คณะเภสัชศาสตร์
ทุนวิจัยทางเภสัชศาสตร์

รายงานผลการวิจัย

คุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์สมุนไพร

Microbiological Quality of Medicinal Plant Products

โดย

อารีรัตน์ ถออปักษา
นงลักษณ์ ศรีอุบลมาศ
พีระพันธุ์ ครุธเวโช

250

กันยายน 2542

คณะเภสัชศาสตร์

ทุนวิจัยทางเภสัชศาสตร์

รายงานผลการวิจัย

คุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์สมุนไพร

Microbiological Quality of Medicinal Plant Products

โดย

อารีรัตน์ ลออปักษา

นงลักษณ์ ศรีอุบลมาศ

พีระพันธุ์ ครุธเวโช

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กันยายน 2542

ชื่อโครงงานวิจัย คุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์สมุนไพร
ชื่อผู้วิจัย อารีรัตน์ ลออปักษา
นงลักษณ์ ศรีอุบลมาศ
พีระพันธุ์ ครุธเวโช
เดือนและปีที่ทำวิจัยเสร็จ กันยายน 2542

บทคัดย่อ

การศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์สมุนไพร 120 ตัวอย่าง พบว่า มีผลิตภัณฑ์ที่เข้ามาตราฐานเป็นยารับประทาน 12 ตัวอย่าง (10.0%) ยาชง 1 ตัวอย่าง (0.8%) ยาใช้ภายนอก 4 ตัวอย่าง (3.3%) เครื่องดื่มสมุนไพร 10 ตัวอย่าง (8.3%) และเครื่องสำอางสมุนไพร 19 ตัวอย่าง (15.8%) รวมทั้งสิ้น 46 ตัวอย่าง (38.3%) ผลิตภัณฑ์สมุนไพรพบเชื้อก่อโรค 10 ตัวอย่าง (8.3%) เป็นยา 7 ตัวอย่าง (5.8%) และเครื่องสำอาง 3 ตัวอย่าง (2.5%) ในรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่พบเป็นของแข็ง รูปแบบเม็ด ลูกกลอน แคปซูลและผง ส่วนของเหลว คือ แชมพูและครีมนวดผม การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณพบจำนวนสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 , *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Streptococcus pyogenes* DMS 3393, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Escherichia coli* ATCC 25922 เป็น 66.7%, 62.5%, 50.0%, 40.0% และ 12.5% ตามลำดับ ส่วน *Tricophyton mentagrophytes* (a clinical isolate) และ *Candida albicans* ATCC 10231 เป็น 81.8% และ 58.8% ตามลำดับ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Project Tille	**Microbiological Quality of Medicinal Plant Products**
Name of the Investigator	**Areerat Laorpaksa**
	Nongluksna Sriubolmas
	Peerapun Khruddhaveacho
Year	**September 1999**

Abstract

The study on the microbiological attributes in 120 samples of the herbal products showed that 46 samples (38.3%) were microbiologically acceptable. These samples were 12 oral preparations, 1 herbal sachet, 4 topical preparations, 10 herbal drinks and 19 herbal cosmetics. Pathogenic bacteria were found in 10 samples (8.3%) : 7 samples of medicinal preparations and 3 samples (2.5%) of the herbal cosmetics. The contaminated solid forms were tablet, pill, capsule and powder. The liquid forms containing pathogenic bacteria were shampoo and conditioner. The percentage of samples exhibiting antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Streptococcus pyogenes* DMS 3393, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Escherichia coli* 25922 were 66.7, 62.5, 50.0, 40.0 and 12.5, respectively whereas those showing activities against *Trichophyton mentogrophytes* (a clinical isolate) and *Candida albicans* ATCC 10231 were 81.8% and 58.8%, respectively.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินทุนวิจัยทางเภสัชศาสตร์ ปีการเงิน 2541 คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ หัวหน้าภาควิชาจุลชีววิทยาที่ให้การสนับสนุนงานวิจัย และสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ได้อนุเคราะห์จุลินทรีย์บางสายพันธุ์ที่ใช้ในการวิจัยนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ii
กิตติกรรมประกาศ	iii
สารบัญ	iv
รายการตารางประกอบ	v
เนื้อความ	
บทนำ	1
วิธีการวิจัย	3
ผลการวิจัย	12
การอภิปรายผล	20
สรุปผลการทดลอง	26
ข้อเสนอแนะ	27
เอกสารอ้างอิง	28
ภาคผนวก 1 (อยู่ในรายงานที่ฝ่ายวิจัยไม่เผยแพร่)	30
ภาคผนวก 2	87
ภาคผนวก 3	88

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการตารางประกอบ

ตารางที่		หน้า
1	ลักษณะโคโลนีของเชื้อก่อโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อทดสอบชนิดต่างๆ	9
2	การทดสอบเพื่อพิสูจน์ *Pseudomonas aeruginosa*	9
3	การทดสอบเพื่อพิสูจน์ *Samonella* spp.	10
4	จำนวนตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ถูกตรวจพบจุลินทรีย์โดยวิธี multiple tube	12
5	จำนวนตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ถูกตรวจพบราโดยวิธีเทพลท (แบ่งตามรูปแบบของผลิตภัณฑ์)	13
6	จำนวนผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มีราแบ่งตามประเภทของผลิตภัณฑ์ และจำนวนราที่ถูกตรวจพบโดยวิธีเทพลท	14
7	จำนวนตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ตรวจพบเชื้อก่อโรค	15
8	ผลทดสอบฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณ	16
9	ผลทดสอบฤทธิ์ต้าน *Streptococcus pyogenes* DMS 3933 ของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณ	17
10	ผลทดสอบฤทธิ์ต้าน *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณ	17
11	ผลทดสอบฤทธิ์ต้าน *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Salmonella typhi* ATCC 13311 ของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณ	18
12	ผลทดสอบฤทธิ์ต้าน *Condida albicans* ATCC 10231 และ *Trichophyton mentagrophyte* (a clinical isolate) ของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณ	19
13	สัดส่วนเปอร์เซนต์ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพร	20
14	ประเภทของผลิตภัณฑ์สมุนไพร	23
15	สรรพคุณที่ระบุของผลิตภัณฑ์สมุนไพรกับจุลินทรีย์ทดสอบ	24

บทนำ

สมุนไพรมีคุณค่าเป็นที่รู้จักและนิยมใช้ในหมู่คนไทยมาแต่โบราณกาล สมุนไพรถูกนำมาใช้กันในชีวิตประจำวันมากขึ้น เนื่องจากสมุนไพรเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่ก่อให้เกิดประโยชน์ในด้านที่ใช้เป็นยารักษาโรค บำรุงสุขภาพ และประโยชน์ในด้านอื่นๆ เช่น ควบคุมแมลงศัตรูพืช ไล่มด ไล่ยุง สมุนไพรก่อให้เกิดอาการพิษและอาการข้างเคียงน้อยกว่าสารสังเคราะห์ ตลอดจนการส่งเสริมให้มีการใช้สมุนไพรในโครงการสาธารณสุขมูลฐาน ในอุตสาหกรรมยา และเพื่อการส่งออก การใช้สมุนไพรจึงขยายตัวอย่างรวดเร็ว[1,2] ผลิตภัณฑ์สมุนไพรได้แพร่หลายอยู่ในท้องตลาดเป็นจำนวนมากในการเป็นยารักษาโรคและไม่ใช่ยา เช่น อาหาร เครื่องสำอาง เป็นต้น มีทั้งเป็นผลิตภัณฑ์ภายในประเทศ และนำเข้าจากต่างประเทศ วางจำหน่ายในร้านขายยา ซุปเปอร์มาร์เก็ต แผงลอย รูปแบบของผลิตภัณฑ์มีหลายประเภท ได้แก่ ผง เม็ด แคปซูล น้ำ และครีม เป็นต้น ยาที่ผลิตจากสมุนไพรเรียกว่ายาไทยหรือยาแผนโบราณ อาจเป็นสมุนไพรชนิดเดียวหรือผสมกันมากกว่า 1 ชนิดขึ้นไปปรุงเป็นตำรับ นอกจากมีส่วนผสมของพืชแล้วยังอาจมีแร่ธาตุหรือส่วนของสัตว์ผสมอยู่ด้วย ผลิตออกเป็นยาผง ยาลูกกลอน ยาต้ม ยาชง ยากวน ยาพอก และยานัตถุ์[3] ต่อมามีการพัฒนาวิจัยศึกษาสกัดสารที่ออกฤทธิ์ นำมาทดสอบและพัฒนาออกมาเป็นยาแผนปัจจุบัน ซึ่งหน่วยงานราชการต่างๆ รวมทั้งองค์การเภสัชกรรมสามารถพัฒนายาแผนปัจจุบันจากสมุนไพรได้หลายชนิด เช่น ครีมว่านหางจระเข้ ครีมไพลซีซาล เป็นต้น[4]

ในส่วนของยาแผนโบราณ ได้มีผู้ทำการศึกษาในโครงการระวังการปนปลอมยาแผนปัจจุบันและการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในยาแผนโบราณ รายงานผลการตรวจวิเคราะห์ ในช่วงปีงบประมาณ 2534-2536 ตรวจพบจุลินทรีย์เกินเกณฑ์มาตรฐานจากยาแผนโบราณผลิตในประเทศ 27.9% ยาแผนโบราณที่นำเข้าจากต่างประเทศ 3.9% และตรวจไม่พบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค[5]

ปัจจุบันได้มีผลิตภัณฑ์บางชนิดในท้องตลาดที่มีส่วนประกอบของยาสมุนไพรแต่นำมาใช้แสดงสรรพคุณเป็นอาหารหรือใช้รูปแบบให้เข้าใจว่าเป็นอาหาร เพื่อวางจำหน่ายทั่วไปและสามารถทำโฆษณาได้ง่าย เช่น ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม เครื่องดื่มสมุนไพร เป็นต้น ผลิตภัณฑ์เหล่านี้ไม่ต้องขึ้นทะเบียนยา นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์ในรูปของผงขัดฟันสมุนไพร สมุนไพรขัดหน้า ขัดผิว พอกหน้า ผลิตภัณฑ์เหล่านี้ไม่จำเป็นต้องปลอดจุลินทรีย์ทุกประเภทแต่ต้องปลอดภัยจากจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดผลไม่พึงประสงค์หรือก่อเกิดโรค ซึ่งแสดงถึงมาตรฐานของกระบวนการผลิต

ผู้วิจัยมีความประสงค์ที่จะศึกษาคุณภาพผลิตภัณฑ์สมุนไพรทางจุลชีววิทยา เนื่องจากสมุนไพรเป็นวัตถุดิบทางธรรมชาติ มักมีสิ่งปนเปื้อนจากฝุ่น ขนนก เมล็ดพืช ทราย หิน เศษ

เหล็ก[1] ทำให้การปนเปื้อนจุลินทรีย์เกิดได้ง่าย ซึ่งมีความสำคัญต่อความปลอดภัยของผู้ใช้ การวิจัยนี้จะเป็นแนวทางในการควบคุมการผลิต ควบคุมคุณภาพทางจุลชีววิทยาในผลิตภัณฑ์สมุนไพรต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการวิจัย

1. ผลิตภัณฑ์สมุนไพร

ผลิตภัณฑ์สมุนไพร 120 ตัวอย่าง ซื้อจาก แผงลอย ห้างสรรพสินค้า ขายยาต่างๆ ในกรุงเทพมหานคร ขอนแก่น และเชียงใหม่ โดยแบ่งรูปแบบได้ดังนี้[10] (รายละเอียดของผลิตภัณฑ์อยู่ในภาคผนวก)

1.1 ผลิตภัณฑ์รูปแบบของแข็ง ได้แก่

1.1.1 ชนิดเม็ด จำนวน 6 ตัวอย่าง คือ เลขที่ D2 , D23 , D25, D27 , D31 และ D33

1.1.2 ชนิดแคปซูล จำนวน 4 ตัวอย่าง คือ เลขที่ C6 , C8 , C10 และ C11

1.1.3 ชนิดลูกกลอนหรือ pill จำนวน 21 ตัวอย่าง คือ เลขที่ I10, D1 , D3 , D4 , D6 , D10 ถึง D18 , D20 , D21 , D24 , D26 , D28 , D29 และ D32

1.1.4 ชนิดผง

A) ชนิดใช้ภายใน จำนวน 26 ตัวอย่าง คือ เลขที่ I1 ถึง I9 , I20 , I22 ถึง I25 , I27, I31 , I44 , I49 , I52 และ I56

B) ชนิดใช้ภายนอก จำนวน 10 ตัวอย่าง คือ เลขที่ I21 , I29 , A11 ถึง A16 , B5 และ B6

1.1.5 ชนิดชง จำนวน 10 ตัวอย่าง คือ เลขที่ I11 , I15 , I18 , I23 , I37 ถึง I41 และ I46

1.2 ผลิตภัณฑ์รูปแบบกึ่งแข็ง จำนวน 18 ตัวอย่าง คือ เลขที่ A20 , A21 , B1 ถึง B4 , B7 ถึง B10 , B12 , E1 ถึง E4 , E6 ถึง E8

1.3 ผลิตภัณฑ์รูปแบบของเหลว ได้แก่

1.3.1 ชนิดน้ำ จำนวน 10 ตัวอย่าง คือ เลขที่ F1 ถึง F6 , G1 ถึง G4

1.3.2 ชนิดอีมัลชั่นหรือโลชั่น จำนวน 12 ตัวอย่าง คือ เลขที่ A2 ถึง A10 , A17 ถึง A19

1.4 ผลิตภัณฑ์รูปแบบอื่นๆ ได้แก่ ยาสูดดม 3 ตัวอย่าง คือ เลขที่ H1 , H3 และ H4

2. จุลินทรีย์ทดสอบ

2.1 จุลินทรีย์ทดสอบคุณสมบัติอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อและคุณสมบัติด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่าง ได้แก่

Staphylococcus aureus ATCC 6538 P

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

Escherichia coli ATCC 25922

Salmonella typhimurium ATCC 14028

Bacillus subtilis ATCC 6633

2.2 จุลินทรีย์ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียหรือราในห้องทดลองของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณไว้

Staphylococcus aureus ATCC 29213

Streptococcus pyogenes DMS 3393

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

Escherichia coli ATCC 25922

Salmonella typhi ATCC 13311

Trichophyton mentagrophytes (a clinical isolate)

Candida albicans ATCC 10231

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

Fluid soybean casein digest medium (Merck)

Fluid lactose medium (Merck)

Cooked meat medium (Merck) หรือ BBL

Mueller Hinton agar (Merck)

Sabouraud dextrose agar (Merck)

Tryptose blood agar (Merck)

Fluid selenite-cystein medium (Merck)

Fluid tetrathionate medium (Merck)

Brilliant green agar medium (Merck)

Xylose-lysine-deoxycholate agar medium (Merck)

Bismuth sulfite agar medium (Difco) หรือ (Merck)

Triple sugar-iron agar medium (Difco) หรือ (Merck)

Mac Conkey agar medium (Difco)

Levine eosine-methylene blue agar medium (Difco)

Manitol-salt agar medium (Merck)

Cetrimide agar medium (Merck) หรือ (Difco)

Pseudomonas agar medium for detection of fluorescin (Merck)

Pseudomonas agar medium for detection of pyocyanin (Merck)

4. ขั้นตอนการวิจัย

ขั้นตอนและวิธีการทดลองเป็นการประยุกต์จากวิธีที่กำหนดในเภสัชตำรับไทย เภสัชตำรับอเมริกา เภสัชตำรับอังกฤษ และมาตรฐานกระทรวงอุตสาหกรรม[7-12]

4.1 การตรวจหาจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์มีชีวิตซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจน(Total viable aerobic microbial count) โดยวิธี multiple tube

4.1.1 การตรวจสอบคุณสมบัติอาหารเพาะเชื้อและคุณสมบัติด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่าง

4.1.1.1 การเตรียมจุลินทรีย์ทดสอบ

เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ทดสอบแต่ละสายพันธุ์ในแต่ละหลอดของfluid soybean casein digest medium (FSCDM) ที่อุณหภูมิ 37 °ซ 18-24 ชั่วโมง นำมาเจือจางด้วย FSCDM ให้ได้จำนวนเชื้อมีชีวิตประมาณ 1,000 ซีเอฟยู/มิลลิลิตร แล้วนำมาผสมกันโดยใช้ปริมาตรเท่ากันทุกสายพันธุ์

4.1.1.2 การตรวจสอบคุณสมบัติอาหารเพาะเชื้อ

เติมจุลินทรีย์ทดสอบที่เตรียมได้จากข้อ 4.1.1.1 ในปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่บรรจุ FSCDM หลอดละ 10 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด แล้วนำเข้าตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ 24 ชั่วโมง ดูผลโดยดูความขุ่น (เชื้อเจริญ) ของอาหารเพาะเชื้อ ทุกหลอดต้องมีเชื้อเจริญ

4.1.1.3 การตรวจสอบคุณสมบัติด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่าง

เติมตัวอย่าง 10 กรัม หรือ 10 มิลลิลิตร ลงใน FSCDM ให้ได้ปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วดูดตัวอย่างซึ่งเจือจาง 1:10 ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่บรรจุ FSCDM 9 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด เติมจุลินทรีย์ทดสอบที่เตรียมได้จากข้อ 4.1.1.1 ลงไปหลอดละ 0.4 มิลลิลิตร แล้วนำเข้าตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 5 วัน ดูผลโดยดูความขุ่น ทุกหลอดต้องมีเชื้อเจริญ ถ้าเชื้อไม่เจริญ แสดงว่า ตัวอย่างมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

4.1.2 การตรวจหาจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์มีชีวิตซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจน

4.1.2.1 ตัวอย่างตรวจที่ไม่มีฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์

เติมตัวอย่าง 10 กรัม หรือ 10 มิลลิลิตร ลงใน FSCDM ให้ได้ปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันได้เป็นตัวอย่างเจือจาง 1:10 แล้วนำมาเจือจางต่อใน FSCDM ให้ได้ความเข้มข้น 1:100 และ 1:1000 เตรียมหลอดที่บรรจุ FSCDM หลอดละ 9 มิลลิลิตร จำนวน 12 หลอด แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 3 หลอด เติมตัวอย่างแต่ละความเข้มข้น (1:10, 1:100, 1:1000) ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดอาหารเพาะเชื้อแต่ละกลุ่ม เติม FSCDM 1 มิลลิลิตร ลงใน

หลอดอาหารเพาะเชื้อกลุ่มสุดท้ายที่เหลือ 3 หลอด ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30-35 °ซ นาน 5 วัน ดูผลโดยดูความขุ่น นับจำนวนหลอดในแต่ละกลุ่มที่มีเชื้อเจริญ นำค่าที่ได้ไปหาจำนวนจุลินทรีย์ที่มีในตัวอย่างโดยเทียบจากตาราง Most probable number of microorganisms สำหรับกลุ่มสุดท้ายซึ่งเติม FSCDM ต้องไม่มีเชื้อเจริญ

4.1.2.2 ตัวอย่างตรวจที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

ทำวิธีเดียวกับข้อ 4.1.2.1 ตัวอย่างตรวจที่ไม่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ แต่ใช้อาหารเพาะเชื้อ คือ FSCDM ซึ่งมี soy lecithin 0.5% และ polysorbate 80 4.0% พร้อมทั้งทดสอบผลของ soy lecithin และ polysorbate 80 ในการยับยั้งฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของตัวอย่าง โดยเติมตัวอย่างเจือจาง 1:10 ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่บรรจุ FSCDM ซึ่งมี soy lecithin และ polysorbate 80 9 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด เติมจุลินทรีย์ทดสอบที่เตรียมได้ลงไปหลอดละ 0.4 มล. แล้วนำเข้าตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 °C นาน 5 วัน ดูผลโดยดูความขุ่น ทุกหลอดต้องมีเชื้อเจริญ

4.2 การตรวจสอบราโดย plate method

ดูดตัวอย่างความเข้มข้น 1:10 1:100 และ 1 : 1000 ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ ความเข้มข้นละ 2 จาน เท Sabouraud dextrose agar (มีคลอแรมเฟนิคอลในปริมาณ 50 มิลลิกรัม/1000 มิลลิลิตร) ซึ่งได้หลอมเหลวและทิ้งให้มีอุณหภูมิ 45 °C ลงในจานเพาะเชื้อ ผสมตัวอย่างให้เข้ากับอาหารเพาะเชื้อโดยหมุนจานเพาะเชื้อเบาๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเพาะเชื้อแข็งจึงนำเข้าตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 °ซ นาน 5 วัน ดูผลว่ามียีสต์และราเส้นใยเจริญขึ้นมาหรือไม่

สำหรับตัวอย่างตรวจที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทำวิธีเดียวกัน แต่ใช้อาหารเพาะเชื้อที่เติม soy lecithin 0.5% และ polysorbate 80 4.0%

4.3 การตรวจหาเชื้อก่อโรค[7-12]

Escherichia coli

Salmonella spp.

Staphylococcus aureus

Pseudomonas aeruginosa

Clostridium spp.

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพร ปริมาณ 10 มิลลิลิตร (หรือ 10 กรัม ถ้าตัวอย่างเป็นของแข็ง) ใส่ลงในอาหารเพาะเชื้อแต่ละชนิดให้ได้ปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร ดังนี้

1) Fluid soybean casein digest medium

2) Fluid lactose medium

3) Cooked meat medium ต้องอุ่นตัวอย่างที่ 100 °ซ นาน 2-3 นาที และทิ้งให้เย็นก่อนเติมตัวอย่าง หลังเติมตัวอย่างแล้วต้องนำไปบ่มที่ 65 °ซ นาน 30 นาที รอให้เย็นลงและเท sterile paraffin ลงบนอาหาร

บ่มไว้ 37 °ซ เพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อ แล้วนำมาทดสอบต่อโดยเพาะลงในอาหารเพาะเชื้อจำเพาะ เพื่อใช้ในการแยกเชื้อก่อโรคแต่ละชนิด

4.3.1 Fluid soybean casein digest medium ที่มีตัวอย่างสมุนไพรดังข้างต้น บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 18-24 ชั่วโมง แล้วถ่ายอาหารนี้ 1 loop ลงบนอาหารดังนี้

4.3.1.1 Manitol-salt agar medium บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 48-72 ชั่วโมง ดูลักษณะโคโลนีของเชื้อที่เจริญ เปรียบเทียบกับลักษณะโคโลนี ในตารางที่ 1 นำเชื้อที่เจริญมาย้อมสีกรัม ถ้าติดกรัมบวก รูปกลม เรียงตัวรูปพวงองุ่น และยืนยันผลโดยการทดสอบ coagulase test ให้ผลบวก แสดงว่าพบเชื้อ *Staphylococcus aureus*

4.3.1.2 Cetrimide agar medium บ่มที่อุณหภูมิ 37 ซ นาน 48-72 ชั่วโมง ดูลักษณะโคโลนีของเชื้อที่เจริญ เปรียบเทียบกับลักษณะโคโลนี ในตารางที่ 1 และทดสอบต่อโดยเขี่ยเชื้อ 1 โคโลนี เพาะลงบน *Pseudomonas* agar medium for detection of fluorescin และ *Pseudomonas* agar medium for detection of pyocyanin บ่มที่อุณหภูมิ 37 ซ นานอย่างน้อย 3 วัน ดูการเจริญของเชื้อภายใต้แสง UV ถ้าเกิดการเรืองแสง และทดสอบ oxidanse test ให้ผลบวกแสดงว่าพบเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ให้ยืนยันผลโดยทดสอบตามตารางที่ 2 เทียบกับเชื้อมาตรฐาน

4.3.2 Fluid lactose medium ที่มีตัวอย่างสมุนไพรและบ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 5-9 ชั่วโมง ดูดอาหารเพาะเชื้อนี้ ใส่ ลงในหลอดทดลองบรรจุ fluid selenite-cystene medium 10 มิลลิลิตร และหลอดทดลองบรรจุ fluid letrathionate medium 10 มิลลิลิตร หลอดละ 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ 12-24 ชั่วโมง และถ่ายอาหาร 1 loop จากแต่ละหลอดลงเพาะในจานอาหารเพาะเชื้อแต่ละชุด คือ

4.3.2.1 Brilliant green agar

4.3.2.2 Xylose-lysine-deoxycholate agar

4.3.2.3 Bismuth sulfile agar medium

บ่มที่อุณหภูมิ 37 ซ นาน 48-72 ชั่วโมง ดูลักษณะโคโลนีของเชื้อที่เจริญเปรียบเทียบกับลักษณะโคโลนี ในตารางที่ 1 และยืนยันผลโดยการ streak และ stab ลงใน butt-slant triple sugar-iron agar medium ถ้าพบเชื้อเจริญและได้ผลเกิดด่าง (สีแดง) ที่ส่วน slants และกรด (สีเหลือง) ในส่วน butt โดยอาจจะมีหรือไม่มีสีดำจากก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟท์ แสดงว่าน่าจะพบเชื้อในกลุ่ม *Salmonella* spp. ให้ตรวจยืนยันผลตามตารางที่ 3 เปรียบเทียบกับเชื้อมาตรฐาน

Fluid lactose medium (4.3.2) ให้บ่มต่อข้ามคืน และใช้ 1 loop เพาะบน Mac Conkey agar medium ในจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 18-24 ชั่วโมง พบการเจริญดังตารางที่ 1 ให้ทดสอบยืนยันผลโดยเพาะลงบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มี Levine eosin-methylene blue agar และดูลักษณะโคโลนี ภายใต้แสงไฟสะท้อน (refleted light) ถ้าโคโลนีมีลักษณะโลหะสะท้อน (metallic sheen) แสดงว่าเชื้อนี้ คือ *Escherichia coli*

4.3.3 Cooked meat medium ที่มีตัวอย่างสมุนไพรข้างต้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 ซ ทดสอบดูทุก 24 ชั่วโมง 4 วัน โดยใช้อาหารนี้ 1 loop เพาะลงบน defibrinated sheep blood agar medium บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ โดยสภาวะ anaerobe นาน 48 ชั่วโมง ดูการเจริญของเชื้อและการสลายเม็ดเลือดแดง เขี่ยโคโลนีเชื้อลงใน defibrinated sheep blood agar ใหม่ บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ โดยสภาวะ anaerobe นาน 48 ชั่วโมง ดูผลการเจริญของเชื้อ แล้วยืนยันผลโดยนำโคโลนีที่ได้เพาะลงใน defibrinated sheep blood agar ใหม่ 2 ชุด โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37 ซ ในสภาวะ anaerobe 1 ชุด และ aerobe 1 ชุด นาน 24-48 ชั่วโมง และดูผล เชื้อต้องเจริญในสภาวะ anaerobe และไม่เจริญในสภาวะ aerobe นำเชื้อที่เจริญมาย้อมสีกรัม จะติดสีกรัมบวกรูปร่างเป็นแท่ง แสดงว่าเชื้อนี้ คือ *Clostridium* sp. และเชื้อที่มีขนาดใหญ่ ไม่สร้างสปอร์บางครั้งติดสีไม่สม่ำเสมอ พบโคโลนีมีโซนย่อยสลายเลือด 2 ชั้น (double zone) แสดงว่าเชื้อนี้น่าจะเป็น *Cl. perfringens*

หมายเหตุ การทำการทดลองซ้ำในหัวข้อ 4.3 เพื่อการทดลองยืนยันผลการทดลองที่สงสัยหรือไม่แน่ชัดโดยวิธีการข้างต้นดังกล่าวแล้ว โดยใช้ตัวอย่างเพิ่มขึ้นเป็น 25 กรัม หรือ 25 มิลลิลิตร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อก่อโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อทดสอบชนิดต่างๆ

เชื้อก่อโรค	อาหารเลี้ยงเชื้อ	ลักษณะโคโลนีที่พบ
S. aureus	Manitol salt agar	สีเหลือง และมีโซนรอบสีเหลือง
Ps. aeruginosa	Cetrimide agar	สีเขียว
Salmonella spp.	Brilliant green agar	ขนาดเล็ก, ใส ไม่มีสีหรือสีชมพู ล้อมรอบด้วยโซนสีแดงหรือชมพู
	Bismuth sulfite agar	สีดำ หรือสีเขียว
	Xylese-lysine-desoxycholate agar	สีแดง ที่อาจจะมีหรือไม่มีจุดดำอยู่ตรงกลาง
E. coli	Mac. Conkey agar	สีชมพู หรือแดงล้อมรอบด้วยโซนของน้ำดีที่ตกตะกอน

ตารางที่ 2 การทดสอบเพื่อพิสูจน์ *Pseudomonas aeruginosa*

การทดสอบ	ลักษณะที่พบ
อุณหภูมิ 42 °ซ	เจริญได้
อาหารเลี้ยงเชื้อเติมเลือด	สีเทาขุ่นแผ่รอบเชื้อ
Triple sugar iron	สีน้ำตาลทั้งหมด (ด่างทั้งส่วนลึกและส่วนลาด)
Mac Conkey	โคโลนีไม่มีสี
Oxidative fermentation medium	สีเหลืองเฉพาะหลอดเปิดที่ไม่ได้เท mineral oil ทับ
Manitol	สีเหลือง (เกิดกรด)
D-Xylose	ไม่เปลี่ยน

ตารางที่ 3 การทดสอบเพื่อพิสูจน์ *Salmonella* spp.

การทดสอบ	ลักษณะที่พบ
Indole production	ไม่เกิด
Lysine decarboxylate	สีแดงม่วง
Citrate Simmons	สีฟ้าน้ำเงิน
Urea hydrolysis	ไม่เกิดการเปลี่ยนสีเป็นชมพู
Arabinose	สีเหลือง (เกิดกรด)
Rhamnose	สีเหลือง (เกิดกรด)
Sorbitol	สีเหลือง (เกิดกรด)
Xylose	สีเหลือง (เกิดกรด)

4.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียหรือราในห้องปฏิบัติการของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณไว้ โดย agar diffusion test[13-15]

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ระบุสรรพคุณไว้มาทดสอบกับเชื้อ ดังนี้

สรรพคุณ รักษาปากเปื่อยเป็นหนอง ใช้ *S. aureus* ATCC 29213 และ *Candida albicans* ATCC 10231

สรรพคุณ แก้เจ็บคอ ร้อนใน ใช้ *S. aureus* ATCC 29213 และ *Streptococcus pyogenes* DMS 3393

สรรพคุณ รักษาเชื้อรา ชันนะตุ รังแค ใช้ *Trichophyton mentagrophyte* (a clinical isolate) และ *Candida albicans* ATCC 10231

4.4.1 การเตรียมเชื้อทดสอบ

4.4.1.1 ยีสต์และสปอร์ของรา

เพาะเลี้ยงยีสต์และราบน Sabouraud's dextrose agar slant ที่อุณหภูมิ30°ซ นาน 24 ชั่วโมง และ 5 วัน ตามลำดับ

4.4.1.2 แบคทีเรีย

ก. เพาะเลี้ยง *Streptococcus pyogenes* DMS 3393 บน blood agar slant ที่อุณหภูมิ 37°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ข. เพาะเลี้ยงแบคทีเรียทดสอบชนิดอื่นใน FSCDM ที่ 37°ซ นาน 2-3 ชั่วโมง

4.4.1.3 การปรับความขุ่นของเชื้อ

เตรียมเชื้อทดสอบให้มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 Mc Farland Standard No.1 โดยกระจายเซลล์ยีสต์และเจือจางแบคทีเรียในน้ำเกลือปราศจากเชื้อ กระจายสปอร์ราในน้ำเกลือปราศจากเชื้อที่มี tween 80 0.05%

4.4.2 วิธีเตรียมจานเลี้ยงเชื้อทดสอบ

ใช้ปิเปตต์ดูดอาหารเพาะเชื้อ Mueller Hinton agar สำหรับแบคทีเรีย และ blood agar สำหรับ *Streptococcus pyogenes* DMS 3933 และ Sabouraud's dextrose agar สำหรับรา และยีสต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตรใส่ในจานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 90 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้จนอาหารเพาะเชื้อแข็ง

ใช้สำลีพันปลายไม้จุ่มลงใน suspension ของเชื้อที่เตรียมไว้ (4.4.1) และกดกับข้างหลอดแก้ว เพื่อไม่ให้มีปริมาณเชื้อมากเกินไป นำไปถูให้ทั่วพื้นหน้าของอาหารเพาะเชื้อ 3 ครั้ง โดยแต่ละครั้งหมุนให้มีมุมต่างกัน 60 องศา

4.4.3 การเตรียมผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์รูปแบบของแข็ง จะใช้ปริมาณตามขนาดและวิธีการใช้ที่ระบุเอาไว้ โดยใช้ปริมาตรน้ำ 10 มิลลิลิตร ยกเว้นยาสูดดม ยาป้ายคอ และยาผงทาหน้าจะใช้ปริมาตรน้ำ 5 มิลลิลิตร

ผลิตภัณฑ์ที่เหลือจะนำมาใช้ทดสอบโดยตรง

4.4.4 วิธีทดสอบ

บรรจุผลิตภัณฑ์ที่เตรียมไว้ (4.4.3) ลงใน cylinder ขนาดสูง 10 มิลลิลิตร และมีเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 6 มิลลิลิตร ที่วางอยู่บนจานเพาะเชื้อสำหรับทดสอบ (4.4.2) โดยใช้ 6 อัน ต่อจานเพาะเชื้อแบคทีเรีย ส่วนราใช้ 1 อัน ต่อจานเพาะเชื้อ โดยจะทดสอบตัวอย่างละอย่างน้อย 2 ซ้ำ

จานเพาะเชื้อแบคทีเรียนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37ซ นาน 18-24 ชั่วโมง ส่วนราและยีสต์ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30°ซ นาน 3-5 วัน

4.4.5 การอ่านผล

วัดขนาดของโซนใสรอบ cylinder ที่เกิดขึ้นในหน่วยมิลลิเมตร (ม.ม.) นำค่าที่ได้ไปหาค่าเฉลี่ย

ผลการวิจัย

I. การตรวจหาจำนวนทั้งหมดของ จุลินทรีย์มีชีวิตซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจน

การตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์โดยวิธี multiple tube พบว่า ผลิตภัณฑ์สมุนไพรจำนวน 68 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 120 ตัวอย่าง มีจุลินทรีย์มีชีวิตซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจนจำนวนมากกว่า 1,100 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร และตรวจไม่พบจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์สมุนไพรจำนวน 20 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 จำนวนตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ถูกตรวจพบจุลินทรีย์ โดยวิธี multiple tube

จำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นไปได้มากที่สุด/ตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร	จำนวนตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพร					
	ยา			เครื่องดื่ม (รวมผงละลายน้ำดื่ม)	เครื่องสำอาง	รวมทั้งหมด
	รับประทาน	ชงก่อนรับประทาน	ใช้ภายนอก			
> 1,100	42	9	5[1]	-	12	68
1,100	2	1	-	-	1	4
210	1	-	-	-	-	1
200	3	-	1[2]	-	5	9
90	-	-	1[3]	-	-	1
23 – 40	4	-	5[4]	2	2	13
< 23	-	-	-	1	3	4
0	2	-	2	7	9	20
รวมทั้งหมด	54	10	14	10	32	120

[1]ประกอบด้วยยานัตถุ์ 1 ตัวอย่าง ยาดมส้มโอมือ 2 ตัวอย่าง ยาอมและป้ายแผลในปาก 1 ตัวอย่าง และน้ำมันทาถูนวด 1 ตัวอย่าง

[2]ยาผงทาผดผื่นคัน

[3]ยารักษาแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก

[4]ประกอบด้วยขี้ผึ้งใส่แผล 2 ตัวอย่าง ขี้ผึ้งที่ระบุสรรพคุณให้ใช้กับแผลไฟไหม้และน้ำร้อนลวก 1 ตัวอย่าง น้ำมันว่านใส่แผล 1 ตัวอย่าง ยาทาถูนวด 1 ตัวอย่าง

การตรวจหาจำนวนรา (ยีสต์และราเส้นใย) ในผลิตภัณฑ์สมุนไพรโดยวิธีเทพลท พบว่าตรวจไม่พบราในตัวอย่างส่วนใหญ่ คือ ร้อยละ 74.2 ตรวจพบราเฉพาะในผลิตภัณฑ์สมุนไพร ที่มีจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์มีชีวิต จำนวนมากกว่า 1,100 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร จำนวนตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มีราแบ่งตามรูปแบบของผลิตภัณฑ์และประเภทของผลิตภัณฑ์แสดงในตารางที่ 5 และ 6 ตามลำดับ

ตารางที่ 5 จำนวนตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ถูกตรวจพบราโดยวิธีเทพลท (แบ่งตามรูปแบบของผลิตภัณฑ์)

รูปแบบของผลิตภัณฑ์สมุนไพร	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่มีรา
เม็ด	6	3
แคปซูล	4	2
ลูกกลอน	21	3
ผง (รับประทาน)	26	9
ผง (ใช้ภายนอก)	10	5
ชงก่อนรับประทาน	10	5
กึ่งแข็ง	18	1
ของเหลว (รับประทาน)	7	1
ของเหลว (ใช้ภายนอก)	3	0
อีมัลชั่นหรือโลชั่น(ใช้ภายนอก)	12	1
สูดดม	3	1
รวมทั้งหมด	120	31

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 จำนวนผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มีราแบ่งตามประเภทของผลิตภัณฑ์และจำนวนรา ที่ถูกตรวจพบโดยวิธีเทเพลท

ประเภทของผลิตภัณฑ์สมุนไพร	จำนวนผลิตภัณฑ์สมุนไพรทั้งหมด	จำนวนราที่ถูกตรวจพบ / ตัวอย่าง 1 กรัม /มิลลิลิตร	จำนวนผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มีรา
รับประทาน	64	$>5.0x10^3$	10[1]
		$<5.0x10^3$	8
ชงน้ำร้อนก่อนรับประทาน	10	$>5.0 \times 10^4$	1
		$<5.0x10^4$	4
ใช้ภายนอก	46	$>5.0x10^4$	1[2]
		$<5.0x10^4$	7

[1]ประกอบด้วยยาเม็ด 1 ตัวอย่าง แคปซูล 1 ตัวอย่าง ยาลูกกลอน 1 ตัวอย่าง ยงผง 6 ตัวอย่าง

[2]ยาดม

ผลิตภัณฑ์สมุนไพรใช้ภายนอกในตารางที่ 6 ที่มีเชื้อรา $<5.0 \times 10^4$ ประกอบด้วยเครื่องสำอางที่ใช้กับผิว 3 ตัวอย่าง ซึ่งมีราจำนวน 1.4×10^2, 3.7×10^3 และ 8.9×10^3 ซีเอฟยู/กรัม แชมพู 1 ตัวอย่าง ซึ่งมีรา $3.1x10^4$ ซีเอฟยู/มิลลิลิตร และยาสีฟัน 3 ตัวอย่าง ซึ่งมีรา $1x10^3$, $1.2x10^3$ และ $7.5x10^3$ ซีเอฟยู/กรัม

ในการตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ในตัวอย่างตรวจเหล่านี้ พบว่า ผลิตภัณฑ์สมุนไพร 18 ตัวอย่าง ประกอบด้วยผลิตภัณฑ์ประเภทยา 16 ตัวอย่าง และเครื่องสำอาง (ยาสีฟัน) 2 ตัวอย่าง มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งเมื่อใช้อาหารเพาะเชื้อที่มี soy lecithin และ polysorbate 20 ในการทดลอง และเจือจางตัวอย่างมากขึ้น ก็สามารถตรวจพบจุลินทรีย์ได้

II. การตรวจหาเชื้อก่อโรค

การตรวจหาเชื้อก่อโรคในผลิตภัณฑ์สมุนไพรทั้งหมด 120 ตัวอย่าง พบว่า มีสมุนไพร 10 ตัวอย่างที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อก่อโรค ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 จำนวนตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ตรวจพบเชื้อก่อโรค

รูปแบบ	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อก่อโรค				
	Escherichia coli	*Salmonella* spp.	*Staphylococcus aureus*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Clostridium* spp.
เม็ด	-	1	-	-	-
แคปซูล	-	-	-	-	2
ลูกกลอนหรือ pill	-	1	-	-	-
ผง	-	1	-	-	2[1]
น้ำ	-	-	-	-	1
ครีมหรือ อิมัลชั่น	-	-	-	1[2]	1[2]

[1] เครื่องสำอาง (ผงถนอมผิว 1 ตัวอย่าง)

[2] เครื่องสำอาง (ครีมนวดสมุนไพร, แชมพูสมุนไพร)

III การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียหรือราในห้องปฏิบัติการของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณไว้โดย agar diffusion Test

1. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์สมุนไพรซึ่งระบุสรรพคุณที่มีฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 จำนวน 42 ตัวอย่าง, *Streptococcus pyogenes* DMS 3933 จำนวน 16 ตัวอย่าง และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 จำนวน 10 ตัวอย่าง แสดงในตารางที่ 8, ตารางที่ 9 และตารางที่ 10 ตามลำดับ ส่วนตารางที่ 11 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Salmonella typhi* ATCC 13311 จำนวน 16 ตัวอย่าง

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านรา

ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณที่มีฤทธิ์ต้าน *Candida albicans* ATCC 10231 จำนวน 17 ตัวอย่าง และ *Trichophyton mentagrophyte* (a clinical isolate) จำนวน 11 ตัวอย่าง แสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณ

รูปแบบ	เลขที่	สรรพคุณ	ขนาดโซนใส (ม.ม)	รูปแบบ	เลขที่	สรรพคุณ	ขนาดโซนใส (ม.ม)
เม็ด	D23	แผลในปาก	0	ครีม	B2	แผลร้อนใน	24.5
	D27	เจ็บคอ, ทอนซิล	10.0				
แคปซูล	C8	รักษาแผลฝี	12.0		B3	เหงือกบวม โรคเหงือก	28.5
ลูกกลอน	D6	หลอดลมอักเสบ	12.0		B4	เหงือกบวม	29.0
	D15	โพรงจมูกอักเสบ	0		B7	แผลในปาก, เหงือกบวม	32.0
	D16	รักษาตาแดง อักเสบ	0		B8	แผลในปาก, เหงือกบวม	16.5
	D17	แก้ร้อนใน	0		B9	โรคเหงือกขจัดแบคทีเรีย	23.0
ผง	A11	สิว	0		B10	แผลในปาก เหงือกอักเสบ	24.0
	A13	สิว	0		E1	แผลสด	11.9
	A16	สิว	13.5		E2	แผลสด	0
	B5	เหงือกอักเสบ	32.0		E3	ผื่นคัน น้ำร้อนลวกไฟไหม้	12
	B6	เหงือกบวม	31.0		E4	แผลไฟไหม้น้ำร้อนลวก	0
	I4	หวัด,ระงับพิษลมร้อน	10.5		E6	แผลไฟไหม้น้ำร้อนลวก	25
	I5	หวัด, ระงับพิษลมร้อน	11.0		E8	แผล	0
	I7	หวัด	11.0	น้ำ	F4	หวัด	0
	I20	แก้เจ็บคอ	0		F5	ตารีดสีดวงระคายเคือง	12.0
	I21	แก้ร้อนใน	14.5	อิมัลชั่น	A2	รังแคคันศีรษะ	26 0
	I22	ร้อนใน	12.5	หรือโลชั่น	A19	อักเสบจากเชื้อแบคทีเรีย	10.0
	I23	ร้อนใน	0				
	I24	ร้อนใน	12.0				
	I25	ร้อนใน	14.5				
	I52	ปากเป็นแผล	15				
	I18	แก้เจ็บคอ	0				
	I39	หวัด	12.5				
	I46	หวัด	0				

ตารางที่ 9 การทดสอบฤทธิ์ต้าน *Streptococcus pyogenes* DMS 3933 ของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณ

รูปแบบ	เลขที่	สรรพคุณ	ขนาดของโซนใส (ม.ม.)
เม็ด	D27	ทอนซิลอักเสบ, เจ็บคอ	12.5
ลูกกลอน หรือ pill	D6	หลอดลมอักเสบ, หวัดลงคอ	15.5
	D15	โพรงจมูกอักเสบ	0
ผง	I4	หวัด,ระงับพิษร้อน	12.5
	I5	หวัด, ระงับพิษร้อน	15.0
	I7	หวัด	12.5
	I20	แก้ร้อนใน	0
	I21	เจ็บคอ, แผลในปาก	0
	I22	ร้อนใน	11.5
	I23	ร้อนใน	0
	I24	ร้อนใน	12.0
	I25	ร้อนใน	14.0
	I39	หวัด	0
	I46	หวัด	0
	I18	เจ็บคอ	0
อื่นๆ :-			
สูดดม	H1	หวัด, ริดสีดวงจมูก	0

ตารางที่ 10 การทดสอบฤทธิ์ต้าน *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณ

รูปแบบชนิด	เลขที่	สรรพคุณ	ขนาดโซนใส (ม.ม.)
แคปซูล	C8	รักษาแผล ฝี	0
ลูกกลอน	D16	ตาแดง, ตาอักเสบ	0
ชง	I18	เจ็บคอร้อนใน	0
ครีม	E1	แผลสด	0
	E2	แผลสด เรื้อรัง	12.0
	E3	น้ำร้อนลวกไฟไหม้	13.0
	E4	ไฟไหม้น้ำร้อนลวก	0
	E6	ไฟไหม้น้ำร้อนลวก	11.0
	E8	แผล	10.0
อิมัลชั่นหรือโลชั่น	A19	อักเสบจากเชื้อแบคทีเรีย	0

ตารางที่ 11 ผลทดสอบฤทธิ์ต้าน *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Salmonella typhi* ATCC 13311 ของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณ

รูปแบบชนิด	เลขที่	สรรพคุณ	ขนาดโซนใส (มม.)	
			E. coli	*S. typhi*
เม็ด	D22	ปวดท้อง	0	11.5
	D27	ท้องเสีย, บิดไม่มีตัว	0	0
แคปซูล	C8	แก้บิด, ปวดท้อง	11.0	0
ลูกกลอน	D3	โรคท้องเสีย	0	12.0
หรือ pill	D10	มดลูกอักเสบ	0	0
	D20	โรคประดง แก้ท้องผูก	0	11.0
	D29	ถ่ายเป็นมูกเลือด	0	0
ผง	I4	ปวดท้อง, ท้องเสีย	0	11.0
	I5	ปวดท้อง ท้องเสีย	0	0
	I7	มูกเลือด	0	11.0
	I44	ปวดท้อง	0	0
ชง	I11	ท้องร่วง ปวดท้อง	0	11.0
	I18	ท้องเสีย	11.0	14.0
	I37	ท้องร่วง	0	14.0
	I38	ท้องเสีย, แก้บิด	0	10.0
	I40	โรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ	0	13.5
	I44			

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 การทดสอบฤทธิ์ต้าน *Candida albicans* ATCC 10231 และ *Trichophyton mentagrophytes* (a clinical isolate) ของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณ

รูปแบบ	เลขที่	สรรพคุณ	ขนาดโซนใส (มม.)	
			C. albicans	*T. mentagraphytes*
ลูกกลอน	D12	โรคกุดรูง ทั้ง 20 จำพวก โรคกุดทะราด ทั้ง 20 จำพวก	0	0
อีมัลชั่นหรือโลชั่น	A2	รังแค	26.5	55.5
	A3	โรคชันนะตุ, รังแค	0	39.0
	A4	เชื้อรา, รังแค	10.5	25.4
	A5	เชื้อรา, รังแค	13.5	56.0
	A6	เชื้อรา, รังแค	0	39.3
	A7	โรคชันนะตุ, รังแค	14.0	47
	A8	เชื้อรา	45.5	80
	A17	รังแค	28.5	48.3
	A19	เชื้อรา	0	0
เม็ด	D23	แผลในปาก	0	-*
ผง	I21	แผลในปาก	0	-*
	I52	ปากเป็นแผล	33.0	-*
ครีม	B2	แผลร้อนใน	43.0	-*
	B8	แผลในปาก	35.0	-*
	B10	แผลในปาก	35.0	-*
	E4	น้ำกัดเท้า, ราในร่มผ้า	0	11.0

*ไม่ได้ทดสอบ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การอภิปรายผล

ปัจจุบันได้มีการส่งเสริมให้มีการใช้สมุนไพรโดยการผลิตผลิตภัณฑ์สมุนไพรครบวงจรในโรงพยาบาลจังหวัด โดยการสนับสนุนของกระทรวงสาธารณสุข และสนับสนุนในรูปอาหารเสริม เพื่อการใช้ภายในประเทศ และการส่งออก เพื่อทำรายได้ให้ประเทศ ปัญหาหนึ่งที่สำคัญคือ การควบคุมคุณภาพของสมุนไพรและผลิตภัณฑ์สมุนไพร

ผู้วิจัยได้สุ่มผลิตภัณฑ์สมุนไพร 120 ตัวอย่าง มาทำการทดลองหาคุณภาพทางจุลชีววิทยา ตัวอย่างที่นำมาทดลองแบ่งเป็น 4 รูปแบบ โดยมีสัดส่วนเป็นเปอร์เซนต์ดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 สัดส่วนเป็นเปอร์เซนต์ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพร

รูปแบบ	จำนวน	ร้อยละ	ชนิด	จำนวน
ของแข็ง	77	64.1	เม็ด	6
			แคปซูล	4
			ลูกกลอน	21
			ผง	36
			ชง	10
กึ่งแข็ง	18	15.00	ครีม, เจล	18
ของเหลว	22	18.3	น้ำ	10
			อิมัลชั่นหรือโลชั่น	12
อื่นๆ	3	2.5	สูดดม	3

ผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่นำมาทดสอบมีทั้งที่เป็นยาแผนโบราณที่ขึ้นทะเบียนยาแผนโบราณและที่ไม่ได้ขึ้นทะเบียนยา ผลิตภัณฑ์สมุนไพรรูปแบบเครื่องสำอาง สำหรับผม เช่น แชมพู ครีมนวดผม สำหรับใบหน้า เช่น ผงขัดผิว ครีมทาหน้า สำหรับลำตัว เช่น โลชั่นบำรุงผิว ผลิตภัณฑ์สมุนไพรเครื่องใช้ทั่วไป เช่น ยาสีฟัน เครื่องดื่ม เป็นต้น

ผลจากการตรวจหาจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์มีชีวิตซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจนด้วยวิธี multiple tube (ตารางที่ 4) แสดงให้เห็นว่า ร้อยละ 22.2 ของยารับประทาน (12 ตัวอย่าง) เข้ามาตรฐานตามที่กำหนดในเภสัชตำรับไทย (แสดงในภาคผนวก 2) ซึ่งระบุว่ายาเตรียมของเครื่องยาสมุนไพรที่ใช้ภายในมีจำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตทั้งหมดได้ไม่เกิน 5.0×10^5 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร สำหรับยารับประทานส่วนใหญ่ (ร้อยละ 77.8) ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์มากกว่า 1,100 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร นั้น ไม่สามารถระบุว่าเข้ามาตรฐานหรือไม่ เนื่องจากไม่ทราบจำนวนที่แท้จริง อย่างไรก็ตาม ถ้าพิจารณาถึงจำนวนราที่มีในผลิตภัณฑ์สมุนไพรเหล่านี้ ดังแสดงในตารางที่ 6 พบว่า ยารับประทาน 10 ตัวอย่าง (ร้อยละ 15.6) ซึ่งประกอบด้วยยาผงเป็นส่วนใหญ่ไม่เข้ามาตรฐาน เนื่องจากมีจำนวนรามากกว่า 5.0×10^3 และพบว่ามี *Salmonell* spp. อยู่ด้วย 2 ตัวอย่าง ส่วนยาสมุนไพรประเภทใช้รับประทาน 8 ตัวอย่าง ซึ่งมีจำนวนเชื้อราอยู่ในมาตรฐาน ($< 5.0 \times 10^3$) แต่กลับพบว่า *Salmonella* spp. อยู่ด้วย 1 ตัวอย่าง และ *Clostridium* spp. อยู่ด้วย 2 ตัวอย่าง นอกจากนั้นยังพบ *Clostridium* spp. ในยาผงรับประทาน 1 ตัวอย่าง ที่ตรวจไม่พบรา โดยเชื้อเหล่านี้เภสัชตำรับไทยระบุห้ามมีในยาเตรียมใช้ภายใน จึงสรุปได้ว่ายาสมุนไพรประเภทใช้รับประทานทั้งหมด 54 ตัวอย่าง มีอย่างน้อย 14 ตัวอย่าง (ร้อยละ 25.9) ไม่เข้ามาตรฐาน ซึ่งในจำนวนนี้เป็นยาเม็ด 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3.7) แคปซูล 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 5.5) ยาลูกกลอน 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 1.9) ยาผง 8 ตัวอย่าง (ร้อยละ 14.8) สัดส่วนของยาสมุนไพรประเภทใช้รับประทาน ซึ่งไม่เข้ามาตรฐานทางจุลชีววิทยาที่ได้จากการศึกษานี้มากกว่าผลการศึกษาของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ในโครงการเฝ้าระวังการปนปลอมยาแผนปัจจุบัน และการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในยาแผนโบราณ ในช่วงปี 2534-2536 ซึ่งพบว่าร้อยละ 24.1% ของตัวอย่างมีจุลินทรีย์เกินเกณฑ์มาตรฐาน แต่ผลการศึกษานั้นไม่พบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค[5]

การตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ในยาชงก่อนรับประทาน พบว่า ทุกตัวอย่างมีจุลินทรีย์ (ตารางที่ 4) และ ร้อยละ 50 ของตัวอย่างยาชงก่อนรับประทานมีรา (ตารางที่ 5) เมื่อพิจารณาถึงผลการตรวจหาจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์มีชีวิตซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจนด้วยวิธี multiple tube พบว่า ร้อยละ 10 ของตัวอย่างยาชงก่อนรับประทานเข้ามาตรฐาน คือ มีจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์มีชีวิตไม่เกิน 5.0×10^7 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม ตามที่ระบุในเภสัชตำรับไทย[7] อย่างไรก็ตาม การตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตด้วยวิธี multiple tube นี้ ไม่สามารถระบุได้ว่า ร้อยละ 90 (9 ตัวอย่าง) ของยาชงก่อนรับประทาน ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตมากกว่า 1,100 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม นี้เข้ามาตรฐานหรือไม่ แต่ถ้าพิจารณาถึงจำนวนราที่มีในตัวอย่างยาชงก่อนรับประทาน พบว่า มี 1 ตัวอย่างที่ไม่เข้ามาตรฐานตามที่กำหนดในเภสัชตำรับไทย[7] เนื่องจากมีจำนวนรามากกว่า 5.0×10^4 (ตารางที่ 6)

การตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ในยาสมุนไพรที่ใช้ภายนอก พบว่า ร้อยละ 85.7 ของตัวอย่าง (12 ตัวอย่าง) มีจุลินทรีย์ (ตารางที่ 4) โดยร้อยละ 50.0 ของตัวอย่าง (7 ตัวอย่าง) ไม่เข้ามาตรฐานตามที่กำหนดในเภสัชตำรับไทย[6] ร้อยละ 28.6 ของตัวอย่าง (4 ตัวอย่าง) เข้ามาตรฐานและร้อยละ 7.1 ของตัวอย่าง (1 ตัวอย่าง) ไม่สามารถระบุได้ เนื่องจากตรวจพบจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์มีชีวิตซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจนมากกว่า 1,100 ต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร และยาสมุนไพรชนิดนี้เป็นน้ำมันทาถูนวด ซึ่งเภสัชตำรับไทย[7] กำหนดมาตรฐานสำหรับยาเตรียมที่ใช้กับผิวหนังที่ไม่มีแผลว่ามีจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์ซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจนได้ไม่เกิน 500 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร และในการแปรผลสำหรับการตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ด้วยวิธี multiple tube เภสัชตำรับไทยกำหนดว่าไม่เกิน 5 เท่า ของจำนวนที่ระบุให้มีได้ ดังนั้น จำนวนที่ยอมรับได้ คือ 2500 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร เภสัชตำรับไทย กำหนดว่ายาที่ใช้กับแผลไฟไหม้ต้องไม่มีจุลินทรีย์ชีวิตในตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร แต่ในการศึกษานี้ พบว่า ยาสมุนไพรที่ระบุสรรพคุณให้ใช้ในแผลไฟไหม้ทั้ง 2 ตัวอย่าง ตรวจพบจุลินทรีย์มีชีวิตจำนวน 90 และ 40 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม สำหรับยาเตรียมที่ใช้กับผิวหนังที่เป็นแผล และเยื่อเมือก เช่น จมูก, คอ, หู และช่องคลอด เป็นต้น เภสัชตำรับไทยกำหนดว่ามีจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์ที่เจริญโดยอาศัยออกซิเจนได้ไม่เกิน 50 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร ในการศึกษานี้ พบว่า ยาสมุนไพรที่ระบุสรรพคุณในด้านนี้ จำนวน 4 ตัวอย่าง มีจุลินทรีย์ที่เจริญโดยอาศัยออกซิเจน มากกว่าที่กำหนดมาก คือมีจำนวนมากกว่า 1,100 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม และ 1 ใน 4 ตัวอย่างนี้ มีราถึง 5.3×10^4 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม (ตารางที่ 6) แต่ในเภสัชตำรับไทยกำหนดว่าต้องไม่มีรา ยาสมุนไพรใช้ภายนอกอีก 1 ตัวอย่างที่ไม่เข้ามาตรฐาน คือ น้ำมันว่านใส่แผล ซึ่งพบว่าจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์มีชีวิต อยู่ในมาตรฐาน แต่ตรวจพบเชื้อก่อโรค คือ *Clostridium* spp.

การศึกษานี้พบว่า เครื่องดื่มสมุนไพรส่วนใหญ่ (ร้อยละ 70) ไม่มีจุลินทรีย์ซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจน (ตารางที่ 4) มีเพียงร้อยละ 30 ที่มีจุลินทรีย์ แต่ก็มีจำนวนจุลินทรีย์เพียงเล็กน้อย คือ < 23-40 ต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เมื่อเทียบกับจำนวนจุลินทรีย์ที่กำหนดให้มีได้ในเภสัชตำรับไทย[7] สำหรับผลิตภัณฑ์ที่ใช้รับประทาน ซึ่งมีส่วนประกอบจากพืช คือ ไม่เกิน 5.0×10^4 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร

สำหรับเครื่องสำอางสมุนไพรที่นำมาตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 32 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4) ปรากฏว่าเข้ามาตรฐาน 19 ตัวอย่าง (ร้อยละ 59.4) เนื่องจากมีจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์มีชีวิต น้อยกว่า 1,000 ต่อกรัมหรือลูกบาศก์เซนติเมตร[15] และไม่พบเชื้อก่อโรค ตามที่กำหนดในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง กระทรวงอุตสาหกรรม มอก. 152-2539 (แสดงในภาคผนวก 3) สำหรับเครื่องสำอางสมุนไพร 12 ตัวอย่าง ซึ่งมีจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์ซึ่ง

การตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ในยาสมุนไพรที่ใช้ภายนอก พบว่า ร้อยละ 85.7 ของตัวอย่าง (12 ตัวอย่าง) มีจุลินทรีย์ (ตารางที่ 4) โดยร้อยละ 50.0 ของตัวอย่าง (7 ตัวอย่าง) ไม่เข้ามาตรฐานตามที่กำหนดในเภสัชตำรับไทย[6] ร้อยละ 28.6 ของตัวอย่าง (4 ตัวอย่าง) เข้ามาตรฐานและร้อยละ 7.1 ของตัวอย่าง (1 ตัวอย่าง) ไม่สามารถระบุได้ เนื่องจากตรวจพบจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์มีชีวิตซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจนมากกว่า 1,100 ต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร และยาสมุนไพรชนิดนี้เป็นน้ำมันทาถูนวด ซึ่งเภสัชตำรับไทย[7] กำหนดมาตรฐานสำหรับยาเตรียมที่ใช้กับผิวหนังที่ไม่มีแผลว่ามีจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์ซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจนได้ไม่เกิน 500 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร และในการแปรผลสำหรับการตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ด้วยวิธี multiple tube เภสัชตำรับไทยกำหนดว่าไม่เกิน 5 เท่า ของจำนวนที่ระบุให้มีได้ ดังนั้น จำนวนที่ยอมรับได้ คือ 2500 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร เภสัชตำรับไทย กำหนดว่ายาที่ใช้กับแผลไฟไหม้ต้องไม่มีจุลินทรีย์ชีวิตในตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร แต่ในการศึกษานี้ พบว่า ยาสมุนไพรที่ระบุสรรพคุณให้ใช้ในแผลไฟไหม้ทั้ง 2 ตัวอย่าง ตรวจพบจุลินทรีย์มีชีวิตจำนวน 90 และ 40 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม สำหรับยาเตรียมที่ใช้กับผิวหนังที่เป็นแผล และเยื่อเมือก เช่น จมูก, คอ, หู และช่องคลอด เป็นต้น เภสัชตำรับไทยกำหนดว่ามีจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์ที่เจริญโดยอาศัยออกซิเจนได้ไม่เกิน 50 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร ในการศึกษานี้ พบว่า ยาสมุนไพรที่ระบุสรรพคุณในด้านนี้ จำนวน 4 ตัวอย่าง มีจุลินทรีย์ที่เจริญโดยอาศัยออกซิเจน มากกว่าที่กำหนดมาก คือมีจำนวนมากกว่า 1,100 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม และ 1 ใน 4 ตัวอย่างนี้ มีราถึง 5.3×10^4 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม (ตารางที่ 6) แต่ในเภสัชตำรับไทยกำหนดว่าต้องไม่มีรา ยาสมุนไพรใช้ภายนอกอีก 1 ตัวอย่างที่ไม่เข้ามาตรฐาน คือ น้ำมันว่านใส่แผล ซึ่งพบว่าจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์มีชีวิต อยู่ในมาตรฐาน แต่ตรวจพบเชื้อก่อโรค คือ *Clostridium* spp.

การศึกษานี้พบว่า เครื่องดื่มสมุนไพรส่วนใหญ่ (ร้อยละ 70) ไม่มีจุลินทรีย์ซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจน (ตารางที่ 4) มีเพียงร้อยละ 30 ที่มีจุลินทรีย์ แต่ก็มีจำนวนจุลินทรีย์เพียงเล็กน้อย คือ < 23-40 ต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เมื่อเทียบกับจำนวนจุลินทรีย์ที่กำหนดให้มีได้ในเภสัชตำรับไทย[7] สำหรับผลิตภัณฑ์ที่ใช้รับประทาน ซึ่งมีส่วนประกอบจากพืช คือ ไม่เกิน 5.0×10^4 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร

สำหรับเครื่องสำอางสมุนไพรที่นำมาตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 32 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4) ปรากฏว่าเข้ามาตรฐาน 19 ตัวอย่าง (ร้อยละ 59.4) เนื่องจากมีจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์มีชีวิต น้อยกว่า 1,000 ต่อกรัมหรือลูกบาศก์เซนติเมตร[15] และไม่พบเชื้อก่อโรค ตามที่กำหนดในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง กระทรวงอุตสาหกรรม มอก. 152-2539 (แสดงในภาคผนวก 3) สำหรับเครื่องสำอางสมุนไพร 12 ตัวอย่าง ซึ่งมีจำนวนทั้งหมดของจุลินทรีย์ซึ่ง

เจริญโดยอาศัยออกซิเจนมากกว่า 1,100 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร เมื่อตรวจหาจำนวนเชื้อราโดยวิธีเทเพลท พบว่า 8 ตัวอย่าง ไม่เข้ามาตรฐาน คือ 6 ตัวอย่าง มีจำนวนรามากกว่า 1000 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร 2 ตัวอย่าง คือ ครีมนวดสมุนไพร 1 ตัวอย่าง มีเชื้อ *Ps. aeruginosa* และผงถนอมผิว 1 ตัวอย่าง มี *Clostridium* spp. (ตารางที่ 7) ส่วนอีก 4 ตัวอย่างไม่สามารถระบุได้ แต่ถ้าพิจารณาในด้านของจำนวนรา ผลิตภัณฑ์เหล่านี้เข้ามาตรฐาน คือ ตรวจไม่พบเชื้อรา แชมพูสมุนไพร 1 ตัวอย่าง ไม่เข้ามาตรฐาน เนื่องจากตรวจพบเชื้อก่อโรค คือ *Clostridium* spp. ถึงแม้จะตรวจไม่พบจุลินทรีย์มีชีวิตที่เจริญโดยอาศัยออกซิเจน โดยสรุปมีเครื่องสำอางสมุนไพรไม่เข้ามาตรฐานอย่างน้อย 9 ตัวอย่าง (ร้อยละ 28.1) มีการรายงานถึงการตรวจพบเชื้อก่อโรค *(Ps. aeruginosa)* ในแชมพูสมุนไพรเช่นกัน ในการศึกษาการเฝ้าระวังเพื่อความปลอดภัยจากการใช้แชมพูสระผม (เดือนตุลาคม 2532- เดือนกันยายน 2533)[16]

ในการวิจัยนี้ผลิตภัณฑ์สมุนไพรอาจแบ่งออกได้หลายประเภท ดังนี้

ตารางที่ 14 ประเภทของผลิตภัณฑ์สมุนไพร

ประเภท ผลิตภัณฑ์สมุนไพร	จำนวน (ตัวอย่าง)
ยา	78
เครื่องดื่ม	10
เครื่องสำอาง	
ยาสีฟัน	11
แป้ง	6
ครีม	3
แชมพูหรือครีมนวด	8
สบู่เหลว	3
โลชั่นล้างหน้า	1

ผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่เป็นยามีจำนวน 78 ตัวอย่าง (65.0%) ประกอบด้วยตำรับที่มีทะเบียนยาแผนโบราณ 25 ตัวอย่าง (32.1%) ตำรับที่มีวันเดือนปีผลิต 45 ตัวอย่าง (57.7%) และมีวันหมดอายุเพียง 8 ตัวอย่าง (10.3%) ตรวจพบผลิตภัณฑ์ที่มีเชื้อก่อโรครวม 10 ตัวอย่าง โดยเป็นผลิต

ภัณฑ์สมุนไพรประเภทยา 7 ตัวอย่าง และเครื่องสำอาง 3 ตัวอย่าง ประเภทของผลิตภัณฑ์ยาที่พบเชื้อก่อโรค คือ ยากวาวเครือเม็ด ยาบรรเทาริดสีดวงทวารแคปซูล, สมุนไพรบุกแคปซูล, สมุนไพรแก้มือชา- เท้าชา (อัมพาต-อัมพฤกษ์) ยามหาโยธา (ผง) ยาเขียวสามฤดู (ผง) และน้ำมันว่านสมุนไพร ในจำนวนที่มีตำรับที่ได้ขึ้นทะเบียนยา 2 ตัวอย่าง ส่วนผลิตภัณฑ์สมุนไพรอื่นที่พบเชื้อก่อโรค คือ ครีมนวดสมุนไพรประคำดีควาย, แชมพูสมุนไพรประคำดีควาย และนมผงถนอมผิว

ในการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทดสอบของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณ ดังนี้

ตารางที่ 15 สรรพคุณที่ระบุของผลิตภัณฑ์สมุนไพรกับจุลินทรีย์ทดสอบ

สรรพคุณ	จุลินทรีย์ทดสอบ
สิว, ฝี ตาอักเสบ, ผื่นคัน, เหงือกอักเสบ	*Staphylococcus aureus* ATCC 29213
แผลในปาก, แผลร้อนใน	*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Candida albicans* ATCC 10231
เจ็บคอ, ทอนซิลอักเสบ, ร้อนใน, หวัด โพรงจมูกอักเสบ, หลอดลมอักเสบ	*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Streptococcus pyogenes* DMS 3393
แผลสด, แผลเรื้อรัง, แผลฝี, น้ำร้อนลวกไฟไหม้	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213
แก้บิด, ปวดท้อง, ท้องเสีย, มดลูกอักเสบ ถ่ายเป็นมูกเลือด, โรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ	*Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Salmonella typhi* ATCC 13311
รังแค, ชันนะตุ, เชื้อรา, น้ำกัดเท้า โรคกุดจัง, คุดทะราด	*Trichophyton mentagrophyte* (a clinical isolate) และ *Candida albicans* ATCC 10231

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย คือ *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 41 ตัวอย่าง พบว่าผลิตภัณฑ์สมุนไพรมีฤทธิ์ยับยั้งโดยวัดจากขนาดโซนใส ได้ 28 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 66.7% และผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน *Streptococcus pyogenes* DMS 3933, *Ps.aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922 และ *S. typhi* ATCC 13311 เท่ากับร้อยละ 50.0, 40.0, 12.5 และ 62.5

ตามลำดับ และมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทดสอบทั้ง 2 ชนิด คือ *E. coli* ATCC 25922 และ *S. typhi* ATCC 13311 1 ตัวอย่าง

จำนวนผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณและมีฤทธิ์ต้าน *C.albicans* ATCC 10231 และ *T. mentagrophyte* (a clinical isolate) มีค่าร้อยละ 58.8% และ 81.8% ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณฤทธิ์ต้านราในการทดลองวิจัยนี้เป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบของอีมัลชั่นหรือโลชั่นมากที่สุด (9 ตัวอย่าง) และมีฤทธิ์ต้านราทดสอบทั้ง 2 ชนิด 6 ตัวอย่าง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปผลการทดลอง

ผลิตภัณฑ์สมุนไพรจำนวน 120 ตัวอย่าง พบว่า 68 ตัวอย่างมีจำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตโดยอาศัยออกซิเจนมากกว่า 1100 ต่อตัวอย่าง และพบราจำนวน 31 ตัวอย่าง 18 ตัวอย่างมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต้องเพาะในอาหารที่มี soy lecithin และ polysorbate 20 จึงสามารถตรวจพบจุลินทรีย์ได้ ผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรที่เข้ามาตรฐานเภสัชตำรับไทยแยกตามประเภท ประกอบด้วยยารับประทานจำนวนร้อยละ 22.2 (12 ตัวอย่าง), ยาชงร้อยละ 10 (1 ตัวอย่าง), ยาสมุนไพรที่ใช้ภายนอกร้อยละ 28.6 (4 ตัวอย่าง) และเครื่องดื่มสมุนไพรร้อยละ 100 (10 ตัวอย่าง) ส่วนเครื่องสำอางสมุนไพร ร้อยละ 59.4 (19 ตัวอย่าง) เข้ามาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง

การศึกษานี้พบเชื้อก่อโรคในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรทั้งหมด 10 ตัวอย่าง มีผลิตภัณฑ์ประเภทยา 7 ตัวอย่าง และเครื่องสำอาง 3 ตัวอย่าง โดยพบ *Salmonella* spp. ใน 3 ตัวอย่าง *Ps.aeruginosa* 1 ตัวอย่าง และ *Clostridium* spp. 6 ตัวอย่าง รูปแบบผลิตภัณฑ์ที่พบเป็นของแข็งในรูป เม็ด ลูกกลอน แคปซูล และผง ส่วนของเหลว คือ น้ำมัน, แชมพู และครีมนวดผม จำนวนผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ระบุสรรพคุณและมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทดสอบ ได้แก่ *S. aureus* ATCC 29213, *S.typhi* ATCC 13311, *Streptococcus pyogenes* DMS 3933, *Ps.aeruginosa* ATCC 27853 และ *E. coli* ATCC 25922 เป็นร้อยละ 66.7, 62.5, 50.0, 40.0 และ 12.5 ตามลำดับ ส่วน *T. mentagrophyte* (a clinical isolate) และ *C.albicans* ATCC 10231 เป็นร้อยละ 81.8 และ 58.8 ตามลำดับ รูปแบบผลิตภัณฑ์สมุนไพรต้านรา พบรูปแบบอีมัลชั่นหรือโลชั่นมากที่สุด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อแนะนำ

ผลของการศึกษาวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่นำมาตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยานี้ มีจำนวนอย่างน้อยร้อยละ 25 ที่ไม่เข้ามาตรฐานทางจุลชีววิทยา และร้อยละ 8.3 มีเชื้อก่อโรค จึงควรมีการศึกษาวิจัยเพื่อควบคุมการผลิตและให้ความรู้แก่ผู้ประกอบการหรือผู้ผลิตให้ตระหนักถึงความสำคัญในด้านนี้ เพื่อปรับปรุงการผลิตผลิตภัณฑ์สมุนไพรให้เข้ามาตรฐานทางจุลชีววิทยา เพื่อความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ของผู้บริโภค ควรมีการควบคุมและตรวจสอบให้มีการขึ้นทะเบียนยาสมุนไพรทุกรายการ เพื่อควบคุมฉลากกำกับยา ซึ่งบางชนิดระบุสรรพคุณไว้กว้างมาก เช่น ใช้ทาถูนวดจนถึงรักษาแผลเน่าเปื่อย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. วันดี กฤษณพันธ์ และคณะ 2536. เภสัชวินิจฉัยยาและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เล่ม 1 พิมพ์ครั้งที่ 2 พิมพ์ที่ Text and Journal Corporation Co., Ltd. ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330.
2. เอมอร โสมมะพันธ์ และคณะ 2533. ยาจากสมุนไพร พิมพ์ครั้งที่ 1 พิมพ์ที่ Text and Journal Coorporation Co., Ltd : ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330.
3. พนิดา กาญจนภี 2537. ทิศทางการวิจัย : เพื่อพัฒนายาไทยและอุตสาหกรรมยาไทย ว. องค์การเภสัชกรรม 20(2) : 51-72.
4. กฤษณา ไกรสินธุ์ 2536. ปัญหาและอุปสรรคในการพัฒนายาแผนปัจจุบันจากสมุนไพร ว. องค์การเภสัชกรรม 19 (1) : 27-33.
5. ระบบสมุนไพรและยาแผนโบราณ 2537. การสัมมนาวิชาการเพื่อการศึกษาวิเคราะห์ ระบบยาของประเทศไทย สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพมหานคร
6. อัจฉรา อุทิศวรรณกุล, 2536. รูปแบบเภสัชภัณฑ์ พิมพ์ครั้งที่ 1 สำนักพิมพ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
7. Thai Pharmacopoeia 1987. Vol.1 part 1 published with the co-operation of the Drug Administration of Thailand by Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health Bangkok 10100, Thailand.
8. The United States Pharmacopeia 22th Rursion, The National Formulary 17th ed. United States Pharmacopeial Convention Inc. Ruckville 1990.
9. British Pharmacopoeia 1993. Vol. II published on the recommendation of the Medicine Commission pursudnt to the Medicines Act 1968. London.
10. มาตรฐานอุตสาหกรรม 335 เล่ม 1-2523. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม วิธีวิเคราะห์อาหาร เล่ม 1 อาหารกระป๋อง กระทรวงอุตสาหกรรม
11. มาตรฐานอุตสาหกรรม 152-2539 มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง กระทรวงอุตสาหกรรม
12. Holt G.J., Krieg NR., Sneath PH.A., Stally JT., and Williams ST., 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th ed. Willians & Wilkins, Baltimore.
13. Lorian V. 1991. Antibiotics in Laboratory Medicine 3 rd ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

14. Bannister, B.A., Begg, N.T. and Gillespie, S.H. Infections Disease 1996. In ternational edition Blackwell Sciences London.

15. โสภณ คงสำราญ และคณะ 2524. แบคทีเรียทางการแพทย์ โครงการตำราศิริราช คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ

16. บุญศรี ภมเดชะ และปรานี ธนสิทธิ์ รายงานการศึกษาวิจัยเรื่อง การเฝ้าระวัง เพื่อความปลอดภัยจากการใช้แชมพูสระผม (เดือนตุลาคม 2532- เดือนกันยายน 2533) โดยฝ่ายควบคุมมาตรฐาน กองควบคุม เครื่องสำอาง สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากระทรวงสาธารณสุข

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก 2

เภสัชตำรับไทย[7] กำหนดมาตรฐานจุลินทรีย์สำหรับเภสัชภัณฑ์ที่ไม่ปราศจากเชื้อที่เป็นยาหยาบ (crude drug) และของผสมของยาหยาบที่ใช้ภายใน และผ่านการชงด้วยน้ำร้อน ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ภายนอกที่มียาหยาบชนิดบดหรือทั้งส่วน (whole) โดยให้ตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร มี

จำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจน (The total aerobic microbial)	ไม่เกิน 5.0×10^7
ยีสต์ และรา	ไม่เกิน 5.0×10^4
Escherichia coli	ไม่เกิน 5.0×10^2
Enterobacterias	ไม่เกิน 5.0×10^4
Bacillus anthracis	ไม่พบ
Clostridium spp.	ไม่พบ
Samonella spp.	ไม่พบ
Aspergillus flavus	ไม่พบ

ผลิตภัณฑ์ใช้ภายในอื่นที่มียาหยาบบดหรือทั้งส่วนมีกำหนดให้ตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร

จำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตเจริญโดยอาศัยออกซิเจน	ไม่เกิน 5.0×10^5
ยีสต์ และรา	ไม่เกิน 5.0×10^3
Escherichia coli	ไม่เกิน 50
Enterobacterias	ไม่เกิน 5.0×10^3
Bacillus anthracis	ไม่พบ
Clostridium spp.	ไม่พบ
Samonella spp.	ไม่พบ
Aspergillus flavus	ไม่พบ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก 3

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม ได้กำหนดมาตรฐานทางจุลชีววิทยาในเครื่องสำอางตาม มอก. 152-2518[10] ดังนี้

แบคทีเรีย ยีสต์และราทั้งหมด (Total colony count)	น้อยกว่า 1000 โคโลนีต่อกรัม
ปรซัมตีฟ โคลิฟอร์ม (Presumtive coliform)	น้อยกว่า 10 โคโลนีต่อกรัม
ฟีคัลโคไล coli (falcal coli)	น้อยกว่า 1 โคโลนี
Staphylococcus aureus	น้อยกว่า 1 โคโลนี
Pseudomonas aeruginosa	น้อยกว่า 1 โคโลนี
Samonella spp.	ต้องไม่พบใน 100 กรัม
Clostridium spp.	ต้องไม่พบใน 100 กรัม

สำหรับส่วนคุณลักษณะมาตรฐานจุลชีววิทยาในเครื่องสำอางใหม่ตาม มอก. 152-2539 มีข้อแตกต่างไปจากเดิมที่กำหนดจุลินทรีย์อื่นที่ทำให้เกิดแปรสภาพ (fault producing organisms) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศ เช่น *Clostridium* spp. ต้องไม่พบ[5]

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติ

ชื่อ นางอารีรัตน์ ลออปักษา

การศึกษา เภสัชศาสตร์บัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เภสัชศาสตร์มหาบัณฑิต (สาขาจุลชีววิทยา), จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตำแหน่ง รองศาสตราจารย์

สถานที่ทำงาน ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330
โทร. 2188381-2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย