Published online: 18 October 2019

ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของเมล็ดเทียนดำ

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Nigella sativa* Linn. SEED EXTRACTS

ศิริเนตร ปรือทอง

อีเมล์: musy.sp@gmail.com

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร. ปัญญวัฒณ์ ปินตาทอง อาจารย์ที่ปรึกษา

อีเมล์: punyawatt.pin@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

Mae Fah Luang University

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการทดสอบทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ของสารสกัดเมล็ดเทียนดำที่มีผลต่อเชื้อจุลินทรีย์ 4 ชนิด คือ *Escherichia coli Staphylococcus aureus Pseudomonas aeruginosa* และ *Candida albicans* ด้วยวิธี diffusion method ทำการเตรียมสารสกัดด้วยการสกัดแบบซอห์กเลต ใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทานอลและเฮกเซน พบว่าสารสกัดเมล็ดเทียนดำที่สกัดด้วยเฮกเซน มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Candida albicans*ได้ดีที่สุด แต่ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Pseudomonus aeruginosa* ขณะที่สารสกัดเมล็ดเทียนดำที่สกัดด้วยเอทานอล มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Candida albicans* (ค่า MIC เท่ากับ 3.12 มก./ มล. และ 25.00 มก./ มล. ตามลำดับ) ทำการศึกษาสารสำคัญด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟี-แมสสเปคโทรมิเตอร์ (GC-MS) พบว่า thymoquinone เป็นส่วนสำคัญของที่น่าจะแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในสารสกัด และพบกลุ่มน้ำมันหอมระเหยยากมากที่สุดคือปริมาณร้อยละ 98.95 เมื่อศึกษาสารสำคัญด้วยเครื่อง โครโมโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พบว่า สารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้แก่ p-hydroxybenzoic acid ,quercetin ,gallic acid และ ferulic acid

คำสำคัญ: เมล็ดเทียนดำ /การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ / *Candida albicans* / *Escherichia coli* /*Staphylococcus aureus* / *Pseudomonas aeruginosa*

Abstract

This study was conducted to test the antimicrobial activity of *Nigella sativa* Linn against four microorganisms which are *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. Extraction was carried out based on soxhlet apparatus using 2 types different solvents , i.e., ethanol and hexane. The results showed that the extracts were found to be effective against all microorganisms. As determined by disc diffusion method, it was found that *Nigella sativa* Linn which was extracted by hexane was the most effective against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* . However, there was no effect on growth of *Escherichia coli* and *Pseudomonus aeruginosa.* Minimum inhibitory concentration (MIC) was examined and found that the ethanolic extract had the lowest MIC value against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* that was equal to 3.12 and 25.00 mg/ml, respectively. Analysis of gaschromatograh-mass spectrometry (GC-MS) showed that the hexane extract contained thymoquinone that could be a main essential oil exhibiting antimicrobial activity, while fixed oil was also present in the extract (98.95%) Study of high performance liquid chromatography (HPLC) also showed that the ethanolic extract contained p-hydroxybenzoic acid ,quercetin ,gallic acid ,ferulic acid as active components.

Keywords: *Nigella sativa* L. / Antimicrobial activity / *Candida albicans* / *Escherichia coli* /*Staphylococcus aureus* / *Pseudomonas aeruginosa*

บทนำ

เทียนดำ (*Nigella sativa Linn.*) เป็นพืชสมุนไพร มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางตอนใต้และทางตะวันตกเฉียงใต้ของเอเชีย เป็นรู้จักมาหลายทศวรรษในการรักษาโรคต่างๆในทางการแพทย์แผนโบราณ น้ำมันสกัดจากเมล็ดเทียนดำเป็นยาที่มีชื่อเสียงมากสำหรับชาวอียิปต์ชื่อว่า " น้ำมันของฟาโรห์ " ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นยาครอบจักรวาล ทั้งนี้ได้มีการศึกษาค้นคว้าด้านเครื่องสำอางของเม็ดเทียนดำพบว่ายังมีน้อยมากซึ่งในด้านคุณสมบัตินั้นกลับเป็นที่น่าสนใจมากในการการนำมาพัฒนาและสร้างมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สามารถปกป้องผิวจากมลภาวะต่างๆได้โดยมีสาร thymoquinone , carvacrol , t-anethole , 4 – terpineol เป็นต้น (Aburjai, Natsheh ,2003) ฤทธิ์การต้าน

Mae Fah Luang University

เชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะแบคทีเรียและยีสต์หลายชนิด เช่น *Staphylococcus aureus Brucella melitensis, Escherichia coli* และ *Candida albicans* (Agarwal R , Kharya MD , Shrivastava R ,1979) รวมถึงมีส่วนผสมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง คือ Linoleic acid จึงพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ซึมซาบให้กับผิวและรักษาโรคผิวหนังบางชนิด เช่น กลาก , โรคสะเก็ดเงิน เป็นต้น (Ali BH,2003) ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากสกัดเมล็ดเทียนดำ รวมถึงศึกษาวิเคราะห์เชิงปริมาณและคุณภาพของสารสำคัญในจากสกัดเมล็ดเทียนดำ โดยมุ่งเน้นในการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อสามารถนำสารสกัดเมล็ดเทียนดำไปพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ในเครื่องสำอางต่างๆได้ และเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาสูตรเครื่องสำอางให้สามารถใช้อย่างแพร่หลายสู่สากลต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1.เพื่อเปรียบเทียบเวลาการสกัดเมล็ดเทียนดำด้วยวิธีการ Soxhlet extraction

2.เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเมล็ดเทียนดำ

3. เพื่อศึกษาวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของสารสกัดเมล็ดเทียนดำ

ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาเปรียบเทียบเวลาการสกัดเมล็ดเทียนดำด้วยวิธีการ Soxhlet extraction เพื่อหาฤทธิ์สารสกัดเมล็ดเทียนดำในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้แก่ *Escherichia coli Staphylococcus aureus Pseudomonus aeruginosa* และ *Candida albicans* รวมทั้งหาความเข้มข้นของสารสกัดที่เหมาะสมในการต้านเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ วิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของสารสกัด

ทบทวนวรรณกรรม

เทียนดำ *(Nigella sativa* L.*)* หรือ ยี่หร่าดำ มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Nigella sativa* L. ชื่อวงศ์ RANUNCULACEAE จัดเป็นไม้พุ่มขนาดย่อม ลำต้นตั้งตรงเป็นลำสูง ใบเดี่ยว รูปหัวใจ ดอกช่อห้อยดอกเป็นดอกเดี่ยว ออกดอกบริเวณปลายยอดหรือตามซอกใบ มีกลีบเลี้ยง 5 กลีบ มีขนาดใหญ่กว่าและยาวกว่ากลีบดอกมาก ดอกอาจเป็นสีขาวหรือสีฟ้าอ่อนอม ผลเมื่อแก่มีลักษณะคล้ายกับผลฝิ่น จะแตกออกเหนือถ้วยจีบ มีขนทั้งภายนอกและภายใน เมล็ดเล็กสีดำเท่าเมล็ดงา ทรงเหลี่ยมผิวดำด้าน ผิวหยาบหรือขรุขระ ไม่มีขน มีกลิ่นเล็กน้อย ส่วนเนื้อในเมล็ดเป็นสีขาว เมล็ดค่อนข้างแข็ง หากใช้มือถูที่เมล็ดหรือนำไปบดจะได้กลิ่นหอมฉุน มีรสชาติ เผ็ด ร้อน คล้ายกับเครื่องเทศ เมล็ดเทียนดำ

Mae Fah Luang University

ประกอบด้วยสารสำคัญดังนี้ คือ น้ำมันระเหยยาก (fixed oil) เช่น linoleic acid, oleic acid, palmitic acid ประมาณ 30% , น้ำมันระเหยง่าย (volatile oil) ประมาณ 0.5-1.5% องค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยง่ายเป็นอนุพันธ์ของควิโนน คือ thymoquinone , สารอัลคาลอยด์ เช่น nigellidine , nigellimine , nigellicine , สารซาโปนิน เช่น alpha-hederin เป็นต้น (Thai Herbal Pharmacopoeia volume III , 2009) หากเปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ของ (*Kausar A ,* 2017) ทำการเปรียบเทียบวิธีการสกัดเมล็ดเทียนดำในสารละลายที่ต่างกัน เพื่อหาวิธีการที่ดีที่สุดในการสกัดสาร Thymoquinone ที่เป็น Active สำคัญในเมล็ดเทียนดำ พบว่าสารละลายเมทานอลสามารถได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุดเมื่อเทียบกับ เฮกเซน และ ปิโตเลียมอีเทอร์ และวิธีการสกัดที่ดีสุดคือ UAE (การสกัดสารโดยการใช้คลื่นความถี่สูง) เป็นการสกัดที่ได้ปริมาณสารสำคัญมากที่สุดเมื่อเทียบกับร้อยละการผลิตจากสารอื่นๆ ถัดมาคือ วิธีการแบบ Soxhlet extraction จึงเป็นวิธีการสกัดที่นำมาทดสอบในการงานวิจัยดังกล่าว

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ระเบียบงานวิจัย

1.1 ทำความสะอาดเมล็ดเทียนดำด้วยน้ำเปล่า จากนั้นนำไปอบในตู้อบ อุณหภูมิ 60 องศา และการบดให้ละเอียด เพื่อให้ได้ผงละเอียด

1.2 จากนั้นนำเมล็ดเทียนดำที่ได้ สกัดโดย วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีการ (Soxhlet extraction) โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทานอลและเฮกเซน อัตราส่วน (1:5) โดยใช้ชุดสกัด Soxhlet extraction ทำการสกัดโดยใช้เวลา 2, 4, 6 ชั่วโมง เพื่อได้สารสกัดทั้งหมด 6 ชนิด

2. ขั้นตอนการวิจัย

2.1 การวิเคราะห์การยับยั้งการเจริญเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc Diffusion method (Clinical Laboratory Standards Institute: CLSI, 2009)

2.1.1 นำสารสกัดเมล็ดเทียนดำ 6 ชนิด ที่ได้ทั้งหมดมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์วิธีการ disc diffusion และ Ager well diffusion เพื่อคัดเลือกสารสกัดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ และรายงานผลจากการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone (มิลลิเมตร)

2.1.2 นำสารสกัดเมล็ดเทียนดำ 6 ชนิด มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี Broth microdilution (CLSI, 2009) เพื่อคัดเลือกสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์หาค่าต่ำสุด

Mae Fah Luang University

ที่สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อจุลินทรีย์ และรายงานผลเป็นความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78 และ 0.39 mg/ml

2.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrayl) การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ซึ่งเป็นการวัดค่าที่สารละลายไปทำลายอนุมูลอิสระของ DPPH โดยใช้โทรล็อกซ์ (6-Hydroxy-2,5,7,8tetramethylchlorman-2-carboxylic acid) เป็นสารละลายมาตรฐาน วัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ 517 นาโนเมตรและรายงานผลเป็นปริมาณ Trolox equivalent antioxidant capacity (mg TEAC/mL)

2.3 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ เครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟี-แมสสเปคสเปคโทรมิเตอร์ (Gas Chromatograph-Mass Spectrometer, GC-MS) (Masada, 1976, Adams, 1989) การนำสารสกัดเมล็ดเทียนดำกลุ่มที่สกัดด้วยสารละลายฮกเซนทำการฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟี-แมสสเปคสเปคโทรมิเตอร์ เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเมล็ดเทียนดำ

2.4 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ เครื่องโครมาโทรกราฟีของเหลวประสิทธิภาพสูง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) การนำสารสกัดเมล็ดเทียนดำกลุ่มที่สกัดด้วยสารละลายเอทานอล ฉีดเข้าเครื่อง HPLC เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเมล็ดเทียนดำแต่ละชนิด

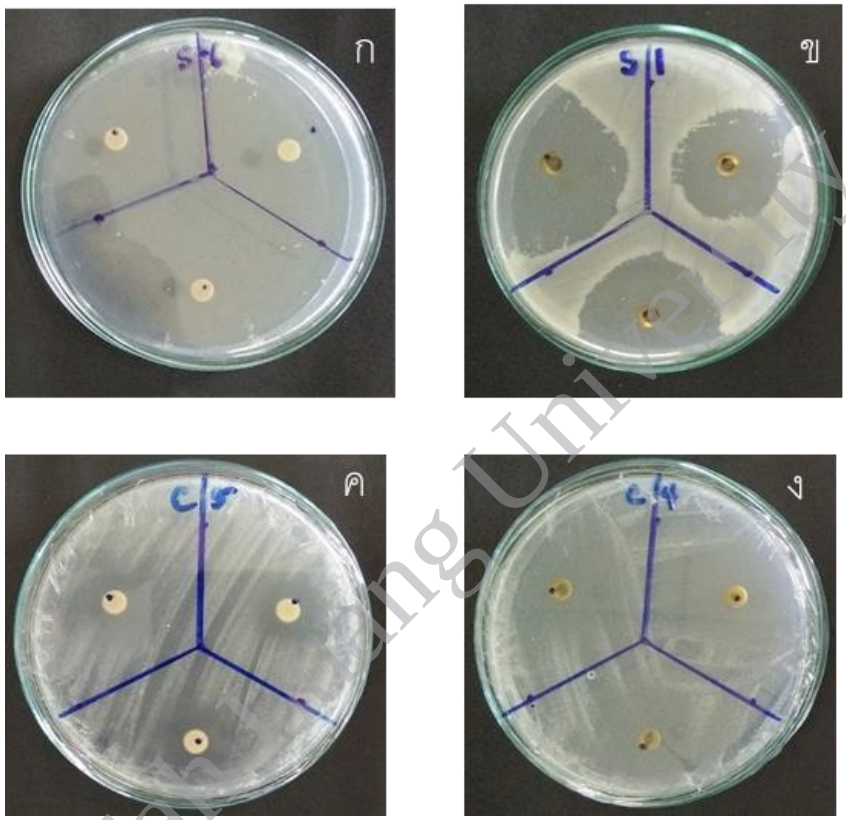
ผลการวิจัย

ประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc Diffusion method

ผลทดสอบเพื่อหาประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเชื้อจุลินทรีย์วิธี diffusion method ซึ่งผลจากการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone พบว่าเชื้อที่สารสกัดทั้ง 6 ตัวอย่าง สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus , Candida albicans* ที่ความเข้มข้น 20.00 mg / ml โดยสารสกัด 6 ตัวอย่าง ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* วิธีการ Disc diffusion ได้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone เฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ $\geq 40 \pm 0.00$ มิลลิเมตร และวิธีการ Ager well diffusion ได้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone เฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 38.83 ± 4.29มิลลิเมตร ในขณะที่ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* วิธีการ Disc diffusion ได้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone เฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 20.4 ± 1.85 มิลลิเมตร และวิธีการ Ager well diffusion ได้ขนาดเส้นผ่าน

Mae Fah Luang University

ศูนย์กลางของ Inhibition zone เฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 29.37 ± 1.50 มิลลิเมตร แต่สารสกัดทั้ง 6 ตัวอย่าง ไม่แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli , Pseudomonas aeruginosa* ได้



ภาพที่ 1 แสดงฤทธิ์การยับยั้งเชื้อเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc Diffusion method

(ก) , (ข) แสดงฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* วิธี Disc diffusion ,วิธี Ager Well diffusion ตามลำดับ

(ค) , (ง) แสดงฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *C. albians* วิธี Disc diffusion ,วิธี Ager Well diffusion ตามลำดับ

Mae Fah Luang University

ประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Broth microdilution

จากนั้นจึงนำมาทำการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Broth microdilution พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอล 6 ซม. ได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* เท่ากับ 3.125 mg/ ml พบว่า และพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอล 4 ซม. ได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans* เท่ากับ 25 mg/ ml

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH

ผลนำสารสกัดทั้ง 6 ชนิดมาศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีการ DPPH พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอล 2 ซม. มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด เท่ากับร้อยละ 63.57 และสารสกัดหยาบเฮกเซน 4 ซม. มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดเท่ากับร้อยละ 46.90

ผลการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณด้วยเครื่อง GC-MS

ตารางที่ 1 แสดงผลการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ เครื่อง (GC-MS) ของสารสกัดเมล็ดเทียนดำ (สารสกัดหยาบเฮกเซน 4 ซม.)

ลำดับ	Name	% of total
1	1,2,3,4 – tetramethylbenzene	0.077 %
2	n – Hexadecyl chloride	0.047 %
3	3,7,7-Trimethylbicyclo	0.092 %
4	Camphor	0.264 %
5	Isoborneol	0.091 %
6	Baros Camphor	0.069 %
7	Thymoquinone	0.201 %
8	Junipene	0.206 %
9	Palmitic acid	0.229 %
10	Ethyl Palmitate	2.136 %
11	Linoleic acid	62.180 %
12	Linoleic acid ethyl ester	19.304 %
13	Ethyl Oleate	12.376 %
14	Isopropyl linoleate	2.729 %
	Total	100 %

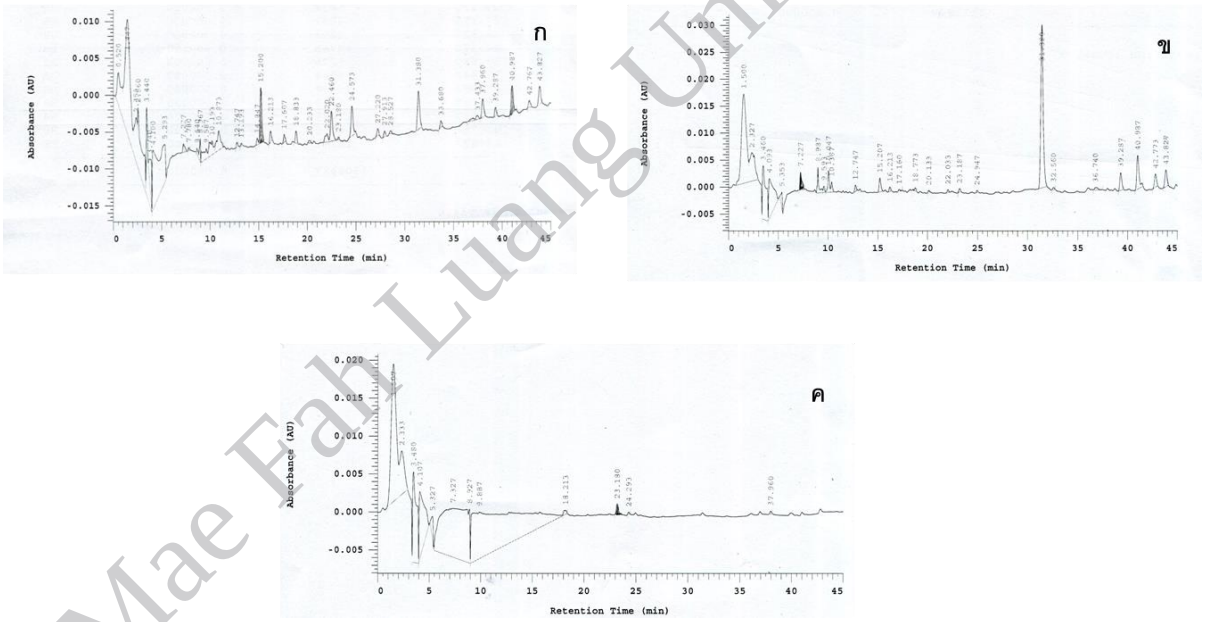
จากการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดเมล็ดเทียนดำ มีสารองค์ประกอบทั้งหมด 14 สาร จากผลการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณด้วยเครื่อง GC-MS พบกลุ่มสารไขมัน (fixed oil) มากที่สุด ได้แก่ Palmitic acid , Ethyl Palmitate , Linoleic acid , Linoleic acid ethyl ester , Ethyl Oleate , Isopropyl

Mae Fah Luang University

linoleate คิดเป็นร้อยละ 98.95 กลุ่มน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ Thymoquinone , Camphor , Isoborneol , Baros Camphor , Junipene คิดเป็นร้อยละ 0.83 โดยสารใหม่ที่น่าสนใจคือกลุ่มของสารหอมระเหยและอื่นๆ ได้แก่ 1,2,3,4 – tetramethylbenzene , n – Hexadecyl chloride , 3,7,7-Trimethylbicyclo คิดเป็นร้อยละ 0.2

ผลการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณด้วยเครื่อง HPLC

ผลของโครมาโตแกรมจากการวิเคราะห์องค์ประกอบด้วยเครื่องโครมาโทรกราฟฟีของเหลวสมรรถะสูง โดยการวิเคราะห์ตัวอย่าง สารสกัดเมล็ดเทียนดำ (สารสกัดหยาบเอทานอล 2 ซม.) ที่ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าผลสารสำคัญที่ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้แก่ p-hydroxybenzoic acid , Quercetin พบว่าที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร Gallic acid พบที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร และ Ferulic acid ระยะเวลา ที่ความยาวคลื่น 320 นาโนเมตร



ภาพที่ 2 โครมาโตแกรมของสารสกัดเมล็ดเทียนดำ (สารสกัดหยาบเอทานอล 2 ซม.)
(ก) พบ p-hydroxybenzoic acid , Quercetin พบที่ 254 นาโนเมตร (ข) พบ Gallic acid พบที่ 280 นาโนเมตร (ค) พบ Ferulic acid ที่ 320 นาโนเมตร

Mae Fah Luang University

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยทำการสกัดเมล็ดเทียนดำด้วยสารละลายที่แตกต่างกัน 2 ชนิดคือ เอทานอล และ เฮกเซน ใช้สัดส่วนระยะเวลาสารละลายที่ 2, 4 และ 6 ซม. ตามลำดับ ทำให้ได้สารสกัดทั้งหมด 6 ชนิด และนำไปทดสอบฤทธิ์ยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ วิธีการ Disc diffusion พบว่าสารสกัดทั้ง 6 ตัวอย่างที่ความเข้มข้น 20.00 mg / ml สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus , Candida albicans* แต่ไม่แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli ,Pseudomonas aeruginosa* เมื่อเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ของ (*Aishah.h* ,2013) ได้ทำการสกัดเมล็ดเทียนดำด้วยตัวทำละลายเมทานอล ซึ่งสารสกัดที่ได้สามารถยังยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone 10.0 ± 0.0 ที่ความเข้มข้น 20.00 mg / ml และยังยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas aeruginosa* 11.0 ± 1.4 mm ที่ความเข้มข้น 50.00 mg / ml จึงมีความเป็นไปได้ว่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่างกันมีผลต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone ที่วัดได้และฤทธิ์การยับยังเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ต้องใช้ความเข้มข้นสูง เช่นเดียวกันกับ งานวิจัย (Kamal B , 2014) ได้ทำการสกัดเมล็ดเทียนดำด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ (น้ำ , เอทานอล , เมทานอล , ไซโคลเฮกซาน) ที่ความเข้มข้น 100.00 mg / ml พบว่าสารสกัดด้วยตัวทำละลายจากน้ำ สามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* สารสกัดด้วยตัวทำละลายจากเมทานอลและเอทานอล สามารถ สามารถยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* และ ไม่มีมีวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายใดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* จึงสามารถวิเคราะห์ได้ว่าปริมาณความเข้มข้นและชนิดของสารละลายมีผลต่อการฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ และเมื่อทำการศึกษาสารสำคัญด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟี-แมสสเปคโทรมิเตอร์ (GC-MS) พบว่า thymoquinone เป็นส่วนสำคัญของน้ำมันหอมระเหยที่น่าจะแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในสารสกัดโดยรายงานวิจัยของ (Chaiep K, 2011) ได้ทำการศึกษาพบว่าสาร Thymoquinone ที่เป็น Active สำคัญในเมล็ดเทียนดำซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* ได้เป็นอย่างดีและพบกลุ่มน้ำมันหอมระเหยยากมากที่สุดคือปริมาณร้อยละ 98.95 เมื่อศึกษาสารสำคัญด้วยเครื่อง โครโมโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่าสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้แก่ quercetin , gallic acid , p-hydroxybenzoic acid และ ferulic acid เป็นกลุ่มที่สามารถนำไปพัฒนาสูตรเครื่องสำอางได้ต่อไป

Mae Fah Luang University

รายการอ้างอิง

ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. เทียนดำ. สืบค้น 30 มกราคม 2560, จาก http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=68

อุมาพร ทาไชสง.(2558). ความเสี่ยงต่ออันตรายจากจุลิทรีย์ที่ปนเปื้อนในเครื่องสำอาง. สืบค้น 18 กุมภาพันธ์ 2560 , จาก http://www.uniserv.buu.ac.th/forum2/topic.asp?TOPIC_ID=6359

Aburjai, T. & Natsheh, F. M. (2003). Plants used in cosmetics. *Phytother Res., 17*(9), 987-1000.

Agarwal, R., Kharya, M. D. & Shrivastava, R. (1979). Antimicrobial and anthelmintic activities of the essential oil of Nigella sativa Linn. *Ind J Exp Biol, 17,* 1264–1265.

Ali, B. H. (2003). Agents ameliorating or augmenting experimental genta- micin nephrotoxicity: some recent research. *Food Chem Toxicol., 41*, 1447–1452.

Benlafya, K., Karrouchi, K., Charkaoui, Y., El karbane, M. & Ramli, Y. (2014). Antimicrobial activity of aqueous, ethanolic, methanolic, cyclohexanic extracts and essential oil of Nigella sativa seeds. *Journal of chemical and Pharmaceutical Research, 6*(8), 9-11.

Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). (2009). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 19th informational supplement. Document M100-S19*. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute.

Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. (2009). *Thai Herbal Pharmacopoeia Vol. III*. Bangkok: Office of National Buddishm Press.

El-Dakhakhny, M., Barakat, M., El-Halim, M. A. & Aly, S. M. (2000). Effects of Nigella sativa oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats. *J Ethnopharmacol, 72*(1-2), 299-304.

Mae Fah Luang University

Ene, A. C., Nwankwo, E. A. & Samdi, L. M. (2008). Alloxan-Induced Diabetes in Rats and the Effects of Black Caraway (Carum carvi L.) Oil on Their Body Weights. *Journal of Pharmacology and Toxicology, 3*(2), 141-146.

Hasan, N. A., Nawahwi, M. Z. & Malek, H. A. (2013). Antimicrobial activity of nigella sativa seed extract. *Sains Malaysiana, 42*(2), 143–147.

Jaffary, F., Ghannadi, A. & Najafzadeh, H. (2006). Evaluation of the prophylactic effect of fennel essential oil on experimental osteoporosis model in rats. *Int J Pharmacol., 2*, 588–592.

Kausar, A. (2017). A review of filled and pristine polycarbonate blends and their applications. *J. Plast. Film. Sheet., 34*, 60-97.

Kokoska, L. (2008). Comparison of Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Nigella sativa* Seed Essential Oils Obtained by Different Extraction Methods. *Journal of Food Protection, 71*, 2475–2480.

Masada, Y. (1976). *Analysis of Essential Oils by Gascromatography and Mass Spectromelry*. New York: Wiley and Sons.

Mae Fah Luang University