ผลของสารประกอบฟีนอลในสารสกัดสมุนไพร 8 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์

ปรมาภรณ์ จิ๋วพัฒนกุล แก้วมณี* นภัสสร นิ่มพิบูลย์ ณัฏฐ์ ชุณวงษ์*****
ธนพร ตนัยอัชฌาวุฒ** ธัญวรรณ พิศุทธ์อาภรณ์***** เบญญาดา ธีระอรรถเวช********

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: ศึกษาผลของสารประกอบฟีนอลในสารสกัดสมุนไพร ขิง ข่า กะเพรา กระเทียม กระชายดำ กานพลู ใบบัวบกและขมิ้น ต่อการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ: สกัดสมุนไพรทั้ง 8 ชนิดและนำสารสกัดที่ได้มาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมด้วยวิธีสารละลายโฟลินซิโอแคลธูที่ดัดแปลงและคำนวณจากกราฟมาตรฐานที่วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร และทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ของสารสกัดสมุนไพรที่มีสารประกอบฟีนอลด้วยวิธีดิสก์ดิฟฟิวชั่น และวัดความกว้างของบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อที่เกิดขึ้นที่เวลา 48 ชั่วโมงและ 72 ชั่วโมง

ผลการทดลอง: ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรกานพลูมีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุด รองลงมาคือ ขมิ้น ขิง ข่า ใบบัวบก กระชายดำ กระเทียมและกะเพราตามลำดับ เมื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อของสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดสมุนไพรกานพลู มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์มากที่สุด รองลงมาคือ ขิง ข่า ใบบัวบก กระชายดำ กระเทียม กะเพรา ตามลำดับ และขมิ้นไม่พบฤทธิ์ในยับยั้งการเจริญของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ทั้งที่ความเข้มข้น 150 และ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าการทดสอบฤทธิ์ของสมุนไพรที่เวลา 48 ชั่วโมงจะมีบริเวณการยับยั้งเชื้อที่มากกว่าที่เวลา 72 ชั่วโมง

สรุป: สารสกัดสมุนไพรที่มีสารประกอบฟีนอลเป็นองค์ประกอบมากมีแนวโน้มที่จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้สูงกว่า ยกเว้น ขมิ้น ดังนั้นชนิดของสารประกอบฟีนอลที่อยู่ในสมุนไพรมีผลต่อฤทธิ์ในการต้านเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ และระยะเวลาในการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อที่ดีที่สุดคือ 48 ชั่วโมง

คำสำคัญ: กระชาย กระเทียม กะเพราดำ กานพลู ขมิ้น ข่า ขิง แคนดิดา อัลบิแคนส์ ใบบัวบก สารประกอบฟีนอล

**ภาควิชาโอษฐวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เลขที่ 114 สุขุมวิท 23 เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110*
***โรงพยาบาลขลุง 9 ถนนสุขุมวิท ตำบลขลุง อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี 22110*
****โรงพยาบาลเขมราฐ 135 ตำบลเขมราฐ อำเภอเขมราฐ จังหวัดอุบลราชธานี 34170*
***** โรงพยาบาลพยุหะคีรี 126 ถนนสายเอเชีย ต.พยุหะ อ.พยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ 60130*
******โรงพยาบาลไทยเจริญ 168 ตำบลไทยเจริญ อำเภอไทยเจริญ จังหวัดยโสธร 35120*
*******ภาควิชาทันตกรรมทั่วไป คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เลขที่ 114 สุขุมวิท 23 เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110*

The Antimicrobial Activity of 8 Herbal Extracts Containing Phenolic Compounds against *Candida albicans*

Paramaporn Chiewpattanakul Kaewmanee* Napatsorn Nimphiboon**
Nut Chunnawong* Thanaporn Tanaiatchawoot**** Thanyawan Phisutharporn******
Benyada Theerautthavate******

Abstract

Objectives: To study the effects of phenolic compounds in herbal extracts of Ginger, Galangal, Basil, Garlic, Holy basil, Cloves, Centella leaves and Turmeric against *Candida albicans.*

Materials and methods: Eight kinds of herbal extracts were obtained to determine the total phenolic compounds content by the modified Folin-Ciocalteu's reagent method and calculated from standard curves by measuring absorbance at a wavelength of 760 nm. The herabal extracts containing phenolic compounds were testing for the antimicrobial activity against *C.albicans* by disk diffusion method. The inhibitory zone was measured at 48 and 72 hours.

Results: At a concentration of 0.1 mg/ml, Clove extract had the highest content of phenolic compounds followed by Turmeric, Ginger, Galangal, Centella, Black Galingale, Garlic and Holy basil, respectively. At a concentration of 150 mg/ml, Clove extract had the most antimicrobial activity against *C. albicans* followed by Ginger, Galangal, Centella, Black galingale, Garlic and Holy Basil, respectively. However, both concentrations of Turmeric extract (150 and 300 mg/ml) were not found to inhibit the growth of *C. albicans.* There was a greater inhibition zone at 48 than 72 hours.

Conclusions: Herbal extracts with high phenol constituents tend to have higher potent of inhibitory effects of *C. albicans,* exception of Turmeric. The phenolic compounds in the herb were effective against *C. albicans,* and the optimum inhibitory activity test was 48 hours.

Keyword: Black galingale, Garlic, Holy Basil, Cloves, Turmeric, Ginger, Galangal, *Candida albicans,* Centella, Phenolic compounds

**Department of Stomatology, Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University 114 Sukhumvit 23, Bangkok 10110, Thailand.*
***Khlung Hospital 9 Sukhumvit Rd, Khlung, Chanthaburi, 22110 Thailand.*
**** Khemmarat Hospital 135 moo 1 Tumbol Khemmarat, Amphoe Khemmarat, Ubon Ratchathani 34170. Thailand.*
***** Phayuhakhiri Hospital 126 moo 9 Phayuha Khiri, Nakhon Sawan, 60130, Thailand.*
******Thaicharoen Hospital 168 moo 1 Tumbol Thaicharoen, Amphoe Thai Charoen, Yasothon 35120, Thailand.*
*******Department of General Dentistry, Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University, 114, Sukhumwit 23, Wattana, Bangkok, 10110, Thailand.*

บทนำ (Introduction)

เชื้อราเป็นเชื้อประจำถิ่นที่พบได้ทั่วไปในช่องปาก (1) แต่สามารถก่อให้เกิดโรคได้เมื่อโฮสต์มีระบบภูมิคุ้มกันที่อ่อนแอลง จากการศึกษาโรคติดเชื้อในช่องปากตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันพบว่ามีการศึกษาโรคติดเชื้อจากเชื้อราค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับแบคทีเรียและไวรัส แต่ปัจจุบันทางทันตกรรมได้เล็งเห็นถึงภยันตรายของเชื้อรามากยิ่งขึ้นโดยเฉพาะเชื้อราในกลุ่มแคนดิดา *(Candida)* ซึ่งมีความสำคัญต่อการก่อโรคราแคนดิดา (candidiasis) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ *(Candida albicans)* ซึ่งเป็นเชื้อราตัวหลักในการก่อโรคติดเชื้อราแคนดิดาในช่องปาก (oral candidiasis) อาการของโรคที่เกิดขึ้นมีความหลากหลายเนื่องด้วยปัจจัยต่าง ๆ ที่แตกต่างกัน เช่น การมีผื่นสีแดงทั่วเพดานปากหรือการมีฝ้าขาวที่ขูดออกได้ (2) เป็นต้น คนไข้ที่ติดเชื้อราส่วนใหญ่จะเป็นผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องยกตัวอย่างเช่น ผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานจะมีความชุกของการเกิดโรคติดเชื้อราแคนดิดาในช่องปากร้อยละ 13.7-64 และร้อยละ 75-86.5 เกิดจาก เชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ (3) ผู้ป่วยทีติดเชื้อ HIV เกิดโรคติดเชื้อราแคนดิดาในช่องปากร้อยละ 24 และพบการเกิดโรคถึงร้อยละ 92 ในผู้ป่วยที่พัฒนาเป็นเอดส์ (4) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาว่าผู้ป่วยที่ใส่ฟันปลอมมีโอกาสที่จะพบเชื้อชนิดนี้ในช่องปากได้มาก เนื่องจากแคนดิดา อัลบิแคนส์สามารถเกาะติดพอลิเมทิลเมทาคริเลต (polymethylmethacrylate, PMMA) (5) ซึ่งเป็นองค์ประกอบในฟันปลอมได้ เช่นเดียวกับการเกาะติดเนื้อเยื่อในช่องปาก การรักษาในปัจจุบันมีทั้งยาทาเฉพาะที่ได้แก่ ไนสแตติน (nystatin) ไมโคนาโซล (miconazole) ยาทางระบบ ได้แก่ อะโซล (azole) โพลีอีน (polyenes) และการรักษาแบบอื่น เช่น น้ำยาบ้วนปากคลอร์เฮกซิดีน (chlorhexidine mouth-wash) เป็นต้น แต่อย่างไรก็ดีตัวยาชนิดเดียวกันอาจให้ผลการรักษาไม่เหมือนกันในผู้ป่วยแต่ละคน ดังนั้นจึงมีการพัฒนาประสิทธิภาพของยาต้านเชื้อราต่อไป

ฟีนอล เป็นสารที่มีฤทธิ์เป็นกรดและมีฤทธิ์กัดกร่อนเยื่อบุ โดยทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของโปรตีน (protein denature) ทำลายผนังเซลล์ และก่อให้เกิดการตายของเนื้อเยื่อแบบแข็ง (coagulative tissue necrosis) มีการศึกษางานวิจัยต่าง ๆ พบว่าฟีนอลสามารถใช้เป็นสารฆ่าเชื้อ (disinfectant) ที่มีประสิทธิภาพอีกทั้งยังพบว่าสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) สามารถสกัดได้จากส่วนต่าง ๆ ของพืชและยังมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ (6,7) คณะผู้วิจัยได้สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับพืชสมุนไพร 8 ชนิด ได้แก่ ขิง (Ginger) ข่า (Galangal) กะเพรา (Basil) กระเทียม (Garlic) กระชายดำ (Holy basils) กานพลู (Cloves) ใบบัวบก (Centella leaves) และขมิ้น (Tumeric) ซึ่งเป็นสมุนไพรที่หาได้ง่ายในประเทศไทย โดยพบว่าสมุนไพรทั้ง 8 ชนิดมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพทั้ง แบคทีเรีย ไวรัส ยีสต์และ ราอีกด้วย (8,9,10) นอกจากคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลชีพแล้วสมุนไพรบางตัวยังมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ (8,10) สารสกัดที่มีสารประกอบฟีนอลจากสมุนไพรจึงถือเป็นแนวทางหนึ่งในการศึกษาสารที่ใช้ในการต้านเชื้อราต่อไป อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาที่นำสารประกอบฟีนอลจากพืชชนิดต่าง ๆ มาเปรียบเทียบคุณภาพในการยับยั้งเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์ ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาสารประกอบฟีนอลจากสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด ได้แก่ ขิง ข่า กะเพรา กระเทียม กระชายดำ กานพลู ใบบัวบก และขมิ้น ซึ่งเป็นสมุนไพรที่หาได้ง่ายในประเทศไทยมีสรรพคุณที่ดีต่อร่างกายและศึกษาผลของสารประกอบฟีนอลในสมุนไพรดังกล่าวต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์ ซึ่งคณะวิจัยมีความมุ่งหวังว่าผลการศึกษานี้จะสามารถต่อยอดในการเป็นทางเลือกของการใช้สารสมุนไพรในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางทันตกรรมได้ เช่น ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก รวมถึงการพัฒนายาต้านเชื้อราที่มีส่วนผสมของสารสกัดสมุนไพร เป็นต้น

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ (Material and Method)

1. การสกัดสมุนไพร 8 ชนิด ที่มีสารประกอบฟีนอลเป็นองค์ประกอบ

นำพืชสมุนไพร 8 ชนิด ได้แก่ ขิง ข่า กะเพรา กระเทียมกระชายดำกานพลูใบบัวบกและขมิ้นที่ได้มาจากตลาดสดในกรุงเทพมหานครมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้ส่วนน้ำในสมุนไพรระเหยออก จาก

นั้นนำมาบดเพื่อให้เป็นผงละเอียด นำผงที่บดละเอียดแล้ว 20 กรัม ใส่เอทานอล ร้อยละ 95 ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ในขวดปริมาตรทรงกรวยที่มีฝาปิด และเขย่าโดยใช้เครื่องเขย่าสารละลายแบบวงกลมในแนวนอน ที่อัตราเร็ว 150 รอบต่อนาที ภายใต้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วกรองสารด้วยกระดาษกรองวอทแมน (Whatman filter paper, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) เบอร์ 4 (11) จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้ระเหยที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 สัปดาห์ เพื่อทำการระเหยตัวทำละลายออก

2. การทดสอบเพื่อหาปริมาณสารสกัดฟีนอล

2.1 การทดสอบเพื่อหาค่ามาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม ทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมด้วยวิธีสารละลายโฟลินซิโอแคลธู (Folin-Ciocalteu's reagent) ดัดแปลงจากวิธีของ Sunita และ Dhananjay, 2010 (12) โดยใช้สารฟีนอลเป็นสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, 0.78125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และนำสารฟีนอลความเข้มข้นทั้งหมดดังกล่าวปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรผสมกับสารละลายโฟลินซิโอแคลธูในน้ำกลั่น (อัตราส่วน 1 ต่อ 10) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตในน้ำกลั่น (7% w/v) 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นผสมกับสารละลายโฟลินซิโอแคลธูและสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเป็นสารละลายเปล่า (blank solution) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้งและนำค่าที่ได้มาเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม

2.2 การทดสอบเพื่อหาปริมาณสารสกัดฟีนอลในสารสกัดจากจากสมุนไพร 8 ชนิด นำสารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 8 ชนิดที่ได้จากข้อ 1 มาปรับให้มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และนำสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดที่ปรับความเข้มข้นแล้ว 0.5 มิลลิลิตรผสมกับสารละลายโฟลินซิโอแคลธูในน้ำกลั่น (อัตราส่วน 1 ต่อ 10) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตในน้ำกลั่น (7% w/v) 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นผสมกับสารละลายโฟลินซิโอแคลธูและสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเป็นสารละลายเปล่า (blank solution) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลโดยรวมของสารสกัดจากสมุนไพรที่สกัดได้โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานในข้อ 2.1

3. ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแคนดิดาอัลบิแคนส์ของสารสกัดสมุนไพรที่มีสารประกอบฟีนอลด้วยวิธีดิสก์ดิฟฟิวชั่น

3.1 การเตรียมเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์

นำเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์และรา (sabouraud dextrose agar) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาคัดแยกโคโลนีบริสุทธิ์ของเชื้อใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์และรา (sabouraud dextrose broth) ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับใช้ในการทดสอบด้วยวิธีการดิสก์ดิฟฟิวชั่นต่อไป

3.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อด้วยวิธีการดิสก์ดิฟฟิวชั่น

นำสารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 8 ชนิดที่ได้จากข้อ 1 มาปรับความเข้มข้น 150 และ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และนำสารดังกล่าวปริมาตร 10 ไมโครลิตรหยดลงบนกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว และตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นำเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่ได้เตรียมไว้แล้วมาเตรียมให้ได้ความขุ่นให้มีค่าเท่ากับ 0.5 ของมาตราฐานแม็กฟาร์แลน (Mcfarland strandard) เจือจางลงให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 1 x 10^6 โคโลนีฟอร์มิ่งยูนิตต่อมิลลิลิตร (colony forming unit/millimeter) และเกลี่ยเชื้อให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งมุลเลอร์ฮินตันอะการ์ (Mueller-Hinton agar) ที่ใช้สำหรับทดสอบด้วยวิธีดิสก์ดิฟฟิวชั่น หลังจากนั้นนำแผ่นกระดาษกรองที่ได้เตรียมไว้แล้วมาวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

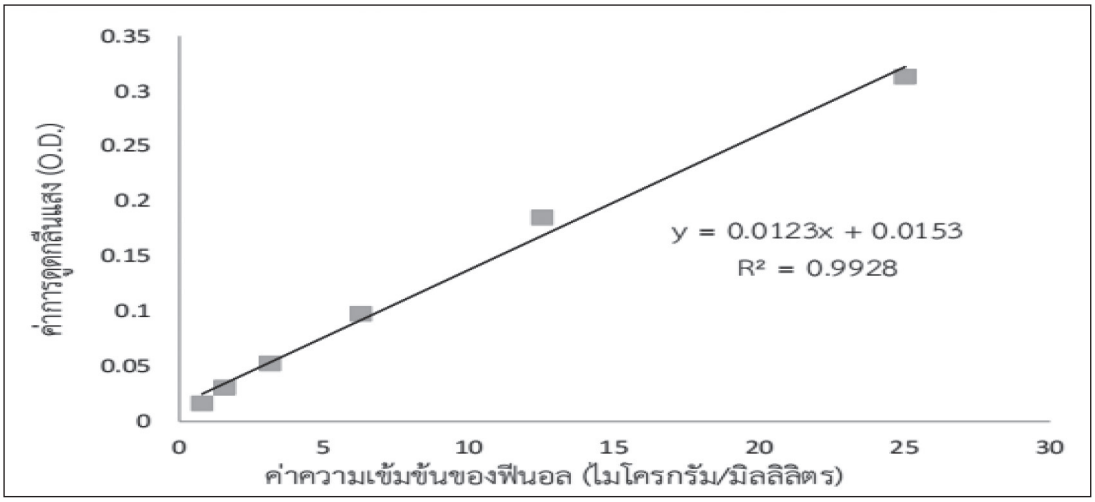
และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่เกิดการยับยั้งเชื้อ (zone of inhibition) หน่วยวัดเป็นมิลลิเมตร ที่เกิดขึ้นที่เวลา 48 ชั่วโมงและ 72 ชั่วโมง โดยเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวก คือ คลอเฮกซิดีนกลูโคเนตร้อยละ 0.12 และตัวควบคุมเชิงลบ คือ เอทานอลร้อยละ 95

ผลการทดลอง (Results)

1. ผลการทดสอบเพื่อหาปริมาณสารสกัดฟีนอล

1.1 ผลการทดสอบเพื่อหาค่ามาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม

ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมโดยใช้สารฟีนอลเป็นสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, 0.78125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อนำผลการทดลองที่ได้มาเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 กราฟของสารละลายมาตราฐานฟีนอลที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

Fig.1 Graph of a phenolic standard solution at a wavelength of 760 nm.

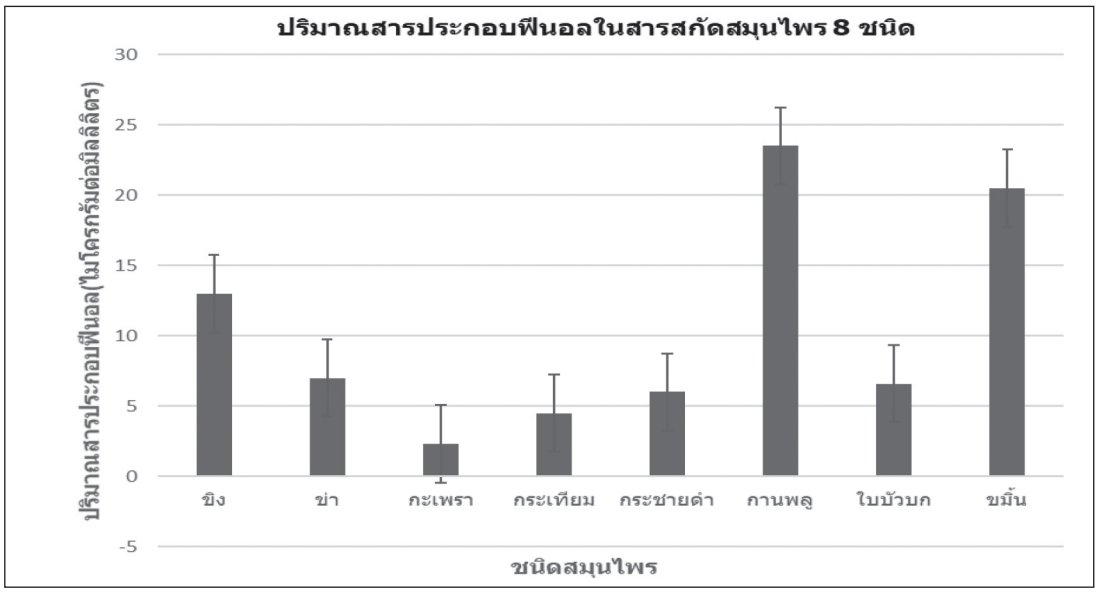
1.2 ผลการทดสอบเพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัดจากจากสมุนไพร 8 ชนิด

ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรที่ได้จากการทดลองทั้ง 3 ครั้ง คำนวณหาค่าเฉลี่ย แล้วนำค่าเฉลี่ยมคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลจากสมการที่ได้จากกราฟของสารละลายมาตรฐานฟีนอล (รูปที่ 1) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 1 และเมื่อนำผลการทดลองมาเขียนกราฟเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัดสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 2 โดยพบว่า กานพลูมีปริมาณสารประกอบมากที่สุด รองลงมาคือ ขมิ้น ขิง ข่า ใบบัวบก กระชายดำ กระเทียมและกะเพรา ตามลำดับ

ตารางที่ 1 แสดงค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

Table 1. Shows the absorbance of all 8 herbal extracts at a concentration of 0.1 mg/ml at a wavelength of 760 nm.

ชนิดสมุนไพร	ค่าการดูดกลืนแสง (O.D.)				ปริมาณสารประกอบฟีนอล (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
ขิง	0.2509	0.1200	0.1580	0.1763 ± 0.0670	13.080 ± 5.47
ข่า	0.0967	0.1042	0.1039	0.1016 ± 0.0042	7.016 ± 0.34
กะเพรา	0.0247	0.0773	0.0306	0.0442 ± 0.0280	2.350 ± 2.34
กระเทียม	0.0719	0.1226	0.0177	0.0707 ± 0.0520	4.507 ± 4.26
กระชายดำ	0.0719	0.1085	0.0940	0.0915 ± 0.0180	6.192 ± 1.49
กานพลู	0.3102	0.2505	0.3575	0.3061 ± 0.0530	23.640 ± 4.35
ใบบัวบก	0.1133	0.1165	0.0630	0.0976 ± 0.0300	6.691 ± 2.43
ขมิ้น	0.2395	0.3632	0.2050	0.2692 ± 0.0830	20.645 ± 6.76



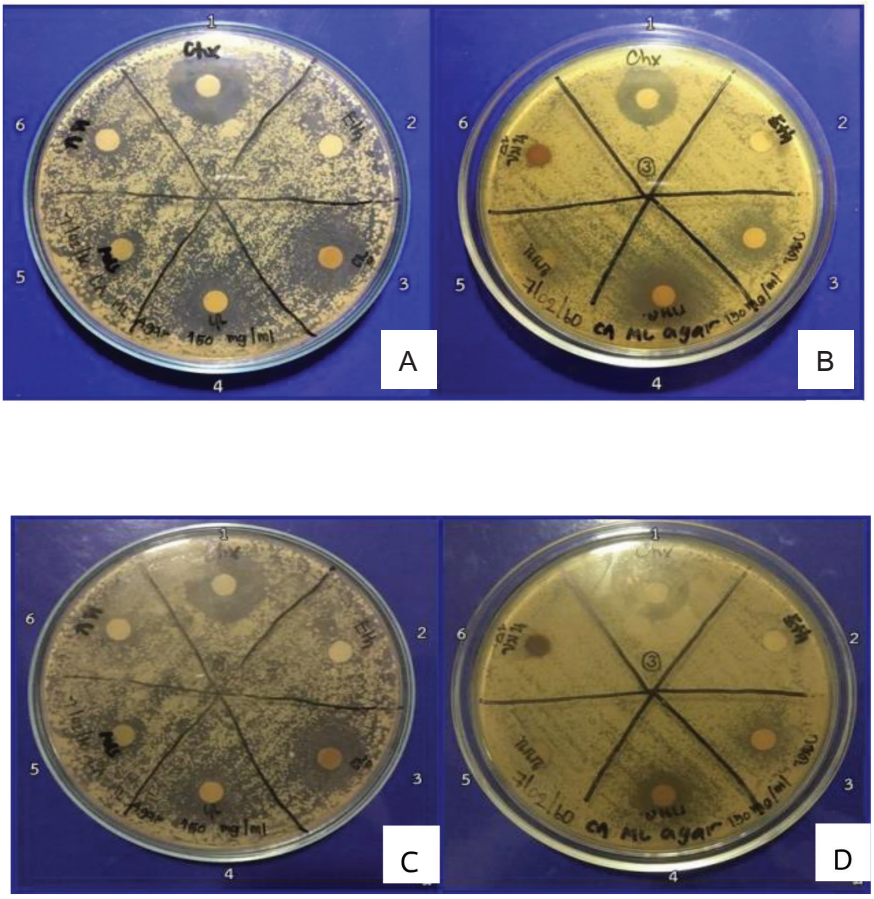
รูปที่ 2 แผนภูมิแสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัดสมุนไพร 8 ชนิด

Fig. 2 Graph of phenolic content in eight herbal extracts.

2. ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ของสารสกัดสมุนไพร 8 ชนิด

2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ของสมุนไพร 8 ชนิด ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ของสารสกัดสมุนไพร 8 ชนิด ที่มีสารประกอบฟีนอลเป็นองค์ประกอบด้วยวิธีดิสก์ดิฟฟิวชั่น ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง ดังแสดงในรูปที่ 3 และตารางที่ 2



รูปที่ 3 แสดงผลการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ของคลอเฮกซิดีนร้อยละ 0.12 (1A, 1B), เอทานอลร้อยละ 95 (2A, 2B), ขิง (3A), ข่า (4A), กระเพรา (5A), กระเทียม (6A), กระชายดำ (3B), กานพลู (4B), ใบบัวบก (5B), ขมิ้น (6B) ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่เวลา 48 ชั่วโมง และผลการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ของคลอเฮกซิดีนร้อยละ 0.12 (1C, 1D), เอทานอลร้อยละ 95 (1C, 2D), ขิง (3C), ข่า (4C), กระเพรา (5C), กระเทียม (6C), กระชายดำ (3D), กานพลู (4D), ใบบัวบก (5D), ขมิ้น (6D) ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่เวลา 72 ชั่วโมง

Fig.3 Shows the inhibitory effect of *Candida albicans* of 0.12% chlorhexidine (1A, 1B), 95% ethanol (2A, 2B), ginger (3A), Galangal (4A), Holy basil (5A), garlic (6A), Black galingale (3B), Cloves (4B), Centella (5B), Turmeric (6B), a concentration of 150 mg/ml, at 48 hours and Inhibition effect of *Candida albicans* of 0.12% chlorhexidine (1C, 1D), 95% ethanol (1C, 2D), Ginger (3C), Galangal (4C), Holy basil (5C), Garlic (6C), Black galingale (3D), Cloves (4D), Centella (5D), Turmeric (6D), a concentration of 150 mg/ml, at 72 hours.

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยนเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากสมุนไพร 8 ชนิด ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง

Table 2. Shows the mean diameter of the inhibition zone of the eight herbal extracts, a concentration of 150 mg/ml, at 48 and 72 hours.

สารทดสอบ	บริเวณที่เกิดการยับยั้งเชื้อ (มิลลิเมตร)	
	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง
Chx	20.5	20.0
Eth	7.0	7.0
ขิง	20.8	20.0
ข่า	20.2	18.0
กะเพรา	10.7	10.0
กระเทียม	12.0	11.3
กระชายดำ	13.3	12.0
กานพลู	26.7	20.7
ใบบัวบก	17.3	7.5
ขมิ้น	-	-

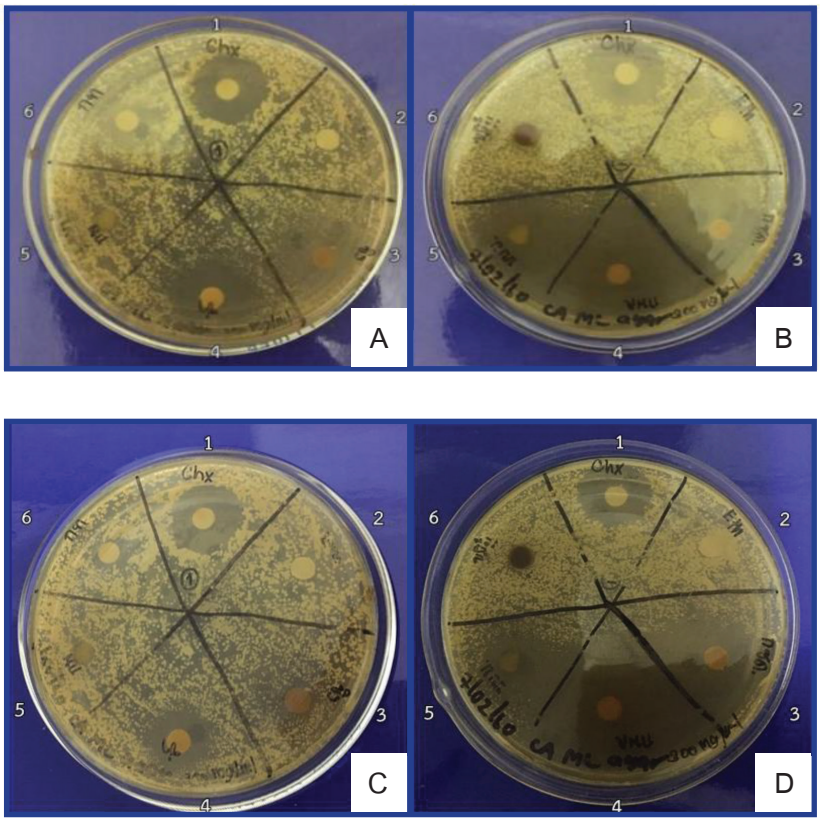
Chx = คลอเฮกซิดีนร้อยละ 0.12

Eth = เอทานอลร้อยละ 95

(-) = ไม่ยับยั้งเชื้อ

2.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ของสมุนไพร 8 ชนิด ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ของสารสกัดสมุนไพร 8 ชนิด ที่มีสารประกอบฟีนอลเป็นองค์ประกอบ ด้วยวิธีดิสก์ดิฟฟิวชั่น ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4 และ ตารางที่ 3



รูปที่ 4 แสดงผลการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ของคลอเฮกซิดีนร้อยละ 0.12 (1A, 1B), เอทานอลร้อยละ 95 (2A, 2B), ขิง (3A), ข่า (4A), กระเพรา (5A), กระเทียม (6A), กระชายดำ (3B), กานพลู (4B), ใบบัวบก (5B), ขมิ้น (6B) ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่เวลา 48 ชั่วโมง และผลการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ของคลอเฮกซิดีนร้อยละ 0.12 (1C, 1D), เอทานอลร้อยละ 9 (1C, 2D), ขิง (3C), ข่า (4C), กระเพรา (5C), กระเทียม (6C), กระชายดำ (3D), กานพลู (4D), ใบบัวบก (5D), ขมิ้น (6D) ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่เวลา 72 ชั่วโมง

Fig. 4 Shows the inhibitory effect of *Candida albicans* of 0.12% chlorhexidine (1A, 1B), 95% ethanol (2A, 2B), ginger (3A), Galangal (4A), Holy basil (5A), garlic (6A), Black galingale (3B), Cloves (4B), Centella (5B), Turmeric (6B), a concentration of 300 mg/ml, at 48 hours and Inhibition effect of *Candida albicans* of 0.12% chlorhexidine (1C, 1D), 95% ethanol (1C, 2D), Ginger (3C), Galangal (4C), Holy basil (5C), Garlic (6C), Black galingale (3D), Cloves (4D), Centella (5D), Turmeric (6D), a concentration of 300 mg/ml, at 72 hours.

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากสมุนไพร 8 ชนิด ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง

Table 3. Shows the mean diameter of the inhibition zone of the eight herbal extracts, a concentration of 300 mg/ml, at 48 and 72 hours.

สารทดสอบ	บริเวณที่เกิดการยับยั้งเชื้อ (มิลลิเมตร)	
	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง
Chx	20.2 ± 2.1	19.8 ± 0.5
Eth	7.0 ± 0.0	7.0 ± 0.0
ขิง	14.0 ± 1.1	11.2 ± 0.9
ข่า	21.0 ± 1.9	8.0 ± 2.2
กะเพรา	8.0 ± 1.4	7.0 ± 0.0
กระเทียม	10.7 ± 1.5	10.1 ± 1.9
กระชายดำ	TNTC	TNTC
กานพลู	TNTC	TNTC
ใบบัวบก	TNTC	TNTC
ขมิ้น	-	-

Chx = คลอเฮกซิดีนร้อยละ 0.12

Eth = เอทานอลร้อยละ 95

(-) = ไม่ยับยั้งเชื้อ

TNTC (too numerous to count) = มีบริเวณที่เกิดการยับยั้งเชื้อมากจนนับไม่ได้

จากผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้น 150 และ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดสมุนไพรกานพลูมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์สูงที่สุด รองลงมาคือ ขิง ข่า ใบบัวบก กระชายดำ กระเทียม กะเพราและขมิ้นตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดสมุนไพรกานพลู ขิง ข่า ใบบัวบก กระชายดำ กระเทียม และกะเพรามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ แต่สารสกัดขมิ้นไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่ความเข้มข้นทั้งสองที่ทดสอบ และระยะเวลาที่สารสกัดสมุนไพรสัมผัสกับเชื้อที่ได้ทดสอบคือเวลา 48 ชั่วโมงเป็น 72 ชั่วโมง นั้น พบว่า เวลาที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อคือเวลา 48 ชั่วโมง

จากการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัดสมุนไพร 8 ชนิดพบว่าสารสกัดกานพลูมีปริมาณสารประกอบมากที่สุด รอง ลงมาคือ ขมิ้น ขิง ข่า ใบบัวบก กระชายดำกระเทียมและกะเพราตามลำดับ และเมื่อนำผลการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัดสมุนไพรมาเปรียบเทียบกับผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อด้วยวิธีดิสก์ดิฟฟิวชั่น พบว่าสมุนไพรเกือบทุกชนิดมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อของสมุนไพรสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลในสมุนไพรแต่ละชนิด ยกเว้น ขมิ้นที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลเป็นอันดับสองแต่ไม่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์

บทวิจารณ์ (Discussion)

จากการทดสอบเพื่อหาค่ามาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมด้วยวิธีสารละลายโฟลินซิโอแคลธูโดยดัดแปลงจากวิธีของ Sunita และ Dhananjay ปี 2010 ซึ่งใช้กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารละลายมาตรฐาน คำนวณกราฟมาตรฐานแกลลิกได้เท่ากับ y = 0.0061x + 0.0396, R_2 = 0.9991 (12) ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ที่ดัดแปลงการใช้สารละลายมาตรฐานเป็นสารฟีนอล กราฟมาตรฐานฟีนอลที่วัดได้เป็นกราฟเส้นตรงเช่นเดียวกันและมีค่าเท่ากับ y = 0.0123x + 0.0153, R_2 = 0.9928 และมีแนวโน้มของกราฟไปในทิศทางเดียวกัน เมื่อนำสารสกัดสมุนไพร 8 ชนิดที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมาทดสอบด้วยวิธีสารละลายโฟลินซิโอแคลธูแล้วนำค่าการดูดกลืนแสงมาเทียบกับกราฟมาตรฐานพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลพบมากสุดในกานพลู รองลงมาได้แก่ ขมิ้น ขิง ข่า ใบบัวบก กระชายดำกระเทียมและ กะเพรา ตามลำดับ อย่างไรก็ตามจากการทดลองด้วยวิธีดิสก์ดิฟฟิวชั่น ที่ความเข้มข้น 150 และ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กานพลูมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อสูงที่สุด รองลงมา ได้แก่ ขิง ข่า ใบบัวบก กระชายดำ กะเพราและกระเทียม ตามลำดับ ส่วนขมิ้นไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ จากการทดลองเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลในสมุนไพรจากการศึกษาครั้งนี้ในการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Khue และคณะ ในปี 2013 ซึ่งทำการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณฟีนอลที่พบในพืชที่ปลูกในเวียดนามพบว่า ปริมาณฟีนอลในขมิ้นมีมากกว่าในขิง และข่า ตามลำดับ โดยขมิ้นมีสารประกอบฟีนอล 670.0 ± 10.8 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้งของขมิ้น 1 กรัม ขิงมีสารประกอบฟีนอล 503.6 ± 50.0 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้งขิง 1 กรัม และข่ามีสารประกอบฟีนอล 442.6 ± 69.1 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้งของข่า 1 กรัม (13) นอกจากนี้ Rothwell และคณะ ปี 2013 ได้มีการรวบรวมข้อมูลเชิงสถิติจากหลาย ๆ การทดลองเกี่ยวกับการวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลในสมุนไพรต่าง ๆ โดยวิธีสารละลายโฟลินซิโอแคลธู (14) จากข้อมูลนำมาเรียงลำดับสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลจากมากไปน้อย ได้แก่ กานพลู (มีสารประกอบฟีนอลเฉลี่ย 16,047.50 มิลลิกรัมต่อสาร 100 กรัม) ขมิ้น (มีสารประกอบฟีนอลเฉลี่ย 2,117.00 มิลลิกรัมต่อสาร 100 กรัม) ขิง (มีสารประกอบฟีนอลเฉลี่ย 473.50 มิลลิกรัมต่อสาร 100 กรัม) และกระเทียม (มีสารประกอบฟีนอลเฉลี่ย 87.04 มิลลิกรัมต่อสาร 100 กรัม) ตามลำดับ (15) ซึ่งลำดับปริมาณสารประกอบฟีนอลในสมุนไพรสอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้เช่นกัน

จากการรายงานการศึกษาที่ผ่านมาเกี่ยวกับฤทธิ์ของสารประกอบฟีนอลที่มีในสารสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด พบว่ากานพลูมีสารยูจินอล (eugenol) (16) และมีสารแคมพ์เฟอรอล (kaempferol) (17) ซึ่งพบว่าสารยูจินอลมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของสายรา (18) โดยมีผลทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์เป็นผลทำให้เซลล์ตาย(19) และจากการทดลองของ Tatsimo และคณะ ปี 2012 พบว่ากานพลูสามารถยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้ (20) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่ากานพลูสามารถยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้เช่นกัน จากผลการทดลองของ Fickera และคณะใน ปี 2003 พบว่าขิงมีสารสำคัญที่ออกฤทธิ์คืออนุพันธ์ของจินเจอรอล (gingerol) และโวกาออล (shogaol) ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลซึ่งคาดว่าทำให้ขิงมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้ดีกว่าขมิ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าขิงมีฤทธิ์มากกว่าขมิ้นเช่นกัน และขมิ้นไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่ความเข้มข้น 150 และ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังมีการรายงานที่พบว่าในขิงมี 6-โชกาออล (6-shogaol) [6]-จินเนอรอล ([6]-gingerol) และไดเอริลเฮปตานอยด์ (diarylheptanoids) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านการสร้างเส้นใยและการเจริญของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้ (21) จากรายงานการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าข่ามีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์ คือ 1'-acetoxychavicol acetate และ 1'-acetoxyeugenol acetate (22) นอกจากนี้ยังพบว่าข่ามีสารประกอบทาง

เคมีพวกยูจินอล และไคมีน (cymene) (23) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งจุลชีพได้เช่นกัน กระชายดำมีการรายงานว่ามีสาร 5,7,4-trimethoxyflavone และสาร 5,7,3,4-tetramethoxyflavone ชาลโคล (chalcone) และแอนโทรไซยานีน (anthocyanin) เป็นองค์ประกอบและออกฤทธิ์ต้านเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้ (24,8) และจากงานวิจัยของ Mekmeepralard และคณะ ปี 2010 (25) พบว่าสารฟลาโวนอยด์ในกระชายดำสามารถยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าข่าและกระชายดำก็สามารถยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้เช่นเดียวกัน ในส่วนของสารประกอบฟีนอลหลักในกระเทียมได้แก่ กรดคาเฟอิก (caffeic acid) และกรดฟีรูอิก (ferulic acid) ซึ่งสารทั้งสองตัวนี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งไบโอฟิล์มของเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้ (26) รวมถึงจากการทดลองของ Chatchawanchonteeral และคณะ ปี 2003 พบว่ากระเทียมให้ผลยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้ (27) ใบกะเพราสดมีน้ำมันหอมระเหยซึ่งมีสารประกอบหลักคือ เมธิลยูจินอล และเมธิลคาวิคอล (methyl chavicol)(28) ซึ่งทำให้มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้ ซึ่งจากการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาซึ่งพบว่ากระเทียมและกะเพรามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้ นอกจากสารประกอบฟีนอลแล้วในสารสกัดสมุนไพรต่าง ๆ อาจพบองค์ประกอบทางเคมีและสารที่ออกฤทธิ์อื่น ๆ ที่สามารถถูกสกัดออกมาได้ เช่น การพลูจะพบสารซิเนอออล(cineole),การบูร,β-caryophyllene, caryophyllene oxide (29) ขิงจะพบสาร ซิทรัล (citral), zingiberene, β-phellandrene และ bisabolene (30) ข่าจะพบสารไลนาโลออล (linalool) บอร์นิออล (borneol) เทอพินิออล (terpineol)(23) ซิเนอออล การบูร (10), p-coumaric, p-coumaryl-9-methyl ether, p-hydroxy cinnamaldehyde และ [di-(p-hydroxy-cis-styryl)] methane (22) ใบบัวบกจะพบสาร กรดเอเชียติก (asiatic acid), เอเชียติโคไซด์ (asiaticoside), กรดเซนเทลลิก (centellic acid), เซนเทลโลไซด์ (centelloside) (31) กระเทียมพบสารอัลลิซิน (Allicin) และซัลไฟด์ เช่น ไดอะลิว ซัลไฟด์(diallyl sulfide), ไดอะลิวโมโนซัลไฟด์ (diallyl monosulfide), ไดอะลิวไดซัลไฟด์ (diallyl disulfid) (32) กะเพราจะพบคาร์ริโอฟิลลีน (caryophyllene)(28) ขมิ้นพบสารบอรนีออล, camphene, 1, 8 ciniole, sabinene, phellandrene (33) ซึ่งสารเหล่านี้แม้ไม่ได้เป็นสารประกอบฟีนอลแต่อาจมีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลชีพได้เช่นเดียวกันรวมถึงเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ด้วย

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า สารสมุนไพรไทยหลากหลายชนิดมีคุณประโยชน์ในการต้านเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ซึ่งเป็นเชื้อที่สำคัญที่ก่อโรคในช่องปาก นอกจากนี้การใช้สมุนไพรยังช่วยลดการเกิดผลข้างเคียงจากการใช้สารเคมีหรือลดโอกาสในการเกิดการดื้อยาจากการใช้ยาฆ่าเชื้อได้ การศึกษาถึงองค์ประกอบที่สำคัญของสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อก็มีบทบาทที่สำคัญที่ช่วยให้ทราบถึงผลของสารสำคัญในสมุนไพรที่มีต่อเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ดังนั้นการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลซึ่งเป็นสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพหลากหลายชนิด อีกทั้งยังมีผลต่อเชื้อก่อโรคทั้งในร่างกายและภายในช่องปากจึงทำให้ทราบถึงผลของสารประกอบฟีนอลในสมุนไพรดังกล่าวที่ส่งผลให้เกิดฤทธิ์ในการต้านเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ในช่องปาก โดยจากการศึกษาพบว่าสมุนไพรที่มีสารประกอบฟีนอลเป็นองค์ประกอบมากมีแนวโน้มที่จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้สูงกว่าด้วยเช่นกัน แต่อย่างไรก็ดีจากผลการศึกษาพบว่ามีเพียงขมิ้นที่พบปริมาณสารฟีนอลเป็นองค์ประกอบที่ค่อนข้างมาก แต่กลับไม่พบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อในความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ แต่จากการรายงานการศึกษาที่ผ่านมาก็พบว่า ขมิ้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ด้วยเช่นกัน (33) ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าขมิ้นไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของขมิ้นที่ทำการทดสอบในครั้งนี้อาจไม่สูงพอที่จะพบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้ อีกทั้งขมิ้นที่ใช้ก็มีความแตกต่างกันกับขมิ้นในการศึกษาที่ผ่านมา ซึ่งสายพันธุ์ของขมิ้นมีหลากหลายและแยกย่อยลงไปอีกในแต่ละพื้นที่ที่ใช้เพาะปลูกจึงอาจจะส่งผลต่อฤทธิ์ในการต้านเชื้อที่แตกต่างกันได้ นอกจากนี้แม้ในขมิ้นจะมีสารประกอบฟีนอล

เป็นองค์ประกอบในปริมาณที่ค่อนข้างสูง แต่อาจเป็นสารประกอบฟีนอลที่มิได้มีฤทธิ์หรือมีฤทธิ์ที่น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารประกอบฟีนอลที่มีอยู่ในสมุนไพรอื่น ๆ ที่อาจจะมีฤทธิ์ที่สูงกว่าในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ดังนั้นแสดงให้เห็นได้ว่าสารประกอบฟีนอลแต่ละชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่แตกต่างกันและควรมีการศึกษาถึงฤทธิ์ของสารประกอบฟีนอลแต่ละชนิดต่อไป อย่างไรก็ดีจากผลการศึกษาสามารถใช้เป็นแนวทางในการศึกษาฤทธิ์ของสารสำคัญซึ่งได้แก่ สารประกอบฟีนอลในการต้านเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ และเป็นแนวทางในการเลือกใช้และพัฒนาสารสมุนไพรดังกล่าวเพื่อใช้เป็นสารผสมในผลิตภัณฑ์ในการต้านเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ใช้สำหรับแช่หรือทำความสะอาดฟันปลอม เพื่อลดหรือชะลอการเกิดโรคติดเชื้อราในช่องปากของผู้ป่วยได้ในอนาคตต่อไป

เมื่อพิจารณาระยะเวลาที่สารสกัดสมุนไพรสัมผัสกับเชื้อที่เวลา 48 ชั่วโมงและ 72 ชั่วโมง พบว่าฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 8 ชนิดที่เวลา 48 ชั่วโมงเหมาะสมกว่า ทั้งนี้เนื่องจากที่เวลามากขึ้นอัตราแพร่ของสารสมุนไพรในตัวกลางจะแพร่ออกไปไกลขึ้นส่งผลให้ความเข้มข้นลดลง เชื้อจึงสามารถเจริญเข้ามาด้านในได้และส่งผลให้บริเวณที่เกิดการยับยั้งเชื้อจะแคบลง รวมทั้งอาจมีการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลเมื่อระยะเวลายาวนานมากขึ้น โดยมีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อสารประกอบฟีนอล (34) เช่น เอนไซม์ในเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ มีงานวิจัยศึกษาเกี่ยวแคนดิดา อัลบิแคนส์กลุ่ม TL3 พบว่า เชื้อราชนิดนี้สามารถทำให้ฟีนอลเสื่อมสภาพได้ด้วยวิธีแคแทบอลิซึม (catabolism activities) (35) นอกจากนี้ความร้อน และปัจจัยทางกายภาพอื่น ๆ เช่น แสง UV และแสงขาวก็มีผลต่อการเสื่อมของสารฟีนอล โดยยืนยันตามงานวิจัยของ Younis และคณะ ปี 2010 (36) ได้ทำการศึกษาผลของรังสี UV และแสงขาวต่อสารประกอบฟีนอล เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงมีผู้ใช้แสง UV ในการทำลายสารประกอบฟีนอลที่ปนเปื้อนมากับน้ำเสียอีกด้วย (37)

บทสรุป (Conclusion)

สารสกัดกานพลูมีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุดเมื่อทำการหาสารประกอบฟีนอลด้วยวิธีสารละลายโฟลินซิโอแคลธูดัดแปลง รองลงมาคือ ขมิ้น ขิง ข่า ใบบัวบก กระชายดำ กระเทียม และกะเพรา ตามลำดับ นอกจานี้สารสกัดกานพลูยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ด้วยวิธีดิสก์ดิฟฟิวชั่นสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ ขิง ข่า ใบบัวบก กระชายดำ กระเทียม และกระเพรา ตามลำดับ แต่ขมิ้นไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ในการศึกษาครั้งนี้ซึ่งทดสอบที่ความเข้มข้น 150 และ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นชนิดของสารประกอบฟีนอลที่มีอยู่ในสมุนไพรนั้นมีผลต่อฤทธิ์ในการต้านเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ และระยะเวลาในการทดสอบที่ดีที่สุดคือ 48 ชั่วโมง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาโอษฐวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย และขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาโอษฐวิทยาคณะทันตแพทยศาสตร์ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง (References)

1. Carla GC, Maria SP, Jose VB. Current treatment of oral candidiasis: A literature review. J Clin Exp Dent. 2014:6(5):e576–e582.

2. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. Oral and maxillofacial pathology. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 2002. p189–197. ISBN 0721690033.

3. Ramon FF, Alejandra JA, Francisco HP, Roberto A, Guadalupe FM. Oral *Candida* spp carriers: its prevalence in patients with type 2 Diabetes Mellitus. A Bras Dermatol. 2013;88(2): 222-5.

4. Chellammal R. Oral Candidiasis in HIV infected patients. IJCRR. 2014;6(1):100-7.

5. Marsh P, Matin M. Oral Micro-biology. 4th ed. US: Butterworth-Heinemann; 1999.

6. Drug information. Phenol is a substance that causes the death of bacterial cells. Is there any danger if we take in the oral cavity by ingestion [Internet]. Bangkok: Faculty of Pharmacy, Mahidol University; 2013 [cited date: 2020 July 9]. Available from: http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/dic/qa_full.php?id=3838

7. Koch H, Lawson L. GARLIC: The science and therapeutic application of Allium sativum L. and Related Species. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1996. p168.

8. Ansari MA, Anurag A, Fatima Z, Hameed S. Natural phenolic compounds: A potential antifungal agent [Internet]. Gurgaon: Amity Institute of Biotechnology, Amity University Haryana. 2013. [cited date: 2020 July 9]. Available from: https://www.academia.edu/13491982/Natural_Phenolic_Compounds_A_Potential_Antifungal_Agent

9. Natália M, Lillian B, Mariana H, Sónia S, Isabel C. *In vivo* Anti-Candida activity of phenolic extracts and compounds: Future perspectives focusing on effective clinical interventions. Biomed Res Int. 2015;2015:247382. doi: 10.1155/2015/247382.

10. Herbs Information Office. Herbs used in Primary health [Internet]. Bangkok: Faculty of Pharmacy, Mahidol University; 2016 [cited date: 2020 July 20]. Available from: http://www.med-plant.mahidol.ac.th/pubhealth/

11. Chiewpattanakul P, Kaweewongprasert P, Paisankobrit V, Wongsurasit T. The antimicrobial activity of *Pseuderanthemun palatiferum* (Hoan Ngoc) crude leaf extract against dental pathogens. SWU Dent J. 2012;5(1):33-40.

12. Sunita M, Dhananjay S. Quantitative analysis of total phenolic content in Adhatoda vasica nees extracts. Journal of Pharm Tech Research. 2010;2(4):2403-6.

13. Khue DB, Tuan PM, Quan NV, Oanh DT. Total phenolic content and antioxidant capacity of some spices and herbs grown in Vietnam. Journal of Postharvest Technology.2013; 1(1):022-8.

14. Rothwell JA, Pérez-Jiménez J, Neveu V, Medina-Remón A, M'Hiri N, Garcia-Lobato P, et al. Phenol-explorer 3.0: a major update of the phenol-explorer database to incorporate data on the effects of food processing on polyphenol content. Database (Oxford). 2013;1-8. doi:10.1093/database/bat070.

15. Phenol-Explorer Database on polyphenol content in foods [Internet]. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2013 [updated date: 2013 Sep 17; cited date: 2020 July 23]. Available from: http://phenol-explorer.eu/contents/polyphenol/731#folin-assay

16. Broadhurst CL, Duke JA. Oil of Cloves: The benefits of eugenol protect yourself from germs, fungi and infection with antibacterial and anti-inflammatory herbs [Internet]. [cited date: 2017 March 17]. Available from: http://www.motherearthliving.com/plant-profile/eugenol

17. Yordanov M, Dimitrova P, Patkar S, Saso L, Ivanovska N. Inhibition of *Candida albicans* extracellular enzyme activity by selected natural substances and their application in Candida infection. Canadian Journal of Microbiology. 2008; 54(6):435-440.

18. He M, Du M, Fan M, Bian Z. *In vitro* activity of eugenol against *Candida albicans* biofilms. Mycopathologia. 2007;163(3):137–43.

19. Yodboon W, Tuitemwong P, Tuitemwong K. Effects of herbal poisons in food vaccination injections [Internet]. Bangkok: Department of Microscience, Faculty of Science, Kasetsart University; 2017 [cited date: 2020 Aug 16]. Available from: http://www.lib.ku.ac.th/KUCONF/2556/KC5005029.pdf

20. Tatsimo SJN, Tamokou JD, Havyarimana L, Csupor D, Forgo P, Hohmann J, et al. Antimicrobial and antioxidant activity of kaempferol rhamnoside derivatives from *Bryophyllum pinnatum.* BMC Res Notes. 2012;5:158. doi: 10.1186/1756-0500-5-158.

21. Fickera CE, Smitha ML, Susiartib S, Leamanb DJ, Irawatib C, Arnasonc JT. Inhibition of human pathogenic fungi by members of Zingiberaceae used by the Kenyah (Indonesian Borneo). J Ethnopharmacol. 2003;85(2-3):289-93.

22. Mahae N, Chaiseri S. Antioxidant activities and antioxidative components in extracts of *Alpinia galanga* (L.) Sw. Kasetsart J. (Nat. Sci.). 2009;43(2):358-69.

23. Manosé research center. Lanna Pharmacy: Lanna Herbal Medicine Recipe [Internet]. Bangkok: Institute Thai Traditional Medicine Department of Medical Services, Ministry of Public Health; 1994 [cited date: 2020 Aug 16]. Available from: https://www.manose.co/portfolio-item/work-2/

24. Puechkaset.com. Black galingale. Properties and the cultivation of black galingale. [Internet]. Mahasarakham: puechkaset; 2014 [cited date: 2020 May18]. Available from: http://puechkaset.com/Black galingale/

25. Mekseepralard C, Kamkaen N, Wilkinson JM. Anti-microbial and antioxidant activities of traditional Thai herbal remedies for aphthous ulcers. Phytotherapy Research. 2010;24(10):1514-9.

26. Phan ADT, Netzel G, Chhim P, Netzel ME, Sultanbawa Y. Phytochemical Characteristics and Antimicrobial Activity of Australian Grown Garlic (Allium Sativum L.) Cultivars. Foods. 2019; 8(9):358. doi: 10.3390/foods8090358.

27. Chatchawanchonteeral A, Trakranrungsie N, Ownthum R, Prapakorn L, Luangsie S. Garlic and Onion I Their Inhibition Effect on *Candida albicans.* KKU Vel J. 2003;13(2):16-23.

28. Sodachan J, Sangthong B, Ratanaratanakiet S.The main chemical composition and activity in inhibition of oral pathogens of the genus *Ocimum* spp. IJPS. 2015;11:304-10.

29. Xu JG, Liu T, Hu QP, Cao XM. Chemical composition, antibacterial properties and mechanism of action of essential oil from clove buds against *Staphylococcus aureus.* Molecule. 2016;21(9):1194. doi: 10.3390/molecules21091194.

30. Limpaphayom V, Laohakuljit N, Duzzadeelawan P, Vamasiri K. Chemical compositions and antioxidant activity of zingiber officinale roscoe essential oils. KMUTT R&D J. 2014;37(3):297-312.

31. Puechkaset.com. Centella. Benefits and properties Centella [Internet]. Mahasarakham: puechkaset; 2014 [cited date: 2020 May18]. Available from http: //puechkaset.com/centella/

32. Limpaphayom W, Watthanawijit W, Satayawut K. The development on processing technology of garlic. [Internet]. Bangkok: Department of Agriculture; 2017 [cited 2020 April 23]. Available from: http://www.doa.go.th/pprdo/images/doc/0001e.pdf

33. Herb database. Curcuma zedoaria [Internet]. Ubon Ratchathani: Faculty of Pharmacy. Ubon Ratchathani University; 2016 [cited date: 2020 March 20]. Available from: http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=151

34. Carlos J, Rubi M. The use of encapsulation to guarantee the stability of phenolic compounds: New polymers for encapsulation of nutraceutical compounds. 1st ed. John Wiley & Sons Ltd. Philadelphia; 2017. p125.

35. Tsai SC, Tsai LD, LI YK. An Isolated *Candida albicans* TL3 capable of degrading phenol at large concentration. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. 2005;69(12): 2358-67.

36. Younis MEB, Hasaneen MNAG, Aziz HMMA. An enhancing effect of visible light and UV radiation on phenolic compounds and various antioxidants in broad bean seedlings. Plant Signal Behav. 2010;5(10):1197-203.

37. Chowdhury P. Degradation of Phenolic Compounds Through Uv and Visible-Light-Driven Photocatalysis : Technical and Economic Aspects. In IntechOpen; 2017.

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:
ทพญ.เบญญาดา ธีระอรรถเวช
ภาควิชาทันตกรรมทั่วไป คณะทันตแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เลขที่ 114 สุขุมวิท 23
เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110
โทรศัพท์ 02 649 5000 ต่อ15829
อีเมล์: ninejitty@gmail.com

Corresponding author:
Dr. Benyada Theeraut thavate
Department of General Dentistry, Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University, 114 Sukhumvit 23 Rd, Wattana, Bangkok 10110, Thailand
Tel: (662) 649 5000 ext. 15829
E-mail: ninejitty@gmail.com

Received Date: Apr 20, 2021
Revised Date: May 17, 2021
Accepted Date: Aug 05, 2021