบริโภคพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes*

คำสำคัญ: *Streptococcus pyogenes* โรคเจ็บคอ มะรุม สารต้านอนุมูลอิสระ ฟิล์มบริโภค

Corresponding author: yang_dede@hotmail.com

Abstract

The uses of natural extracts and medicinal plants are the alternative ways that can replace the uses of antibiotics and chemicals for prevention of strep throat caused by *Streptococcus pyogenes* infection. This study aimed to investigate the inhibitory effect of *Moringa oleifera* Lam. extracts against *S. pyogenes*. The extracts derived from leaves, branches, pod husks (pulp of pod husk), flowers, seeds and roots of *M. oleifera* Lam. by using 95% ethanol as solvent. The extracts were tested for the antimicrobial activities against *S. pyogenes* by agar well diffusion method. The result showed that the seeds extracts exhibited the highest inhibition diameter zone at 31.33 mm. Next were followed by the extracts of flowers, pod husks, roots, branches and leaves, respectively. However, pod husks and root extracts provided the highest efficiency to inhibit *S. pyogenes* with minimal inhibition concentration (MIC) of 12.50 mg/ml and minimal bactericidal concentration (MBC) of 25.00 mg/ml. Furthermore, root extracts showed the highest total phenolic content and seed extracts showed the highest antioxidant content. In addition, *M. oleifera* Lam. seed extract at 25 mg/ml used for application as edible film that could inhibit the growth of *S. pyogenes*.

Keywords: *Streptococcus pyogenes*, Strep throat, *Moringa oleifera* Lam., Antioxidant, Edible film

บทนำ

โรคเจ็บคอเป็นปัญหาทางสุขภาพที่พบบ่อยกับคนทุกวัย พบปริมาณ 15-30 เปอร์เซ็นต์ ของผู้ป่วยในช่วงอายุ 5-15 ปี อาการเจ็บคอมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อ *Streptococcus pyogenes* จัดอยู่ใน Group A beta-hemolytic streptococcus ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการเกิดอาการเจ็บคอ จึงนิยมเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า Strep throat อาการเจ็บคอที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์นี้จะทำให้เกิดอาการบวมของต่อมทอนซิล ส่งผลให้การกลืนทำได้ลำบาก บางรายรู้สึกเจ็บมากเวลาที่กลืน นอกจากนี้ผู้ป่วยจะมีอาการไข้สูงร่วมกับอาการลมหายใจมีกลิ่นเหม็น หากอาการเจ็บคอไม่ได้รับการรักษาจะมีผลพัฒนาต่อไปเป็นไข้รูมาติกและไตอักเสบเฉียบพลัน [1] เชื้อโรคที่ก่อให้เกิดอาการเจ็บคอเป็นเชื้อโรคที่ติดต่อได้ง่ายและรวดเร็ว เกิดจากการสัมผัสสารคัดหลั่งจากทางเดินหายใจ จากการอยู่ร่วมกันในสถานที่แออัดกับผู้ป่วยหรือคนที่เป็นพาหะ [2] เพื่อมิให้ก่อให้เกิดโรคแทรกซ้อนจึงนิยมการรักษาโดยการรับประทานยาปฏิชีวนะในกลุ่มของเพนนิซิลินเพื่อกำจัดเชื้อ ถึงแม้ยาในกลุ่มของเพนนิซิลินจะมีประสิทธิภาพดี แต่มีข้อเสีย คือ ราคาค่อนข้างสูง หากใช้เป็นระยะเวลานานอาจมีการดื้อยาเพิ่มมากขึ้น [3] ผู้วิจัยจึงได้มีแนวคิดในการศึกษาวิจัยถึงคุณสมบัติของมะรุมเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ในการสนับสนุนการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพร โดยการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดอาการเจ็บคอ เนื่องด้วยมะรุมเป็นพืชสมุนไพรที่คนไทยรู้จักมาเป็นเวลานาน มีการรายงานของ Govardhan และคณะ [4] พบสารโพลีฟีนอลิกและฟีนิลิกอิสระ ได้แก่ gallic acid, ferulic acid, caffeic acid, cinnamic acid, catechin, epicatechin, vanillin และ quercetin เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานของ เรืองศรี [5] กล่าวว่าสารสำคัญที่พบในมะรุมทั้งใบ ดอก เนื้อผล เมล็ด ราก และเปลือก ได้แก่ benzamide และ benzyl isothiocyanate มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สาร glucosinolat, isothiocyanates, kaempferol, rhamnetin, isoquercitrin และ kaempferitrin ออกฤทธิ์ช่วยลดความดัน ต้านแบคทีเรียและรา และต้านการอักเสบ เป็นต้น รวมทั้งยังพบว่ามะรุมเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการ

รักษาโรคต่าง ๆ และมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* spp. *Pseudomonas* spp. และ *Staphylococcus aureus* [6].

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของมะรุม ได้แก่ ใบ กิ่ง ฝัก (เนื้อในฝัก) ดอก เมล็ด และรากของมะรุม ในการยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes* โดยศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (minimal inhibitory concentration: MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (minimal bactericidal concentration: MBC) ของสารสกัด รวมทั้งการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังได้นำสารสกัดมะรุมมาเปลี่ยนรูปแบบเป็นแผ่นฟิล์มบริโภค เพื่อเป็นการพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรและเพิ่มมูลค่าให้กับมะรุม

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัด

นำส่วนของใบ กิ่ง ฝัก (เนื้อในฝัก) ดอก เมล็ด และรากของมะรุมมาล้างด้วยน้ำสะอาดแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็ก เติมตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ (อัตราส่วน พืช : ตัวทำละลาย คือ 1 กรัม : 5 มิลลิลิตร) ปิดภาชนะให้สนิทและนำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการปรับความเข้มข้นของสารสกัดมะรุมให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วย dimethyl sulfoxide (DMSO) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำมาทำการทดสอบ

2. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดด้วยวิธี Folin-ciocalteu phenol test ดัดแปลงจากวิธีของ Thaipong และคณะ [7] คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับสารละลายมาตรฐาน gallic acid

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay โดยดัดแปลงจากวิธีของ Thaipong และคณะ [7] นำตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมสารละลาย working solution (DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)) ปริมาตร 2,900 ไมโครลิตร นำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เทียบกับสารละลายมาตรฐาน Trolox

4. การเตรียมเชื้อทดสอบ

ทำการเพาะเชื้อบริสุทธิ์ *S. pyogenes* โดยนำเชื้อบริสุทธิ์มาขีดแยกเชื้อลงบนอาหารเพาะเชื้อ blood agar และบ่มใน candle jar ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นคัดเลือกโคโลนีจาก blood agar มาทำการย้อมแกรม และดูการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบ β-hemolytic ถ่ายเชื้อจาก blood agar ลงบนอาหารเพาะเชื้อ brain heart infusion broth (BHI broth) บ่มใน candle jar ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ทำการตรวจวัดความขุ่นด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร โดยกำหนดให้ค่าอยู่ในช่วง 0.08-0.13 (6 log CFU ต่อมิลลิลิตร)

5. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะรุมในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคโดยวิธี agar well diffusion

นำแบคทีเรียทดสอบที่เตรียมไว้มาเกลี่ย (swab) ลงบนอาหารเพาะเชื้อ Mueller-Hinton agar (MHA) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ประมาณ 5-10 นาที จากนั้นทำการเจาะหลุมด้วยที่เจาะจุกคอร์ก (cork borer) เบอร์ 6 (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12.5 มิลลิเมตร) ปิเปตต์สารสกัด

จากมะรุม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร หยดลงในหลุม และทิ้งไว้ประมาณ 30-60 นาที จากนั้นนำไปบ่มใน candle jar ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ทำการตรวจสอบผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง (inhibition zone) ด้วยเวอร์เนีย (vernier caliper) (หน่วยเป็นมิลลิเมตร) ทั้งนี้ในแต่ละการทดลองจะทำซ้ำ 3 ครั้ง

6. การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration: MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (minimal bactericidal concentration: MBC) ของสารสกัดจากมะรุม

ถ่ายอาหารเพาะเชื้อ Mueller-Hinton broth (MHB) ลงในหลุม 1-10 ของ microliter plate ปริมาตรหลุมละ 100 มิลลิลิตร เติมสารสกัดจากมะรุม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลุมที่ 1 แล้วเจือจางครั้งละสองเท่าจนถึงหลุมที่ 8 ทำการถ่ายเชื้อทดสอบ จำนวน 6 log CFU ต่อมิลลิลิตร ใส่ลงในหลุม ปริมาตรหลุมละ 5 ไมโครลิตร ลงในหลุมที่ 1 ถึงหลุมที่ 10 จากนั้นเติม resazurin ความเข้มข้น 0.055 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แล้วนำไปบ่มใน candle jar ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง การอ่านผลจะสังเกตจากการเปลี่ยนสีของ resazurin โดยสีของ resazurin จะมีสีม่วงหากสารสกัดจากมะรุมมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทดสอบ ซึ่งแสดงว่าไม่มีการเจริญของเชื้อทดสอบ และสีของ resazurin มีสีชมพูหากสารสกัดจากมะรุมไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทดสอบ ซึ่งแสดงว่ามีการเจริญของเชื้อทดสอบ จากนั้นใช้ห่วงถ่ายเชื้อแตะเชื้อจากหลุมทดสอบทุกความเข้มข้นของสารสกัดมาขีดลงบนอาหารเพาะเชื้อ BHI agar นำไปบ่มใน candle jar ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หากไม่พบการเจริญของเชื้อแสดงว่าสารสกัดจากมะรุมสามารถฆ่าเชื้อทดสอบได้

7. การผลิตแผ่นฟิล์มบริโภคผสมสารสกัดมะรุม

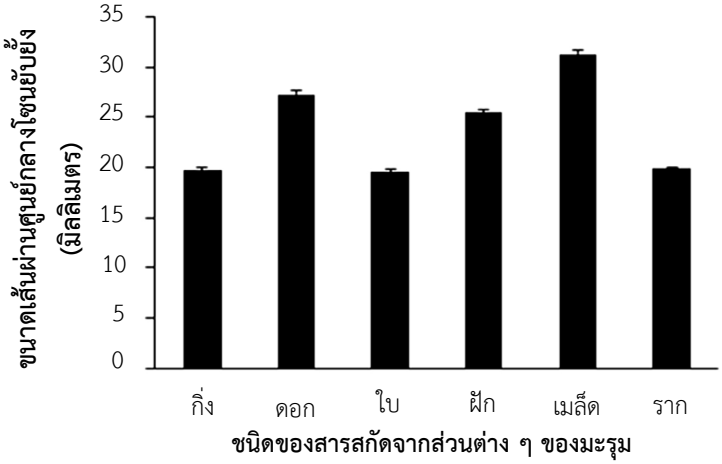
ซั่งแป้งข้าวเจ้า หนัก 0.5 กรัม ผสมกับน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ทำการกวนผสมให้เข้ากันด้วยแท่งแม่เหล็กกวนสาร (magnetic bar) ที่อุณหภูมิ 70-75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที บนเตาให้ความร้อน จากนั้นเติมอัลจิเนต หนัก 0.16 กรัม และเติมกลีเซอรอล ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ทำการเติมสารสกัดจากมะรุมให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย เท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ปริมาตรทั้งหมดเท่ากับ 20 มิลลิลิตร) เทใส่จานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร นำไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนฟิล์มแห้งเพื่อนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

8. การทดสอบประสิทธิภาพของแผ่นฟิล์มบริโภคผสมสารสกัดจากมะรุมในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคโดยวิธี Disc diffusion (ดัดแปลงจากวิธีของ จิราวรรณ และ นิษาอร [8])

นำแบคทีเรียทดสอบที่เตรียมไว้มาเกลี่ยลงบนอาหารเพาะเชื้อ MHA ให้ทั่วผิวหน้าอาหารด้วยไม้พันสำลีที่ฆ่าเชื้อ โดยเฉียงทำมุม 45 องศา 3 ระนาบให้ถี่ที่สุด ทิ้งไว้ประมาณ 5-10 นาที จากนั้นนำแผ่นฟิล์มผสมสารสกัดจากมะรุมที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาตัดให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ cork borer เบอร์ 6 (เส้นผ่านศูนย์กลาง 12.5 มิลลิเมตร) นำแผ่นฟิล์มวางลงบนผิวหน้าอาหารที่เขียนระบุตำแหน่งไว้ โดยชุดควบคุมผลบวก คือ แผ่นฟิล์มผสมด้วยยาแอมพิซิลิน ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนชุดควบคุมผลลบ คือ แผ่นฟิล์มที่ไม่ผสมสารสกัดจากมะรุม จากนั้นนำไปบ่มใน candle jar ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง ทำการบันทึกผลโดยวัดจากขนาดของโซนยับยั้ง ด้วยเวอร์เนีย (หน่วยเป็นมิลลิเมตร) ทั้งนี้ในแต่ละการทดลองจะทำซ้ำ 3 ครั้ง

ผลการวิจัย

สารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของมะรุมมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคออักเสบ ซึ่งเกิดจากการที่ร่างกายติดเชื้อ *S. pyogenes* ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาสารสกัดจาก 6 ส่วน ของมะรุม ได้แก่ ใบ กิ่ง ฝัก (เนื้อในฝัก) ดอก เมล็ด และรากมะรุม ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบด้วยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดจากเมล็ด ดอก ฝัก ราก กิ่ง และใบมะรุมสามารถยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes* ได้ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง เท่ากับ 31.33, 27.33, 25.50, 19.83, 19.67 และ 19.50 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes* ของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของมะรุม โดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้งด้วยเวอร์เนีย

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของมะรุม

ชนิดของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของมะรุม	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด* (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ* (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร Trolox)
กิ่ง	0.784±0.00	30.22±0.07
ดอก	0.891±0.04	29.62±0.05
ใบ	0.965±0.09	27.00±0.12
ฝัก	0.841±0.04	29.94±0.07
เมล็ด	0.792±0.13	30.38±0.09
ราก	1.116±0.04	29.62±0.05

หมายเหตุ *แต่ละการทดลองจะทำซ้ำ 3 ครั้ง

ผลจากการวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดจากเมล็ดและกิ่งมะรุมมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง เท่ากับ 30.38 และ 30.22 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร Trolox ตามลำดับ และสารสกัดจากรากมะรุมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด เท่ากับ 1.116 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 1)

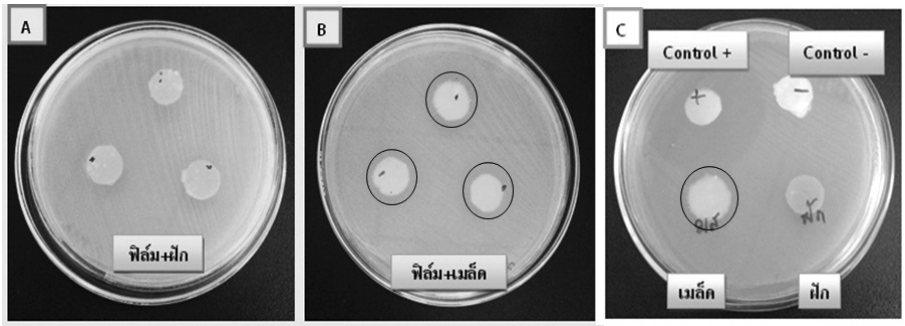
ผลจากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะรุมในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคโดยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดจากเมล็ดมะรุมจะให้ผลดีกว่าส่วนอื่น ๆ ของมะรุม และจากการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. pyogenes* (MBC) พบว่าสารสกัดจากฝักและรากของมะรุมมีค่า MIC เท่ากับ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากดอกและเมล็ดมะรุมมีค่า MIC เท่ากับ 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากกิ่งและใบมะรุมมีค่า MIC เท่ากับ 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากดอก ฝัก และรากมีค่า MBC เท่ากับ 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration: MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (Minimal bactericidal concentration: MBC) ของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของมะรุม

สารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของมะรุม	**ความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (MIC)* (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)**	**ความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อ (MBC)* (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)**
กิ่ง	50.00	100.00
ดอก	25.00	25.00
ใบ	50.00	100.00
ฝัก	12.50	25.00
เมล็ด	25.00	100.00
ราก	12.50	25.00

หมายเหตุ *แต่ละการทดลองจะทำซ้ำ 3 ครั้ง

จากการทดลองเบื้องต้นพบว่า สารสกัดจากเมล็ดมะรุมมีฤทธิ์การยับยั้งสูงสุดจากการทดสอบด้วยวิธี agar well diffusion และสารสกัดจากฝักมะรุมมีค่า MIC ต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. pyogenes* ได้ ดังนั้นจึงเลือกสารสกัดทั้ง 2 ชนิด มาผสมเป็นแผ่นฟิล์มบริโภค และทำการทดสอบประสิทธิภาพของแผ่นฟิล์มบริโภคผสมสารสกัดทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี disc diffusion พบว่าแผ่นฟิล์มบริโภคที่ผสมสารสกัดเมล็ดมะรุมแสดงผลในการยับยั้งที่ชัดเจน และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes* ได้ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง เท่ากับ 1.95 มิลลิเมตร (ภาพที่ 2) ทั้งนี้พบว่าแผ่นฟิล์มที่ผสมสารสกัดฝักมะรุมไม่เกิดการยับยั้ง จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าแผ่นฟิล์มบริโภคที่ผสมสารสกัดเมล็ดมะรุมมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes* ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดสอบสารสกัดจากเมล็ดมะรุมด้วยวิธี agar well diffusion โดยมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้งกว้างมากที่สุด ดังนั้นแผ่นฟิล์มผสมสารสกัดเมล็ดมะรุมจึงสามารถผลิตเพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรคเจ็บคอ ซึ่งเป็นการนำสมุนไพรพื้นบ้านมารักษาโรคเจ็บคอแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ ทั้งนี้ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับการศึกษาทางด้านเภสัชเวทในลำดับต่อไป



ภาพที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของแผ่นฟิล์มบริโภคผสมสารสกัดจากเมล็ดมะรุมและสารสกัดจากฝักมะรุมในการยับยั้ง *S. pyogenes* โดยวิธี Disc diffusion

A คือ แผ่นฟิล์มบริโภคผสมสารสกัดฝักมะรุม

B คือ แผ่นฟิล์มบริโภคผสมสารสกัดเมล็ดมะรุม

C คือ แผ่นฟิล์มบริโภคผสมสารสกัดเมล็ดมะรุม สารสกัดฝักมะรุม และชุดควบคุม

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

สารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของมะรุม ทั้ง 6 ส่วน ได้แก่ ใบ กิ่ง ฝัก (เนื้อในฝัก) ดอก ราก และเมล็ดมะรุมที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *S. pyogenes* จากการทดสอบพบว่าสารสกัดจากเมล็ดมะรุมมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง เท่ากับ 31.33 มิลลิเมตร สารสกัดจากฝักและรากมะรุมมีค่า MIC เท่ากับ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากรากมะรุมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง และสารสกัดจากเมล็ดและกิ่งมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกัน สารสกัดจากเมล็ดมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 30.38 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร Trolox และผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มบริโภคผสมสารสกัดจากเมล็ดมะรุมที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes*

สารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของมะรุมมีปริมาณสารที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งส่งผลให้เกิดประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes* ทั้งนี้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อเป็นผลมาจากสารประกอบฟีนอลิกทำให้เกิดรูรั่วในส่วนของ

ไขมันบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (lipid bilayer membrane) ส่งผลให้โครงสร้างและการทำงานของเซลล์สูญเสียไป และทำให้เซลล์ตาย [9] ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Govardhan และคณะ [4] พบสารโพลีฟีนอลิกและฟีนิลิกอิสระในสารสกัดเมล็ดมะรุมซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ ได้แก่ gallic acid, ferulic acid, caffeic acid, cinnamic acid, catechin, epicatechin, vanillin และ quercetin เป็นต้น นอกจากนี้งานวิจัยของ วัชรี และกัลทิมา [10] รายงานว่ามะรุมมีสารพฤกษเคมีที่หลากหลาย เช่น glucosinolates, isothiocyanates, alkaloids และ flavonoids ซึ่งสารเหล่านี้ล้วนมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ เช่น ลดความดัน ลดไขมันในเลือด ลดไข้ และมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพและสาขาวิชาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ในการสนับสนุนการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. วรนุช แสงเจริญ, สงวน ลือเกียรติบัณฑิต. อาการเจ็บคอจากภาวะคอหอยอักเสบเฉียบพลัน. วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ 2555;7(1):52-9.
2. พวงทอง ไกรพิบูลย์. โรคสเตรปโธรท (Strep throat). [อินเตอร์เน็ต]. 2553 [เข้าถึงเมื่อ 14 ส.ค. 2557]. เข้าถึงได้จาก: http://haamor.com/th/โรคสเตรโธรท
3. กรีฑา ม่วงทอง. เจ็บคอ (sore throat). [อินเตอร์เน็ต]. 2544 [เข้าถึงเมื่อ 14 ส.ค. 2557]. เข้าถึงได้จาก: http://www.vichaiyut.co.th/jul/22_022545/22_02_2545 P51-54. pdf
4. Govardhan RS, Pradeep SN, Radha C. Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of free and bound phenolic extracts of *Moringa oleifera* seed flour. J Funct Foods 2013;5:1883-91.
5. เรืองศรี อิสสระ. มะรุมและการปลูกมะรุม. [อินเตอร์เน็ต]. 2554 [เข้าถึงเมื่อ 9 ส.ค. 2557]. เข้าถึงได้จาก: http://puechkaset.com/มะรุม/
6. Hemen TJ, Johnson JT, Ujah OF, Udenze ECC. Comparative antibacterial property of ethanolic leaf and seed extracts of *Moringa oleifera* Lam. Pharmasm 2013;4:255-63.
7. Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Hawkins BD. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. J Food Compos Anal 2006;19:669-75.
8. จิราวรรณ เพียงเกษ, นิษาอร เป้าเปี่ยมทรัพย์. แผ่นฟิล์มบริโภคได้ผสมสารสกัดจากมะแขว่นยับยั้งเชื้อ *Vibrio cholerae* และ *Vibrio parahaemolyticus*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ, บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. สมุทรปราการ; 2556.
9. Sfeir J, Lefrançois C, Baudoux D, Derbré S, Licznar P. *In vitro* antibacterial activity of essential oils against *Streptococcus pyogenes*. Evid Based Complement Alternat Med 2013;2013:269161.
10. วัชรี ชัยชมภู, กัลทิมา พิชัย. ผลของสารสกัดจากพืชต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคอลเลทโททริคั่ม. วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก 2553;3(2):18-25.