

การผลิตหน้ากากอนามัยที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในระบบทางเดินหายใจด้วยการเติมสารสกัด
จากสะระแหน่และใบมันสำปะหลัง

Production of Hygienic Masks for Anti-Bacterial in Respiratory System
by Peppermint and Cassava Leaves Extract

ฐิตินาถ สุขคนเขตต์^{1,*} นัฐชริตา นาวิว่อง¹ สุจินตรา เอกวัตร¹ และ สรรยญา เศวตอัญมณี¹

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

Thitinat Sukonket^{1,*} Natcharita Naveevong¹ Sujintra Eakkawat¹

and Saranya Sawetanyamanee¹

¹Faculty of Science and Technology Suan Dusit University

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตหน้ากากอนามัยที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในระบบทางเดินหายใจด้วยการเติมสารสกัดเมนทอลจากใบสะระแหน่ และแทนนินจากใบมันสำปะหลัง พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารเมนทอล คือ ใช้ใบสะระแหน่ 45 กรัม สกัดด้วยไอน้ำ 30 นาที และสภาวะของการสกัดสารแทนนิน คือ ใช้ใบมันสำปะหลัง 1 กรัม ต่อเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร สกัดเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง วิเคราะห์สารสกัดเมนทอลและสารสกัดแทนนินด้วยเครื่อง GC-MS และ HPLC ตามลำดับ พบว่า สารที่สกัดได้มีองค์ประกอบเป็นสารเมนทอลและสารแทนนินตามมาตรฐาน ผลการทดสอบสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae* และ *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินหายใจ พบว่า ปริมาณสารสกัดเมนทอลที่ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณสารสกัดแทนนินที่ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 2 ชนิด ที่เวลา 48 ชั่วโมง เมื่อทดสอบการเกิดเชื้อราบนหน้ากากที่สภาวะอุณหภูมิห้อง อุณหภูมิร้อน อุณหภูมิเย็น และในสภาวะที่อับชื้น พบว่า หน้ากากอนามัยที่มีสารสกัดไม่เกิดเชื้อราบนหน้ากากในเวลา 48 ชั่วโมง จากการศึกษาผลความพึงพอใจของผู้ใช้ 20 คน พบว่า ผู้ใช้มีความพึงพอใจต่อหน้ากากอนามัยจากสารสกัดจากพืชธรรมชาติ ไม่แตกต่างจากหน้ากากอนามัยตามท้องตลาด อย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.05$)

คำสำคัญ: หน้ากากอนามัย สารสกัดเมนทอล สารสกัดแทนนิน ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

Abstract

This research aims to produce the hygienic masks for bacterial inhibition in respiratory system by adding menthol and tannin extracts from peppermint and cassava leaves respectively. It was found that the appropriate conditions for menthol extraction were the peppermint leaves at 45 g was extracted with steam for 30 min and that of tannin extracts were the ratio of cassava leaves to

95% ethanol at 1 g : 20 ml. was extracted for 4 hr at room temperature. The menthol and tannin extracts were characterized by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). It was found that both extracts were menthol and tannin as the standard. The results of bacterial inhibition properties showed that 15 mg/mL of menthol and 5 mg/mL of tannin extracts exhibited the highest inhibition of *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* for 24 hr. The hygienic masks with menthol and tannin extracts were tested the bacterial inhibition property and the fungal infection at room temperature, hot, cold and humid conditions. It was found that they can inhibited both types of the bacteria and it was not infected by fungal for 48 hr. The satisfaction of user was tested by 20 persons. It was found that the satisfaction was not significant different from the commercial mask product at ($p=0.05$)

Keywords: Hygienic Masks, Menthol Extracts, Tannin Extracts, Bacterial Inhibition

บทนำ

การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในอากาศอาจก่อให้เกิดโรคในผู้ปฏิบัติงานที่ต้องทำงานเกี่ยวข้องกับเชื้อแบคทีเรียหรือทำงานอยู่ในแหล่งที่มีการสะสมของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินหายใจ เช่น สถานประกอบการพยาบาล อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเกี่ยวกับงานบำบัดน้ำเสีย ปศุสัตว์ เป็นต้น เชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินหายใจโดยตรง เช่น *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycoplasma pneumoniae* เป็นต้น นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียบางชนิดสามารถสร้างสารพิษ (toxin) ที่เป็นอันตรายถึงขั้นเสียชีวิตได้ บุคลากรเหล่านี้จึงมีความเสี่ยงต่อโรคระบบทางเดินหายใจ ตั้งแต่ขั้นเล็กน้อยไปจนถึงขั้นรุนแรง ในแต่ละปีมีคนงานที่ได้รับอันตรายขั้นรุนแรงจากการติดเชื้อแบคทีเรีย ส่งผลต่อสุขภาพของคนทำงาน และทำให้ประสิทธิภาพในการทำงานลดลง จากสถิติการประสบอันตรายจากหรือเจ็บป่วยเนื่องจากการทำงานจำแนกตามความรุนแรงและสาเหตุที่ประสบอันตราย ปี 2559 พบว่า มีคนงานได้รับอันตรายต่อระบบทางเดินหายใจเป็นเหตุให้สูญเสียอวัยวะหรือสูญเสียสมรรถภาพจำนวน 16 คน (สำนักงานกองทุนเงินทดแทน, 2560) ดังนั้น การป้องกันไม่ให้เชื้อโรคเข้าสู่ร่างกายโดยใช้หน้ากากอนามัย ซึ่งเป็นอุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลจึงเป็นสิ่งที่จะต้องเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากหน้ากากอนามัยสามารถป้องกันเชื้อแบคทีเรียจากผู้ติดเชื้อแพร่สู่ภายนอก และยังสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเข้าไปในร่างกายของผู้ใช้งานอีกด้วย โดยงานวิจัยขององค์กรอนามัยโลก พบว่า หน้ากากอนามัยสามารถลดการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ในอากาศได้ถึงร้อยละ 80 และเพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันเชื้อจุลินทรีย์เมื่อไม่นานมานี้ได้มีกลุ่มนักวิจัยนำสารแซนโทนซึ่งเป็นสารสกัดจากเปลือกมังคุด มาใช้เป็นสารสกัดเคลือบลงบนหน้ากากอนามัยเพื่อต้านเชื้อวัณโรค (พิชญ์ ศุภผล และคณะ, 2554) และมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการนำสมุนไพรมะขามเทศเป็นยารักษาโรคทั้งแบบแผนปัจจุบันและแผนโบราณ โดยเน้นการสกัดสารสมุนไพรมะขามเทศเพื่อเป็นการนำสมุนไพรมะขามเทศมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด (รัตน อินทรานุกูล , 2547: 63-79) พบว่า สมุนไพรหลายชนิดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ เช่น ขมิ้นชัน ขมิ้นเทศ จันทน์แดง จันทน์แปดกลีบ ผาง พริกไทยดำ ฟักทะลายโจร ยี่ห่วย สมอไทย และอบเชย สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli* ได้ (วัชรินทร์ รังษิณารัตน์ พัทธี กัมมารเจษฎากุล และอิสยา จันทน์วิทยานุชิต, 2559) ใบสะระแหน่ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Salmonella Typhi*,

Klebsiella pneumoniae, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* และ *Streptococcus pyogenes* (รองเดช ตั้งตระการพงษ์ และ จุลจิตร ตั้งตระการพงษ์. (2559) (Desam, N.R., et al., 2017) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีผลการวิจัย พบว่า สารสกัดแทนนิน มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* (Widsten, P., et al., 2010) โดยสารสกัดแทนนินจากใบมันสำปะหลังมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* (Kyaw, B.M., et al., 2011) ที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินหายใจได้

ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดจะนำสารสกัดเมณฑอลจากสระแหม่นและสารแทนนินจากใบมันสำปะหลังมาชุบเคลือบบนหน้ากากอนามัย เพื่อลดการแพร่กระจายเชื้อแบคทีเรียในทางเดินหายใจไปสู่บุคคลอื่นและสภาพแวดล้อม และการศึกษาความพึงพอใจของผู้ใช้งาน และเพิ่มทางเลือกในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติให้มากยิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารเมณฑอลจากสระแหม่น และสารแทนนินจากใบมันสำปะหลัง
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดเมณฑอลและสารสกัดแทนนินที่สกัดได้
3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียของหน้ากากอนามัยที่มีสารสกัดเมณฑอลและสารสกัดแทนนิน
4. ศึกษาความพึงพอใจของผู้ใช้หน้ากากอนามัยจากการวิจัย เทียบกับหน้ากากอนามัยในท้องตลาด

วิธีการวิจัย

1) การสกัดสารเมณฑอลจากสระแหม่น

การสกัดสารเมณฑอลจากสระแหม่นด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ (hydrodistillation) โดยใช้อัตราส่วนสระแหม่นต่อน้ำ 30 :100, 45:100 และ 60:100 กรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 60 และ 30 นาที ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส สารสกัดที่กลั่นได้จะมีลักษณะเป็นของเหลวที่แยกเป็น 2 ชั้น โดยมีน้ำอยู่ชั้นล่างและน้ำมันหอมระเหยอยู่ชั้นบน น้ำมันหอมระเหยที่ได้จะถูกแยกน้ำออกโดยใช้สารโซเดียมซัลเฟตแอนไฮไดรอส (Sodium Sulphate Anhydrous) สารที่สกัดได้ถูกนำไปวิเคราะห์หาสารสำคัญและทำการตรวจวิเคราะห์สารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบด้วยเทคนิค Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC – MS) โดยใช้สภาวะดัดแปลงวิธีการของ (Burana-Osot, J. et al, 2016)

2) การสกัดสารแทนนินจากใบมันสำปะหลัง

ทำการสกัดสารแทนนินจากใบมันสำปะหลังโดยนำใบมันสำปะหลังไปล้างให้สะอาดและนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนมีค่าน้ำหนักที่คงที่ แล้วทำการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ที่อัตราส่วนของใบมันสำปะหลังต่อเอทานอล 1 กรัม :20 มิลลิลิตร เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ในระบบปิดที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นสารสกัดที่ได้จะถูกทำการกรองด้วยกระดาษกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารสุญญากาศ (Rotary Evaporator) ทำการสกัดซ้ำ 3 ครั้ง สารสกัดที่ได้จะถูกทำการตรวจวิเคราะห์สารแทนนินด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยใช้สภาวะวิธีการของ (Bottcher, J., & Momks K. 2016)

3) การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Klebsiella pneumonia* และ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารสกัดเมณฑอลและสารสกัดแทนนิน

3.1) การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเมนทอลและแทนนิน โดยวิธี Agar well diffusion ใช้เชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ *Klebsiella pneumonia* และ *Pseudomonas aeruginosa* บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เตรียมสารสกัดเมนทอลจากใบสะระแหน่ที่มีความเข้มข้นที่ 5 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการปิเปตสารสกัด 5 ไมโครลิตร ที่ความเข้มข้นต่างกันไปลงในจานเพาะเชื้อ ส่วนสารสกัดแทนนินจากใบมันสำปะหลัง ที่ความเข้มข้น 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำลายในการควบคุม (control) นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่มีออกซิเจนจะบ่มภายใต้อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) หรือบริเวณที่เกิดโซนใส บนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยวัดหน่วยเป็นมิลลิเมตร

3.2) วิธีการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของหน้ากากอนามัยที่มีสารสกัดเมนทอลและสารสกัดแทนนิน โดยวิธี Agar disc diffusion จุ่มหน้ากากอนามัยลงในสารสกัดเมนทอลและสารสกัดแทนนิน เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปเก็บไว้ในช่องปิดสนิท ทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียเช่นเดียวกับวิธี Agar well diffusion แต่จะใช้ทำการตัดหน้ากากอนามัยที่มีขนาดเท่ากันเป็นรูปวงกลมมีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 7 มิลลิเมตร ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำลายในการควบคุมและการปราศจากเชื้อต่าง ๆ โดยการผ่านการฆ่าเชื้อในการควบคุม (Control) ศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การศึกษาความพึงพอใจของกลุ่มตัวอย่างจำนวน 20 คน โดยให้ทดลองสวมใส่หน้ากากอนามัยที่ผ่าน

การขูดเชื้อสารสกัดเมนทอลและสารสกัดแทนนินอย่างละ 1 แผ่น เปรียบเทียบกับหน้ากากจากท้องตลาด ให้กลุ่มตัวอย่างสวมหน้ากากอนามัยในสภาวะอุณหภูมิห้องอย่างละ 1 ชั่วโมง และใช้แบบสอบถามในการสำรวจ โดยหัวข้อในการประเมิน ได้แก่ 1) รูปแบบหน้ากากที่เลือกใช้ 2) กลิ่น (ไม่มีกลิ่นฉุน หรือกลิ่นผิดปกติ) 3) อาการแพ้/เกิดผื่นคัน 4) ความสบายในการสวมใส่ โดยการประเมินระดับความพึงพอใจจะใช้เกณฑ์การประเมิน ได้แก่ มากที่สุด มาก ปานกลาง น้อย และน้อยที่สุด โดยการให้คะแนนจะเรียงจากมากที่สุดไปน้อยที่สุด ได้แก่ 5 4 3 2 และ 1 ตามลำดับ วิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย (Analysis of Variance : ANOVA)

ผลการวิจัย

1) ผลการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารเมนทอลจากสะระแหน่และสารแทนนินจากใบมันสำปะหลัง

1.1) สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารเมนทอล

ผลของปริมาณสะระแหน่ต่อปริมาณสารสกัดจากการใช้สะระแหน่สด 30, 45 และ 60 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 60 และ 30 นาที มีผลดังตารางที่ 1

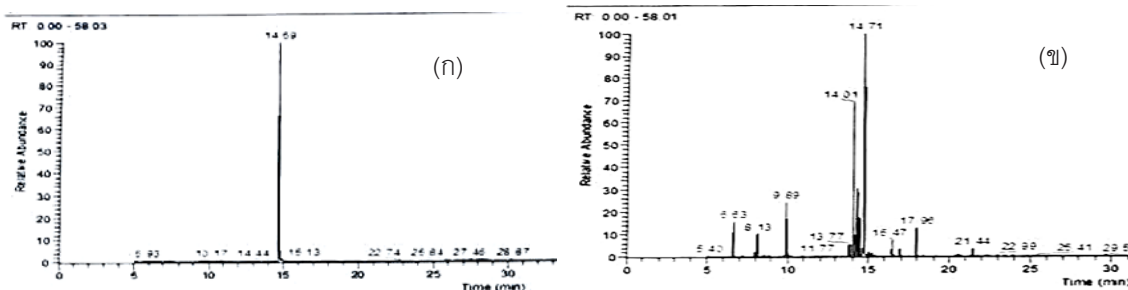
ตารางที่ 1 แสดงผลปริมาณสารสกัดเมนทอลจากสระแหม่นที่สกัดได้ และลักษณะทางกายภาพ

เวลา การสกัด (นาทิจ)	ปริมาณ สระแหม่น (กรัม)	ปริมาณ สารเมนทอลที่ได้ (มิลลิลิตร)	ร้อยละ สารสกัด (ร้อยละ)	ลักษณะทางกายภาพ
60	30	8	26.00	สีเหลืองใส กลิ่นฉุน มีน้ำมัน
	45	17	37.	ใส ไม่มีสี กลิ่นฉุน มีน้ำมัน
	60	12	20.00	สีเหลืองใส กลิ่นฉุน ไม่มีน้ำมัน
30	45	28	62.22	ใสไม่มีสี มีกลิ่นฉุน มีน้ำมันผสม

จากตารางที่ 1 พบว่า สภาวะในการสกัดที่ให้ปริมาณของสารสกัดเมนทอลมากที่สุด คือ น้ำหนักของสระแหม่นสด 45 กรัม ใช้เวลาในการสกัด 30 นาที จะได้ปริมาณสารเมนทอล 28 มิลลิลิตร คิดเป็นร้อยละ 62.22 มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี มีกลิ่นฉุน มีน้ำมันผสม เมื่อนำสารที่สกัดได้ไปวิเคราะห์สารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบด้วยเทคนิค Gas Chromatography – Mass spectrometry (GC – MS) พบว่า สารที่สกัดได้เป็นน้ำมันหอมระเหยทั้งหมด 9 ชนิด โดยมีปริมาณเมนทอล 38.84 เปอร์เซ็นต์ แสดงผลดังตารางที่ 2 และเมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สกัดได้เทียบกับสารมาตรฐาน DL-Menthol analytical standard แสดงผลดังภาพที่ 1พบว่า พบองค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยของสระแหม่นที่ เวลา 14.71 นาที (ข) ปรากฏพิกัดตรงกับสารมาตรฐาน DL-Menthol analytical standard (ก) จึงสรุปได้ว่าสารที่สกัดจากสระแหม่นที่ได้มีสารองค์ประกอบหลัก คือ สารเมนทอล

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด

ชื่อองค์ประกอบของสารสกัด	ปริมาณที่พบในสารสกัด (ร้อยละ)
Menthol	38.84
Trans-Menthone	25.98
Isomenthone	11.46
D-limonene	8.87
Alpha-pinene	5.53
Sabine	3.78
Piperitone	2.75
Citronellal	2.03
1-Menthol	0.76



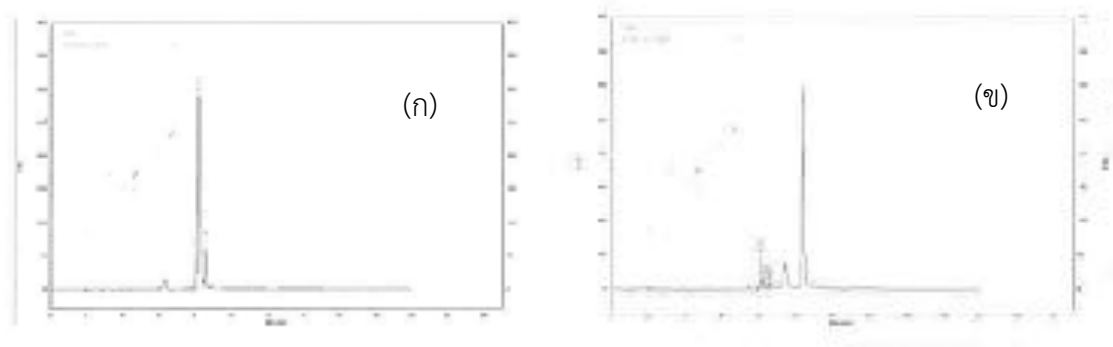
ภาพที่ 1 (ก) สารมาตรฐาน DL-Menthol (ข) สารที่สกัดได้จากใบสะระแหน่

ในการสกัดสารเมนทอลจากใบสะระแหน่สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การสกัดด้วยเอทานอล การสกัดด้วยไอน้ำ การสกัดโดยใช้ไมโครเวฟ (Microwave assisted) และ การสกัดด้วยอุตราโซนิก (Dai J. และคณะ, 2010) เบื้องต้นผู้วิจัยได้เลือกวิธีการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ซึ่งเป็นวิธีการที่ง่ายต่อการเตรียมวัสดุและอุปกรณ์ในการสกัดมากที่สุด โดยใช้ใบสะระแหน่ต่อเอทานอล 2 กรัมต่อ 20 มิลลิลิตร สกัดเป็นเวลา 5 นาที สารที่ได้มีลักษณะทางกายภาพเป็นของเหลวสีเขียวใส กลิ่นฉุน มีค่าการสกัดร้อยละ 5 ซึ่งสารที่สกัดได้ไม่เป็นไปตามลักษณะทางกายภาพของสารเมนทอล และได้ค่าการสกัดน้อยกว่างานวิจัยของ Dai J. และคณะ ในปี 2010 ที่ได้ค่าการสกัดร้อยละเท่ากับ 25 ผู้วิจัยจึงเปลี่ยนเป็นการสกัดด้วยไอน้ำ (Hydro-distillation) แทนการสกัดด้วยเอทานอล ผลจากการสกัดสะระแหน่ด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ จะได้สารสกัดที่บริสุทธิ์จากใบสะระแหน่ที่มีลักษณะเป็นของเหลว สี มีกลิ่นหอมของน้ำมันหอมระเหย (Essential oil) โดยใช้อัตราส่วนของสะระแหน่ต่อน้ำ 45 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ได้ค่าการสกัดร้อยละ 62.22 ผลการสกัดสอดคล้องกับรายงานของ สมภารธรรณ ศิโศศรีไซ (2011) ที่พบว่า ใบใบสะระแหน่ยังมีน้ำมันหอมระเหย ซึ่งสามารถสกัดได้โดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ จากรายงานได้มีการใช้ใบสะระแหน่สดน้ำหนัก 150 กรัม จะได้ น้ำมันหอมระเหย 2 มิลลิลิตร มีค่าการสกัดร้อยละ 1.33 และมี

การนำสารสกัดเมนทอลไปใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในระบบทางเดินหายใจ จะเห็นได้ว่าวิธีการสกัดที่ผู้วิจัยได้ปรับปรุงขึ้นนี้ มีประสิทธิภาพที่ดี และได้ปริมาณสารสกัดมากกว่า 50 เท่า เมื่อเทียบกับกลุ่มวิจัยอื่น ๆ

1.2) สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารแทนนิน

การใช้ใบมันสำปะหลังแห้งน้ำหนัก 1 กรัมต่อเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 ชั่วโมง โดยทำการสกัดซ้ำ 3 ครั้ง จะได้สารสกัดที่มีลักษณะเป็นของเหลวสีเขียวใส ไม่มีกลิ่น มีความเข้มข้นเฉลี่ย 18.02 ± 0.09 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของสารแทนนินในสารสกัดจากใบมันสำปะหลัง เปรียบเทียบกับกราฟของสารมาตรฐาน Tannic acid standard ด้วยเทคนิคการแยกของเหลวสมรรถนะสูง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) พบว่า สารสารสกัดจากใบมันสำปะหลังปรากฏพีคที่เวลา 8.08-8.10 นาที ซึ่งใกล้เคียงกับพีคของสารแทนนินมาตรฐานที่ 8.17 นาที ได้สารสกัดแทนนินเฉลี่ยร้อยละ 77.52 และสรุปได้ว่าสารที่สกัดได้มีองค์ประกอบของสารสำคัญเป็นสารแทนนิน แสดงผลดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 (ก) สารมาตรฐาน Tannic acid (ข) สารที่สกัดได้จากไขมันสำปะหลัง

การสกัดของไขมันสำปะหลังด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ระเหยได้ง่าย และมีประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบสำคัญออกมาได้มาก เมื่อเปรียบเทียบผลการสกัดสารแทนนินเทียบกับผลการวิจัยของ Naima และคณะ (Naima, R., et al., 2015) ซึ่งสกัดสารแทนนินจากกระถินด้วยเอทานอล ได้สารแทนนินเท่ากับ 16.62 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการสกัดของงานวิจัยครั้งนี้ได้ที่มีความเข้มข้นเฉลี่ย 18.02 ± 0.09 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จึงมีประสิทธิภาพในการสกัดที่ดีกว่า

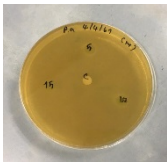
2) ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Klebsiella pneumonia* และ *Pseudomonas aeruginosa*

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Klebsiella Pneumoniae* และ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารสกัดเม้นทอลจากสะระแหน่ และสารสกัดแทนนินจากไขมันสำปะหลัง โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อโดยวิธี Agar well diffusion นำไปเพาะบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแสดงผลดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงพื้นที่บริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารเม้นทอล (Inhibition zone)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร)	พื้นที่การยับยั้งเชื้อ (ร้อยละ)		Inhibition Images	
		<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
สารสกัด เม้นทอล	5	58.46	38.49		
	10	68.14	38.97		
	15	74.00	39.23		
สารสกัด แทนนิน	1	60.29	60.00		
	3	69.57	71.85		
	5	72.26	75.15		

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร)	พื้นที่การยับยั้งเชื้อ (ร้อยละ)		Inhibition Images	
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
หน้ากาก	5	40.92	38.60		
อนามัย	10	41.67	39.29		
ที่มีสารสกัด เมนทอล	15	42.39	39.76		
หน้ากาก	1	35.19	22.82		
อนามัย	3	37.50	45.87		
ที่มีสารสกัด แทนนิน	5	59.42	58.58		

จากตารางที่ 3 พบว่าสารสกัดสารเมนทอล และสารสกัดแทนนินสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 2 ชนิด โดยสกัดสารเมนทอลที่ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยมีค่า Inhibition zone เท่ากับร้อยละ 74.00 และร้อยละ 39.23 ตามลำดับ สารสกัดแทนนินที่ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยมีค่า Inhibition zone เท่ากับร้อยละ 72.26 และร้อยละ 75.15 ตามลำดับ เมื่อทดสอบหน้ากากอนามัยที่มีสารสกัดเมนทอล และหน้ากากอนามัยที่มีสารสกัดแทนนิน พบว่า หน้ากากอนามัยที่มีสารสกัดทั้งสองชนิดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ โดยหน้ากากอนามัยที่มีสารสกัด สารเมนทอลที่ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดแทนนินที่ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีการยับยั้งดีที่สุด หน้ากากที่มีสารสกัดทั้งสองชนิด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้แม้ว่าจะมีค่าการยับยั้งจะน้อยกว่าของสารสกัดในรูปแบบของเหลว เนื่องจากการทดสอบนี้ต้องอาศัยการแพร่ของสารยับยั้งในวัน สารสกัดที่ดูดซับอยู่บนของแข็งจะมีการแพร่ที่น้อยกว่าสารสกัดที่เป็นของเหลว

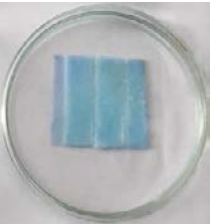
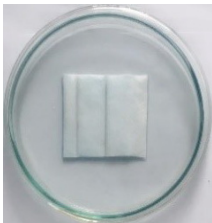
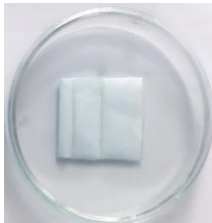
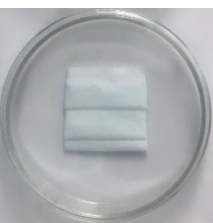
ผลการยับยั้งเชื้อของสารสกัดเมนทอล และสารสกัดแทนนินที่ได้จากการวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ พจมาน ผู้มีสัตย์ และคณะ ในปี 2551 ซึ่งใช้สารสกัดเมนทอลและสารสกัดแทนนินในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Klebsiella ozaenae* และ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 และร้อยละ 30 ตามลำดับ พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งสองชนิด

3) ผลการทดสอบการติดเชือรานหน้ากากอนามัย

การทดสอบการเกิดเชื้อรานหน้ากากอนามัยนี้ เป็นการศึกษาข้อมูลเพิ่มเติม โดยจำลองการเก็บหน้ากากอนามัยในสภาวะต่าง ๆ เนื่องจากสารสกัดเมนทอลและสารสกัดแทนนินที่ผู้วิจัยซื้อมาเคลือบลงบนหน้ากากอนามัยเป็นของเหลว แม้จะมีการอบไล่ความชื้นในหน้ากากแล้วเก็บในซองปิดผนึก อย่างไรก็ตามหากมีความชื้นเหลืออยู่อาจเกิดเชื้อราได้ ผู้วิจัยทำการวางหน้ากากอนามัยที่มีสารสกัดเมนทอลและสารสกัดแทนนินในงานเพาะเชื้อ และทดสอบในสภาวะอุณหภูมิต่าง ๆ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิร้อน อุณหภูมิเย็น และในสภาวะที่อับชื้นเป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกต

การเกิดเชื้อราด้วยตาเปล่า พบว่า ไม่มีสภาวะใดที่ก่อให้เกิดเชื้อราบนหน้ากากอนามัยที่มีสารสกัดเมนทอลและสารสกัดแทนนิน แสดงผลดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงผลของการทดสอบการติดเชื้อราของหน้ากากอนามัยที่สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

หน้ากาก อนามัย ที่มีสารสกัด	สภาวะอุณหภูมิต่าง ๆ			
	อุณหภูมิห้อง 25°C	อุณหภูมิที่ร้อน 37°C	อุณหภูมิเย็น 15°C	ที่อับชื้น
เมนทอล				
แทนนิน				

4) ผลการทดสอบความพึงพอใจของผู้ใช้หน้ากากอนามัย

ทดสอบความพึงพอใจโดยทดลองสวมใส่หน้ากากอนามัยโดยกลุ่มตัวอย่าง 20 คน ประเมินผล ด้านรูปแบบหน้ากากที่ใช้เลือกใช้ กลิ่น อาการแพ้ และความสะดวกในการสวมใส่ และใช้แบบสอบถามในการสอบถามข้อมูล โดยการจำแนก เพศ สุขภาพขณะการสอบถาม ประวัติสุขภาพเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ และโรคประจำตัว พบว่า ผู้ตอบแบบสอบถามเป็นเพศหญิง จำนวน 15 คน คิดเป็นร้อยละ 75 และเป็นเพศชาย จำนวน 5 คน คิดเป็นร้อยละ 25 มีประวัติการสวมใส่หน้ากากอนามัย จำนวน 18 คน คิดเป็นร้อยละ 90 และไม่เคยสวมใส่หน้ากากจำนวน 2 คน คิดเป็นร้อยละ 10 มีไม่มีประวัติเกี่ยวกับโรคระบบทางเดิน 20 คน คิดเป็นร้อยละ 100 มีโรคประจำตัว จำนวน 2 คน คิดเป็นร้อยละ 10 และไม่มีโรคประจำตัว จำนวน 18 คน คิดเป็นร้อยละ 90

จากการทดลองเปรียบเทียบหน้ากากอนามัยที่มีสารสกัดเมนทอลและ มีสารสกัดแทนนินที่ผู้วิจัยได้ผลิตขึ้นกับหน้ากากอนามัยที่ขายในท้องตลาด พบว่า กลุ่มตัวอย่างมีความพึงพอใจต่อหน้ากากอนามัยที่มีสารสกัดเมนทอล และ มีสารสกัดแทนนินในรูปแบบ กลิ่น อาการแพ้/ผื่นคัน และความสะดวกในการสวมใส่ ไม่แตกต่างกันกับหน้ากากอนามัยที่ขายในท้องตลาดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ค่าความเชื่อมั่น 0.05 โดยกลุ่มตัวอย่างความพึงพอใจต่อหน้ากา

อนามัยที่มีสารสกัดแทนนินจากใบมันสำปะหลังมากที่สุด ส่วนหน้าอนามัยที่ซึบสารสกัดเมนทอลจากใบสะระแหน่ กลุ่มตัวอย่างมีความพึงพอใจด้านกลิ่นระดับปานกลาง ซึ่งน้อยกว่าหน้ากากอนามัยที่มีสารสกัดแทนนินและหน้ากากที่ขายในท้องตลาด

สรุปผลวิจัย

การวิจัยนี้ทำการสกัดสารเมนทอลจากใบสะระแหน่ และสารแทนนินจากใบมันสำปะหลัง เพื่อใช้เป็นสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในระบบทางเดินหายใจ 2 ชนิด ได้แก่ *Klebsiella pneumoniae* และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด สมบัติการยับยั้งเชื้อ สภาวะที่ก่อให้เกิดเชื้อราในการใช้งานหน้ากาก และความพึงพอใจของผู้ใช้ สามารถสรุปได้ดังนี้ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารเมนทอล คือ ใช้ใบสะระแหน่ 45 กรัม สกัดด้วยไอน้ำเป็นเวลา 30 นาที จะได้สารสกัดเมนทอลสูงสุดที่ 28 มิลลิลิตร คิดเป็นร้อยละ 62.22 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารแทนนิน คือ ใช้ใบมันสำปะหลัง 1 กรัมต่อเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จะได้สารแทนนินร้อยละ 77.52 มีความเข้มข้นเฉลี่ย 18.02 ± 0.09 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งสารสกัดเมนทอลและสารสกัดแทนนินสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 2 ชนิด โดยสารเมนทอลที่ค่าความเข้มข้นร้อยละ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารแทนนินที่มีค่าความเข้มข้นร้อยละ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะให้ผลการยับยั้งที่ดีที่สุด ที่เวลา 24 ชั่วโมง ผลการทดสอบหน้ากากอนามัยที่มีสารสกัดทั้ง 2 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ และการทดสอบที่สภาวะอุณหภูมิห้อง อุณหภูมิร้อน อุณหภูมิเย็น และในสภาวะที่อับชื้น เพื่อติดตามการเกิดเชื้อราในหน้ากาก เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าไม่เกิดเชื้อราบนหน้ากากอนามัยที่มีสารสกัด กลุ่มตัวอย่างจำนวน 20 คน มีความพึงพอใจผลิตภัณฑ์หน้ากากอนามัยที่มีสารเมนทอลและหน้ากากอนามัยที่มีสารแทนนิน ในด้านรูปแบบของหน้ากาก กลิ่น อาการแพ้ และความสบายในการสวมใส่ ไม่แตกต่างจากหน้ากากอนามัยที่ขายในท้องตลาดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่าความเชื่อมั่น 0.05

ข้อเสนอแนะ

1. ทดสอบสารสกัดเมนทอลและสารสกัดแทนนินกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินหายใจ
2. ประยุกต์ใช้สารสกัดเมนทอลและสารสกัดแทนนินในการสัองผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ที่ต้องการสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรีย เช่น ผ้าพันแผล พลาสเตอร์ปิดแผล เป็นต้น

References

- พจมาน ผู้มีสัตย์, ชุติพร ออมสิน, ประภาพร ยางสาย, และรุ่งตะวัน ส่องแสง. (2551). สมุนไพรที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ Extended-Spectrum Beta-lactamase (ESBL). วารสารก้าวหน้าโลกวิทยาศาสตร์. 8 (2): 148-153.
- พิชญ์ ศุภผล และผู้แต่งคนอื่น ๆ. (2554) การผลิตแผ่นหน้ากากอนามัยและแผ่นกรองอากาศ ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรคจากสารสกัดจากเปลือกมังคุด /. วิทยาลัยปิโตรเลียมและปิโตรเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: ม.ป.ท.
- รัตนา อินทรานุกุล. (2547). การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

- วัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์ พชร กัมมารเจษฎากุล และอิสยา จันทรวิทยานุชิต. (2559).ฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรไทย 10 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli* ATCC 25922. วารสาร มฉก.วิชาการ. 19 (38): 35-48.
- สมภารธรรณ ศิโรตริโซ. (2019). การศึกษาพืชสมุนไพรจากใบสะระแหน่. แหล่งข้อมูล: http://gsc.nmc.ac.th/th/article_details.php?id=2H6EXC. 1 พฤษภาคม, 2560.
- สำนักงานกองทุนเงินทดแทน. (2560). รายงานประจำปี 2559 กองทุนเงินทดแทน. แหล่งข้อมูล: https://www.sso.go.th/wpr/assets/upload/files_storage/sso_th/9bf7acf814f7f4c32db1136fad7fa4ab.pdf. 1 พฤษภาคม, 2561.
- Bottcher, J., & Momks K. (2016). Quantitative determination of gallic acid and tannic acid from gallnut extract. แหล่งข้อมูล: <https://files.vogel.de/vogelonline/vogelonline/companyfiles/12758.pdf>. 1 พฤษภาคม, 2560.
- Burana-Osot, J., and others. (2016). Determination of volatile constituents from crude drugs of *Phihud Navakot* by gas chromatography-mass spectrometry. *Thai Bull Pharm Sci.* 11(2): 45-60.
- Dai, J., and others. (2010). Investigation of various factors for the extraction of peppermint (*Mentha piperita* L.) leaves. *Journal of food Engineering.* 96: 540-543.
- Desam, N.R., and others. (2017). Chemical constituents, in vitro antibacterial and antifungal activity of *Mentha x Piperita* L. (peppermint) essential oils. *Journal of King Saud University – Science.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.jksus.2017.07.013>
- Kyaw, B.M., and others. (2011). Anti-Pseudomonal and anti-biofilm activity of tannic acid in combination with antibiotics. *International Journal of Integrative Biology.* 1(3): 110-116.
- Naima, R., and others. (2015). Comparison of the impact of different extraction methods on polyphenols yields and tannins extracted from *Moroccan Acacia mollissima* barks. *Industrial Crops & Products.* 70: 245-252.
- Naima, R., and others. (2015). Green extraction process of tannins obtained from *Moroccan Acacia mollissima* barks by microwave: Modeling and optimization of the process using the response surface methodology RSM. *Arabian Journal of Chemistry*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.04.032>.
- Widsten, P., and others. (2010). Enzymatic surface functionalisation of lignocellulosic materials with tannins for enhancing antibacterial properties. *Process Biochemistry.* 45: 1072–1081.