

บทความวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดพิกัดตรีเกสรมาศ
ที่สกัดด้วยเทคนิคการไหลซึม

สุวิมล ทาริวงศ์¹ ปร.ด., รสรินทร์ แหยมประเสริฐ² ปร.ด., นพวรรณ วัชรพุทธร² ส.ม., ปวีรีศา นพเก้า² ส.ม.,
พิทักษ์ อยู่มี³ วท.ด., จิตศิริณ ก้อนคง¹ ปร.ด., อรรถพล รอดแก้ว¹ ปร.ด., ตฤณดนัย อสุณี⁴ พทป.บ.,
วรัญญา วรตุลยพินิจ⁵ ปร.ด., อนุสรรา สีหนาท^{2,*} วท.ด.,

Received: March 14, 2025

Revised: June 20, 2025

Accepted: June 23, 2025

บทคัดย่อ

พิกัดตรีเกสรมาศมีสรรพคุณ เจริญอาหาร บำรุงธาตุ คุมธาตุ บำรุงกำลัง และแก้ท้องเดิน ประกอบด้วย เปลือกฝิ่นต้น เกสรบัวหลวง และลูกมะตูมอ่อน จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า พิกัดตรีเกสรมาศมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาก และยังพบว่าสมุนไพรรวมในตำรับมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ดีมาก ทั้งนี้การศึกษาที่ผ่านมาจะใช้วิธีการสกัดโดยการหมักกับเอทานอล 95.0% ซึ่งไม่สอดคล้องกับวิธีเตรียมยาในอดีตคือการนำผงยาชงกับน้ำร้อน ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ จำนวน 7 สายพันธุ์ ได้แก่ 1) *Staphylococcus aureus* 2) *Bacillus cereus* 3) *Escherichia coli* 4) *Salmonella ser. typhi* 5) *Salmonella typhimurium* 6) *Shigella sonnei* และ 7) *Enterococcus faecalis* ด้วยวิธี Agar well diffusion assay ของสารสกัดพิกัดตรีเกสรมาศที่สกัดด้วยเทคนิคการไหลซึมโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายซึ่งเป็นวิธีเลียนแบบการชงยา

ผลการศึกษาพบว่า ผลผลิตของสารสกัดพิกัดตรีเกสรมาศ มีค่าเท่ากับร้อยละ 18.6 ± 0.2 และมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด โดยมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *Bacillus cereus* และ *Enterococcus faecalis* ผลการศึกษานี้เป็นการพิสูจน์องค์ความรู้ทางการแพทย์แผนไทย และเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาพิกัดตรีเกสรมาศ เพื่อรักษาอาการอุจจาระร่วงหรือท้องเสียเฉียบพลันต่อไป

คำสำคัญ: พิกัดตรีเกสรมาศ โรคอุจจาระร่วงเฉียบพลัน ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย สกัดด้วยเทคนิคการไหลซึม

¹ อาจารย์ หลักสูตรสาขาวิชาบูรณาการสุขภาพ ความงาม และสปา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

² อาจารย์ กลุ่มสาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

³ อาจารย์ หลักสูตรสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

⁴ นักวิทยาศาสตร์ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

⁵ นักวิจัย ศูนย์วิจัยค้นคว้าและพัฒนาายาสำนักงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีชั้นสูง มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

* ผู้รับผิดชอบบทความ: anusaras@nu.ac.th

Study of the antibacterial activity of the Tri-Kasorn-Mas remedy extracted using percolation technique

Suwimol Thariwong¹ Ph.D., Rodsarin Yamprasert² Ph.D., Nobpawan Watcharaput² M.P.H., Pawarisa Noppakao² M.P.H., Pitak Yoomee³ Ph.D., Chitsirin Konkong¹ Ph.D., Atthaphol Rodkaew¹ Ph.D., Tindanai Asunee⁴ B.ATM., Warunya Woradulayapinij⁵ Ph.D., Anusara Sihanat^{2,*} Ph.D.

ABSTRACT

The “Tri-Kasorn-Mas” has properties of stimulating appetite, nourishing the body’s elements, balancing internal systems, strengthening the body, and relieving diarrhea. It consists of *Jatropha multifida* L. (Fin-Ton), *Nelumbo nucifera* Gaertn. (Bua-Luang) and *Aegle marmelos* (L.) (Ma-Toom). Literature review reveals that the Tri-Kasorn-Mas herbal has strong antioxidant properties, and the individual herbs in the formulation also show significant antibacterial effects. However, past studies commonly used 95.0% ethanol maceration, which does not correspond with traditional Thai medicine preparation, where it involves infusing the powdered herbs in hot water. Therefore, the objective of this study was to examine the antibacterial activity against seven standard strains, both Gram-positive and Gram-negative, including: 1) *Staphylococcus aureus*, 2) *Bacillus cereus*, 3) *Escherichia coli*, 4) *Salmonella ser. typhi*, 5) *Salmonella typhimurium*, 6) *Shigella sonnei*, and 7) *Enterococcus faecalis*. The extract was obtained through percolation with water solvent, a technique that simulates the traditional herbal infusion method.

The results showed that the extraction yield of the Tri-Kasorn-Mas formula was $18.6 \pm 0.2\%$. The extract exhibited antibacterial activity against three bacterial strains, with the strongest inhibition against *Staphylococcus aureus*, followed by *Bacillus cereus* and *Enterococcus faecalis*. This study supports traditional Thai medicine knowledge and provides a foundation for further development of the Tri-Kasorn-Mas remedy as a treatment for acute diarrhea.

Keywords: Tri-Kasorn-Mas remedy, Acute diarrhea, Antibacterial activity, Percolation technique

¹ Lecturer, Division of Integration of Health, Aesthetics and Spa, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University

² Lecturer, Division of Applied Thai Traditional Medicine, Faculty of Public Health, Naresuan University

³ Lecturer, Division of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University

⁴ Scientist, Faculty of Public Health, Naresuan University

⁵ Researcher, Drug Discovery and Development Center, Office of Advanced Science and Technology, Thammasat University

* Corresponding author: anusaras@nu.ac.th

บทนำ

โรคอุจจาระร่วงหรือท้องเสียเฉียบพลัน (Acute diarrhea) เป็นโรคที่พบได้บ่อยในเวชปฏิบัติพบได้ทุกเพศทุกวัย นิยามของท้องเสียโดยองค์การอนามัยโลก (World Health Organization) คือ การถ่ายอุจจาระเหลวหรือเป็นน้ำตั้งแต่ 3 ครั้งขึ้นไปใน 24 ชั่วโมง หรือถ่ายเป็นมูกเลือด 1 ครั้งขึ้นไปใน 24 ชั่วโมง ทั้งนี้ในประเทศไทยสหรัฐอเมริกาผู้ป่วยนอกที่เข้ารับการรักษาโรคอุจจาระร่วงมากถึง 179 ล้านคนต่อปี (Meisenheimer, Epstein, & Thiel, 2022) ส่วนในประเทศไทยโรคอุจจาระร่วงเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญ เนื่องจากพบได้มากทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ ปี พ.ศ. 2565 พบอุบัติการณ์ป่วย 108.13 ต่อประชากรแสนคน โดยกลุ่มอายุที่พบมากที่สุดคือ 15-24 ปี ซึ่งเป็นกลุ่มวัยเรียนและกลุ่มวัยทำงาน (Piriya & Thammawijaya, 2023) ทำให้ต้องขาดเรียน ขาดงาน และสูญเสียค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษา ประกอบกับหากปล่อยให้เกิดอาการท้องเสียโดยไม่ได้รับการรักษา อาจทำให้ผู้ป่วยสูญเสียเกลือแร่ หรือสารน้ำในร่างกาย และอาจก่อให้เกิดภาวะช็อค ซึ่งจะก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ตามมาได้ (Piriya & Thammawijaya, 2023)

สาเหตุของท้องร่วงเฉียบพลันส่วนใหญ่เกิดจากการติดเชื้อไวรัส โดยไวรัสที่เป็นสาเหตุ ได้แก่ Norovirus Rotavirus และ Enteric adenovirus นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียและสารพิษที่สร้างจากเชื้อแบคทีเรียก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดภาวะท้องร่วงเฉียบพลันได้เช่นกัน จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า เชื้อแบคทีเรียที่มักเป็นสาเหตุของท้องร่วงเฉียบพลัน ได้แก่ *Escherichia coli* *Shigella spp.* *Campylobacter spp.* *Salmonella* (non-typhoidal) *Clostridium difficile* *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* เป็นต้น (Poowaruttanawit, 2024) การรักษาที่สำคัญเป็นอันดับแรกเพื่อช่วยลดการตายคือ การทดแทนด้วยสารน้ำและอิเล็กโทรไลต์ โดยให้ดื่มสารน้ำทดแทนทางปากซึ่งประกอบด้วยโซเดียมคลอไรด์ กลูโคส และโพแทสเซียม ยาที่ใช้รักษาอุจจาระร่วงได้ตีควรมีคุณสมบัติ 1) ลดออสโมลาริตีในท้องทางเดินอาหาร 2) ลดการหลั่งและเพิ่มการดูดซึมอิเล็กโทรไลต์ และ 3) ลดการเคลื่อนไหวของท้องทางเดินอาหาร ส่วนการรักษาด้วยยาฆ่าเชื้อเหมาะสำหรับผู้ป่วยที่ทราบชนิดของ

เชื้อโรคชัดเจน อย่างไรก็ตาม ยาหลายชนิดอาจทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์และการใช้ยาฆ่าเชื้อเกินความจำเป็นยังก่อให้เกิดภาวะเชื้อดื้อยา สมุนไพรจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาเพื่อช่วยลดอาการไม่พึงประสงค์จากยาแผนปัจจุบัน (Ekarattanawong, Sookprasert, Boonruab, & Bhamarapravati, 2018)

พิกัดตรีเกสรมาศ ประกอบด้วย เปลือกฝิ่นต้น (*Jatropha multifida* L.) เกสรบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) และลูกมะตูมอ่อน (*Aegle marmelos* L.) โดยพิกัดนี้ได้ถูกบรรจุในบัญชียาหลักแห่งชาติ ด้านสมุนไพร พ.ศ. 2566 กลุ่มยาบำรุงธาตุ ปรับธาตุ ตามประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ โดยมีรูปแบบเป็นยาขงที่มีสรรพคุณแก้ท้องเสีย ปรับธาตุในผู้ป่วยที่เพิ่งฟื้นจากการเจ็บป่วย เช่น ไข้ ท้องเสีย (National Drug System Development Committee, 2023) นอกจากนี้ตำราเภสัชกรรมไทยยังระบุว่า พิกัดตรีเกสรมาศมีสรรพคุณ เจริญอาหาร บำรุงธาตุ คุมธาตุ บำรุงกำลัง แก้อาเจียน และแก้ท้องร่วง (Ayurvedic College (Cheevakakomalapaj), 2016) จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า มีการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของตำรับตรีเกสรมาศมากขึ้น จากการศึกษาของ Sihanat, Rittaisong, Chaichamnong, Prommee, Watcharaput, Noppakao et al. (2023) เกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับตรีเกสรมาศ และสมุนไพรในตำรับที่สกัดด้วยเอทานอล 95.0% ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging และวิธี 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) radical cation decolorization assay พบว่า สารสกัดตำรับตรีเกสรมาศมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาก โดยมีค่าเท่ากับ 9.37 ± 0.82 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และ 7.91 ± 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า เปลือกฝิ่นต้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดเมื่อเทียบกับสมุนไพรอื่นที่เป็นส่วนประกอบในตำรับ ซึ่ง Limsakul, Monthakantirat, Chulikhit, Maneenet, Khamphukdee, Chotritthirong et al. (2024) ทำการศึกษาการพัฒนาสูตรสำหรับการสกัดการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดตำรับ ตริเกสรมาสกัดด้วยเอทานอล 95.0% พบว่า ตำรับ ตริเกสรมาสกัดแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging วิธี ABTS radical cation decolorization วิธี Oxygen radical absorbance capacity วิธี Ferric reducing antioxidant power วิธี Metal chelating activity และวิธี Lipid peroxidation assay โดยมีสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบหลัก จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ สาร Imperatorin สาร Kaempferol-3-O-glucoside สาร Gallic acid สาร Scopoletin และ สาร Vitexin การศึกษาของ Mading, Chotritthirong, Chulikhit, Daodee, Boonyarat, Khamphukdee et al. (2024) ศึกษาในหนูเมาส์ที่ถูกตัดรังไข่ พบว่า สารสกัด พิกัตตริเกสรมาสกัดสามารถช่วยบรรเทาความเสียหายของ สมองที่เกิดจากออกซิเดชันและการเสื่อมของระบบ ประสาท พร้อมทั้งเพิ่มพฤติกรรมความรู้โดยปรับปรุง ความบกพร่องทางการรับรู้ที่เกี่ยวข้องกับวัยหมดประจำ เดือน ซึ่งการศึกษาข้างต้นช่วยสนับสนุนสรรพคุณของ ตำรับตริเกสรมาสกัด ได้แก่ บำรุงธาตุ บำรุงกำลัง และคุม ธาตุ แต่ยังไม่พบการศึกษาวิจัยในฤทธิ์ทางชีวภาพที่ สนับสนุนสรรพคุณแก้ท้องร่วง พบเพียงการศึกษาของ สมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบในตำรับเท่านั้นที่มีฤทธิ์ใน การต้านเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ มะตูม มีฤทธิ์ต้านอาการ ท้องเสีย ฤทธิ์ต้านเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย (Kumar, Kumar, & Rao, 2011) ผื่นคันสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* (Rajput, Jadon, & Bhadauriya, 2022) และบัวหลวงสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* (Thongphichai, Pongkittiphan, Laorpaksa, Wiwatcharakornkul, & Sukrong, 2023)

ในอดีตการเตรียมยาพิกัตตริเกสรมาสกัด ทำโดยการ วิธีการชงกับน้ำ ซึ่งเป็นวิธีการนำสารสำคัญออกจาก สมุนไพรตามตำราการแพทย์แผนไทยดั้งเดิม อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันมีวิธีการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร หลายวิธี ได้แก่ การแช่สกัด (Maceration) การกลั่นด้วย น้ำ (Hydrodistillation) การเปอร์โคเลชัน (Percolation)

การรีฟลักซ์ (Reflux extraction) และการสกัดด้วย ซอกห์เลต (Soxhlet extraction) ประกอบกับแนวคิด การสกัดสีเขียว (Green extraction) ซึ่งให้ความสำคัญ ต่อความเป็นมิตร ไม่ก่อมลภาวะ หรือไม่ก่อความเป็นพิษ ต่อผู้ผลิต ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม (Pattamadilok, 2023) ดังนั้น การศึกษาวิธีการสกัดสมุนไพรตามแนวทางการ สกัดสีเขียวจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นในปัจจุบัน

จากปัญหาโรคอุจจาระร่วงหรือท้องเสียเฉียบพลัน ภาวะเช็ดอียา รวมถึงผลข้างเคียงจากการใช้ยา ผู้วิจัย จึงมีความสนใจในการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของ พิกัตตริเกสรมาสกัด อย่างไรก็ตาม พบการศึกษาพิกัตตริ เกสรมาสกัดด้วยการหมักในเอทานอล 95.0% แต่การใช้ พิกัตตริเกสรมาสกัดแบบดั้งเดิมจะมีการเตรียมยาโดยวิธี ชงกับน้ำ ดังนั้นในการศึกษารั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาวิธีการสกัดสารสำคัญด้วยวิธีเทคนิคการไหลซึม (Percolation) โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายและศึกษาฤทธิ์ ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดของพิกัตตริเกสรมาสกัดที่ มีวิธีการเตรียมใกล้เคียงกับวิธีการดั้งเดิม สำหรับเป็น ข้อมูลพื้นฐานในการส่งเสริมการใช้อยาสสมุนไพรร และ พัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรรต่อไปในอนาคต

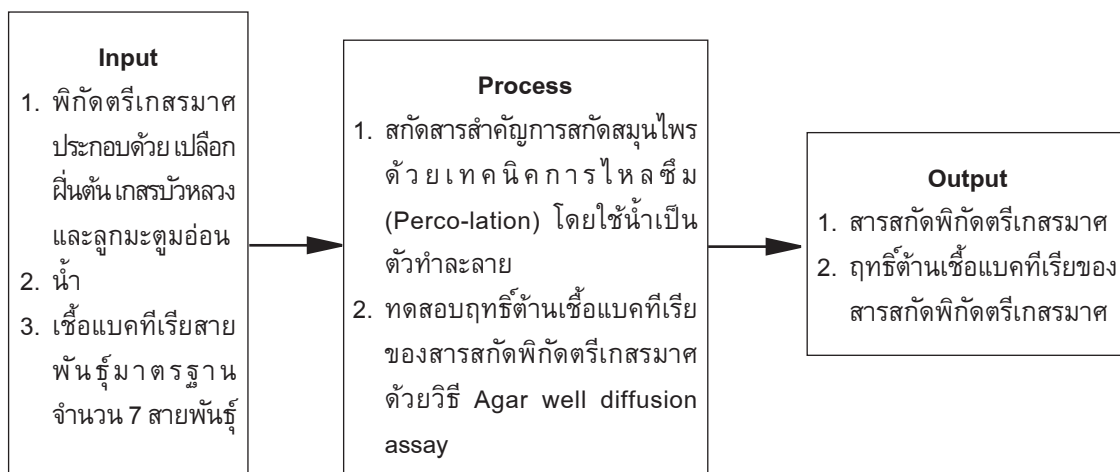
วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดสารสำคัญจากพิกัตตริเกสรมาสกัด ด้วยเทคนิคการไหลซึม (Percolation) โดยใช้น้ำเป็น ตัวทำละลาย เพื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัด พิกัตตริเกสรมาสกัดที่สกัดได้ โดยทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย ที่ก่อโรค

ระเบียบวิธีวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองเพื่อศึกษาการ สกัดสารสำคัญด้วยเทคนิคการไหลซึม (Percolation) และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดพิกัตตริเกสรมาสกัด

กรอบแนวคิดวิจัย



ภาพ 1 กรอบแนวคิดวิจัย

การเตรียมตัวอย่างสมุนไพร

ทำการซื้อสมุนไพรแห้งจากบริษัทเจริญสุข ฟาร์มชาพลาย จำกัด จังหวัดนครปฐม โดยมีใบรายงานผลการตรวจวิเคราะห์วัตถุพิษ (Certificate of raw material) รวมถึงตรวจสอบความถูกต้องของชนิดและส่วนที่ใช้ของสมุนไพร โดยหนึ่งในผู้วิจัยที่มีความเชี่ยวชาญด้าน

สมุนไพร จากนั้นนำสมุนไพรมาล้าง ทำความสะอาด และอบแห้ง โดยใช้ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แล้วนำมาบดละเอียดด้วยเครื่องบดสมุนไพร ลักษณะวัตถุพิษแห้งก่อนและหลังบดแสดงดังภาพ 2 และ 3



ภาพ 2 ลักษณะวัตถุพิษแห้งก่อนบด เปลือกผื่นต้น (A) เกสรบัวหลวง (B) ลูกมะตูมอ่อน (C) และลักษณะผงวัตถุพิษแห้งหลังบด เปลือกผื่นต้น (a) เกสรบัวหลวง (b) ลูกมะตูมอ่อน (c)



ภาพ 3 ลักษณะผงวัตถุดิบพิกัดตรีเกสรมาศ ที่ประกอบด้วย เปลือกผัสดัน เกสรบัวหลวง และลูกมะตูมอ่อน อัตราส่วน 1: 1: 1

การสกัดสารสำคัญของพิกัดตรีเกสรมาศด้วย เทคนิคการไหลซึม (Percolation)

ซึ่งตัวอย่างผงวัตถุดิบพิกัดตรีเกสรมาศ น้ำหนัก 5 กิโลกรัม ลงในผ้าขาวบางบนชุดกรองสุญญากาศ เติมน้ำร้อนให้ไหลผ่านผงวัตถุดิบพิกัดตรีเกสรมาศ ปริมาตร 20 ลิตรต่อครั้ง จนกระทั่งสีของสารละลายสารสกัดจางลง จากนั้นนำสารละลายสารสกัดที่ได้ไปปั่นเหวี่ยง เพื่อแยกตะกอนออกที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที (ภาพ 4) นำสารละลายสารสกัดที่ได้

ไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งสารสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) ใช้เวลา 60 นาที และกำหนดร้อยละของปริมาตรของสารสกัดที่ต้องการให้ลดลง ให้เหลือในช่วงร้อยละ 15.0-20.0 จากปริมาตรสารละลายเริ่มต้น เพื่อเพิ่มความเข้มข้นให้เหมาะสมต่อการสเปรย์ดราย (Spray dry) จากนั้นทำแห้งสารสกัดด้วยเทคนิคสเปรย์ดราย (Spray dry) (Pattamadilok, 2023) โดยทำการสกัดจำนวน 3 ชุดการทดลอง (ภาพ 5) สารสกัดที่ได้ถูกนำไปเก็บในที่แห้งและเย็น และไม่อบชื้น



ภาพ 4 วิธีการดำเนินการสกัด



ภาพ 5 การระเหยแห้งและการทำแห้งสารสกัดด้วยเทคนิคสเปรย์ดราย (Spray dry)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดพิกัดตรีเกสรมาศ

เชื้อแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จำนวน 7 สายพันธุ์ ได้แก่ 1) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 2) *Bacillus cereus* DMSC 11953 3) *Escherichia coli* ATCC 25922 4) *Salmonella ser. typhi* ATCC 16122 5) *Salmonella typhimurium* DMST 562 (ATCC 13311) 6) *Shigella sonnei* DMST 561 (ATCC 11060) และ 7) *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

นำมาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Luria Bertani Broth (LB) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อเลี้ยงในอาหารเหลว LB เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 7 สายพันธุ์ทดสอบมาปรับความขุ่นให้เท่ากับ 0.5 McFarland (1.5×10^8 CFU/ml) ด้วยโซเดียมคลอไรด์ 0.85 %

วิธีการทดลอง

ทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย อ้างอิงวิธีการของ The Clinical Laboratory Standard Institute หรือ CLSI (2020) และ Manandhar, Luitel, & Dahal (2019) โดยเริ่มจากการทดสอบการยับยั้งเชื้อเบื้องต้นด้วยวิธี Agar well diffusion ทำการเตรียมเชื้อแบคทีเรียโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Muller-Hinton Broth

(MHB) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง ก่อนการทดสอบทำการเจือจางเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 % ให้ได้ความขุ่นเทียบเท่ากับ 0.5 McFarland (1.5×10^8 CFU/ml) นำเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้มาเกลี่ย (Swab) ให้ทั่วบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Muller-Hinton Agar (MHA) ด้วยไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นเจาะหลุมด้วย Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เติมสารสกัดพิกัดตรีเกสรมาศที่มีความเข้มข้น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตรหลุมละ 50 ไมโครลิตร เท่ากับปริมาณสารสกัด 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อหลุม จากนั้นวางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการทดสอบโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (Inhibition zone) ด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier caliper) ในหน่วยมิลลิเมตร บันทึกผลและวิเคราะห์ผลการทดลอง โดยทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง โดยใส่ยาปฏิชีวนะเจนตาไมซิน (Gentamicin) ปริมาณ 10 ไมโครกรัมต่อหลุมเป็นชุดควบคุมที่ให้ผลบวก และใช้น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (Sterile distilled water) เป็นชุดควบคุมที่แสดงผลลบ

การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการศึกษาวิธีการสกัดสารสำคัญของพิกัดตรีเกสรมาศด้วยเทคนิคการไหลซึม (Percolation) โดยใช้ น้ำเป็นตัวทำละลาย ทำการคำนวณหาผลผลิตร้อยละของ

สารสกัดด้วยสูตร % yield = $[A/B] \times 100$ โดย A เท่ากับ น้ำหนักของสารที่สกัดได้ (กรัม) และ B เท่ากับ น้ำหนัก วัตถุตั้งต้นที่ใช้ (กรัม)

ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดของพิกัด ตรีเกสรมาจะทำการทดสอบซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง เพื่อเป็นการตรวจสอบความแม่นยำของผลที่ได้ นำเสนอ ข้อมูลในรูปแบบค่าเฉลี่ย (Mean) และความคลาดเคลื่อน มาตรฐานของการวัด (Standard error of mean)

ผลการวิจัย

การสกัดสารสำคัญของพิกัดตรีเกสรมาด้วย เทคนิคการไหลซึม (Percolation)

จากการเตรียมสารสกัดพิกัดตรีเกสรมาด้วยเทคนิค การไหลซึม (Percolation) โดยใช้ น้ำเป็นตัวทำละลาย ทำการสกัดจำนวน 3 ชุดการทดลอง เพื่อหาค่าเฉลี่ยและ ค่าความแปรปรวนของการสกัด ได้ผลผลิตร้อยละ ของ การสกัด (% yield) การทดลองครั้งที่ 1 เท่ากับ ร้อยละ 18.6 การทดลองครั้งที่ 2 เท่ากับ ร้อยละ 18.8 และ การ ทดลองครั้งที่ 3 เท่ากับ ร้อยละ 18.4 ตามลำดับ คิดเป็น ค่าเฉลี่ยเท่ากับ ร้อยละ 18.6 ± 0.2 สารสกัดพิกัด ตรีเกสรมาจะมีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลอมเหลือง แสดง ดังภาพ 6



ภาพ 6 ลักษณะของสารสกัดพิกัดตรีเกสรมาที่สกัด ด้วยเทคนิคการไหลซึม (Percolation)

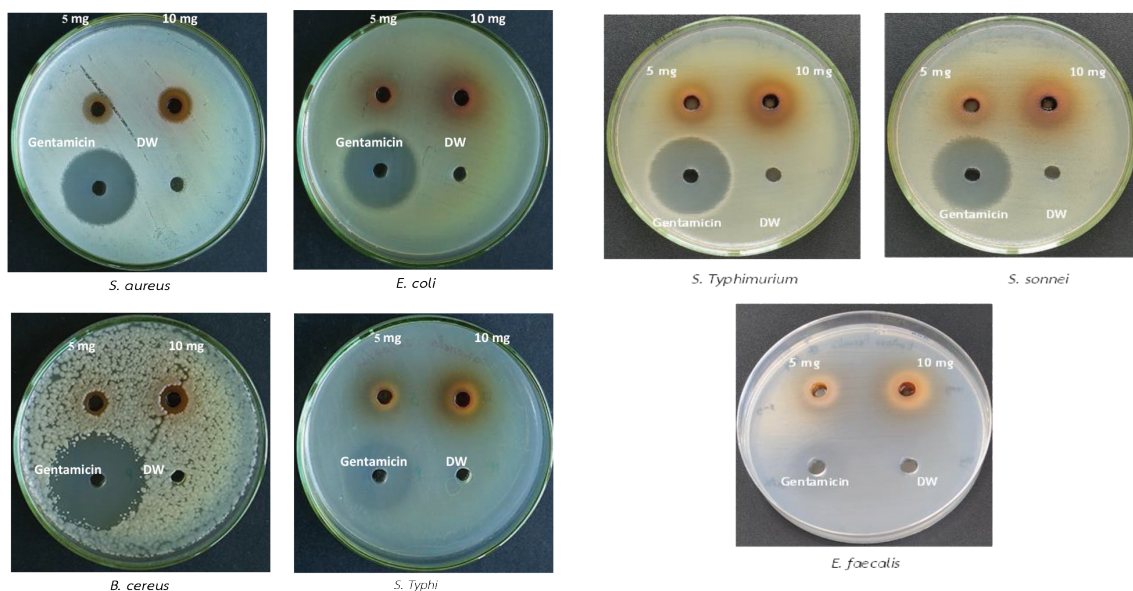
การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสาร สกัดพิกัดตรีเกสรมา

ผลการทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion assay พบว่า สารสกัดพิกัดตรีเกสรมา มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ แบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด โดยมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ดีที่สุด ในปริมาณสารสกัด 5 และ 10 มิลลิกรัมโดยมีค่าวงใสเท่ากับ 11.80 ± 0.30 มิลลิเมตร และ 13.60 ± 0.70 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *B. cereus* มีค่าวงใสเท่ากับ 11.20 ± 0.60 มิลลิเมตร และ 12.00 ± 0.20 มิลลิเมตร และ *E. faecalis* มีค่าวงใส เท่ากับ 10.40 ± 0.40 มิลลิเมตร และ 11.60 ± 0.10 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อแบคทีเรียตัวอื่น ไม่พบค่าวงใส แสดงผลดังตาราง 1 และภาพ 7

ตาราง 1 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดพิกัดตรีเกสรมาด้วยวิธี Agar well diffusion assay

แบคทีเรีย		Inhibition zone diameter (mm)		
		สารสกัดพิกัดตรีเกสรมา		Gentamicin
		5 mg	10 mg	10 ug
แกรมบวก	<i>S. aureus</i>	11.80 ± 0.30	13.60 ± 0.70	29.70 ± 0.80
	<i>B. cereus</i>	11.20 ± 0.60	12.00 ± 0.20	30.80 ± 0.90
	<i>E. faecalis</i>	10.40 ± 0.40	11.60 ± 0.10	15.80 ± 0.20
แกรมลบ	<i>E. coli</i>	No	No	34.00 ± 0.20
	<i>S. typhi</i>	No	No	26.40 ± 0.20
	<i>S. typhimurium</i>	No	No	31.20 ± 0.70
	<i>S. sonnei</i>	No	No	29.50 ± 0.30

หมายเหตุ No : ไม่พบ Inhibition zone



ภาพ 7ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดพิกัดตรีเกสรมาศ

สรุปและอภิปรายผล

โรคอุจจาระร่วงหรือท้องเสียเฉียบพลัน เป็นโรคที่พบบ่อยในเวชปฏิบัติ ซึ่งสาเหตุหนึ่งมาจากการติดเชื้อแบคทีเรียและสารพิษที่สร้างจากเชื้อแบคทีเรีย การใช้ยาปฏิชีวนะจึงเป็นวิธีที่ใช้สำหรับการรักษาอาการดังกล่าว อย่างไรก็ตาม ยาหลายชนิดอาจทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์และการใช้ยาปฏิชีวนะเกินความจำเป็นนั้นยังก่อให้เกิดภาวะเชื้อดื้อยา การใช้สมุนไพรจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาเพื่อช่วยลดอาการไม่พึงประสงค์จากยาแผนปัจจุบัน ประกอบกับปัจจุบันผู้คนให้ความสนใจในการดูแลสุขภาพมากขึ้น และมีทางเลือกที่หลากหลายในการดูแลสุขภาพ หนึ่งในทางเลือกนั้นคือการใช้สมุนไพรไทยและศาสตร์การแพทย์แผนไทย ซึ่งกำลังเป็นที่นิยมและรู้จักกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากการใช้สมุนไพรเป็นสิ่งที่อยู่คู่กับคนไทยมาอย่างยาวนาน เป็นทั้งวิถีชีวิต เอกลักษณ์ วัฒนธรรม เป็นรากเหง้าของคนไทย และศาสตร์การแพทย์แผนไทยเป็นศาสตร์การดูแลสุขภาพแบบองค์รวม มีการบูรณาการความรู้ดั้งเดิมเข้ากับการบำบัดรักษาเพื่อส่งเสริมให้เกิดสุขภาพที่ดีต่อสุขภาพ ทั้งนี้ในปัจจุบันได้มีการนำสมุนไพรไทยมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบใหม่อยู่เสมอเพื่อเป็นทางเลือกในการบริโภคสมุนไพรที่หลากหลายมากขึ้น

พิกัดตรีเกสรมาศ มีสรรพคุณแก้ท้องเสีย ปรับธาตุในผู้ป่วยที่เฟื่องพินจากการเจ็บป่วย เช่น ไข้ ท้องเสีย เจริญอาหาร บำรุงธาตุ คุมธาตุ บำรุงกำลัง แก้อาเจียน และแก้ท้องร่วง ซึ่งการทบทวนวรรณกรรมพบว่ายังไม่มีการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยการสกัดด้วยการศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาแรกที่สามารถพิสูจน์องค์ความรู้ด้านการแพทย์แผนไทยในการแก้ท้องเสียหรือท้องร่วง เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการท้องเสีย โดยสารสกัดพิกัดตรีเกสรมาศที่สกัดด้วยน้ำ สามารถต้านเชื้อ *S. aureus* *B. cereus* และ *E. faecalis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก และไม่สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบตัวอื่นได้อาจเนื่องจากสารสกัดพิกัดตรีเกสรมาศมีสารประกอบเป็นกลุ่มโพลีฟีนอล จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการสกัดพิกัดตรีเกสรมาศมีปริมาณฟีนอลิกรวม เท่ากับ 75.20 ± 0.96 มิลลิกรัมต่อกรัม GAE (Sihanat et al., 2023) ซึ่งสารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด ซึ่งแบคทีเรียแกรมบวกนั้นจะมีความไวต่อสารประกอบโพลีฟีนอล (Yucharoen et al., 2024) ประกอบกับโครงสร้างของแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบมีความแตกต่างกันโดยแบคทีเรียแกรมบวกมีเพปติโดไกลแคนหนากว่า และมีความไวต่อ

สารสกัดจากพืชมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Henley-Smith et al., 2014)

นอกจากนี้ ยังสอดคล้องกับการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบในตำรับ แต่จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสมุนไพรในตำรับโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายนั้นยังมีจำนวนการศึกษาที่น้อย ได้แก่ มะตูม (*Aegle marmelos* L.) มีฤทธิ์ต้านอาการท้องเสีย โดยออกฤทธิ์ที่ดีต่อเชื้อ *Shigella boydii* *S. sonnei* *S. flexneri* และออกฤทธิ์ปานกลางต่อเชื้อ *S. dysenteriae* สารสกัดน้ำจากผลมะตูมมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging และมีฤทธิ์ต้านเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย โดยมีฤทธิ์ต้าน *Aspergillus niger* *A. fumigatus* *Candida albicans* และ *S. aureus* ด้วยค่า MIC เท่ากับ 19.50 39.00 625.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Kumar, Kumar, & Rao, 2011) ส่วนสมุนไพรอีกสองชนิด ได้แก่ ผื่นต้นและเกสรบัวหลวง ไม่พบการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำ แต่พบการใช้ตัวทำละลายชนิดอื่น ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดเอทานอลจากผื่นต้นสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในขนาดยาตั้งแต่ 2.50-3.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเชื้อ *P. aeruginosa* ในขนาดยาตั้งแต่ 6.25-12.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Rajput, Jadon, & Bhadauriya, 2022) และสารสกัดเอทานอล 95.0 % จากบัวหลวงสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยมีค่าวงใสเท่ากับ 10.47 ± 0.58 มิลลิเมตรและยังยับยั้งเชื้อ *B. cereus* มีค่าวงใสเท่ากับ 10.70 ± 1.30 มิลลิเมตร (Thongphichai, Pongkittiphan, Laorpaksa, Wiwatcharakornkul, & Sukrong, 2023) สารสกัดสมุนไพรจากเกสรบัวหลวงในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ดีที่สุด จากการทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่า สารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตทั้งเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่าวงใสเท่ากับ 6.77 ± 0.58 และ 7.33 ± 0.58 มิลลิเมตร (Yucharoen et al., 2024)

ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาแรกที่ได้พัฒนาวิธีการสกัดสารสำคัญของพื้กัตตรีเกสรมาศ โดยเลียนแบบวิธีการสกัดดั้งเดิม ด้วยเทคนิคการไหลซึม (Percolation)

ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ผลการศึกษานี้ได้ค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนของสารสกัด มีค่าร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 18.6 ± 0.2 โดยในการศึกษานี้มีค่าร้อยละของสารสกัดสูงกว่าการทดลองของ Phuaklee, Dechayont, Chunthong-Orn, & Itharat (2019) ซึ่งใช้วิธีการสกัดด้วยวิธีการต้มน้ำ (Decoction) และการสกัดด้วยวิธีการแช่เยี่ยวด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95.0% (Maceration) พบว่า ค่าร้อยละของสารสกัดเท่ากับ 14.8 และ 8.0 ตามลำดับ นอกจากนี้ในการศึกษานี้ยังใช้การสกัดด้วยวิธีเทคนิคการไหลซึม (Percolation) ซึ่งมีข้อดี คือ เป็นการสกัดแบบต่อเนื่องประสิทธิภาพดีกว่าการแช่สกัดเนื่องจากอัตราการแพร่กระจายภายใน (Internal diffusion rate) จะสูงอยู่ตลอดเวลา (Pattamadilok, 2023) และ การใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจะมีข้อดีคือ ปลอดภัยสำหรับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์หรืออาหารเสริมสำหรับการรับประทาน และเป็นการช่วยลดตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด ทำให้ช่วยลดปัญหาสารเคมีที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

การศึกษาในครั้งนี้ช่วยสนับสนุนทฤษฎีทางการแพทย์แผนไทย ที่มีการใช้พื้กัตตรีเกสรมาศในการแก้ท้องเสีย แก่ท้องร่วง เนื่องจากมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่อาจเป็นเชื้อก่อโรค ได้แก่ *Staphylococcus aureus* *Bacillus cereus* และ *Enterococcus faecalis* และสามารถใช่วิธีการสกัดด้วยเทคนิคการไหลซึม (Percolation) โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย สำหรับพัฒนาผลิตภัณฑ์จากพื้กัตตรีเกสรมาศต่อไป

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

การศึกษานี้ ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion assay เพียงวิธีเดียว จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมด้วยวิธีอื่นๆ เช่น วิธี Minimum inhibitory concentration วิธี Minimum bactericidal concentration เป็นต้น รวมถึงการศึกษาสารสำคัญในการออกฤทธิ์ของพื้กัตตรีเกสรมาศ ด้วยวิธี High-performance liquid chromatography (HPLC) หรือ Thin-layer chromatography (TLC) fingerprint

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากโครงการวิจัย งบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม Fundamental Fund ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

เอกสารอ้างอิง

Ayurvedic College (Cheevakakomalapaj). (2016). *Thai Pharmacy Textbook*. (2nd ed.). Bangkok: Pikanat Printing Center. (in Thai)

Ekarattanawong, S., Sookprasert, N., Boonruab, J., & Bhamarapravati, K. (2018). Medical plants treatment for diarrhea: From basic science to Thai traditional clinical application. *Journal of Medicine and Health Sciences*, 25(1), 126-138.

Henley-Smith, C. J., Steffens, F. E., Botha, F. S., & Lall, N. (2014). Predicting the influence of multiple components on microbial inhibition using a logistic response model a novel approach. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), 190.

Kumar, D., Kumar, G., & Rao, B. (2011). A review on pharmacological and phytochemical properties of *Aegle marmelos* (L.) Corr. Serr. (Rutaceae). *International Journal of Scientific Development and Research*, 9(1), 368-372.

Limsakul, S., Monthakantirat, O., Chulikhit, Y., Maneenet, J., Khamphukdee, C., Chotritthirong, Y. et al. (2024). Optimizing extraction, evaluating antioxidant activity, and analyzing bioactive compounds in Trikaysornmas formula. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2024, 8335536. <https://doi.org/10.1155/2024/8335536>

Mading, A., Chotritthirong, Y., Chulikhit, Y., Daodee, S., Boonyarat, C., Khamphukdee, C. et al. (2024). Effectiveness of Tri-Kaysorn-Mas extract in ameliorating cognitive-like behavior deficits in ovariectomized mice via activation of multiple mechanisms. *Pharmaceuticals*, 17(9), 1182. <https://doi.org/10.3390/ph17091182>

Manandhar, S., Luitel, S., & Dahal, R. K. (2019). In vitro antimicrobial activity of some medicinal plants against human pathogenic bacteria. *Journal of Tropical Medicine*, 2019, 1895340. <https://doi.org/10.1155/2019/1895340>

Meisenheimer, E. S., Epstein, C., & Thiel, D. (2022). acute-diarrhea. *American Family Physician*, 1(106), 72-80.

National Drug System Development Committee. National drug list of herbal medicine A.D. 2023. Bangkok: Thai Government Gazette. (in Thai)

Pattamadilok, D. (2023). Herbal extract preparation process. *Journal of Thai Traditional & Alternative Medicine*, 21(3), 688-689. (in Thai)

Phuaklee, P., Dechayont, B., Chunthong-Orn, J., & Itharat, A. (2019). Antioxidant, anti-allergic and anti-inflammatory activities and total phenolic compounds of Tregaysornmas formula. *Thammasat Medical Journal*, 19, 87-93. (in Thai)

Piriya, C., & Thammawijaya, P. (2023). Review: Situation of acute diarrhea and food poisoning in Thailand between October 1, 2022-February 22, 2023 from DDC Event-Based Surveillance Database. *Weekly epidemiological surveillance report*, 54(17), 261-264. (in Thai)

- Poowaruttanawiwit, P. (2024). Management of acute diarrhea in the context of community pharmacy. *Thai Journal of Pharmacy Practice*, 16(1), 25-36. (in Thai)
- Rajput, M., Jadon, A. S., & Bhadauriya, P. (2022). In-vitro evaluation of antimicrobial properties of *Nelumbo nucifera*. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*, 11(3), 085-091.
- Sihanat, A., Rittaisong, N., Chaichamnong, N., Prommee, N., Watcharaput, N., Noppakao, P., & Yamprasert, R. (2023). In vitro antioxidants activities of extract of Tri-Kasorn-Mas remedy and its plant ingredients. *Creative Science*, 15(2), 249899. <https://doi.org/10.55674/cs.v15i2.249899>
- The Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). (2020). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. (30th ed.). CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Thongphichai, W., Pongkittiphan, V., Laorpaksa, A., Wiwatcharakornkul, W., & Sukrong, S. (2023). Antimicrobial activity against foodborne pathogens and antioxidant activity of plant leaves traditionally used as food packaging. *Foods*, 12(12), 2409. <https://doi.org/10.3390/foods12122409>
- Yucharoen, R., Chaichana, O., & Srisuksomwong, P. (2024). Antibacterial activities of *Nelumbo nucifera* extract. *Life Sciences and Environment Journal*, 25(2), 427-441.