

กระบวนการเตรียมสารสกัดสมุนไพรจากตำรับยาทาแผลของนพคุณ
ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระ

PROCESS FOR PREPARING HERBAL EXTRACTS
FROM THONGNOPPAKUN WOUND HEALING FORMULA
WITH ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES

วันดี ปลีสันนิ อ้วนัน วาเงาะ สุกัญญา กาลังมาก และ ยมล พิทักษ์ภาวศุทธิ*

Wandee Pleesanit, Afnan Wangoh, Sukanjana Kamlungmak,

and Yamon Pitakpawasutthi*

หลักสูตรการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาการสุขภาพและการกีฬา มหาวิทยาลัยทักษิณ

Bachelor of Thai Traditional Medicine Program, Faculty of Health and Sport Science, Thaksin University

*corresponding author e-mail: yamon.p@tsu.ac.th

(Received: 24 October 2024; Revised: 17 March 2025; Accepted: 4 April 2025)

บทคัดย่อ

น้ำมันทาแผลตำรับยาของนพคุณ เป็นตำรับยาที่มีมาแต่โบราณ เพื่อใช้สำหรับการสมานแผลในสารสกัดตำรับยาทาแผลของนพคุณมีคุณสมบัติด้านการอักเสบ ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านอนุมูลอิสระและสมานแผล งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการสกัดตำรับยาทาแผลของนพคุณ นำมาศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณฟีนอลิกรวม รวมทั้งประเมินความคงสภาพของสารสกัดตำรับยาทาแผลของนพคุณ ผลการศึกษาความคงสภาพในสภาวะเร่งพบว่า ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดทั้ง 3 รูปแบบใกล้เคียงกันมาก โดยรูปแบบไมโครเวฟ 300 วัตต์ สีเหลืองอ่อนกว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อ (MBC/MFC) ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus epidermidis* *Propionibacterium acnes* และยีสต์ *Malassezia furfur* ของสารสกัดรูปแบบไมโครเวฟ 800 วัตต์ พบว่า มีค่า MIC เท่ากับ 4 0.50 และ 4 mg/mL ตามลำดับ ค่า MBC เท่ากับ 4 0.50 และ MFC>32 mg/mL ตามลำดับ เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดตำรับยาทาแผลของนพคุณที่สกัดด้วยไมโครเวฟ 800 วัตต์ และสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.37 mg/mL และ 1.59 µg/mL ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu พบว่า สารสกัดด้วยไมโครเวฟ 800 วัตต์ มีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุด สำหรับการทดสอบการคงสภาพในสภาวะเร่ง พบว่า

การสกัดทั้ง 3 รูปแบบ แสดงผลเหมือนกันใน Cycle ที่ 3 มีตะกอนเกิดขึ้น จากข้อมูลงานวิจัยนี้ สามารถนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณได้

คำสำคัญ: คลื่นไมโครเวฟ ตำรับยาทาแผลทองนพคุณ สารต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

Abstract

Thongnoppakun wound healing oil is a traditional medicinal formula used for wound healing. The extract from the Thongnoppakun wound healing formula possesses anti-inflammatory, antibacterial, antioxidant, and wound healing properties. This research aims to study the extraction methods of the Thongnoppakun wound healing formula. The antibacterial activity, antioxidant activity, and total phenolic content were studied. The stability of the Thongnoppakun wound healing extract was assessed. The results of the stability study under accelerated conditions. The experimental results showed that the physical characteristics of the extracts from all three extraction methods were highly similar. The extract obtained using microwave extraction at 300 W had a lighter yellow color. For the minimum inhibitory concentration; MIC and minimum bactericidal/fungicidal concentration (MBC/MFC) against *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes* and *Malassezia furfur*, the extract obtained using microwave extraction at 800 W had MIC values of 4, 0.50, and 4 mg/mL, respectively. The MBC values were 4 and 0.50 mg/mL, while the MFC value was >32 mg/mL. Regarding antioxidant activity with DPPH method, the Thongnoppakun extract obtained using microwave extraction at 800 W had an IC_{50} value of 0.37 mg/mL, compared to 1.59 μ g/mL for standard ascorbic acid. Analysis of total phenolic content using Folin–Ciocalteu method revealed that the microwave 800 W extract had the highest phenolic content. For stability testing, all three extraction methods showed similar results, with precipitation occurring in the third cycle. These research findings can contribute to the development of Thongnoppakun extract-based wound healing products.

Keywords: Microwave, Thongnoppakun wound healing, Antioxidant compounds, Antibacterial

บทนำ

แผลบาดเจ็บ คือ ความเสียหายที่เกิดขึ้นกับร่างกายเป็นผลโดยตรงหรือโดยอ้อมจากแรงภายนอกโดยมีหรือไม่มีการหยุดชะงักของความต่อเนื่องของโครงสร้าง (Data Stellar Co., 2010) เมื่อเกิดแผลบาดเจ็บที่ผิวหนัง ร่างกายมีกระบวนการทำให้ บาดแผลหายและมีการประสานผิวหนัง

ให้กลับมามีชีวิตได้ แผลบาดเจ็บที่สะอาด ไม่มีการติดเชื้อ ขอบเรียบ ไม่มีเนื้อตาย และมีสิ่งสกปรกที่ล้างออกง่าย จะมีการหายแบบปฐมภูมิ (Primary intention healing) (Heal CF et al., 2016) บาดแผลเกิดขึ้นได้จากการถูกของมีคม ถูกกระแทก หรืออาจเกิดจากอุบัติเหตุ เป็นการบาดเจ็บในทุกชนิดที่ก่อให้เกิดการแตกสลายของผิวหนัง หรือเยื่อส่วนอื่นๆ ของร่างกาย รวมทั้งการบาดเจ็บที่เกิดขึ้นแก่เนื้อเยื่อที่อยู่ส่วนล่างลงไปจากผิวหนัง (กิรณา และคณะ, 2563) ซึ่งเป็นสิ่งที่สามารถเกิดได้บ่อยครั้ง โดยบาดแผลส่วนใหญ่มักเกิดขึ้นบริเวณผิวหนัง เป็นบริเวณที่มีเชื้อแบคทีเรียที่สามารถก่อโรคที่ผิวหนังได้ เช่น *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* เป็นต้น การรักษา มี 2 ขั้นตอน ดังนี้ ล้างแผลเพื่อฆ่าเชื้อ และใช้ผลิตภัณฑ์ติดในบริเวณที่เป็น แผลยากต่อการใช้งาน การสมานแผลขนาดเล็ก แผลบริเวณข้อพับ (Fair & Tor, 2008)

น้ำมันทาแผลตำรายาของนพคุณ เป็นตำรายาที่มีมาแต่โบราณ ถ่ายทอดสืบต่อกันมาจากรุ่นสู่รุ่น มีการปรุงผสมสมุนไพรกับน้ำมันตามหลักเภสัชกรรมไทย เพื่อใช้สำหรับการสมานแผล โดยมีส่วนประกอบ คือ เหง้าขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) แก้วโรคผิวหนัง ผื่นคัน หัวกระเทียม (*Allium sativum* L.) สรรพคุณแก้กลากเกลื้อน หนองตายหยาก (*Stemona collinsae* Craib.) สรรพคุณแก้โรคผิวหนังผื่นคันน้ำเหลืองเสีย พอกทาแก้โรคผิวหนัง สีเสียดไทย (*Acacia catechu* (L.f.) Willd.) สรรพคุณชะล้างบาดแผล สีเสียดเทศ (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb สรรพคุณทาสมานแผล ใช้ใส่แผลเน่าเปื่อย ใส่แผลริดสีดวง ห้ามเลือด กายาณ (*Styrax benzoides* Craib.) สรรพคุณยาฆ่าเชื้อ รักษาแผลสด และแผลเรื้อรัง และป้องกันการติดเชื้อ เกลือ (Sodium Chloride) สรรพคุณรักษาเนื้อหนังไม่ให้เน่า สารส้ม สรรพคุณสมานทั้งภายนอก-ภายใน ห้ามเลือดในแผลเล็ก และทำให้หนองแห้ง น้ำมันงาดำ สรรพคุณ แก้เคล็ดขัดยอก ฟกช้ำ ปวดบวม ลดการอักเสบ ใส่แผลรักษาอาการผื่นคัน และใส่แผลเน่าเปื่อย และ น้ำมันมะพร้าว สรรพคุณ รักษาแผลเรื้อรัง รักษาเกลื้อน แก้น้ำคันระดูพอง (กองการประกอบโรคศิลปะ, 2542; ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2552) ตำรายานี้ได้ขึ้นทะเบียนเป็นยาแผนโบราณ ทะเบียนเลขที่ G246/61 โดยทะเบียนดังกล่าวใช้กระบวนการต้มเคี่ยวในกระบวนการเตรียม (ณฤตล และคณะ, 2559)

การต้มเคี่ยวเป็นวิธีที่นิยมใช้สามารถใช้ได้ทั้งตัวยาสดหรือแห้งในตัวยาที่สารสำคัญสามารถละลายได้ในตัวทำละลาย โดยการนำตัวยามาทำความสะอาด สับให้เป็นท่อนขนาดพอเหมาะ และให้ย่อยต่อการทำละลายของน้ำกับตัวยา นำใส่ลงในหม้อ เติมน้ำให้ท่วมยา นำไปตั้งไฟ ต้มให้เดือด ตามที่กำหนดในตำรายา เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองพลังงาน ได้สารสำคัญปริมาณน้อย อีกทั้งยังใช้ระยะเวลานานในการเตรียม ซึ่งผู้วิจัยได้มีการปรับวิธีการเตรียมจากเดิมที่มีการต้มเคี่ยวน้ำมันสกัดสมุนไพร เป็นการใช่วิธีการสกัดที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ประหยัดเวลา ประหยัดพลังงาน โดยการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ ซึ่งเป็นกรรมวิธีการสกัดสารสำคัญให้ได้สารสำคัญในปริมาณสูง โดยการใช้เทคนิคไมโครเวฟช่วยในการสกัด (Microwave-Assisted

Extraction; MAE) โดยใช้ความร้อนจากคลื่นไมโครเวฟทำให้โมเลกุลน้ำในเซลล์พืช ทำให้เซลล์แตกออกจากกันได้รับความร้อนยิ่งยวด และปล่อยสารสำคัญที่อยู่ภายในออกมา นอกจากนี้การสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟนี้มีปัจจัยหรือสภาวะที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดสารสำคัญหลายประการ ได้แก่ ระบบตัวทำละลายและสัดส่วนของตัวทำละลายต่อผงสมุนไพร กำลังของคลื่นไมโครเวฟ อุณหภูมิ ระยะเวลาการสกัด และจำนวนรอบในการสกัด (อารีรัตน์, 2560) โดยเทคนิคการสกัดแบบไมโครเวฟรวมเป็นทางเลือกหนึ่งที่ได้รับการสนใจในการสกัดสารสำคัญเนื่องจากใช้ระยะเวลาในกระบวนการสั้น ตัวทำละลายน้อย ผลผลิตและคุณภาพสูงกว่า และต้นทุนต่ำกว่าแบบใช้ความร้อนในการสกัด (Hosseini, Khodaiyan & Yarmand, 2016)

ดังนั้นจากที่กล่าวมาข้างต้นผู้วิจัยจึงเล็งเห็นความสำคัญของน้ำมันทาแผลตำรับยาของนพคุณ เพื่อใช้สำหรับการสมานแผล และฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาเทคนิคการสกัดสารจากตำรับยาของนพคุณ โดยการเปรียบเทียบการต้มเคี่ยวแบบดั้งเดิมและวิธีการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ ซึ่งเป็นวิธีการสกัดที่ประหยัดเวลา ประหยัดพลังงาน ได้สารสำคัญในปริมาณสูง และมีการศึกษาความคงสภาพของสารสกัดฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดตำรับยาทาแผลของนพคุณ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสูตรตำรับยาทาแผลของนพคุณต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดสมุนไพรจากตำรับยาทาแผลของนพคุณ 3 รูปแบบ ดังนี้

1.1 รูปแบบการต้มเคี่ยวแบบดั้งเดิม

1) เตรียมสมุนไพรแห้ง ได้แก่ เหง้าขมิ้นชัน หนัก 300 กรัม รากต้นหนอนตายหายาก หนัก 240 กรัม หัวกระเทียม หนัก 60 กรัม สีเสียดไทย สีเสียดเทศ กายาน เกลือ สารส้ม หนักอย่างละ 40 กรัม จากนั้นใส่น้ำมันมะพร้าว 660 มิลลิลิตร และน้ำมันงาดำ 540 มิลลิลิตร (สัดส่วนสมุนไพรต่อน้ำมันเท่ากับ 2 : 3)

2) นำเหง้าขมิ้นชัน รากต้นหนอนตายหายาก หัวกระเทียม สีเสียดไทย สีเสียดเทศ กายาน สารส้ม และเกลือ ผสมให้เข้ากัน

3) ใส่น้ำมันมะพร้าวและน้ำมันงาดำลงไปในหม้อ รอให้น้ำมันเดือด อุณหภูมิ 170–180 องศาเซลเซียส

4) ใส่สมุนไพรทั้งหมดลงไปในหม้อ เคี่ยวเป็นเวลา 30 นาที

5) จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการกรองแยกกากด้วยผ้าขาวบางและกรองต่อด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จนกระทั่งได้สารสกัด

1.2 รูปแบบการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใช้กำลังไฟ 800 วัตต์

1) เตรียมสมุนไพรแห้ง ได้แก่ เหนงาขมิ้นชัน หนัก 112.50 กรัม รากต้นหนอนตายหยาก หนัก 90 กรัม หัวกระเทียม หนัก 22.50 กรัม สีเสียดไทย สีเสียดเทศ กายาน เกลือ และสารส้ม หนักอย่างละ 15 กรัม ลงในภาชนะปิกเกอร์ จากนั้นใส่น้ำมันมะพร้าว 330 มิลลิลิตร และน้ำมันงาดำ 270 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน (สัดส่วนสมุนไพรต่อน้ำมันเท่ากับ 1 : 2)

2) นำสมุนไพรที่คนแล้วมาสกัดด้วยวิธีเครื่องไมโครเวฟ (MAE) ใช้กำลังไฟ 800 วัตต์ ระยะเวลา 2 นาที และสกัดซ้ำจนอุณหภูมิถึง 110–130 องศาเซลเซียส จำนวน 3 รอบ โดยแต่ละรอบหยุดพักแล้วคนสารสกัดเป็นเวลา 30 วินาที (Saelim et al., 2019)

3) นำสารสกัดที่ได้ไปทำการกรองแยกกากด้วยผ้าขาวบางและกรองต่อด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จนกระทั่งได้สารสกัดปริมาณ 154 มิลลิลิตร

1.3 รูปแบบการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใช้กำลังไฟ 300 วัตต์

1) เตรียมสมุนไพรแห้ง ได้แก่ เหนงาขมิ้นชัน หนัก 112.50 กรัม รากต้นหนอนตายหยาก หนัก 90 กรัม หัวกระเทียม หนัก 22.50 กรัม สีเสียดไทย สีเสียดเทศ กายาน เกลือ และสารส้ม หนัก 15 กรัม ลงในภาชนะปิกเกอร์ จากนั้นใส่น้ำมันมะพร้าว 330 มิลลิลิตร และน้ำมันงาดำ 270 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน (สัดส่วนสมุนไพรต่อน้ำมันเท่ากับ 1 : 2)

2) นำสมุนไพรที่คนแล้วมาสกัดด้วยวิธีเครื่องไมโครเวฟ (MAE) ใช้กำลังไฟ 300 วัตต์ ระยะเวลา 7 นาที และสกัดซ้ำจนอุณหภูมิถึง 90–110 องศาเซลเซียส จำนวน 3 รอบ โดยแต่ละรอบหยุดพักแล้วคนสารสกัดเป็นเวลา 30 วินาที (Jinfeng Zhong et al., 2018)

3) จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการกรองแยกกากด้วยผ้าขาวบางและกรองต่อด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จนกระทั่งได้สารสกัด

2. การประเมินความคงสภาพของสารสกัดจากตำรับยาทาแผลทงนพคุณในสภาวะเร่ง

นำสารสกัด 10 mL ใส่ในหลอดทดลองทั้ง 3 หลอด ปิดฝาขวด จากนั้นนำไปตั้งในตูเย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สลับกับการเก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 Cycle (2 วัน) ทดสอบ 4 Cycles (8 วัน) เมื่อครบแต่ละ Cycle สังเกตสี กลิ่น การตกตะกอน และน้ำหนักของสารสกัดโดยการชั่ง (ศศิประภา, 2561)

3. การเตรียมเชื้อทดสอบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ที่เป็นสาเหตุของอาการติดเชื้อระบบผิวหนัง ได้แก่ *S. epidermidis*, *P. acnes* และยีสต์ *M. furfur* โดยใช้วิธี Broth Dilution Method มีวิธีการเตรียมเชื้อ ดังนี้

3.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อแบคทีเรียที่เก็บจากการเพาะเลี้ยงเป็นคอลโลนีเดี่ยว 3–5 ตัวมาหยาบใส่ลงใน Mueller–Hinton broth; MHB (Difco) เพื่อทำการเพาะเลี้ยง โดยปรับความเข้มข้นของเชื้อโดยการเติม (Normal Saline Solution; NSS) 0.85% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นปรับความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียให้ตรงกับมาตรฐาน McFarland 0.50 และทำการเจือจางเชื้อในอัตราส่วน 1 : 200 (ประมาณ 7.50×10^5 CFU/mL) ด้วย MHB นำไปทดสอบการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

3.2 การเตรียมเชื้อยีสต์

ปรับความเข้มข้นของเชื้อยีสต์ให้ตรงกับมาตรฐาน McFarland 2.0 จากนั้นเจือจางเชื้อในอัตราส่วน 1 : 20 (ประมาณ 3×10^7 CFU/mL) ด้วย Sabouraud dextrose broth; SDB (Difco) นำไปทดสอบการยับยั้งและฆ่าเชื้อยีสต์

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดตำรับยาทาแผลของนพคุณ

4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* และ *P. acnes*

การเตรียมสารทดสอบทำโดยนำสารสกัดตำรับยาทาแผลของนพคุณสำหรับยับยั้งเชื้อมาเจือจางแบบ Two fold dilution MHB ให้ได้ความเข้มข้น 50 25 12.50 6.25 3.13 1.56 0.78 0.39 0.20 และ 0.10 %v/v ทำการทดสอบกับเชื้อ โดยดูการละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ในแต่ละความเข้มข้น 100 μ L ใส่ลงจานเพาะเลี้ยงชนิด 96 หลุม จากความเข้มข้นต่ำไปสูงและใส่เชื้อลงในภาชนะเพาะเลี้ยงทุกหลุมที่มีสารทดสอบปริมาตร 10 μ L โดยมี Positive control คือ อาหารเหลวที่ใส่เชื้อ และ Negative control คือ อาหารเหลวที่ไม่ใส่เชื้อ ทำการทดสอบ 4 ซ้ำ จากนั้นนำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำภาชนะเพาะเลี้ยงไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และอ่านผลโดยสังเกตความขุ่นของ Broth โดยแถวสุดท้ายที่ไม่ขุ่น (ใส) แสดงว่าไม่มีเชื้อเจริญ ให้อ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (Minimum inhibitory concentration; MIC) จากนั้นนำตัวอย่างจากแถวที่ไม่ขุ่นมาทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimum bactericidal concentration; MBC) โดยการดูการละลายมา 0.10 mL นำมา Spread ลงบน Muller hinton agar; MHA และสังเกตการเจริญของเชื้อ อ่านผลโดยสังเกตโคโลนีการเจริญของเชื้อบนอาหาร MHA โดยความเข้มข้นสุดท้ายที่ไม่พบโคโลนีเชื้อบนอาหารทดสอบ แสดงว่า ไม่มีเชื้อเจริญ ให้อ่านค่าเป็น MBC (อุณหภูมิตั้งที่ 25°C, 2567)

4.2 การทดสอบเชื้อยีสต์ *M. furfur*

การเตรียมสารทดสอบทำโดยนำสารสกัดตำรับยาทาแผลของนพคุณสำหรับยับยั้งเชื้อมาเจือจางแบบ Two fold dilution SDB ให้ได้ความเข้มข้น 50 25 12.50 6.25 3.13 1.56 0.78 0.39 0.20 และ 0.10 %v/v ทำการทดสอบกับเชื้อ โดยดูการละลายตัวอย่างที่เตรียมได้

ในแต่ละความเข้มข้น 100 μL ใส่ลงจานเพาะเลี้ยงชนิด 96 หลุม จากความเข้มข้นต่ำไปสูงและใส่เชื้อลงในจานเพาะเลี้ยงทุกหลุมที่มีสารทดสอบปริมาตร 10 μL โดยมี Positive control คืออาหารเหลวที่ใส่เชื้อ และ Negative control คืออาหารเหลวที่ไม่ใส่เชื้อ ทำการทดสอบ 4 ซ้ำ จากนั้นนำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และอ่านผลโดยสังเกตความขุ่นของ Broth โดยแถวสุดท้ายที่ไม่ขุ่น (ใส) แสดงว่าไม่มีเชื้อเจริญ ให้อ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (Minimum inhibitory concentration; MIC) จากนั้นนำตัวอย่างจากแถวที่ไม่ขุ่นมาทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อยีสต์ (Minimum fungicidal concentration; MFC) โดยการดูดสารละลายมา 0.10 mL นำมา Spread ลงบน Muller hinton agar และสังเกตการเจริญของเชื้อบน Sabouraud dextrose agar; SDA และอ่านผลโดยสังเกตโคโลนีการเจริญของเชื้อบนอาหาร SDA โดยความเข้มข้นสุดท้ายที่ไม่พบโคโลนีเชื้อบนอาหารทดสอบ แสดงว่า ไม่มีเชื้อเจริญ ให้อ่านค่าเป็น MFC (Fernandes et al., 2021)

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาทาแผลของนพคุณด้วย

วิธี DPPH Assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams & Cuveliers (1995) เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.06 mM และเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 400 mg/mL มาเจือจางด้วย Propylene glycol ให้มีความเข้มข้นของสารละลายอยู่ในช่วง 0.20–200 mg/mL และเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) ให้มีความเข้มข้นของสารละลายอยู่ในช่วง 0.48–125 $\mu\text{g/mL}$ ปิเปตมา 100 μL ลงในหลุมของไมโครเพลต 96 หลุม เติมสารละลาย DPPH ปริมาณ 100 μL ลงในแต่ละหลุม นำไมโครเพลตไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาทีในที่มืด วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร แต่ละตัวอย่างทำซ้ำ 3 ครั้ง โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก คำนวณหาตัวร้อยละในการยับยั้ง DPPH ดังสมการที่ 1

$$\% \text{Inhibition} = \frac{[\text{Absorbance control} - \text{Absorbance sample}]}{\text{Absorbance control}} \times 100 \quad (1)$$

6. การวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดตำรับยาทาแผลของนพคุณ

ผสมสารสกัด 20 μL (ความเข้มข้น 800 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) กับสารละลาย Folin-Ciocalteu's phenol reagent 100 μL ที่ความเข้มข้น 10% ในไมโครเพลต 96 หลุม หลังจากนั้นรอ 5 นาที แล้วเติมสารละลาย Na_2CO_3 7.50% จำนวน 80 μL ลงในส่วนผสม เขย่าแล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่างสารสกัดมาเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Gallic acid แล้วคำนวณผลเป็นน้ำหนักไมโครกรัมสมมูลของ Gallic acid และข้อมูลที่ได้จะ

ถูกแสดงเป็นจำนวน Gallic acid เทียบเท่าต่อกรัมของสารสกัดตัวอย่างแต่ละตัว ทำซ้ำ 3 ครั้ง (Sachindra, 2010)

7. สถิติการวิจัย

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติพื้นฐาน ได้แก่ การหาร้อยละ (%) การหาค่าเฉลี่ย (Mean) การหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel

ผลการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดสมุนไพรจากตำรับยาทาแผลทองนพคุณโดยวิธีการสกัด 3 รูปแบบ ดังนี้

1.1 การต้มเคี่ยวแบบดั้งเดิม

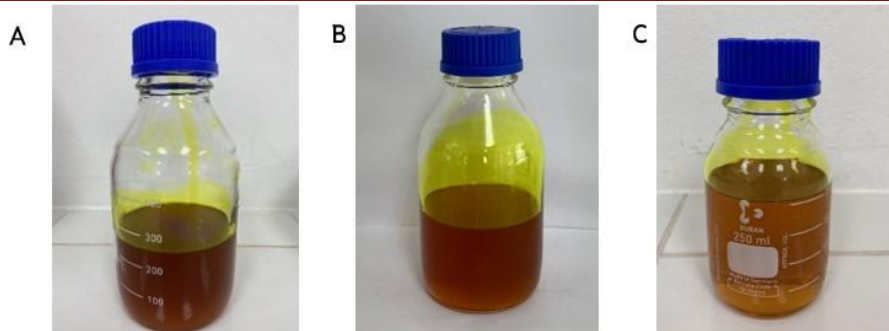
จากการสกัดสารจากตำรับยาทาแผลทองนพคุณ 800 กรัม น้ำมัน 1200 มิลลิลิตร นำไปต้มเคี่ยวระยะเวลา 30 นาที อุณหภูมิ 170–180 องศาเซลเซียส เมื่อนำไปกรองได้สารสกัด ปริมาตร 252 มิลลิลิตร พบว่า สารสกัดจากตำรับยาทาแผลทองนพคุณ มีค่า %Yield เท่ากับ 31.50 และมีลักษณะสีเหลืองเข้มขึ้นเล็กน้อยและมีกลิ่นหอมเฉพาะ ดังภาพที่ 1

1.2 การสกัดด้วยไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์

จากการสกัดสารจากตำรับยาทาแผลทองนพคุณ 300 กรัม น้ำมัน 600 มิลลิลิตร นำไปสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ (MAE) ใช้กำลังไฟ 800 วัตต์ ระยะเวลาที่เหมาะสม คือ 2 นาที และสกัดซ้ำ จำนวน 3 รอบ พบว่า ในระหว่างการสกัด อุณหภูมิมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 116.67 ± 24.42 องศาเซลเซียส และเมื่อนำไปกรองได้สารสกัดปริมาตร 154 มิลลิลิตร พบว่า สารสกัดจากตำรับยาทาแผลทองนพคุณ มีค่า %Yield เท่ากับ 51.33 และมีลักษณะสีเหลืองเข้มและมีกลิ่นหอมเฉพาะ ดังภาพที่ 1

1.3 การสกัดด้วยไมโครเวฟกำลังไฟ 300 วัตต์

จากการสกัดสารจากตำรับยาทาแผลทองนพคุณ 300 กรัม น้ำมัน 600 มิลลิลิตร นำไปสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ (MAE) ใช้กำลังไฟ 300 วัตต์ ระยะเวลาที่เหมาะสม คือ 7 นาที และสกัดซ้ำ จำนวน 3 รอบ พบว่า ในระหว่างการสกัด อุณหภูมิมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 91.33 ± 18.50 องศาเซลเซียส และเมื่อนำไปกรองได้สารสกัดปริมาตร 214 มิลลิลิตร พบว่า สารสกัดจากตำรับยาทาแผลทองนพคุณ มีค่า %Yield เท่ากับ 71.33 และมีลักษณะสีเหลืองและมีกลิ่นหอมเฉพาะ ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 สารสกัดจากตำรับยาทาแผลทองนพคุณ รูปแบบ (A) แบบดั้งเดิม (B) แบบสกัดด้วยไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ และ (C) แบบสกัดด้วยไมโครเวฟกำลังไฟ 300 วัตต์

2. การประเมินความคงสภาพของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณในสภาวะเร่ง

จากการประเมินความคงสภาพของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณด้วยการนำสารสกัดใส่ในหลอดทดลอง 3 หลอด มาประเมินในสภาวะเร่งทั้งหมด 4 รอบ พบว่า น้ำหนักของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณมีการลดลงในแต่ละรอบ และมีการตกตะกอนเล็กน้อย แต่สีและกลิ่นไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ดังนั้นสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณมีความคงสภาพดังตารางที่ 1-3

ตารางที่ 1 การทดสอบความคงสภาพของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณรูปแบบการต้มเคี่ยวแบบดั้งเดิม

การประเมิน ความคงตัว	น้ำหนักของสารสกัด (g)			การตกตะกอน	สี	กลิ่น
	n1	n2	n3			
ก่อนการทดลอง	43.92	44.35	44.06	–	สีเหลืองเข้ม	มีกลิ่นหอมเฉพาะ
Cycle 1	43.84	44.27	43.98	–	สีเหลืองเข้ม	มีกลิ่นหอมเฉพาะ
Cycle 2	43.81	44.26	43.95	–	สีเหลืองเข้ม	มีกลิ่นหอมเฉพาะ
Cycle 3	43.80	44.22	43.94	มีตะกอนเล็กน้อย	สีเหลืองเข้ม	มีกลิ่นหอมเฉพาะ
Cycle 4	43.77	44.18	43.90	มีตะกอนเล็กน้อย	สีเหลืองเข้ม	มีกลิ่นหอมเฉพาะ

หมายเหตุ Cycle คือ 2 วัน

ตารางที่ 2 การทดสอบความคงสภาพของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณรูปแบบการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์

การประเมิน ความคงตัว	น้ำหนักของสารสกัด (g)			การตกตะกอน	สี	กลิ่น
	n1	n2	n3			
ก่อนการทดลอง	44.28	44.53	44.77	–	สีเหลืองเข้ม	มีกลิ่นหอมเฉพาะ
Cycle 1	43.62	44.47	44.74	–	สีเหลืองเข้ม	มีกลิ่นหอมเฉพาะ
Cycle 2	43.93	44.45	44.68	–	สีเหลืองเข้ม	มีกลิ่นหอมเฉพาะ
Cycle 3	43.58	44.43	44.68	มีตะกอนเล็กน้อย	สีเหลืองเข้ม	มีกลิ่นหอมเฉพาะ
Cycle 4	43.54	44.37	44.62	มีตะกอนเล็กน้อย	สีเหลืองเข้ม	มีกลิ่นหอมเฉพาะ

หมายเหตุ Cycle คือ 2 วัน

ตารางที่ 3 การทดสอบความคงสภาพของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณรูปแบบการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 300 วัตต์

การประเมิน ความคงตัว	น้ำหนักของสารสกัด (g)			การตกตะกอน	สี	กลิ่น
	n1	n2	n3			
ก่อนการทดลอง	46.26	44.80	45.57	–	สีเหลือง	มีกลิ่นหอมเฉพาะ
Cycle 1	46.18	44.76	45.50	–	สีเหลือง	มีกลิ่นหอมเฉพาะ
Cycle 2	46.17	44.72	45.48	–	สีเหลือง	มีกลิ่นหอมเฉพาะ
Cycle 3	46.16	44.72	45.46	มีตะกอนเล็กน้อย	สีเหลือง	มีกลิ่นหอมเฉพาะ
Cycle 4	46.11	44.67	45.42	มีตะกอนเล็กน้อย	สีเหลือง	มีกลิ่นหอมเฉพาะ

หมายเหตุ Cycle คือ 2 วัน

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณ

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการติดเชื้อระบบผิวหนัง ได้แก่ *S. epidermidis* และ *P. acnes* และเชื้อยีสต์ *M. furfur* โดยใช้วิธี Broth dilution method เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อ (MBC) สรุปได้ว่า การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย สารสกัดจากตำรับยาทาแผลทองนพคุณ รูปแบบที่ 2 (การสกัดด้วยไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์) มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อ (MBC) ดีที่สุด และการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อยีสต์ *M. furfur* สารสกัดจากตำรับยาทาแผลทองนพคุณ รูปแบบที่ 2–3 มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อ (MFC) ดีที่สุด ดังตารางที่ 4

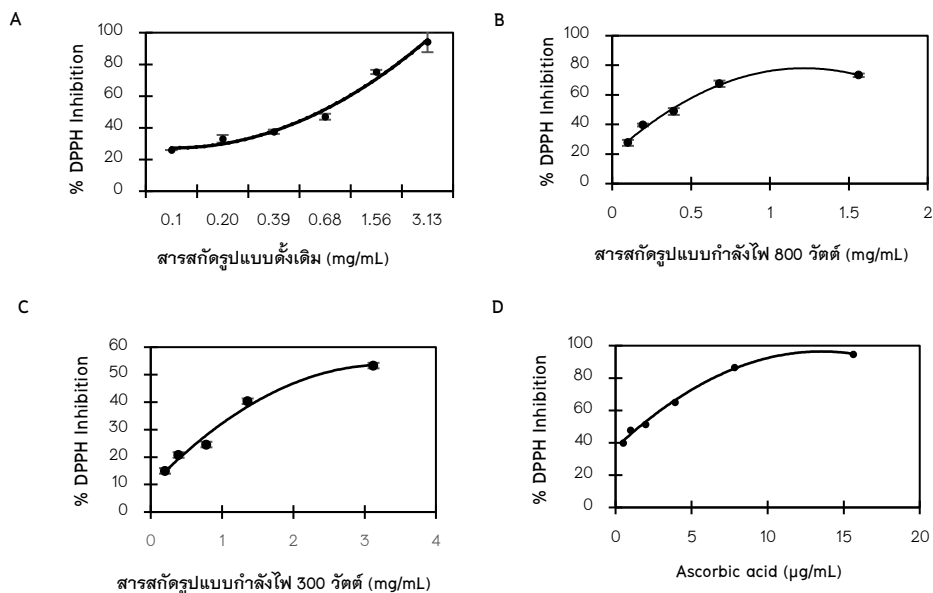
ตารางที่ 4 ผลฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณ
(Antimicrobial activity MIC/MBC or MFC)

Extract*	Bacteria				Yeast	
	<i>Staphylococcus</i>		<i>Propionibacterium</i>		<i>Malassezia furfur</i>	
	<i>epidermidis</i>		<i>acnes</i>			
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MFC
	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)
แบบดั้งเดิม	4	4	0.50	0.50	4	>32
800 วัตต์	4	8	0.50	0.50	4	32
300 วัตต์	4	8	0.50	1	4	32

หมายเหตุ * หมายถึง ความเข้มข้นของสารสกัดมีน้ำมันรวมอยู่ด้วย

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากตำรับยาทาแผลทองนพคุณด้วยวิธี DPPH assay

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณทั้ง 3 รูปแบบ ด้วยวิธี DPPH assay วัดค่าการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสง ทำการวิเคราะห์หาค่า IC_{50} ด้วยการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) พบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณทั้ง 3 รูปแบบ ได้แก่ การต้มเคี่ยว การสกัดด้วยไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ การสกัดด้วยไมโครเวฟกำลังไฟ 300 วัตต์ และสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก มีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.90 mg/mL 0.37 mg/mL 4.05 mg/mL และ 1.59 μ g/mL ตามลำดับ ดังภาพที่ 2 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ และสรุปได้ว่าตำรับยาทาแผลทองนพคุณทั้ง 3 รูปแบบ รูปแบบการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดดังตารางที่ 5



ภาพที่ 2ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH assay ของสารสกัด (A) แบบดั้งเดิม (B) แบบสกัดด้วยไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ (C) แบบสกัดด้วยไมโครเวฟกำลังไฟ 300 วัตต์ (D) สารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH assay ของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณ

สารสกัด	IC ₅₀ (mg/mL)
แบบดั้งเดิม	3.90
ไมโครเวฟ 800 วัตต์	0.37
ไมโครเวฟ 300 วัตต์	4.05
สารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก	0.00159

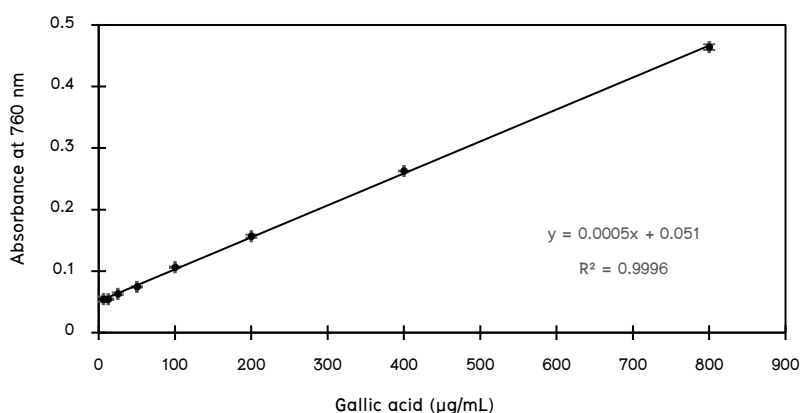
5. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณจากการสกัด 3 รูปแบบ

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณที่ศึกษา 3 รูปแบบ คำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ซึ่งสมการของกราฟจากการทดลอง คือ $y = 0.0005x + 0.051$ ($R^2 = 0.9996$) พบว่า ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณทั้ง 3 รูปแบบ ได้แก่ การต้มเคี่ยวแบบดั้งเดิม เท่ากับ 293.33 ± 30.55

mg GAE/g Extract การสกัดด้วยไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ เท่ากับ 420.00 ± 20.00 mg GAE/g Extract การสกัดด้วยไมโครเวฟกำลังไฟ 300 วัตต์ เท่ากับ 260.00 ± 34.64 mg GAE/g Extract ดังตารางที่ 6 จากผลพบว่า การสกัดรูปแบบไมโครเวฟ 800 วัตต์ มีปริมาณมากที่สุด แต่รูปแบบไมโครเวฟ 300 วัตต์ มีปริมาณน้อยกว่ารูปแบบดั้งเดิม

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณ

สารสกัด	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mg GAE/g Extract)
แบบดั้งเดิม	293.33 ± 30.55
ไมโครเวฟ 800 วัตต์	420.00 ± 20.00
ไมโครเวฟ 300 วัตต์	260.00 ± 34.64



ภาพที่ 3 กราฟแสดงปริมาณฟีนอลิกรวมจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

อภิปรายผล

น้ำมันทาแผลตำรับยาทองนพคุณเป็นตำรับยา เพื่อใช้สำหรับการสมานแผล ด้านเชื้อแบคทีเรีย ด้านอนุมูลอิสระ และด้านการอักเสบ โดยมีส่วนประกอบ คือ เหง้าขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) หัวกระเทียม (*Allium sativum* L.) หนอนตายหยาก (*Stemona collinsae* Craib.) สี่เลียดไทย (*Acacia catechu* (L.f.) Willd.) สี่เลียดเทศ (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) กำยาน (*Styrax benzoides* Craib.) เกลือ (Sodium chloride) สารส้ม น้ำมันงาดำ และน้ำมันมะพร้าว ตำรับยานี้ได้ขึ้นทะเบียนเป็นยาแผนโบราณ ทะเบียนเลขที่ G 246/61 (ณฤตล และคณะ, 2559)

การเตรียมสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม คือ วิธีการต้มเคี่ยวเป็นวิธีที่สิ้นเปลืองพลังงาน ได้ปริมาณสารสำคัญน้อย และใช้เวลานานได้ทดลองเปลี่ยนวิธีการสกัด เป็นการสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ จากรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ พบว่า การใช้เทคนิค MAE สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดสารออกฤทธิ์ของพืชสมุนไพร โดยพลังงานไมโครเวฟถูกส่งตรงไปยังสมุนไพรด้วยอันตรกิริยาระดับโมเลกุล (Molecular Interaction) ของสนามแม่เหล็กไฟฟ้าผ่านการเปลี่ยนแปลงพลังงานแม่เหล็กไฟฟ้าไปเป็นพลังงานความร้อนเมื่อใช้น้ำมันเป็นตัวสกัด น้ำมันสามารถดูดซึมพลังงานไมโครเวฟได้สูงแต่กระจายพลังงานได้น้อยจึงเกิดปรากฏการณ์ Superheating ซึ่งเกิดขึ้นเมื่อมีน้ำมันในของแข็ง (สมุนไพร) ทำให้อุณหภูมิในพืชสมุนไพรสูงขึ้นส่งผลให้เกิดการแตกของเซลล์โดยน้ำมันภายในเซลล์และปล่อยสารสำคัญออกมานอกเซลล์ (ธนภัทร, 2559) นอกจากนี้มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการสกัดสารด้วยเครื่องไมโครเวฟ เมื่อเปรียบเทียบกับ การสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมหรือในรูปแบบอื่นๆ พบว่า การสกัดสารด้วยเครื่องไมโครเวฟ จะช่วยลดช่วงระยะเวลาของการสกัดสาร สามารถสกัดเพื่อเพิ่มปริมาณสารหรือสารสำคัญออกมาได้มากกว่าวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมอื่นๆ (อารีรัตน์, 2560) จากการศึกษา พบว่า การสกัดด้วยไมโครเวฟสามารถเพิ่มปริมาณสารสำคัญได้และใช้เวลาลดลง

การประเมินความคงสภาพของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณในสภาวะเร่ง พบว่า น้ำหนักของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณมีการลดลงและตกตะกอนเล็กน้อยในแต่ละรอบ แต่สีและกลิ่นไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม โดยผลการประเมินในสภาวะเร่งเป็นการเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ในสภาวะควบคุมที่สามารถเร่งการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์ได้ เช่น อุณหภูมิสูงกว่าหรือต่ำกว่าปกติ โดยสภาวะการเก็บเหล่านี้จะทำให้เกิดการเสื่อมสภาพเร็วขึ้น ส่งผลให้ระยะเวลาที่ใช้ในการประเมินสั้นลง เพื่อนำข้อมูลที่ได้เข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์ผลเป็นอายุการเก็บในสภาวะปกติ (ขวัญฤทัย, 2560) พบว่า สารสกัดที่ได้ทั้ง 3 รูปแบบ คือ แบบดั้งเดิม ไมโครเวฟ 800 วัตต์ และไมโครเวฟ 300 วัตต์ ตกตะกอนใน Cycle ที่ 3 ซึ่งให้ผลที่เหมือนกัน

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการติดเชื้อระบบผิวหนัง ได้แก่ *S. epidermidis* และ *P. acnes* และเชื้อยีสต์ *M. furfur* โดยใช้วิธี Broth dilution method เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อ (MBC) สรุปได้ว่า สารสกัด 3 รูปแบบจากตำรับยาทาแผลทองนพคุณแสดงผลใกล้เคียงกัน รูปแบบที่ 1 (แบบดั้งเดิม) สามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* *P. acnes* และยีสต์ *M. furfur* ซึ่งมีค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ที่ยับยั้งเชื้อที่ได้ 4 0.50 และ 4 (mg/mL) ความเข้มข้นต่ำสุด (MBC) ที่ฆ่าเชื้อที่ได้ 4 0.50 และ MFC>32 (mg/mL) ตามลำดับ โดยสารสกัดไมโครเวฟ 800 วัตต์ สามารถยับยั้ง *M. furfur* ดีกว่าสารสกัดแบบดั้งเดิมและสารสกัดไมโครเวฟ 300 วัตต์ แต่ยับยั้ง *S. epidermidis* ได้แยกว่่า ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่าสมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบของตำรับยาทาแผล

ทองนพคุณหลายชนิดมีฤทธิ์ที่ดีต่อการหายของแผล อาทิ ขมิ้นชัน กระเทียม และสับปะรดไทย พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราก่อโรคที่ผิวหนังหลายชนิด (กษนิภา และณิชนันท์, 2554)

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณทดสอบด้วยวิธี DPPH assay พบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดที่แตกต่างกัน 3 รูปแบบ ดังนี้ แบบดั้งเดิม ไมโครเวฟ 800 วัตต์ และไมโครเวฟ 300 วัตต์ แสดงผลการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 3.90 mg/mL 0.37 mg/mL และ 4.05 mg/mL ตามลำดับ โดยเทียบกับสารมาตรฐานเชิงบวก (Ascorbic acid) แสดงค่า IC_{50} 1.59 μ g/mL ให้ผลที่แตกต่างกันมาก เนื่องจากสารสกัดที่ใช้ทดสอบมีตัวทำละลายน้ำมัน ซึ่งมีน้ำหนักสูง จึงเทียบกันได้ยาก จากผลการสกัดด้วยไมโครเวฟ 800 วัตต์ แสดงผลดีที่สุด และผลไปในทิศทางเดียวกับปริมาณฟีนอลิก แสดงให้เห็นว่าสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณรูปแบบที่ 2 (800 วัตต์) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ซึ่งได้ผลสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณ สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารมีสมบัติต้านออกซิเดชันที่ดี โดยความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจะขึ้นอยู่กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในสารสกัดนั้น

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาวิธีการสกัดรูปแบบใหม่เพื่อใช้แทนรูปแบบดั้งเดิม (ต้มเคี่ยว) คือ เทคนิคไมโครเวฟ 800 วัตต์ และ 300 วัตต์ พบว่า ใช้ 800 วัตต์ ให้ผลที่ดีกว่า ดังนี้ ปริมาณสารฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่า และผลของการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ดีกว่าสารสกัดจากตำรับยาทาแผลทองนพคุณโดยใช้เทคนิคไมโครเวฟ (MAE) รูปแบบที่ 2 (800 วัตต์) มีลักษณะสีเหลืองเข้มและมีกลิ่นหอมเฉพาะ เมื่อนำสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณมาประเมินความคงสภาพในสภาวะเร่งทั้งหมด 4 cycles พบว่า น้ำหนักของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณมีการลดลงและตกตะกอนเล็กน้อยในแต่ละ cycle แต่สีและกลิ่นไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ดังนั้น สารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณมีความคงสภาพ การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย สารสกัดจากตำรับยาทาแผลทองนพคุณ รูปแบบที่ 2 มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อ (MBC) ดีที่สุด และการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อยีสต์ *M. furfur* สารสกัดจากตำรับยาทาแผลทองนพคุณ รูปแบบที่ 2- 3 มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อ (MFC) ดีที่สุด การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาทาแผลทองนพคุณ รูปแบบที่ 2 เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) พบว่า ความเข้มข้นของสารตำรับยาทาแผลทองนพคุณ รูปแบบที่ 2 และสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.37 mg/mL และ 1.59 μ g/mL ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารสกัด

ตำรับยาทาแผลทองนพคุณมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ และมีปริมาณฟีนอลิกรวม เท่ากับ 420 mg GAE/g Extract และสรุปได้ว่า จากตำรับยาทาแผลทองนพคุณทั้ง 3 รูปแบบ รูปแบบการสกัดด้วย คลื่นไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาการสุขภาพและการกีฬา มหาวิทยาลัยทักษิณ ที่สนับสนุนทุนการวิจัยและอำนวยความสะดวก และเชื้อเพื่อห้องปฏิบัติการต่างๆ และขอบคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ให้ความรู้และคำแนะนำเพื่อให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- กชนิภา สุทธิบุตร, และณิชนันท์ คมมี. (2554). การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยารักษาแผลเบาหวาน. (ปัญหาพิเศษหลักสูตรปริญญาตรี). คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- กองการประกอบโรคศิลปะ. (2542). ตำราแพทย์แผนโบราณทั่วไป สาขาเภสัชกรรม. นนทบุรี: สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข.
- กิริมา สนิล, กัสมีร์ สะนิลเลาะ, จันทรเพ็ญ มีชนะ, สุชาติ อุษาวิโรจน์, สุนันทา มากมูล, วัชรภรณ์ ดวงโปธา, และอภิษฎา พลอยแก้ว. (2563). การดูแลบาดแผลขั้นสูง. *วารสารการพยาบาล*, 22(1), 104–115.
- ขวัญฤทัย กิ่งโธสง. (2560). การประเมินอายุการเก็บรักษาผงปรุงรสมาซาลา (รายงานของวิชาสหกิจศึกษา). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยสยาม, คณะวิทยาศาสตร์, ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร.
- ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.** (2552). สืบค้นเมื่อ 20 กุมภาพันธ์ 2567, จาก <https://apps.phar.ubu.ac.th/thaicrudedrug>
- ณฤตล ไสดา, พิมลวรรณ เสนะวงศ์, และทรัพย์สิน ทองนพคุณ. (2559). การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับประสิทธิภาพของตำรับ “ยาน้ำมันสมุนไพร” ในการรักษาแผลเรื้อรัง. *ธรรมศาสตร์เวชสาร*, 16(3), 438–446.
- ธนัททร ทรงศักดิ์. (2559). การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรด้วยคลื่นไมโครเวฟ. สืบค้นเมื่อ 20 กุมภาพันธ์ 2567, จาก <https://ccpe.pharmacycouncil.org/showfile.php?file=79>
- ศศิประภา ชิตรัตดา. (2561). *ความคงสภาพของยา (Drug stability)*. กรุงเทพฯ: ศูนย์การศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์, คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยสยาม.
- อุมนิยะห์ ภูนา, พิศาว เอ็งตา, ยมล พิทักษ์ภาวศุทธิ, และสุภาภรณ์ กำลังมาก. (2567). ตำรับสเปรย์พ่นคอจากสมุนไพรดองน้ำผึ้งชันโรงสำหรับยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย. *วารสาร PSRU Journal of Science and Technology*, 9(2), 95–106.
- อารีรัตน์ ชื่อดี. (2560). การใช้คลื่นไมโครเวฟสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเซียฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 11(1), 1–14.

- Abdul-Ameer, J., & Al-Hussaini, S. (2010). Comparative study of the inhibitory efficacy of some medicinal plant oils on the growth of pure isolates from a group of pathogenic microorganisms *in vitro*. **Kufa Journal for Veterinary Medical Sciences**, 1, 153–165.
- Akram, M., Uddin, S., Ahmed, A., Usmanhane, K., Hannan, A., Mohiuddin, E., & Asif, M. (2010). *Curcuma longa* and Curcumin: A review article. **Rom J Biol-Plant Biol**, 55, 65–70.
- Brand-Williams, W., & Cuvelier, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, 28, 1–225.
- Data Stellar Co., Ltd. Medical Dictionary Database. (2010). **Definitions of Wound and Injury [online]** 2020. Retrieved April, 21, 2020, from: www.dictionar y.net/wounds%20and%20injuries
- Fertunandes, L., Ribeiro, H., Oliveira, A., Silva, A., Freitas, A., Henriques, M., & Rodrigues, M. (2021). Journal of Traditional and Complementary Medicine. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, 11, 130–136.
- Hosseini, S.S., Khodaiyan, F., & Yarmand, M.S. (2016). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sour orange peel and its physicochemical properties. **Carbohydrate Polymers**, 140, 59–65.
- Heal, C.F., Banks, J.L., Lepper P.D., Kontopantelis, E., & Driel, M.L. (2016). Topical antibiotics for preventing surgical site infection in wounds healing by primary intention. **Cochrane Database Syst Rev**, 7(11), 1–55.
- Kiran, K., & Asad, M. (2008). Wound healing activity of *Sesamum indicum* L seed and oil in rats. **Indian Journal of Experimental Biology**, 46, 777–782.
- Nevin, K.G., & Rajamohan, T. (2010). Effect of topical application of virgin coconut oil on skin components and antioxidant status during dermal wound healing in young rats. **Skin Pharmacol Physiol**, 23, 290–297.
- Parle M., Kadian R., & Sharma K. (2014). Phytopharmacology of *Acacia catechu* willd: A review. **World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences**, 3, 1380–1389.
- Sachindra, N.M., Airanthi, M.K.W.A., Hosokawa, M., & Miyashita, K. (2010). Radical scavenging and singlet oxygen quenching activity of extracts from Indian seaweeds. **Journal of Food Science and Technology**, 47(1), 94–99.
- Sae-lim, P., Yeunyongsawat, S., & Panichayupakaranant, P., (2019). Chamuangone-Enriched *Garcinia cowa* Leaf Extract with Rice Bran Oil, Extraction and Cytotoxic Activity against Cancer Cells, **Pharmacognosy Magazine**. 15(61), 183–188.
- Zhong, J., Wang, Y., Yang, R., Liu, X., Yang, Q., & Qin, X. (2018). The application of ultrasound and microwave to increase oil extraction from *Moringa oleifera* seeds. **Indian Crops and Products**, 120(15), 1–10.