บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในปัจจุบันประเทศทั่วโลกเริ่มให้ความสำคัญกับพืชสมุนไพรอย่างมากในด้านอุตสาหกรรมการผลิตยาต้านจุลชีพ เนื่องจากตระหนักถึงปัญหาเชื้อดื้อยาที่เพิ่มมากขึ้นทุกปี ในช่วงเวลา 10 ปีที่ผ่านมา ประเทศไทยใช้ยาปฏิชีวนะมีมูลค่ามากกว่าปีละ 10,000 ล้านบาท พบเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะมากขึ้น คนไทยติดเชื้อดื้อยามากกว่าปีละ 100,000 คน และเสียชีวิตมากกว่าปีละ 30,000 ราย ทำให้เป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศ และก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจเป็นมูลค่ามหาศาล (พงษ์พิสุทธิ์ จงอุดมสุข, 2555) เชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคมักพบการปนเปื้อนและกระจายอยู่ทั่วไปตามแหล่งต่าง ๆ การกำจัดหรือยับยั้งเชื้อก่อโรคมักจะอาศัยยาปฏิชีวนะหรือสารเคมีมาใช้ในการรักษา ซึ่งผู้ป่วยบางรายมีอาการแพ้ต่อยาปฏิชีวนะหรือสารเคมีที่ใช้ในการรักษา และหากมีการใช้ยาปฏิชีวนะบ่อย ๆ ก็จะก่อให้เกิดการดื้อยาของเชื้อจุลินทรีย์จนไม่สามารถใช้ยาตัวเดิมในการรักษาได้อีก ทางการแพทย์จึงพยายามหาแนวทางในการรักษา และยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรค โดยการค้นหาสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความสำคัญในการรักษาโรคติดเชื้อ เช่น สารยับยั้งเชื้อรา สารยับยั้งแบคทีเรีย มาใช้ในการรักษาแทน โดยแหล่งที่มาของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพส่วนใหญ่จะได้มาจากธรรมชาติหรือสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในธรรมชาติ เช่น พืช ผัก สมุนไพร ผลไม้ และเชื้อจุลินทรีย์ โดยสิ่งมีชีวิตเหล่านี้สามารถผลิตสารที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด ประเทศไทยมีภูมิประเทศและภูมิอากาศที่เหมาะแก่การเจริญเติบโตของพืชสมุนไพรหลายชนิด และยังนิยมนำสมุนไพรพื้นบ้านมาใช้ประโยชน์ต่าง ๆ มากมาย ได้แก่ นำมาเป็นอาหาร เครื่องเทศ และนำมาใช้เป็นยารักษาโรค เพราะมีราคาถูกกว่ายาแผนปัจจุบัน มีรายงานว่าพบสารสำคัญหลายชนิดในน้ำมันที่สกัดจากสมุนไพรซึ่งมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ (กัญญา แปลงโฉม และ พรพิมล กาญจนวาศ, 2558).

กระเทียม *Allium sativum* (L.) ข่า *Alpinia galanga* (L.) และขมิ้น *Curcuma longa* (L.) เป็นพืชสมุนไพรที่อยู่คู่กับสังคมไทยมาช้านาน อาหารไทยส่วนมากมักมีสมุนไพรเหล่านี้เป็นองค์ประกอบทั้งสิ้น คนไทยจึง

ได้รับประโยชน์จากการบริโภคสมุนไพรไทยมานานแล้ว เพียงแต่สมัยก่อนยังขาดการศึกษาวิจัยที่จริงจัง ปัจจุบันนี้เป็นที่ทราบกันถึงคุณประโยชน์อันมากมายของสมุนไพรไทย ทำให้มีผู้สนใจหันมาบริโภคกระเทียม ข่า และขมิ้น รวมถึงพืชสมุนไพรอื่น ๆ มากขึ้น ถึงแม้ว่าปัจจุบันวิทยาการทางด้านการแพทย์จะเจริญก้าวหน้าไปไกล แต่ก็ปฏิเสธไม่ได้ว่าคนส่วนมากกลับหันมาสนใจในเรื่องสมุนไพร และอาหารเพื่อสุขภาพมากขึ้น กระเทียม จัดเป็นยาอายุวัฒนะมีประโยชน์ครอบจักรวาลทั้งในด้านการต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ลดไขมันในเลือด ป้องกันเลือดจับตัวเป็นลิ่ม รักษาความดันโลหิตสูง ต้านมะเร็ง และใช้เป็นยาปฏิชีวนะ (จันเพ็ญ บางสำรวจ, 2553) และยังมีการนำกระเทียมมาใช้ในด้านเภสัชวิทยาเพื่อต้านเชื้อจุลชีพต่าง ๆ ได้แก่ เชื้อรา โปรโตซัว แบคทีเรีย และไวรัสโดยองค์ประกอบทางเคมีที่เป็นสารคัญของกระเทียม ได้แก่ allicin, ajoene, Sallylcysteine ซึ่งสารออกฤทธิ์หลักที่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพต่าง ๆ ในกระเทียมคือสารอัลลิซิน (allicin หรือ diallyl thiosulfinate) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* เป็นต้น (พจมาน ผู้มีสัตย์ และคณะ, 2551) ส่วนข่านั้น มักนำข่ามาประกอบอาหารแต่ส่วนมากจะใช้ประโยชน์ทางยา โดยพบน้ำมันหอมระเหยประมาณ 0.3-1.5 % การนำข่ามาเป็นยารักษาแก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับลม แก้ท้องเดิน ลมพิษ รักษากลากเกลื้อน โรคผิวหนัง (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2553) สุภารัตน์ จันทร์เหลือง และคณะ (2553) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพเบื้องต้นของสารสกัดข่าลิง (*Alpinia Conchigera*) ที่สกัดด้วยเฮกเซน เอทธิลอะซิเทต และเมทานอล ต่อเชื้อที่เป็นเชื้อแบคทีเรีย แกรมบวก แกรมลบ เชื้อที่เจริญโดยไม่ใช้ออกซิเจน พบว่าสารสกัดหยาบจากข่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้ ส่วนขมิ้นชัน (Curcumin) เป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่คนไทยรู้จักกันดี เพราะถูกนำมาใช้ประกอบอาหารเป็นส่วนประกอบของเครื่องสำอาง รวมทั้งใช้เป็นยารักษาโรคมาตั้งแต่สมัยโบราณ ขมิ้นชันมีสารสำคัญที่นำมาใช้ในทางเภสัชกรรม คือ สารเคอร์คูมิน ซึ่งเป็นสารประกอบประเภทโพลีฟีนอล ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในสารละลายที่มีขั้ว เช่น แอลกอฮอล์ อัลคาไลด์ คีโตน กรดอะซิติก และคลอโรฟอร์ม (Aggarwal *et al*, 2003) จากการศึกษาของนุศวดี พจนานุกิจ และ สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม (2550) ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากขมิ้นชัน ทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Propionibacterium acnes* และเชื้อ *Staphylococcus aureus* พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้ และนำสารสกัดหยาบดังกล่าว ไปหาปริมาณของสารออกฤทธิ์ที่สกัดได้ด้วยเทคนิค HPLC สารเคอร์คูมิน (Curcumin) จากขมิ้นชันได้ 0.8753 mg/g ของขมิ้นชัน

คณะผู้วิจัยจึงได้เล็งเห็นความสำคัญของสมุนไพรดังกล่าว จึงศึกษาวิธีการสกัดรวมถึงการนำสารสกัดหยาบจากกระเทียม ข่า และขมิ้นชันไปใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการก่อให้เกิดโรค นับว่าวิธีนี้เป็นจุดเริ่มต้นของแนวทางในการพัฒนายาสมุนไพรแผนโบราณทางด้านอุตสาหกรรมและการแพทย์ รวมทั้งเป็นการศึกษาเบื้องต้นในการนำสมุนไพรในท้องถิ่นมาใช้ให้เป็นประโยชน์ ซึ่งจะช่วยในการลดการใช้สารเคมี และเป็นการเพิ่มมูลค่าของสมุนไพรไทยอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อศึกษาสภาวะและตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารสกัดหยาบจากกระเทียม ข่า และขมิ้นชันที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 4 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบแบ่งเป็น แบคทีเรียแกรมบวก 2 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* (DMST 8840) และ *Bacillus cereus* (ATCC 035) และแบคทีเรียแกรมลบ 2 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* (ATCC 0074) และ *Salmonella* Typhi (TISTR 2519) ได้จากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

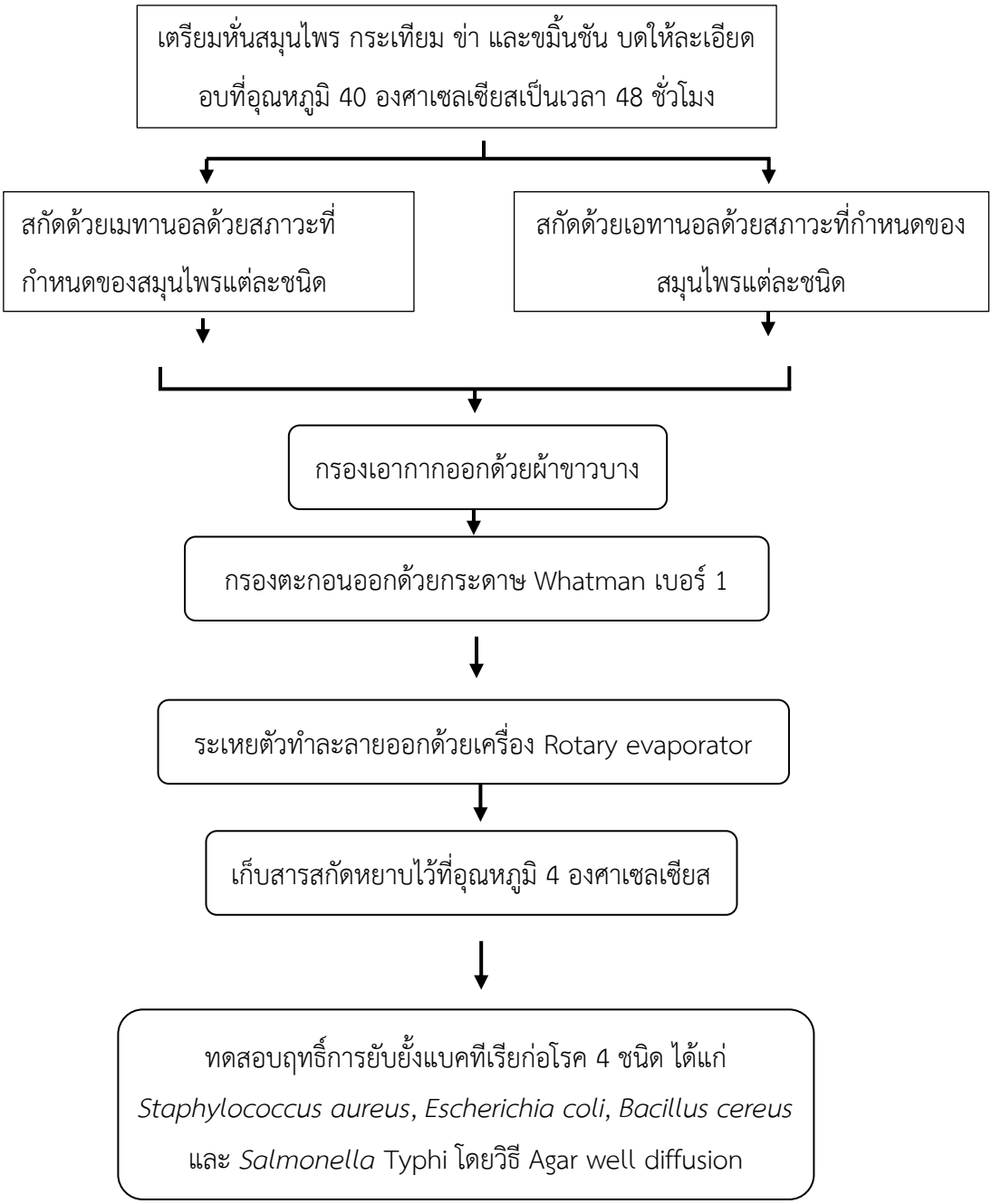
1.3.1 สกัดสารหยาบจากกระเทียมโดยใช้อุณหภูมิในการสกัดแตกต่างกัน ได้แก่ 30 องศาเซลเซียส และ 60 องศาเซลเซียส และใช้ตัวทำละลายในการสกัดแตกต่างกัน ได้แก่ เมทานอล ร้อยละ 99.9 (v/v) และเอทานอล ร้อยละ 99.9 (v/v)

1.3.2 สกัดสารสกัดหยาบจากข่าโดยใช้วิธีการสกัดที่แตกต่างกัน ได้แก่ คลื่นอัลตราโซนิคความถี่ 50/60 เฮิร์ต ร่วมกับความร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับการสกัดโดยการแช่ข่าในตัวทำละลายวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง และใช้ตัวทำละลายในการสกัดแตกต่างกัน ได้แก่ เมทานอล ร้อยละ 99.9 (v/v) และเอทานอลร้อยละ 99.9 (v/v)

1.3.3 สกัดสารสกัดหยาบจากขมิ้นโดยการใช้ soxhlet extraction และการแช่ที่อุณหภูมิห้อง ด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันคือ เมทานอล ร้อยละ 99.9 (v/v) และเอทานอลร้อยละ 99.9 (v/v)

1.3.4 ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยสารสกัดหยาบจากกระเทียม ข่า และขมิ้นด้วยวิธี Agar Well diffusion

1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน (หากมี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย


เตรียมหั่นสมุนไพร กระเทียม ข่า และขมิ้นชัน บดให้ละเอียด
อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง
สกัดด้วยเมทานอลด้วยสภาวะที่
กำหนดของสมุนไพรแต่ละชนิด
สกัดด้วยเอทานอลด้วยสภาวะที่กำหนดของ
สมุนไพรแต่ละชนิด
กรองเอากากออกด้วยผ้าขาวบาง
กรองตะกอนออกด้วยกระดาษ Whatman เบอร์ 1
ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator
เก็บสารสกัดหยาบไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค 4 ชนิด ได้แก่
Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Bacillus cereus
และ Salmonella Typhi โดยวิธี Agar well diffusion