วารสารวิชาการสาธารณสุข
ปีที่ 29 ฉบับที่ 4 กรกฎาคม - สิงหาคม 2563

Journal of Health Science
Vol. 29 No. 4, July - August 2020

นิพนธ์ต้นฉบับ

Original article

ฤทธิ์ต้านเชื้อก่อสิว *Staphylococcus epidermidis* ด้วยแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุด

สิรภพ นาคะวัจนะ มัธยมศึกษาตอนปลาย*
สิตานันท์ ศรีสุภาสิตานนท์ มัธยมศึกษาตอนปลาย*
อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ ปร.ด.**
ประกิต สุขใย ปร.ด.***
อรวรรณ ปิยะบุญ ปร.ด.*

** สาขาวิชาชีววิทยาและวิทยาศาสตร์สุขภาพ โรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์ นครปฐม*
*** สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร*
**** ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเกษตรอุตสาหกรรม วิทยาเขตบางเขน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร*

วันรับ: 10 เม.ย. 2562
วันแก้ไข: 8 ก.ค. 2562
วันตอบรับ: 17 ก.ค. 2562

บทคัดย่อ *Staphylococcus epidermidis* เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดสิวอักเสบ สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าวได้ จึงได้พัฒนาแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุด วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* และพัฒนาแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุดในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *S. epidermidis* โดยการสกัดเปลือกมังคุดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95% จากนั้นสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดถูกละลายด้วยสารละลาย dimethyl sulfoxide (DMSO) เพื่อทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ด้วยวิธี paper disc diffusion และนำมาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญและฆ่าเชื้อ *S. epidermidis* ด้วยวิธี broth dilution พบว่า สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งการเจริญและฆ่าเชื้อ *S. epidermidis* ได้ โดยค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) เท่ากับ 51,200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่มีความเหมาะสมที่สุดในการพัฒนาเป็นแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุด ต่อจากนั้นพัฒนาแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุดนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. epidermidis* ด้วยวิธี paper disc diffusion พบว่าแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. epidermidis*

คำสำคัญ: **แผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพ; สารสกัดอย่างหยาบจากเปลือกมังคุด; เชื้อ *Staphylococcus epidermidis***

บทนำ

สิวเป็นโรคที่พบได้บ่อยโดยเฉพาะในกลุ่มวัยรุ่น สาเหตุหนึ่งที่สำคัญในการเกิดสิว คือ ต่อมไขมันผลิตไขมันมากและมีการอุดตันทางเดินของไขมัน หากมีการสะสมของเชื้อแบคทีเรีย อย่างเช่น *S. epidermidis* ที่บริเวณรูขุมขนแบคทีเรียเข้าไปยังท่อขุมขนที่อุดตันก็จะทำให้เกิดการอักเสบ บวมแดง หรือเป็นหัวหนองขึ้นมา[1]

การป้องกันการเกิดการอักเสบของสิวมีการพัฒนาสาร

เคมีที่ผลทำลายแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการอักเสบ เพื่อป้องกันการเกิดการอักเสบของสิว โดยส่วนใหญ่อยู่ในรูปแบบของยาปฏิชีวนะชนิดทาภายนอก เช่น erythromycin และ clindamycin แต่ยาที่เป็นปฏิชีวนะเหล่านี้อาจส่งผลข้างเคียงแก่ผู้ใช้ได้[2] ในปัจจุบันจึงได้มีแนวคิดการใช้สมุนไพรในการรักษาสิวแทนยาปฏิชีวนะ อย่างเช่น สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีสารส่วนใหญ่เป็นสาร xanthone ในกลุ่มสาร α-mangostin รวมถึงสาร tannin, flavonoid เป็นสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds)[3] สาร α-mangostin มีสมบัติในการต้านการอักเสบ และต้านการเจริญของจุลินทรีย์ (antimicrobial)[4] โดยเฉพาะต่อต้านแบคทีเรียก่อให้เกิดสิวมากที่สุด[5,6] ส่วนสาร tannin มีฤทธิ์สมานแผลช่วยให้แผลสมานเร็ว[7]

ในปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้สารสกัดและยาในการรักษาสิวด้วยวิธีการที่หลากหลาย อย่างเช่น ยาทาแบบครีมและน้ำ แต่การใช้แผ่นปิดสิวเป็นวิธีที่ได้รับความนิยม เนื่องจากแผ่นปิดสิวมีความบางแนบติดกับผิวหนังและมีพื้นที่ผิวในการปลดปล่อยสารสำคัญในทันทีที่ใช้ผลิตภัณฑ์ช่วยในการรักษาสิวและลดอาการอักเสบของสิว[8] แผ่นปิดสิวจากพอลิเมอร์สังเคราะห์อาจมีการระคายเคือง แต่แผ่นปิดสิวจากชีววัสดุธรรมชาติที่บรรจุยาปฏิชีวนะหรือสารสกัดจากธรรมชาติเนื่องจากเป็นมิตรกับร่างกาย (biocompatibility) และกระตุ้นการซ่อมแซมเนื้อเยื่อได้ดีกว่าชีววัสดุสังเคราะห์ ชีววัสดุธรรมชาติที่ได้รับความสนใจและศึกษากันอย่างแพร่หลาย รู้จักกันดีในชื่อ nata de coco หรือวุ้นมะพร้าว มีความเหนียวแม้อยู่ในสภาพเปียกและไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อร่างกาย จึงถูกนำมาใช้เป็นชีววัสดุทางการแพทย์และเภสัชกรรมอย่างแพร่หลาย[9-11]

งานวิจัยนี้ศึกษาประสิทธิผลของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* และพัฒนาแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์แผ่นปิดสิวเพื่อลดการใช้ยาปฏิชีวนะและสร้างความปลอดภัยต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อมต่อไป

วิธีการศึกษา

การสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด

นำเปลือกของผลมังคุดมาล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งให้แห้งในที่ร่ม แล้วนำเปลือกของผลมังคุดมาตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ น้ำหนักสดจำนวน 3,160 กรัม อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ได้น้ำหนักแห้งของเปลือกมังคุดจำนวน 500.2 กรัม และนำเปลือกของผลมังคุดที่อบแห้งไปปั่นให้ละเอียดแล้วผสมกับทำการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95% (v/v) ด้วยอัตราส่วนผลมังคุดที่อบแห้งต่อตัวทำละลาย เท่ากับ 1 ต่อ 100 (w/v) แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 วัน ต่อจากนั้นนำสารละลายมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 เก็บส่วนสารละลายไว้ กรองด้วยกระดาษกรองซ้ำอีก 2 รอบ และนำสารละลายทั้งหมดมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดจำนวน 101.3 กรัม คิดเป็นน้ำหนักสุทธิ 17.4% จากน้ำหนักแห้งมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10-12 องศาเซลเซียส

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี paper disc diffusion

สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดถูกทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย S. epidermidis ด้วยวิธี paper disc diffusion[12] โดยการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ใน nutrient broth (NB) ในเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำเชื้อแขวนลอยของแบคทีเรีย *S. epidermidis* ความเข้มข้น 10^8 CFU/มิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร มาเกลี่ยบน Nutrient agar (NA) จนทั่วจานเพาะเชื้อ หลังจากนั้นนำสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ได้มาละลายด้วย DMSO (dimethyl sulfoxide) จนได้ความเข้มข้น 400,000 และ 500,000 ไมโครกรัม/

มิลลิลิตร หลังจากนั้นหยดสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดลง paper disc เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 10 ไมโครลิตร การวางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized design) มี 5 กรรมวิธี แบ่งออกเป็น 3 กรรมวิธีควบคุม ได้แก่ กรรมวิธีควบคุมเชิงลบ คือ สารละลาย DMSO กรรมวิธีควบคุมเชิงบวกที่ 1 คือ ยาปฏิชีวนะ clindamycin ความเข้มข้น 3,200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (w/v) และกรรมวิธีควบคุมเชิงบวกที่ 2 คือ ยาปฏิชีวนะ erythromycin ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (w/v) ส่วนกรรมวิธีทดลอง คือสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดความเข้มข้น 400,000 และ 500,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (w/v) วางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) ในจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ โดยให้ห่างจากขอบจานเพาะเชื้อ 15 มิลลิเมตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้ววัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (clear zone) และวิเคราะห์ทางสถิติ

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด (minimum inhibitory concentration, MIC)

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดด้วยวิธี MIC ในการทดสอบนี้ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลวคือ NB แล้วเตรียมสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่มีความเข้มข้น 409,600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (w/v) แล้วเจือจางด้วย DMSO เป็นลำดับส่วนจนได้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดเป็น 204,800, 102,400, 51,200, 25,600, 12,800, 6,400, 3,200, 1,600, 800, 400 และ 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (w/v) ตามลำดับ วางการทดลองแบบ CRD โดยแต่ละกรรมวิธีทำซ้ำจำนวน 5 ครั้ง ส่วนกรรมวิธีควบคุมเชิงลบคือ อาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียวไม่มีสารสกัดหยาบ กรรมวิธีควบคุมควบคุมเชิงบวกที่ 1 คือ ยาปฏิชีวนะ clindamycin ความเข้มข้น 3,200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (w/v) และกรรมวิธีควบคุมเชิงบวกที่ 2 คือ ยาปฏิชีวนะ erythromycin ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (w/v) และนำเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น $1X10^8$ CFU/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม (96-well plate) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นใส่สารละลายรีซาซูริน ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วบันทึกผลการเปลี่ยนของสารสารละลายรีซาซูริน โดยถ้าสารไม่เปลี่ยนเป็นสีชมพูแสดงผลเป็นบวก แล้วบันทึกผลและวิเคราะห์ทางสถิติ

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าได้เชื้อของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด (minimum bactericidal concentration, MBC)

นำความเข้มข้นที่ให้ผลเป็นบวกของการทดสอบ MIC ปริมาตร 10 ไมโครลิตรมาหยดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดสามารถฆ่าเชื้อได้ก็จะไม่พบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ถ้าเชื้อไม่ตายก็จะพบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกผลการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทำแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุด

การขึ้นแผ่นปิดสิวเซลลูโลสด้วยการนำน้ำมะพร้าว 90 มิลลิลิตร และน้ำตาลทราย ความเข้มข้น 5% (w/v) และ ammonium sulfate ความเข้มข้น 2.5% (w/v) ใส่ในบีกเกอร์ หลังจากนั้นต้มเป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยให้สารละลายเดือดเป็นเวลา 5-10 นาที แล้ววางให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับค่า pH ให้เท่ากับ 4.5 ด้วย glacial acetic acid ความเข้มข้น 5% (v/v) และนำสารละลายแบ่งใส่ในขวดรูปชมพู่ เติมเชื้อแบคทีเรีย *Gluconacetobacter xylinus* ลงไปปิดด้วยจุกสำลี นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 3 วัน จนกระทั่งได้แผ่นวุ้นหนา 0.3 เซนติเมตร หลังจากนั้นล้างแผ่นวุ้นด้วยน้ำกลั่นและต้มแผ่นวุ้นใน NaOH ความเข้มข้น 1% (w/v) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้ว

ต้มแผ่นวุ้นในน้ำกลั่นจนกระทั่งแผ่นวุ้นมีค่า pH เท่ากับ 7

การบรรจุสาร มี 2 วิธี คือ วิธีที่ 1 ตัดแผ่นวุ้นเป็นสี่เหลี่ยมขนาด 1x1 เซนติเมตร แล้วหยดสารต่างๆ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ได้แก่ สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด ยาปฏิชีวนะ clindamycin และยาปฏิชีวนะ erythromycin ความเข้มข้น เท่ากับ 51,200, 3,200 และ 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (w/v) ตามลำดับ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วอบเย็นด้วยเครื่องทำแห้งโดยการแช่เยือกแข็ง (freeze-dryer) หลังจากนั้นตัดแผ่นวุ้นเป็นวงกลมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตร วิธีที่ 2 นำแผ่นวุ้นไปอบเย็นและตัดแผ่นวุ้นเป็นสี่เหลี่ยมขนาด 1x1 เซนติเมตร แล้วหยดสารต่างๆ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ได้แก่สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด ยาปฏิชีวนะ clindamycin และยาปฏิชีวนะ erythromycin ความเข้มข้น เท่ากับ 51,200, 3,200 และ 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (w/v) ตามลำดับ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นอบเย็นและตัดแผ่นวุ้นเป็นวงกลมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตร

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุด

การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธี paper disc diffusion โดยนำเชื้อแขวนลอยของแบคทีเรีย *S. epidermidis* ความเข้มข้น 10^8 CFU/มิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร มาเกลี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA จนทั่วจานเพาะเชื้อ การวางการทดลองแบบ CRD โดยแต่ละกรรมวิธี ทำซ้ำจำนวน 5 ซ้ำ กรรมวิธีควบคุมมี 3 วิธี คือ กรรมวิธีควบคุมเชิงลบ คือ แผ่นปิดสิวเซลลูโลสกับสารละลาย DMSO กรรมวิธีควบคุมเชิงบวกที่ 1 คือ แผ่นปิดสิวเซลลูโลสกับยาปฏิชีวนะ clindamycin ความเข้มข้น 3,200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (w/v) และกรรมวิธีควบคุมเชิงบวกที่ 2 คือ แผ่นปิดสิวเซลลูโลสกับยาปฏิชีวนะ erythromycin ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (w/v) และกรรมวิธีทดลอง คือแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 วางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ในจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้โดยให้ห่างจากขอบจานเพาะเชื้อ 15 มิลลิเมตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งและวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลการทดลอง

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (version 16.0, Window) และเปรียบเทียบผลระหว่างกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีทดลอง วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยสถิติ Duncan's multiple range test และบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียถูกบันทึกด้วยค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

ผลการศึกษา

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด

สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 400,000 และ 500,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร(w/v) มีเปอร์เซนต์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* เท่ากับ 0.17 และ 0.18% ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99.9% ดังตารางที่ 1

ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดด้วยวิธี MIC

ความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* เท่ากับ 51,200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด ยาปฏิชีวนะ clindamycin และยาปฏิชีวนะ erythromycin ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับความเชื่อมั่น 99% ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ความสามารถของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis*

สารที่ทดสอบ	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (เซนติเมตร)
• สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด ความเข้มข้น 500,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.18±0.02c*
• สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด ความเข้มข้น 400,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	0.17±0.04c
• ยาปฏิชีวนะ erythromycin	1.25±0.04a
• ยาปฏิชีวนะ clindamycin	0.40±0.03b
• สารละลาย DMSO	0.00±0.00d

หมายเหตุ: *One-way ANOVA ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ข้อมูลในแถวเดียวกันที่มีอักษรภาษาอังกฤษกำกับต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($p<0.01$) โดยวิธีของ Duncan's multiple test

ผลการทดสอบในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด (MBC)

ความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สามารถยับยั้งฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* เท่ากับ 51,200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด ยาปฏิชีวนะ clindamycin และยาปฏิชีวนะ erythromycin ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับความเชื่อมั่น 99% ดังตารางที่ 2

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุด

แผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งของเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* เท่ากับ 0.53 และ 0.43 เซนติเมตร ตามลำดับ และแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99.9% ดังตารางที่ 3

วิจารณ์

แผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* แตกต่างจากแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพที่ไม่มีสารสกัดเปลือกมังคุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเนื่องจากแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุดมี

ตารางที่ 2 ความเข้มข้นน้อยที่สุดของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis*

สารที่ทดสอบ	ความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย* (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด	51,200a
ยาปฏิชีวนะ erythromycin	400c
ยาปฏิชีวนะ clindamycin	3,200b

หมายเหตุ: *One-way ANOVA ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ข้อมูลในแถวเดียวกันที่มีอักษรภาษาอังกฤษกำกับต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($p<0.01$) โดยวิธีของ Duncan's multiple test

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดกับสารต่าง ๆ

แผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารต่าง ๆ	วิธีบรรจุสาร	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (เซนติเมตร)
สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด	1	0.53±0.07c
สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด	2	0.43±0.03c
ยาปฏิชีวนะ clindamycin	1	1.48±0.08a
ยาปฏิชีวนะ clindamycin	2	1.38±0.22a
ยาปฏิชีวนะ erythromycin	1	0.66±0.02b
ยาปฏิชีวนะ erythromycin	2	0.69±0.03b
สารละลาย DMSO	1	0.00±0.00d
สารละลาย DMSO	2	0.00±0.00d

หมายเหตุ: * One-way ANOVA ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ข้อมูลในแถวเดียวกันที่มีอักษรภาษาอังกฤษกำกับต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($p<0.01$) โดยวิธีของ Duncan's multiple testที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($p<0.01$) โดยวิธีของ Duncan's Multiple Test

สารในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* โดยเฉพาะสารในกลุ่มแอลฟา-แมงโกสตินเป็นสารสำคัญในการไปมีผลต่อการทำลายโครงสร้างเยื่อหุ้มและการเสียสมดุลการเป็นเยื่อเลือกผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียก่อให้เกิดสิว[13,14] ในการสกัดสารสำคัญในเปลือกมังคุดในการควบคุมของเชื้อแบคทีเรียและการรักษาสิวมีการใช้เอทานอลความเข้มข้น 95% เป็นตัวทำละลายเหมาะสม เนื่องจากเอทานอลความเข้มข้น 95% สามารถสกัดสารที่สำคัญในการควบคุมของเชื้อแบคทีเรียโดยเฉพาะสารแอลฟา-แมงโกสติน ส่วนตัวทำละลายอื่นที่สามารถนำมาใช้ในการสกัดใกล้เคียงกัน เช่น เมธานอล อะซิโตน และไดคลอโรมีเทน แต่เนื่องจากมีราคาแพง หายาก และมีความปลอดภัยต่ำกว่าเอทานอล[15]

แผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* อย่างไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุดทั้ง 2 วิธี มีคุณสมบัติที่เหมือนกันแม้ว่าจะทำการอบเย็นก่อนบรรจุสาร แสดงว่าการอบเย็นเป็นการระเหิดน้ำออกเท่านั้นแต่ไม่ทำให้โครงสร้างในการบรรจุสารเปลี่ยนไป โดยความสามารถของโครงสร้างของเซลลูโลสชีวภาพมีความเป็นระเบียบทำให้มีความสามารถในการบรรจุสารที่มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการบรรจุสารลงบนแผ่น paper disc ที่เป็นเส้นใยสังเคราะห์[16]

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการเท่านั้น ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อพัฒนางานวิจัยต่อยอด ไม่ว่าจะเป็นการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติทางกายภาพ ความสามารถในการดูดซับและปลดปล่อยสารของแผ่นปิดสิวเซลลูโลส และการพัฒนาคุณภาพของแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุดให้มีคุณสมบัติที่เหมาะสมกับการปิดสิวบนใบหน้าสำหรับผลที่ได้สามารถนำไปพัฒนาต่อในทางคลินิกเพื่อสามารถนำมาใช้ได้ต่อไปในเชิงพาณิชย์

สรุปผลการทดลอง

สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* และแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis*

กิตติกรรมประกาศ

สาขาวิชาชีววิทยาและวิทยาศาสตร์สุขภาพ โรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร และคณะอุตสาหกรรมผลผลิตทางการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ วัสดุอุปกรณ์ต่าง ๆ สำหรับทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Pathek R. Staphylococcus epidermidis in human skin microbiome associated with acne: a cause of disease or defense. Research Journal of Biotechnology 2013; 8(12):78-82.
2. อภัย ราษฎรวิจิตร. ยาปฏิชีวนะ (antibiotics) [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพมหานคร: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2556 [สืบค้นเมื่อ 17 พ.ค. 2561]. แหล่งข้อมูล: http://haamor.com/th
3. อัษฎาวุธ หิรัญรัตน์, ปรีญานันท์ วงศ์สวัสดิ์, วรรณฤดี หิรัญรัตน์, พนิตา สุมานะตระกูล. การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำส้มควันไม้จากผลมังคุด. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ 2556;16(3):120-30.
4. Pratiwi L, Fudholi A, Martien R, Pramono S. Development of TLC and HPTLC method for determination α-mangostin in mangosteen peels (*Garcinia mangostana* L.,). International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research 2017;9(3):297-302
5. อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ, อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, ประภัสสร รักถาวร, สิริพร ศิริวรรณ, พจมาน พิศเพียงจันทร์. การสกัดและการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44; วันที่ 30 มกราคม - 2 กุมภาพันธ์ 2549; สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร: 2549. หน้า 529-36.
6. Koh JJ, Qiu S, Zou H, Lakshminarayanan R, Li J, Zhou X, et al. Rapid bactericidal action of alpha- mangostin against MRSA as an outcome of membrane targeting. Biochimica et Biophysica Acta 2013;828(2):834-44.
7. Pothitirat W, Chomnawang MT, Gritsanapan W. Anti-acne-inducing bacterial activity of mangosteen fruit rind extracts. Medical Principles and Practice 2009; 19(4):281-6.
8. Wetchakun C, Puapermpoonsiri U, Sila-on W. Effect of alcohol and co-film former on the physical and mechanical properties. Isan J Pharm Sci 2016;3(11):25-31.
9. Saibuatong O, Phisalaphong M. Novo aloe vera-bacterial cellulose composite film from biosynthesis. Carbohydrate Polymers 2010;79(2):455-60.
10. Halib N, Amin MCIM, Ahmad I. Physicochemical properties and characterizations of nata de coco from local food industries as a source of cellulose. Sains Malaysiana 2012;41(2):205-11.
11. นุศวดี พจนานุกิจ, สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม. เจลสมุนไพรสำหรับยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดสิว. วารสารวิทยาศาสตร์-ลาดกระบัง 2553;19(2):47-58.
12. Banjara RA, Jadhav SK, Bhoite SA. Antibacterial activity of di-2-ethylaniline phosphate screened by paper disc diffusion method. Journal of Applied Pharmaceutical Science 2012,2(7):230-3.
13. Chomnawang MT, Surassmo S, Nukoolkarn VS, Gritsanapan W. Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acne-inducing bacteria. Journal of Ethnopharmacology 2005;101(1-3):330-3.

14. Koh JJ, Qiu S, Zou H, Lakshminarayanan R, Li J, Zhou X, et al. Rapid bactericidal action of alpha-mangostin against MRSA as an outcome of membrane targeting. Biochimica et Biophysica Acta 2013;828(2):834-44.
15. Supomo A, Apriliana A, Purnawati T, Risqi A. Formulation of antiacne cream dosage form containing mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) pericarp ethanolic extract. Indonesian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research 2018;1(1):37-44.
16. จุฬาลักษณ์ เขมาชีวะกุล. การผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสสายพันธุ์ *Acetobacter xylinum* และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม. การเกษตรราชภัฏ 2559;15(2):25-33.

Abstract: **Anti-*Staphylococcus epidermidis* Acnes by Bio-Cellulose Acne Patches from Mangosteen Peel Extracts**

Sirapop Nakhawatchana*; Sitanun Srisupasitanon*; Udomlak Sukatta, Ph.D.; Prakit Sukyai, Ph.D.***; Orawan Piyaboon, Ph.D.***

** Department of Biology and Health Science, Mahidol Wittayanusorn School, Nakhon Pathom; ** Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute, Kasetsart University, Bangkok; *** Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok, Thailand*

Journal of Health Science 2020;29(4):711-8.

Staphylococcus epidermidis is a major cause of inflammatory acne. Development of bio-cellulose acne patches from mangosteen peel extracts for inhibiting acne-causing bacteria. This research aimed to study the effectveness of crude extracts from mangosteen peel against *S. epidermidis,* and to develop acne patch from bio-cellulose with mangosteen peel extracts against *S. epidermidis*. In the process, mangosteen peels were extracted by 95% ethanol. The plant crude extracts were dissolved using dimethyl sulfoxide solution and preliminarily examined against bacteria using paper disc diffusion method and crude extracts of the plant were tested for the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) using broth dilution test. The results showed that the crude extracts of the plant were found to inhibit the growth of the bacteria. The crude extracts from mangosteen peel inhibited *S. epidermidis* with MIC and MBC values of 51,200 μg/ml. Thus, 51,200 μg/ml concentration of the crude extracts was applied to produce bio-cellulose acne patches from mangosteen peel extracts to inhibit *S. epidermidis.* The bio-cellulose acne patches were tested for inhibition effect against acne-causing bacteria using paper disc diffusion method. The results indicated that bio-cellulose acne patches from mangosteen peel extracts were effective in inhibiting the growth of bacteria.

Keywords: bio-cellulose acne patches; crude extracts from mangosteen peel; *Staphylococcus epidermidis*