การประเมินการปนเปื้อนแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์ทานาคา ที่จำหน่ายในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์

Evaluation of Bacterial Contamination in Thanaka Products Distributed in Republic of the Union of Myanmar

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์[1] ตรีรัตน์ สุขสวัสดิ์[2] และ วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย[3]*

บทคัดย่อ

พืชหลายชนิดถูกนำมาใช้เพื่อการบำบัดรักษา รวมทั้งใช้เป็นเครื่องสำอางเพื่อบำรุงผิวพรรณ มาตั้งแต่โบราณจนถึงปัจจุบัน ยกตัวอย่าง เช่น ทานาคาเป็นพืชที่ชาวเมียนมาร์นำมาใช้มานานกว่า 1,000 ปี เพื่อบำรุงผิวพรรณ ปัจจุบันมีการนำทานาคามาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์หลายประเภท เช่น แป้งฝุ่นทาหน้า แป้งอัดแข็ง และโลชั่น จึงทำให้ความนิยมและจำนวนผลิตภัณฑ์ทานาคาที่วางจำหน่ายในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์และบริเวณชายแดนไทยมีเพิ่มมากขึ้นจึงทำให้มีความตระหนักถึงความปลอดภัยทางด้านจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ต่อผู้บริโภค การศึกษาครั้งนี้จึงทำการประเมินการปนเปื้อนของแบคทีเรียในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทานาคาทั้งหมด 7 ตัวอย่างที่ผลิตและจำหน่ายในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์ ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ทานาคาทุกตัวอย่าง มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มต้องการอากาศทั้งหมด อยู่ในช่วง $(3.30\pm0.40)\times10^{6}$ ถึง $(1.09\pm0.09)\times10^{8}$ CFU/g ซึ่งมีค่าที่สูงเกินมาตรฐานทางจุลชีววิทยา ($<10^{3}$ CFU/g) ตามข้อกำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขายในประเทศไทย (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 40 พ.ศ. 2548) เมื่อทำการจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากผลิตภัณฑ์ทานาคา พบว่า เป็นแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus pasteurii*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus mycoides* และ *Bacillus circulans* โดยแบคทีเรียที่พบว่ามีการปนเปื้อนมากที่สุดในผลิตภัณฑ์ทุกตัวอย่างคือ *B. thuringiensis* และ *B. circulans* ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการควบคุมการปนเปื้อนของแบคทีเรียลงในผลิตภัณฑ์ทานาคาในระหว่างขั้นตอนของกระบวนการผลิต

[1]ภาควิชาจุลชีววิทยา และโครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี 20131

[2]วิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี 20131

[3]ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี 20131

*Corresponding Author, E-mail: subunti@buu.ac.th

ABSTRACT

Until now, many plants have been used in disease therapy and skin care purposes. For example, Thanaka stem bark have been used to skin care by Burmese for more than thousands years as a. Nowadays, Thanaka have been transformed into many type of products such as loosed powder, compressed powder and lotion. The popularity and increase of Thanaka products distributed in Republic of the Union of Myanmar and Thailand border, therefore the concerned about microbial safety of products for the consumer. In this study, evaluation of contaminated of bacteria in 7 samples of Thanaka products distributed in Myanmar were assayed. The result of this study demonstrated the contaminated with total heterotrophic bacteria in all of samples (S1-S7) of Thanaka products. The value of total aerobic bacteria ranged from $(3.30\pm0.40)\times10^{6}$ to $(1.09\pm0.09)\times10^{8}$ CFU/g, which these value exceeded the standard of microbial quality ($<10^{3}$ CFU/g) for cosmetic product in Thailand (Notification of the Ministry of Public Health No.40 A.D. 2005). The isolated bacteria from Thanaka products were identified in genus *Bacillus*, including *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus pasteurii*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus mycoides* and *Bacillus circulans*. The most contaminated bacteria found in all samples were *B. thuringiensis* and *B. circulans*. Consequently, prevention of bacterial contamination into Thanaka products is necessary to control in all steps of production process.

คำสำคัญ: ผลิตภัณฑ์ทานาคา แบคทีเรียกลุ่มต้องการออกซิเจนทั้งหมด สาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์ *Bacillus*

Keywords: Thanaka products, Total aerobic bacteria, Republic of the Union of Myanmar, *Bacillus*

บทนำ

ทานาคา (*Hesperethusa crenulata* Roem.) เป็นพืชที่อยู่วงศ์ Rutaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับมะนาว ในประเทศไทยทานาคามีชื่อเรียกว่า กระแจะ (พร้อมจิตและคณะ, 2535) เป็นพืชที่มีคุณสมบัติทางยา โดยเปลือกและต้นของทานาคาเมื่อนำมาบดกับหินแล้วจะมีลักษณะเป็นผงสีเหลืองอ่อน ซึ่งผงทานาคาที่ได้นั้นมีการนำมาใช้เป็นเครื่องประทินผิวหน้าของสาวชาวพม่ามาเป็นระยะเวลานานกว่า 1,000 ปี (Wangthong et al., 2010; Singh et al., 2011) แต่ความเป็นจริงแล้วชาวพม่าทั้งเด็ก และชายหญิง จะนำผงทานาคามาผสมน้ำ ปะหน้าทิ้งไว้ตลอดวัน เพื่อช่วยป้องกันแสงแดด ลดรอยเหี่ยวย่น รอยกระ ฝ้า จุดด่างดำ ช่วยให้ผิวพรรณอ่อนนุ่มและชะลอความแก่ ช่วยลดการอักเสบของผิวหนัง และยังช่วยป้องกันการเกิดสิว รักษาสิว (พร้อมจิตและคณะ, 2535; Lindsay et al., 1998; Singh et al., 2011)

ทานาคามีสารประกอบทางเคมีจำนวนมาก ได้แก่ 2-Hydroxyquinoline, N-acetyl-N-methyltryptamine, 2-Quinolone, Tanakine tanakamine, 4-Methoxy-1-methyl-2-quinolone, 7-Methoxy-6-(2, 3-epoxy-6-methylbutyl),

Sitosterol, Suberosin, Arbutin, Suberenol, Coumarin, และ Marmesin เป็นต้น (Nayar et al., 1971; Nayar and Bhan, 1972; Abu Zarga, 1986; Joo et al., 2004; Figueroa et al., 2007; Kanlayavattanakul et al., 2009) สารประกอบเหล่านี้พบได้ทั้งในเปลือกของรากและลำต้นของทานาคา ซึ่งสารออกฤทธิ์ในทานาคาที่สำคัญที่ช่วยปกป้องผิวพรรณคือสารประกอบ marmesin ซึ่งเป็นสารที่มีบทบาทในการกรองรังสีอุลตราไวโอเลต (Joo et al., 2004) ในทานาคามีสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ในปริมาณสูง ซึ่งช่วยลดความเสื่อมของเซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ tyrosinase ที่มีบทบาทในการสังเคราะห์เม็ดสีผิวหรือเมลานิน โดยการเปลี่ยนสารตั้งต้นไทโรซินให้เป็นเมลานิน (Wangthong et al., 2010) สารอีกชนิดหนึ่งที่พบในทานาคาคือ arbutin ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินได้ ซึ่งเม็ดสีเมลานินเป็นต้นเหตุของฝ้า กระ และรอยหมองคล้ำด่างดำของผิว (Kanlayavattanakul et al., 2009) สารประกอบเหล่านี้มีบทบาทร่วมกันในการออกฤทธิ์เพื่อช่วยบำรุงผิวพรรณอย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้สาร coumarin ในทานาคา ซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ให้กลิ่นหอมละมุน (Nayar and Bhan, 1972) ที่พบได้ในเปลือกไม้ของพืชหลายชนิด (Bourgaud et al., 2006) นอกจากนี้แล้ว Coumarin ยังเป็นสารที่นำไปใช้ในทางเภสัชวิทยา โดยเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ anticoagulants (Hoult and Payá, 1996) รวมทั้งอนุพันธ์ของ coumarin ก็มีบทบาทในการต้านการอักเสบและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย (Fylaktakidou et al., 2004)

ปัจจุบันทานาคาได้รับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีความหลากหลายมากขึ้นทั้งโลชั่น แป้งอัดแข็ง เป็นต้น ซึ่งต่างจากในอดีตมีการนำทานาคามาใช้ในการทาบำรุงผิวในลักษณะของผงเจือด้วยน้ำเพียงเท่านั้น การเลือกซื้อผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากทานาคาที่วางจำหน่ายทั่วไปตามท้องตลาดในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์และชายแดนระหว่างประเทศไทยและสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์ นอกจากต้องคำนึงถึงคุณสมบัติที่ดีต่อผิวพรรณแล้วยังต้องคำนึงถึงความปลอดภัยทั้งเรื่องของความเป็นพิษต่อเซลล์ (Wangthong et al., 2010) และการปนเปื้อนของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้การปนเปื้อนของแบคทีเรียเป็นปัญหาที่ค่อนข้างมีความสำคัญที่พบปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์จากพืชและสมุนไพรประเภทต่าง ๆ (Kosalec et al., 2009) การปนเปื้อนของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางนั้นอาจทำให้เกิดการติดเชื้อเข้าสู่ร่างกาย เช่น บริเวณผิวหนังที่สัมผัสกับผลิตภัณฑ์ เป็นต้น (Raghad et al., 2009)

ดังนั้น การตรวจสอบการปนเปื้อนของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์ทานาคาจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อให้มั่นใจได้ว่าผลิตภัณฑ์ทานาคาประเภทต่าง ๆ นั้นได้มาตรฐานและมีความปลอดภัยต่อสุขภาพของผู้บริโภค

วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. วิธีการเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทานาคาที่วางจำหน่ายจากร้านค้าในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์ ช่วงระหว่างวันที่ 22-25 ธันวาคม พ.ศ. 2556 ทั้งหมด 7 ตัวอย่าง (S1-S7) ตัวอย่างละ 1 ซ้ำ และนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

2. การตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพ

ทำการบันทึกคุณภาพบางประการของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทานาคา ได้แก่ ยี่ห้อ รายละเอียดบน

ฉลาก (วันผลิต/หมดอายุ) ลักษณะของบรรจุภัณฑ์ และความหอมของผลิตภัณฑ์

3. การศึกษาจำนวนแบคทีเรียกลุ่มต่าง ๆ จากตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทานาคา (ดัดแปลงจาก BAM, 2001)

ใช้ช้อนตักสารปลอดเชื้อตักตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทานาคาตัวอย่างละ 1 กรัม ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ และเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 900 ไมโครลิตร ลงในถุง ผสมให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 10^{-1} จากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างจนถึงระดับความเจือจาง 10^{-6} ถ่ายตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} ถึง 10^{-6} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar, McConkey agar และ *Pseudomonas* isolation agar สำหรับตรวจนับแบคทีเรียกลุ่มต้องการอากาศทั้งหมด แบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี และแบคทีเรียกลุ่มซูโดโมแนส ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วด้วยวิธีสเปรด-เพลท (spread plate) นำจานเพาะเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่อยู่ในช่วง 25-250 โคโลนี บันทึกผลในหน่วย colony forming unit ต่อกรัม (CFU/g) และคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีแตกต่างกันทั้งหมดให้ได้เป็นเชื้อบริสุทธิ์เพื่อนำไปจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียต่อไป

4. การจำแนกชนิดของแบคทีเรียในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทานาคา

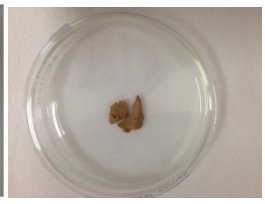
จำแนกชนิดของแบคทีเรียกลุ่มต้องการอากาศทั้งหมด แบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี และแบคทีเรียกลุ่มซูโดโมแนส โดยการย้อมแกรม และทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี ตามวิธีการของ Brenner (1984), Kocur (1986), Kloos and Schilefer (1986), Seeliger and Jones (1986), Sneath et al. (1986) และ Holt et al. (1994)

ผลการวิจัย

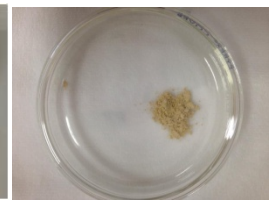
จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพบางประการของผลิตภัณฑ์ทานาคา การปนเปื้อนทั้งจำนวนและชนิดของแบคทีเรียกลุ่มต้องการอากาศทั้งหมด แบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี และแบคทีเรียกลุ่มซูโดโมแนสของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทานาคาที่จำหน่ายในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์ จำนวน 7 ผลิตภัณฑ์ มีผลการศึกษาแสดงดังต่อไปนี้

1. ลักษณะทางกายภาพบางประการของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทานาคาบางชนิดจากสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์

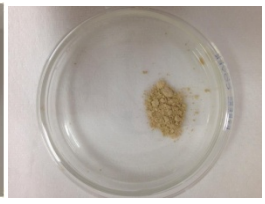
จากการตรวจสอบลักษณะของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทานาคาที่จำหน่ายในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์ จำนวน 7 ตัวอย่าง ได้แก่ Pure Natural Thanaka Pastes (S1), Pure Natural Thanaka Loose Powder (S2), Thanaka powder (S3), Thanaka Pastes (S4), Whitening Thanaka Lotion (S5), ทานาคาแบบก้อน (S6) และทานาคาแบบซอง (S7) (ภาพที่ 1) ซึ่งผลิตภัณฑ์ทานาคาแต่ละประเภทมีลักษณะและราคาที่แตกต่างกัน โดยพบว่าผลิตภัณฑ์ทานาคาทั้งหมดที่สุ่มมานั้นไม่ปรากฏวันที่ผลิตและวันหมดอายุที่ชัดเจน รวมทั้งผลิตภัณฑ์ทานาคาประเภทต่าง ๆ มีกลิ่นหอมแตกต่างกัน โดยตัวอย่าง S1 และ S7 มีกลิ่นหอมมาก รองลงมาที่มีกลิ่นหอมปานกลางคือ ตัวอย่าง S2, S4-S6 ส่วนตัวอย่าง S3 มีกลิ่นหอมอ่อน ๆ ดังแสดงในตารางที่ 1



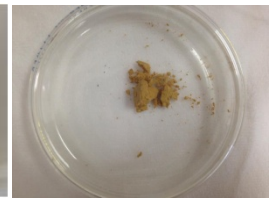
a) Pure natural Thanaka pastes



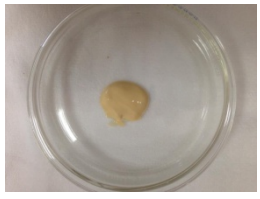
b) Thanaka powder



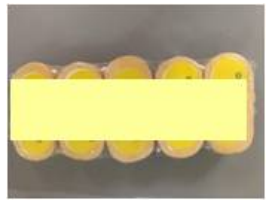
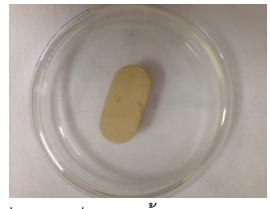
c) Thanaka face powder



d) Thanaka pastes



e) Whitening Thanaka Lotion

f) Compressed Thanaka powder แบบก้อน

g) Thanaka powder แบบซอง

ภาพที่ 1 (a-g) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทานาคาบางประเภทที่จำหน่ายในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์

ตารางที่ 1 ลักษณะทางกายภาพบางประการของผลิตภัณฑ์ทานาคาประเภทต่าง ๆ ที่จำหน่ายในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์

ตัวอย่าง	ประเภทของผลิตภัณฑ์	ลักษณะบรรจุภัณฑ์	วันที่ผลิต/วันหมดอายุ	ระดับความหอม
S1	Pure natural Thanaka pastes	ภาชนะพลาสติกสีขาวขุ่นและมีฝาปิด	ไม่มี	+++
S2	Thanaka powder	ภาชนะพลาสติกใสและมีฝาปิดพลาสติกสีน้ำเงิน	ไม่มี	++
S3	Thanaka face powder	ภาชนะพลาสติกใสและมีฝาปิด	ไม่มี	+
S4	Thanaka pastes	ภาชนะพลาสติกสีเหลืองและมีฝาปิด	ไม่มี	++
S5	Whitening Thanaka Lotion	ขวดพลาสติกใสและมีฝาปิด	ไม่มี	++
S6	Compressed Thanaka powder แบบก้อน	ห่อด้วยพลาสติกใส	ไม่มี	++
S7	Thanaka powder แบบซอง	ถุงพลาสติกใสที่ไม่ได้ปิดผนึก	ไม่มี	+++

หมายเหตุ: - คือ ไม่มีกลิ่นหอม; + คือ กลิ่นหอมอ่อน ๆ; ++ คือ กลิ่นหอมปานกลาง; +++ คือ กลิ่นหอมแรง

2. การศึกษาจำนวนแบคทีเรียในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทานาคาบางชนิดจากสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์

จากการศึกษาจำนวนแบคทีเรียกลุ่มต้องการอากาศทั้งหมด ในผลิตภัณฑ์ทานาคาที่จำหน่ายในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์ จำนวน 7 ตัวอย่าง พบว่ามีจำนวนแบคทีเรียกลุ่มต้องการอากาศทั้งหมดอยู่ในช่วง $(1.09\pm0.09)\times10^{8}$ ถึง $(3.30\pm0.40)\times10^{6}$ CFU/g ซึ่งตรวจพบจำนวนแบคทีเรียสูงที่สุดในตัวอย่าง S5 เท่ากับ $(1.09\pm0.09)\times10^{8}$ CFU/g รองลงมาคือตัวอย่าง S1 มีจำนวนเท่ากับ $(6.35\pm4.18)\times10^{7}$ CFU/g และมีจำนวนน้อยที่สุดในตัวอย่าง S4 โดยมีจำนวนเท่ากับ $(3.30\pm0.40)\times10^{6}$ CFU/g สำหรับจำนวนของแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี และแบคทีเรียกลุ่มซูโดโมแนสในผลิตภัณฑ์ทานาคาที่จำหน่ายในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์ทั้ง 7 ผลิตภัณฑ์ มีจำนวนของแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่ม ที่นับได้น้อยกว่า 100 CFU/g เมื่อเปรียบเทียบจำนวนแบคทีเรียที่ตรวจวัดได้ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทานาคาทั้งหมด 7 ตัวอย่างกับมาตรฐานของจำนวนจุลินทรีย์ที่กำหนดไว้ไม่เกิน 10^{3} CFU/g ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 40 พ.ศ. 2548 พบว่าผลิตภัณฑ์ทานาคาบางประเภทที่จำหน่ายในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์มีค่าเฉลี่ยจำนวนของแบคทีเรียสูงเกินค่ามาตรฐานในทั้งหมด 7 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 จำนวนแบคทีเรียกลุ่มต้องการออกซิเจน แบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี และแบคทีเรียกลุ่มซูโดโมแนสในผลิตภัณฑ์ทานาคาประเภทต่าง ๆ ที่จำหน่ายในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์

ประเภทผลิตภัณฑ์	จำนวนแบคทีเรีย (CFU/g)			มาตรฐานทางจุลชีววิทยาของเครื่องสำอาง*
	แบคทีเรียกลุ่มต้องการออกซิเจน	แบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี	แบคทีเรียกลุ่มซูโดโมแนส	
Pure natural Thanaka pastes	$(6.35\pm4.18)\times10^{7}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	ไม่ผ่าน
Thanaka powder	$(6.00\pm1.54)\times10^{7}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	ไม่ผ่าน
Thanaka face powder	$(8.45\pm1.27)\times10^{6}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	ไม่ผ่าน
Thanaka pastes	$(3.30\pm0.40)\times10^{6}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	ไม่ผ่าน
Whitening Thanaka Lotion	$(1.09\pm0.09)\times10^{8}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	ไม่ผ่าน
Compressed Thanaka powder แบบก้อน	$(3.75\pm0.55)\times10^{7}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	ไม่ผ่าน
Thanaka powder แบบซอง	$(9.20\pm0.80)\times10^{7}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	ไม่ผ่าน

หมายเหตุ: *ตามมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของเครื่องสำอาง ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 40 พ.ศ. 2548

3. การศึกษาชนิดแบคทีเรียในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทานาคา

จากการศึกษาชนิดของแบคทีเรียที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์ทานาคาจำหน่ายในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์ จำนวน 7 ผลิตภัณฑ์ พบว่า ในตัวอย่าง S1-S7 มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มต้องการอากาศทั้งหมด ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar ซึ่งสามารถคัดแยกและจัดจำแนกได้เป็นแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus pasteurii*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus mycoides* และ *Bacillus circulans* strain 1 และ strain2 ซึ่งในผลิตภัณฑ์ทานาคาทุกประเภท (S1-S7) ตรวจพบ *B. thuringiensis* และ *B. circulans* strain1 รองลงมาคือ *B. coagulans* ที่พบปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์ 6 ตัวอย่างคือ S1 และ S3–S7 เช่นเดียวกับ

B. laterosporus ที่พบปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์ทานาคาทั้งหมด 6 ตัวอย่างคือ S1-S4 และ S6–S7 ส่วน *B. pasteurii* ตรวจพบในผลิตภัณฑ์ทานาคาทั้งหมด 3 ตัวอย่างคือ S1 S3 และ S4 ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ชนิดของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากผลิตภัณฑ์ทานาคาประเภทต่าง ๆ ที่จำหน่ายในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์

ชนิดแบคทีเรีย	ตัวอย่าง						
	Pure natural Thanaka pastes	Thanaka powder	Thanaka face powder	Thanaka pastes	Whitening Thanaka Lotion	Compressed Thanaka powder แบบก้อน	Thanaka powder แบบซอง
Bacillus thuringiensis	+	+	+	+	+	+	+
Bacillus laterosporus	+	+	+	+	-	+	+
Bacillus circulans	+	+	+	+	+	+	+
Bacillus pasteurii	+	-	+	+	-	-	-
Bacillus coagulans	+	-	+	+	+	+	+
Bacillus mycoides	-	+	+	+	+	-	+

หมายเหตุ: + คือ พบ; - คือ ไม่พบ

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้พบว่าจำนวนแบคทีเรียที่ตรวจพบในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทานาคาประเภทต่าง ๆ ทั้งหมด 7 ตัวอย่างที่สุ่มมาจากตลาดที่จำหน่ายในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์ มีจำนวนที่สูงเกินค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ไม่ให้เกิน 10^3 CFU/g ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 40 พ.ศ. 2548 ของประเทศไทย (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2549) ทั้งนี้การปนเปื้อนของแบคทีเรียที่พบในผลิตภัณฑ์ทานาคาอาจปนเปื้อนมาจากต้นทานาคาที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิต ซึ่งการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่พบนั้นสามารถปนเปื้อนมาจากแหล่งต่าง ๆ ทั้งจากสิ่งมีชีวิตและไม่มีชีวิตในสิ่งแวดล้อมผ่านทางอากาศและดิน (Kneifel et al., 2002; Kosalec et al., 2009; de Freitas Araújo and Bauab, 2012) มีข้อมูลรายงานการปนเปื้อนของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ในจำนวนที่สูงถึง 10^8 CFU/g (Graf et al., 1980; Schilcher et al., 1982; Härtling, 1987; Czech et al., 2001; Abba et al., 2009) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานในการศึกษาครั้งนี้ที่พบการปนเปื้อนในช่วง 10^6–10^8 CFU/g ในผลิตภัณฑ์ทานาคา แต่อย่างไรก็ตาม รายงานการศึกษาบางฉบับพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียในจำนวนที่ต่ำเพียง 10^2 CFU/g ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากสมุนไพร (Shinkar et al, 2012) ดังนั้น จึงสามารถสังเกตได้ว่าการปนเปื้อนของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์สมุนไพรชนิดต่าง ๆ นั้น มีระดับการปนเปื้อนที่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจากฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ตามธรรมชาติของสมุนไพรชนิดนั้น การควบคุมอุณหภูมิ ความชื้นของสมุนไพรก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว การควบคุมสุขลักษณะในระหว่างกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร และอาจเกิดการปนเปื้อนข้ามจากอุปกรณ์ต่าง ๆ ระหว่างการเตรียม วัตถุดิบอื่นที่ใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ หรือวัสดุที่ใช้ในการบรรจุผลิตภัณฑ์ เช่น พลาสติก แก้ว เป็นต้น (Kneifel et al., 2002; Kosalec et al., 2009; de Freitas Araújo and

Bauab, 2012) การปนเปื้อนส่วนใหญ่ในพืชสมุนไพรมักมาจากเอนโดสปอร์ของแบคทีเรียและสปอร์ของเชื้อรา ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ที่พบเฉพาะแบคทีเรียสกุล *Bacillus* เท่านั้น ได้แก่ *B. pasteurii*, *B. coagulans*, *B. laterosporus*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides* และ *B. circulans* โดยแบคทีเรียทุกชนิดที่พบในการศึกษาครั้งนี้จัดเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ก่อโรคในมนุษย์ แต่อย่างไรก็ตาม การปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียดังกล่าวในปริมาณที่สูงอาจมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมคุณภาพและหมดอายุเร็วขึ้น (Smart and Spooner, 1972; Becks and Lorenzoni, 1995; Behravan et al., 2005; Suvarna et al., 2011)

รายงานการศึกษาของ Brown and Jiang (2008) พบอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่จำหน่ายในประเทศสหรัฐอเมริกา ได้แก่ *Erwinia* spp., *Ewingella americana*, *Enterobacter cloacae*, *Stenotrophomonas maltophila*, *Staphylococcus* spp. รวมทั้งพบ *Bacillus* หลายชนิดเช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้ ในการศึกษาของ Czech et al. (2001) ตรวจพบการปนเปื้อนของ *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* ในผลิตภัณฑ์สมุนไพร และ Abba et al. (2009) พบการปนเปื้อนของ *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Shigella* spp. และ *Salmonella typhi* ในผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร ส่วนการศึกษาของ Shinkar et al. (2012) รายงานการตรวจพบยีสต์และรา *E. coli*, *Staphylococcus* sp. และ *Pseudomonas* sp. ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสมุนไพรบางประเภทที่จำหน่ายในประเทศอินเดีย แต่ในการศึกษาครั้งนี้ทำการตรวจสอบแบคทีเรียเพียง 3 กลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่มที่ต้องการออกซิเจน แบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซิอีและแบคทีเรียกลุ่มซูโดโมแนส โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อในการคัดแยกเพียง 3 ชนิด ซึ่งไม่เพียงพอสำหรับการตรวจสอบการปนเปื้อนของยีสต์และรา *S. aureus* และ *C. perfringens* ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทานาคามีการปนเปื้อนด้วย จึงทำให้ตรวจไม่พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียดังกล่าวในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทานาคา โดยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขของประเทศไทยกำหนดให้มีการตรวจสอบการปนเปื้อนของยีสต์และรา รวมทั้งตรวจไม่พบ *S. aureus* และ *C. perfringens* ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากสมุนไพร ดังนั้น ในการศึกษาครั้งต่อไปควรทำการประเมินจุลินทรีย์ให้ครบถ้วนตามมาตรฐานที่กำหนดไว้

การปนเปื้อนของแบคทีเรียที่สามารถพบในผลิตภัณฑ์สมุนไพรชนิดต่าง ๆ มีความเสี่ยงทางด้านสุขภาพต่อผู้บริโภคที่ใช้ผลิตภัณฑ์สมุนไพรชนิดต่าง ๆ รวมถึงผลิตภัณฑ์จากทานาคาที่จำหน่ายในสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์ ดังนั้น จึงมีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งในการปรับปรุงผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรให้มีมาตรฐานและปลอดภัย โดยการควบคุมมาตรฐานปัจจัยทางกายภาพที่ดีในระหว่างกระบวนการก่อน-หลังการเก็บเกี่ยว และคำนึงถึงระดับการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ (Kneifel et al., 2002; Bugno et al., 2006; Abba et al., 2009) รวมทั้งการหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนของจุลินทรีย์นั้นสามารถควบคุมได้จากกระบวนการประกันคุณภาพ เช่น Good Agricultural and Collection Practices (GACP) และ Good Manufacturing Practices (GMP) ในระหว่างกระบวนการผลิต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี (2553). กระแจะ, แหล่งข้อมูล http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=6. ค้นเมื่อวันที่ 7 กุมภาพันธ์ 2557.

พร้อมจิต ศรลัมพ์ วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล และสมภพ ประธานธุรารักษ์. (2535). สมุนไพรสวนสิรีรุกขชาติ. กรุงเทพฯ: บริษัท อมรินทร์พริ้นติ้งกรุ๊พ จากัด.

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 40) พ.ศ. 2548 เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย. (2549). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 123. ตอนพิเศษ 12 ง. หน้า 4-5.

Abba, D., Inabo, H.I., Yakubu, S.E. and Olonitola, O.S. (2009). Contamination of herbal medicinal products marketed in Kaduna Metropolis with selected pathogenic bacteria. Afr J Tradit Complement Altern Med. 6: 70-77.

Abu Zarga, M.H. (1986). Three new simple indole alkaloids from Limonia acidissima. J Nat Product. 49: 901–904.

Becks, V. and Lorenzoni, N. (1995). *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a neonatal intensive care unit: a possible link to contaminated hand lotion. Am J Infect Control. 23: 396–398.

Behravan, J., Bazzaz, F. and Malaekeh, P. (2005). Survey of bacteriological contamination of cosmetic creams in Iran (2000). Int J Dermatol. 44: 482–485.

Borwn, J.C. and Jiang, X. (2008). Prevalence of antibiotic-resistant bacterial on herbal products. J Good Prot. 71: 1486-90.

Bourgaud, F., Hehn, A., Larbat, R., Doerper, S., Gontier, E., Kellner, S., and Matern, U. (2006). Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochem Rev. 5*(2-3), 293-308.

Brenner, D.J. (1984). Section: 5 Facultative Anaerobic Gram-Negative Rods. In NR Krieg, JG Holt (Eds.), Bergey's manual of systematic bacteriology, Volume 1. Baltimore: Williams & Wilkins.

Bugno, A., Almodovar, A.A.B., Pereira, T.C., Andreoli Pinto, T.J. and Sabino, M. (2006). Occurrence of toxigenic fungi in herbal drugs. Braz J Microbiol. 37: 47-51.

Czech, E., Kneifel, W. and Kopp, B. (2001). Micro biologocal status of commercially available medicinal herbal drugs-a screening study. Planta Med. 67: 263-269.

de Freitas Araújo, M.G. and Bauab, T.M. (2012). Microbial quality of medicinal plant materials. In I. Akyar (Eds.). Latest research into quality control. Rijeka: Intech.

Favet, J. (1992). Microbial contamination of twenty drugs of plant origin. Pharm Acta Helv. 67(9-10): 250.

Figueroa, M., Rivero-Cruz, I., Rivero-Cruz, B., Bye, R., Navarrete, A. and Mata, R. (2007). Constituents, biological activities and quality control parameters of the crude extract and essential oil from Arracacia tolucensis var. multifida. J Ethnopharmacology. 113: 125–131.

Fylaktakidou, K.C., Hadjipavlou-Litina, D.J., Litinas, K.E. and Nicolaides, D.N. (2004). Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory/antioxidant activities. Curr Pharm Des. 10: (30): 3813-3833.

Graf, E. and Scheer, R. (1980). Keimzahlverminderung in Drogen und Hilfssffen. Pharm Industrie. 42: 732-744.

Härtling, C. (1987). Beitrag zur frage des mikrobiellen zustandes pflanzlicher drogen-fakten und folgerungen. Pharm Ztg. 132: 643-644.

Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. and Williams, S.T. (1994). Bergey’s manual of

determinative bacteriology (9th ed.). Baltimore: Williams & Wilkins.

Houlť, J.R.S. and Payá, M. (1996). Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. Gen Pharmacol: The Vascular System. 27(4): 713-722.

Joo, S.H., Lee, S.C. and Kim, S.K. (2004). UV absorbent, marmesin, from the bark of Thanakha, *Hesperethusa crenulata* L. J Plant Biol. 47: (2):163-165.

Kanlayavattanakul, M., Phrutivorapongkul, A., Lourith, N. and Ruangrungsi, N. (2009). Pharmacognostic specification of *Naringi crenulata* stem wood. J Health Res. 23: (2): 65-69.

Khare, C.P. (2007). Indian Medicinal Plants: an illustrated dictionary. New York: Springer Science Business Media. p. 836.

Kloos, W.E. and Schilefer, K.H. (1986). Section 12: Gram-Positive Cocci Genus IV *Staphylococcus*. In PHA Sneath, NS Mair, ME Sharpe, JG Holt (Eds.), Bergey's manual of systematic bacteriology, Volume 2. Baltimore: Williams & Wilkins.

Kneifel, W., Czech, E. and Kopp, B. (2002). Microbial contamination of medicinal plants-a review. Planta Med. 68: (01): 5-15.

Kocur, M. (1986). Section 12: Gram-Positive Cocci Genus III *Planococcus* In PHA Sneath, NS Mair, ME Sharpe, JG Holt (Eds.), Bergey's manual of systematic bacteriology, Volume 2. Baltimore: Williams & Wilkins.

Kosalec, I., Cvek, J. and Tomić, S. (2009). Contaminants of medicinal herbs and herbal products. Arch Ind Hyg Toxicol. 60(4): 485-501.

Lindsay, S.W., Ewald, J.A., Samung, Y., Apiwathaasorn, C. and Nosten, F. (1998). Thanaka and deet mixture as a mosquito repellent for use by Karen women. Med Vet Entomol. 12: 295-301.

Nayar, M.N.S. and Bhan, M.K. (1972). Coumarins and other constituents of *Hesperethusa crenulata*. Phytochemistry. 11: 3331–3333.

Nayar, M.N.S., Sutar, C.V. and Bhan, M.K. (1971) Alkaloids of the stem bark of *Hesperethusa crenulata*. Phytochemistry. 10: 2843–2844.

Raghad, A.R., Ebtihal, N.S. and Heyan, H. As study on cosmetic products marketed on Iraq: microbiological aspect. (2009). Iraqi J Pharm Sci. 8(2): 20-25.

Schilcher, H. (1982). Rückstände und verunreinigunden bei drogen und drogenzubereitungen. Planta Med. 28: 1-11.

Seeliger, H.P.R. and Jones, D. (1986). Section 14: Regular, Nonsporing Gram-Positive Rods. In PHA Sneath, NS Mair, ME Sharpe, JG Holt (Eds.), Bergey's manual of systematic bacteriology, Volume 2. Baltimore: Williams & Wilkins.

Shinkar, M., Salunkhe, S., Mehta, J., Jadhav, S., Lokhande, K., Kulkarni, C.G. and Vidyanagar, K. (2012). Assessment of microbial quality of commercial herbal cosmetics. IJRRPAS, 2(3): 450-457.

Singh, N., Meena, M.K. and Patni, V. (2011). *In vitro* rapid multiplication of a highly valuable medicinal plant *Naringi crenulata* (Roxb.) Nicolson. J Med Plant Res. 5(31): 6752-6758.

Smart, R. and Spooner, D.F. (1972). Microbiological spoilage in pharmaceuticals and cosmetics. J. Soc. Cosmet. Chem. 23: 721-737.

Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G. (1986). Bergey's manual of systematic bacteriology, Volume 2. Baltimore: Williams & Wilkins.

Suvarna, K., Lolas, A., Hughes, P. and Friedman, R.L. (2011). Case studies of microbial contamination in biologic product manufacturing. Available from: http://www.fda.gov/downloads/AboutFDA/CentersOffices/CDER/UCM275353.pdf. 30 June 2014.

Wangthong, S., Palaga, T., Rengpipat, S., Wanich-wecharungruang, S.P., Chanchaisak, P. and Heinrich, P. (2010). Biological activities and safety of Thanaka (*Hesperethusa crenulata*) stem bark. J Ethnopharmacol. 132: 466-472.

❑❑❑❑❑