21035

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองบางชนิด

(Antimicrobial Activities of Some Indigenous Plant Extracts)

T096949

นายเดชพันธุ์ สวัสดี รหัสนักศึกษา 45040140

นางสาวสุภาธร ศรีนาวรัตน์กูล รหัสนักศึกษา 45040174

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2549

ปพ.
ด๘๕๗ฤ
๒๕๔๙

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลขหมู่ 96949
เลขทะเบียน
วัน.เดือน.ปี 15 JUN 2006

หองสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองบางชนิด

(Antimicrobial Activities of Some Indigenous Plant Extracts)

จัดทำโดย

นายเดชพันธุ์ สวัสดี รหัสนักศึกษา 45040140

นางสาวสุภาธร ศรีเนาวรัตน์กุล รหัสนักศึกษา 45040174

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

วิพัสย์ อรุณ ..... 23 / มีนาคม / 2549

(วิพัสย์ อรุณ) วัน เดือน ปี

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นายเดชพันธุ์ สวัสดี และ นางสาวสุภาธร ศรีเนาวรัตน์กุล 2549 : ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองบางชนิด ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร. วริพัสย์ อารีกุล

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ในน้ำกลั่น (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากพืชพื้นเมืองจำนวน 14 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus pentosus* และ *Pediococcus acidilactici* โดยการวัดบริเวณยับยั้งด้วยวิธี Agar disc diffusion เมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์แต่ละชนิดพบว่าสารสกัดจากมะระขี้นกสามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus cereus* ได้ดีที่สุด (13.92±0.63 มิลลิเมตร) มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตบนอาหารแข็งเท่ากับ 2.5 เปอร์เซ็นต์ และมีฤทธิ์ในการทำลายจุลินทรีย์ (bacteriocidal effect) ส่วนสารสกัดจากอบเชยสามารถยับยั้งการเจริญของ *Enterococcus faecalis* ได้ดีที่สุด (7.43±0.31 มิลลิเมตร) ในขณะที่สารสกัดจากมะระขี้นกสามารถยับยั้งการเจริญของ *Lactobacillus pentosus* ได้ดีที่สุด (9.53±0.32 มิลลิเมตร) และสารสกัดจากเสนียดสามารถยับยั้งการเจริญของ *Pediococcus acidilactici* ได้ดีที่สุด (11.48±0.81 มิลลิเมตร) ในขณะที่สารสกัดจากลูกมะระขี้นก, หมีเหม็น, ตะไคร้ต้นเล็ก, สะเดา, ผักชีลาว, ส้มกุ่ย, ส้มจี๊ และกระชายดำ ไม่มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ใด ๆ

นาย เดชพันธุ์ สวัสดี นส. สุภาธร ศรีเนาวรัตน์กุล		23 มีนาคม 2549
ลายมือชื่อนักศึกษา	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา	วัน เดือน ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษในหัวข้อเรื่องฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองบางชนิดฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิตของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งในการจัดทำครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับเกียรติจาก ดร.วริพัสย์ อารีกุล มาเป็นที่ปรึกษาปัญหาพิเศษของข้าพเจ้า และได้กรุณาสละเวลาอันมีค่า มาให้คำแนะนำ คำปรึกษา และดูแลเอาใจใส่ รวมถึงการแก้ไขในส่วนที่ยังมีข้อบกพร่องอยู่ ทำให้รายงานและปัญหาพิเศษครั้งนี้สมบูรณ์

นอกจากนี้ก็ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนและคอยเอาใจช่วยให้การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ที่อำนวยความสะดวกในการเบิกยืมอุปกรณ์ สารเคมี รวมทั้งพี่ ๆ เพื่อน ๆ น้อง ๆ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรที่ให้คำแนะนำดี ๆ และช่วยเหลือให้กำลังใจข้าพเจ้าตลอดมา

เดชพันธุ์ สวัสดี

สุภาธร ศรีเนาวรัตน์กุล

24 มีนาคม 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 คำนำ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์	
2.1 สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ได้จากพืช	2
2.2 ผลของพืชบางชนิดและองค์ประกอบทางเคมีต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์	2
2.3 พืชพื้นเมือง	4
2.4 การทดสอบความไวเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ	7
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง	
3.1 วัตถุดิบ	8
3.2 อุปกรณ์	8
3.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ	9
3.4 จุลินทรีย์	9
3.5 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	9
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	
4.1 ผลการศึกษาชนิดของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองที่มีฤทธิ์ยับยั้งต่อการเจริญของจุลินทรีย์	12
4.2 การหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บนอาหารแข็ง	18
4.3 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืช	21
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการทดลอง	23
5.2 ข้อเสนอแนะ	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
เอกสารอ้างอิง	25
ภาคผนวก	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชพื้นเมือง เป็นเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone หน่วยเป็นมิลลิเมตร± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	17
2	ผลการยับยั้งจุลินทรีย์เป็น clear zone หน่วยเป็นมิลลิเมตรของมะระขี้นก และปีนนกไส้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	20
3	แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต ภายหลังจากการบ่มเพาะเชื้อ ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีสารสกัดจากมะระขี้นก 1 เปอร์เซ็นต์ ทุก ๆ 4 ชม. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	21

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

ภาพที่ หน้า

1 แสดงขนาดบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองต่อ *Bacillus cereus* 13

2 แสดงขนาดบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองต่อ *Enterococcus faecalis* 14

3 แสดงขนาดบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองต่อ *Lactobacillus pentosus* 15

4 แสดงขนาดบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองต่อ *Pediococccus acidilactici* 16

5 แสดงการยับยั้ง *Bacillus cereus* ของสารสกัดจากต้นมะระขี้นกและปีนนกไส้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 19

6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนจุลินทรีย์และเวลาในการบ่มเพาะเชื้อ 22

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

คำนำ

1.1 คำนำ

ในปัจจุบันทั่วโลกกำลังให้ความสนใจในการใช้ผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ จากธรรมชาติในการดูแลสุขภาพของตนเองเพื่อเสริมสร้างความแข็งแรงของร่างกาย โดยส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปเครื่องเทศและสมุนไพรเพื่อการประกอบอาหาร โดยการพัฒนาให้อยู่ในรูปของอาหารและสารสกัดจากพืช เนื่องจากองค์ประกอบของสารพฤกษเคมีที่สำคัญที่มีคุณสมบัติของสารชีวกิจกรรม (bioactivities) ซึ่งอาจนำมาใช้ทดแทนยาแผนปัจจุบันในการป้องกันโรคบางประเภท หรือทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ที่เติมลงในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อหลีกเลี่ยงอันตรายจากการตกค้างของสารเคมีต่าง ๆ

ดังนั้นการศึกษาสารสกัดจากพืชพื้นเมืองในประเทศไทยที่มีฤทธิ์ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร อาจเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารและทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มาจากพืช มีความหลากหลายทัดเทียมกับประเทศคู่แข่งทางการค้าต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองบางชนิดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
2. ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration, MICs) ของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ได้จากพืช

การสังเคราะห์สารประกอบต่างๆในพืชจะเป็นกลไกการป้องกันตนเองของพืชจากจุลินทรีย์และตัวทำลายอื่นๆ สารประกอบเหล่านี้เป็นสารประกอบที่ได้จากปฏิกิริยาขั้นทุติยภูมิและไม่มีความสำคัญต่อกิจกรรมพื้นฐานในการดำรงชีวิตของพืช ซึ่งส่วนใหญ่มักได้จากกระบวนการการสังเคราะห์ isoprenoid, phenylpropanoid , alkaloid หรือ fatty acid/ polyketide (Dicken และคณะ, 2000)

สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ได้จากพืชจัดแบ่งตามตำแหน่งแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

1. สารต่อต้านการติดเชื้อ (pre infectional agents) ซึ่งจะอยู่บริเวณผิวของพืชและเป็นสารประกอบกลุ่มแรกที่ทำหน้าที่ในการป้องกันพืช ตัวอย่างของสารในกลุ่มนี้ เช่น สารประกอบที่อยู่ในต่อมบริเวณผิวใบของพืช (Harpaz และคณะ, 2003)
2. สารประกอบที่พบในแวคิวโอลจะเกี่ยวข้องกับกระบวนการไฮโดรไลซิสโดยใช้เอนไซม์ที่ทำให้เกิดการย่อยสลายได้ และสารประกอบในกลุ่มนี้จะมีการสังเคราะห์อย่างต่อเนื่อง โดยจะมีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาก็ต่อเมื่อเนื้อเยื่อได้รับความเสียหายแล้ว ซึ่งหากอยู่ในสภาวะปกติสารในกลุ่มนี้จะไม่เกิดปฏิกิริยาขึ้นเช่นเดียวกับเอนไซม์ต่างๆ
3. สารประกอบ Phytoalexins ซึ่งเป็นสารประกอบที่ผลิตขึ้นเพื่อป้องกันการบุกรุกโดยเฉพาะ ซึ่งปกติจะไม่พบในพืชที่มีความความสมบูรณ์แต่จะถูกผลิตขึ้นเมื่อมีการรุกรานของจุลินทรีย์หรือปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ความแห้งแล้ง

2.2 ผลของพืชบางชนิดและองค์ประกอบทางเคมีต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

Changและคณะ (2001) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบของต้นอบเชย ซึ่งมี cinnamic aldehyde เป็นส่วนประกอบสำคัญ มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย 9 สายพันธุ์ ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* 2 สายพันธุ์, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella spp.* และ*Vibrio parphemolyticus* โดยความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งคือ 500, 1000, 250, 250, 250, 250,1000, 500 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bullermam และคณะ (1977) ได้ทดสอบผลของน้ำมันหอมระเหยของอบเชย กานพลู สารบริสุทธิ์ cinnamic aldehyde และ eugenol ต่อการเติบโตและการผลิตสารอะฟลาท็อกซินของเชื้อ *Aspergillus parasiticus* พบว่า น้ำมันหอมระเหยของอบเชย, กานพลูเข้มข้น 200-250 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตและการผลิตสารอะฟลาท็อกซินของ *Aspergillus parasiticus* เช่นเดียวกับสารบริสุทธิ์ cinnamic aldehyde และ eugenol เข้มข้น 150 และ 125 ppm ตามลำดับ ซึ่งสารประกอบ cinnamic aldehyde และ eugenol เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยของอบเชยและกานพลู

Farag และคณะ (1989) ได้ทดสอบประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศในประเทศอียิปต์ ได้แก่ ขมิ้น, กานพลู, sage, rosemary, caraway และ thyme ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ 3 สายพันธุ์, แบคทีเรียแกรมบวก 4 สายพันธุ์, แบคทีเรียชนิด acid fast 1 สายพันธุ์ และยีสต์ 1 สายพันธุ์ พบว่าแบคทีเรียแกรมลบทนต่อฤทธิ์ของเครื่องเทศมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก และน้ำมันหอมระเหยจาก thyme และขมิ้นมีประสิทธิภาพสูงกว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดอื่น ๆ ทั้งนี้พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของสารประกอบที่มีในน้ำมันหอมระเหยมีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

Bauermann และคณะ (1994) ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยในพืช 3 ชนิด คือ dill, parsley และ lovage (celery) พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดในช่วง 0.05-0.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli, Staphylococcus aureus, B. cereus, Lactobacillus plantarum, Penicillum ochraceum* และ *Candida sp.* ได้ ต่อมา Tereschuk และคณะ (1997) ศึกษาส่วนประกอบหลักจากสารสกัดของใบ *Tagetes minuta* พบว่ามีสาร quercetagetin-7-arabinosyl-galactoside ซึ่งสามารถยับยั้งการเติบโตของ *B. subtilis, E. coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis*

Chao และคณะ (2000) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *B. cereus, Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, Micrococcus luteu* รวมทั้งแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Alcaligenes faecalis , E. coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* และราบางชนิดได้แก่ *Aspergillus niger* และ *Rhizopus oligosporus*

ศรีกาญจนา (2541) ได้ทำการทดสอบความไวของ *Listeria monocytogenes* และ *Listeria innocua* ต่อสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพร 39 ชนิด พบว่ามีเพียง 8 ชนิด ได้แก่ กระชาย, ดอกจันทร์เทศ, เจตมูลเพลิงแดง, ชะเอมเทศ, ฝาง, ฟ้าทะลายโจรและมะขามแขก ที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้ง 2 สายพันธุ์ได้ เมื่อมีปริมาณสมุนไพรแห้งในสารสกัด 20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัชรี (2543) ได้ทำการศึกษาตรวจหาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบในสมุนไพร 12 ชนิด ที่สกัดด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และไดคลอโรมีเทน ตามลำดับ พบว่าพืชสมุนไพรทั้ง 12 ชนิดไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ และมีพืชสมุนไพรเพียง 9 ชนิดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ มะระขี้นก, กระชาย, กระเทียม, ฟ้าทะลายโจร, กล้วยน้ำว้า, ชุมเห็ดเทศ, ทองพันชั่ง, บัวบก, และบอระเพ็ด และจากการวิจัยเพื่อศึกษาหาวิธีการใหม่ในการเพิ่มการผลิตมะระขี้นกในห้องทดลอง โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และการตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงดังกล่าว โดยพบว่าการตรวจสอบกลุ่มสารสำคัญเบื้องต้นโดยเทคนิคทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ของรากเพาะเลี้ยงอายุ 3 เดือน ให้ผลทดสอบเป็นบวกกับสารทดสอบกลุ่มแอลคาลอยด์ ผลการต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของสารสกัดหยาบรากเพาะเลี้ยงมะระขี้นกด้วยเอธานอล ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในเมธานอล โดยวิธี Disc diffusion method พบว่าสารสกัดสามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans* (ชาลี, 2543)

สถาพร และคณะ (2546) ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพร 16 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* 10 สายพันธุ์ที่ก่อโรคในกุ้งกุลาดำ พบว่ามีสมุนไพรอยู่ 11 ชนิดที่มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งกุลาดำได้ โดยมีการยับยั้งที่แตกต่างกันตามความเข้มข้นที่ไม่เท่ากัน สมุนไพรที่น่าสนใจมีอยู่ 2 ชนิด ได้แก่ ใบฝรั่งและมะระขี้นก เนื่องจากสามารถยับยั้งเชื้อได้แม้จะใช้สารสกัดในระดับความเข้มข้นต่ำเพียง 0.625 และ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

2.3 พืชพื้นเมือง

2.3.1 มะระขี้นก

มะระขี้นกชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Momordica charantia Linn. ซึ่งเป็นพืชวงศ์ Cucurbitaceae ลักษณะทางพฤกษศาสตร์เป็นพืชล้มลุก ชนิดไม้เถามีมือเกาะ ตามลำต้นมีขน ใบเดี่ยวเรียงสลับรูปฝ่ามือกว้างและยาวประมาณ 4-7 เซนติเมตร

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ ได้แก่ มอมอร์ดิโคไซด์ (momordicoside) เป็นสารกลุ่มคิวเคอร์บิตาซิน, มอมอร์ดิซีน (momordicine) เป็นสารกลุ่มไตรเทอร์ปีน, ชาร์แรนติน (charantia) สารผสมระหว่างไฟโตสเตียรอลและไกลโคไซด์ โพลีเปปไทด์ พี และ โปรตีน MRK 29

มะระขี้นกมีสรรพคุณทางยาและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ได้แก่ รักษาโรคเบาหวาน รักษาโรคเอดส์ มีฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัส มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง แบคทีเรียและยีสต์ แก้ปวด แก้ไข เป็นต้น คนไทยนิยมบริโภคผลและยอดอ่อน เนื่องจากเป็นผักที่มีคุณค่าทางอาหารสูง มีวิตามิน แร่ธาตุและสารอาหารอีกหลายชนิดด้วยกัน (นันทวัน, 2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 ปีนนกไส้

ปีนนกไส้มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Bidens pilosa (Linn.) var. minor (Bl.) Scherff ซึ่งเป็นพืชวงศ์ Asteraceae มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์เป็นไม้ล้มลุกฤดูเดียว สูง 15 - 100 เซนติเมตร ลำต้นตั้งตรง แตกกิ่งก้านมาก ใบประกอบแบบขนนก เรียงตรงข้าม ใบย่อยรูปไข่แกมขอบขนาน กว้าง 1 - 4 เซนติเมตร ยาว 2 - 9 เซนติเมตร ใบย่อยด้านล่างรูปไข่ ด้านบนรูปใบหอก ดอกช่อ ออกที่ซอกใบ และปลายกิ่ง ดอกย่อย 20 - 40 ดอก มีชั้นใบประดับ กลีบดอกสีเหลือง ผลแห้ง ไม่แตก แบน สีน้ำตาลเข้ม

ปีนนกไส้ มีสรรพคุณทางด้านสมุนไพรหลายอย่าง ซึ่งแถวภาคเหนือถือเป็นยาพื้นบ้านตำรับล้านนาโดยใช้รากมาต้มน้ำดื่มแก้หวัด

2.3.3 อบเชย

อบเชยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Cinnamomum zeylanicum Breyn เป็นพืชวงศ์ Lauraceae อบเชยมีหลายชนิดซึ่งคุณภาพแตกต่างกันไป ตามสถานที่ปลูกหรือแหล่งผลิต เช่น อบเชยเทศ อบเชยจีน อบเชยญวนและอบเชยไทย ส่วนที่นำมาใช้คือ เปลือกของใบและกิ่งก้าน

สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในอบเชย โดยเมื่อนำเปลือกของอบเชยเทศมากลั่นด้วยไอน้ำจะได้น้ำมันหอมระเหยประมาณ 0.5-1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในน้ำมันอบเชยเทศจะประกอบด้วยสารหลายชนิด เช่น ยูจีนอล (eugenol), ยูจีนอลอะซิเตท (eugenol acetate), ซินนามิลอะซิเตท (cinnamyl acetate), ซินนามิลแอลกอฮอล์ (cinnamyl alcohol), เบนซาลดีไฮด์ (benzaldehyde), ลินาลูล (linalool) เป็นต้น จากองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยดังกล่าว พบว่ามีซินนามิคอัลดีไฮด์มากที่สุด 65-70 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ยูจีนอล 10-12 เปอร์เซ็นต์

อบเชยมีสรรพคุณทางยาและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ได้แก่ ช่วยขับเหงื่อ ให้ความสดชื่น แก้อาการอ่อนเพลีย น้ำมันอบเชยเทศใช้เป็นส่วนผสมในยาขับลม แก้อาการท้องอืดท้องเฟ้อ มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อราและเชื้อจุลินทรีย์ แต่มีผลข้างเคียง คือก่อให้เกิดความระคายเคือง (บัญญัติ , 2527)

2.3.4 ผักชีลาว

ผักชีลาวชื่อวิทยาศาสตร์ *Foeniculum vulgare* Mill. เป็นพืชวงศ์ Umbelliferae ลักษณะทางพฤกษศาสตร์เป็นพืชล้มลุกตระกูลเดียวกับผักชีแต่ต้นสูงกว่า ลำต้นสีเขียวสด กิ่งก้านแตกแขนงมากมาย ใบเป็นเส้นฝอยมีสีฟ้าอมเขียว ดอกมีสีเหลืองออกเป็นช่อ ก้านดอกมีลักษณะคล้ายซี่ร่ม

สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญ ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยและน้ำมันระเหยยาก ได้แก่ ทราลอะนีโทล ซึ่งสารชนิดนี้จะมีปริมาณที่ต่างกันตามแหล่งเพาะปลูก พันธุ์ และการเก็บเกี่ยว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารสำคัญอื่นๆ เช่น เอสทราโกล, ลิโมนีน, แคมฟีน และสารประเภท โมโนเทอร์ปีน ไฮโดรคาร์บอน เป็นต้น

ผักชีลาวมีสรรพคุณทางยาและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ต้นและใบสดมีฤทธิ์ขับปัสสาวะ ส่วนรากมีฤทธิ์ช่วยให้ระบาย รักษาอาการคลื่นไส้อาเจียน ปวดท้อง ปวดข้อ และไส้เลื่อน ช่วยขับลม รักษาโรคที่เกี่ยวกับระบบย่อย รักษาแผลในปาก เป็นต้น (นันทวัน, 2541)

2.3.5 เสนียด

เสนียดชื่อวิทยาศาสตร์ *Justicia adhatoda* L. ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Acanthaceae ลักษณะทางพฤกษศาสตร์เป็นไม้พุ่มขนาดกลางมีความสูงประมาณ 2-3 เมตร ใบเดี่ยวรูปหอกเรียว ออกตรงข้ามเป็นคู่ ๆ ก้านอ่อนรูปสี่เหลี่ยม ยอดอ่อนมีขนเล็กน้อย ดอกสีขาว สีม่วง โคนเป็นหลอดปลายแยกเป็นกลีบ 5 กลีบ ออกเป็นช่อตามซอกใบ ฝักกลมยาว 2 เซนติเมตร มีขน เมล็ด 4 เมล็ด ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

เสนียดมีสรรพคุณทางยาและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ก้านใบ ลดอาการเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ, ขับเสมหะ, แก้หอบหืด, ไอ, แก้ไข้, แก้ปวดบวม, แก้กระดูกหัก, เลือดคั่ง, ปวดข้อ, บำรุงน้ำดี, ราก ขับเสมหะ, คลายกล้ามเนื้อเรียบ, ฆ่าเชื้อโรค, ขับพยาธิ, แก้ปอดพิการ

2.3.6 ราชาวดีป่า

ราชาวดีป่าชื่อวิทยาศาสตร์ Buddleja asiatica Lour. ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Buddlejaceae ลักษณะทางพฤกษศาสตร์เป็นไม้พุ่ม ลำต้นตั้งตรง สูง 1 - 5 เมตร ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามรูปขอบขนานถึงรูปใบหอกแคบ กว้าง 1 - 3 เซนติเมตร ยาว 9 - 14 เซนติเมตร มีขนนุ่มละเอียดสีขาวหนาแน่นที่ท้องใบ ดอกช่อ ออกที่ปลายกิ่งดอกย่อยจำนวนมาก กลีบดอกสีขาวถึงม่วงอ่อน ผลแห้งรูปกระสวย แตกตามตะเข็บเป็น 2 ฝา

ราชาวดีป่ามีสรรพคุณทางยาและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ใบและลำต้น ต้มน้ำล้างช่องคลอด แก้หนองใน ยาพื้นบ้านใช้ ลำต้น ราก ผสมสมุนไพรอื่น ต้มน้ำดื่ม หรือฝนน้ำกิน แก้ไข้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 การทดสอบความไวเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ

การทดสอบความไวเชื้อต่อยาต้านจุลชีพมีหลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีในการใช้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ลักษณะงาน ชนิดของเชื้อทดสอบ จำนวนเชื้อทดสอบ ชนิดและจำนวนยา เป็นต้น แต่สำหรับวิธีที่ได้รับความนิยมและเป็นวิธีมาตรฐานแบ่งได้ 3 วิธี (มาลิน, 2542) ดังนี้

2.4.1 การเจือจางยาในอาหารเหลว (Broth dilution method)

วิธีนี้สามารถทดสอบในหลอดทดลอง โดยนำยาเจือจางในอาหารเหลวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในลักษณะลดลงทุกๆ 2 เท่า จากนั้นใส่เชื้อลงในอาหาร ภายหลังการเพาะบ่ม สังเกตความขุ่นใสของอาหารและแปรผลการทดสอบ การทดสอบด้วยวิธีนี้สามารถรู้ผลได้เร็ว และใช้ทดสอบวิถีการออกฤทธิ์ของยาฆ่าเชื้อได้

2.4.2 การเจือจางยาในอาหารวุ้น (Agar dilution method)

นำยาเจือจางด้วยน้ำหรือตัวเจือจางที่เหมาะสมจนได้ระดับความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของความเข้มข้นทดสอบ แล้วผสมกับอาหารวุ้นตั้งทิ้งไว้ให้แข็ง หลังจากนั้นทำการเพาะเชื้อทดสอบแล้วแตะลงบนอาหารวุ้นที่เตรียมไว้ สังเกตการเจริญของเชื้อบนอาหารหลังการเพาะบ่ม การทดสอบด้วยวิธีนี้สามารถใช้ทดสอบเชื้อหลายชนิดในเวลาเดียวกันและสามารถสังเกตการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นได้

2.4.3 การให้ยาซึมซ่านในอาหารวุ้น (Agar diffusion method)

วิธีนี้อาศัยหลักการแพร่ซึม โดยนำยาต้านจุลชีพใส่ในสิ่งรองรับซึ่งอยู่บนหรือในอาหารวุ้นที่ได้เพาะเชื้อไว้แล้ว ภายหลังการเพาะบ่ม สังเกตรอบบริเวณสิ่งรองรับที่ตัวยาซึมซ่านว่ามีบริเวณใส (inhibition zone) ซึ่งไม่มีเชื้อเกิดขึ้นหรือไม่ วิธีนี้สามารถทำได้หลายรูปแบบขึ้นกับสิ่งรองรับตัวยา เช่น สิ่งรองรับเป็นหลุมที่เจาะลงในอาหารวุ้น (Agar-well diffusion method) สิ่งรองรับเป็นถ้วยโลหะทรงกระบอก (Cup diffusion method) หรือกระดาษซับกลมซึมซ่านในอาหารวุ้น (Agar–disc diffusion method) ทั้งนี้ปัจจุบันการใช้กระดาษซับกลมเป็นที่นิยม เนื่องจากสะดวกต่อการใช้งาน แต่การทดสอบแบบใช้สิ่งรองรับเป็นหลุมและถ้วยนั้นสามารถเห็นผลการทดสอบได้ชัดเจนกว่า จึงเหมาะกับยาที่มีการซึมซ่านได้ยาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

ตัวอย่างพืชพื้นเมืองทั้งหมด 14 ตัวอย่าง ได้รับจากสถานีวิจัยหลวงอ่างขาง มูลนิธิโครงการหลวง อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่

1. ปืนนกไส้ (*Bidens pilosa* L. วงศ์ Bignoniaceae)
2. ราชาวดีป่า (*Buddleja asiatica* Lour วงศ์ Buddlejaceae)
3. ส้มจี้ (*Embelia ribes* Burm.f. วงศ์ Myrsinaceae)
4. ส้มกุ่ย (*Embelia sessiliflora* Kurtz วงศ์ Myrsinaceae)
5. เสนียด (*Justicia adhatoda* L. วงศ์ Acanthaccae)
6. ลูกมะระขี้นก (*Momordica charantia* L. วงศ์ Cucurbitaccae)
7. ต้นมะระขี้นก (*Momordica charantia* L. วงศ์ Cucurbitaceae)
8. ผักชีลาว (*Foeniculum vulgare* Miller วงศ์ Umbelliferae)
9. ตะไคร้ต้นเล็ก (*Litsea cubeba* Pers.)
10. ผักปราบใบเรียว (*Commelina diffusa* Burm.f. วงศ์ Commelinaceae)
11. หมีเหม็น (*Litsea glutinosa* (Lour.) C.B. Rob. วงศ์ Lauraceae)
12. อบเชย (*Cinnamomum zeylanicum* Breyn วงศ์ Lauraceae)
13. กระชายดำ (*Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker วงศ์ Zingiberaceae)
14. สะเดา (*Azadirachta indica* A. Juss. วงศ์ Meliaceae)

3.2 อุปกรณ์

1. เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotavapor BUCHI R-114, Switzerland)
2. เครื่องชั่งชนิดละเอียด (Mettler PE 3000, Switzerland)
3. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert, Germany)
4. เครื่องบด (Blender)
5. หม้อนึ่งความดัน (Tomy SS-245, Japan)
6. ตู้บ่มเชื้อ (Memmert, Germany)
7. ตู้เขี่ยเชื้อแบบ Larminar flow (Woerden, Belgium)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ตู้อบลมร้อน (Memmert, Germany)
9. เครื่องอบแห้งแบบ Tray dry (Patch OV 006, Germany)
10. โถดูดความชื้น (desiccator)
11. เครื่องแก้วที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมี

3.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. แอลกอฮอล์ 80 เปอร์เซ็นต์
2. Trypticase Soy Broth (Merck, Germany)
3. MRS (Scharlau, Spain)
4. Agar (Merck, Germany)
5. Chloramphenicol (Oxoid, England)

3.4 จุลินทรีย์

1. *Bacillus cereus* TISTR 121
2. *Enterococcus faecalis* TISTR 888
3. *Lactobacillus pentosus* TISTR 849
4. *Pediococcus acidilactici* TISTR 952

3.5 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.5.1 การเตรียมวัตถุดิบตัวอย่างพืช

นำพืชพื้นเมืองมาล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (Tray drier) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บดด้วยเครื่องบด (Blender) เก็บใส่ถุงพลาสติก ปิดผนึกด้วยเครื่องปิดผนึกสุญญากาศ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส

3.5.2 การสกัดสารตัวอย่างจากพืช

ชั่งตัวอย่างพืชจากข้อ 3.7.1 จำนวน 25 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ 500 มิลลิลิตร เติมแอลกอฮอล์ 250 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1: 10) คนผสมให้เข้ากัน สกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำสารสกัดที่ได้กรองผ่านกรวยกรองบุชเนอร์ด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 และระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสจนได้สารสกัดเข้มข้น เก็บตัวอย่างสารที่สกัดได้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.3 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ได้แก่ *Bacillus cereus, Enterococcus faecalis, Lactobacillus pentosus* และ *Pediococcus acidilactici* ใช้วิธี Agar disc diffusion ซึ่งอาศัยการแพร่ซึมของสารละลายที่ต้องการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเพาะเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบไว้แล้ว โดยใช้กระดาษซับกลม (paper disc) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อเป็นตัวรองรับสารละลาย ภายหลังการบ่มแปรผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส (inhibition zone) ซึ่งบ่งบอกถึงความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร และขั้นตอนของการทดสอบมีดังนี้

3.5.3.1 การเตรียมสารละลายจากสารสกัดของพืชพื้นเมือง

เตรียมสารสกัดจากพืชให้ได้ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อ ทั้งนี้จะใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นชุดควบคุมผลเชิงลบ (negative control) และใช้ chloramphenicol 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมผลเชิงบวก (positive control)

3.5.3.2 การเตรียมจุลินทรีย์ทดสอบ

ถ่ายเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ (pure culture) โดยห่วงเขี่ยเชื้อ (loop) จำนวน 1 loop ลงในหลอดอาหารเหลว Trypticase Soy Broth (TSB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18 – 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อแบคทีเรียแลคติกบริสุทธิ์ (pure culture) จะเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MRS ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 – 48 ชั่วโมง เชื้อที่ได้จะใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืช

3.5.3.3 การเพาะเลี้ยงเชื้อทดสอบ

นำอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar (TSA) หลอมเหลว 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับเชื้อเริ่มต้น (ความเข้มข้นของเซลล์ 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร) จำนวน 10 ไมโครลิตร เทบนผิวอาหาร TSA ที่แข็งตัวแล้วในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้เทคนิค pour plate ให้อาหารผสมเชื้อเริ่มต้นกระจายทั่วผิวหน้าอาหารแข็งชั้นแรก และรอให้อาหารชั้นที่สองแข็งตัว นำ paper disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หยดสารละลายสกัดจากพืชแต่ละชนิดปริมาณ 20 ไมโครลิตร วางลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อทดสอบ ตั้งทิ้งไว้นานประมาณ 15 นาที เพื่อให้สารแพร่ในชั้นอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18 - 24 ชั่วโมง การอ่านผลการยับยั้งจะทำโดยบันทึกผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

21035

(inhibition zone) รอบ paper disc ที่วัดได้ และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยของโซนใสหน่วยเป็นมิลลิเมตร

ส่วนเชื้อแบคทีเรียแลคติกจะทดสอบในอาหาร MRS ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง การอ่านผลการยับยั้งจะทำโดยบันทึกผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (inhibition zone) รอบ paper disc ที่วัดได้ และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยของโซนใสหน่วยเป็นมิลลิเมตร

3.5.3.4 การหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentrations ; MICs)

เลือกสารสกัดจากพืชพื้นเมืองที่ให้ผลการยับยั้งในวิธี Agar Disc Diffusion ดีที่สุดจำนวน 2 ชนิด นำมาทดสอบหาความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยนำอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA หลอมเหลว 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับเชื้อเริ่มต้น (ความเข้มข้นของเซลล์ 10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร) จำนวน 10 ไมโครลิตร เทบนผิวอาหาร TSA ที่แข็งตัวแล้วในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้เทคนิค pour plate ให้อาหารผสมเชื้อเริ่มต้นกระจายทั่วผิวหน้าอาหารแข็งชั้นแรก และรอให้อาหารชั้นที่สองแข็งตัว นำ paper disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หยดสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในลักษณะลดลงทุก ๆ 2 เท่า ปริมาณ 20 ไมโครลิตร วางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อทดสอบ ตั้งทิ้งไว้นานประมาณ 15 นาที เพื่อให้สารแพร่ในชั้นอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อแบคทีเรียในอาหาร TSA ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18 - 24 ชั่วโมง การแปรผลทดสอบบันทึกความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้

3.5.3.5 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืช

เจือจางสารสกัดจากพืชในอาหาร TSB ให้ได้ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ลงในอาหาร TSB บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนเชื้อ ทุก ๆ 4 ชั่วโมงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.5.4 วิเคราะห์ทางสถิติ

นำผลการทดลองมาคำนวณหาความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้การวิเคราะห์แบบ Duncan ด้วยโปรแกรม SPSS version 10.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาชนิดของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองที่มีฤทธิ์ยับยั้งต่อการเจริญของจุลินทรีย์

ผลการศึกษาสารสกัดจากพืชพื้นเมืองในสารสกัดเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ต้นมะระขี้นก, ลูกมะระขี้นก, อบเชย, ผักชีลาว, ราชาวดีป่า, เสนียด, ส้มกุ่ย, ส้มจี้, ตะไคร้ต้นเล็ก, หมีเหม็น, ผักปราบใบเรียว, กระชายดำ, สะเดา และปีนนกไส้ นำมาเจือจางด้วยน้ำให้มีความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์(น้ำหนักต่อปริมาตร) ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ *Bacillus cereus* (ดังภาพที่ 1), *Enterococcus faecalis* (ดังภาพที่ 2), *Lactobacillus pentosus* (ดังภาพที่ 3) และ *Pediococcus acidilactici* (ดังภาพที่ 4) ด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่าสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ คือ อบเชย, มะระขี้นก, ปีนนกไส้, ราชาวดีป่า, ผักปราบใบเรียว และเสนียด (ตารางที่ 1) โดยการสังเกตโซนใสรอบ paper disc ที่เกิดขึ้น

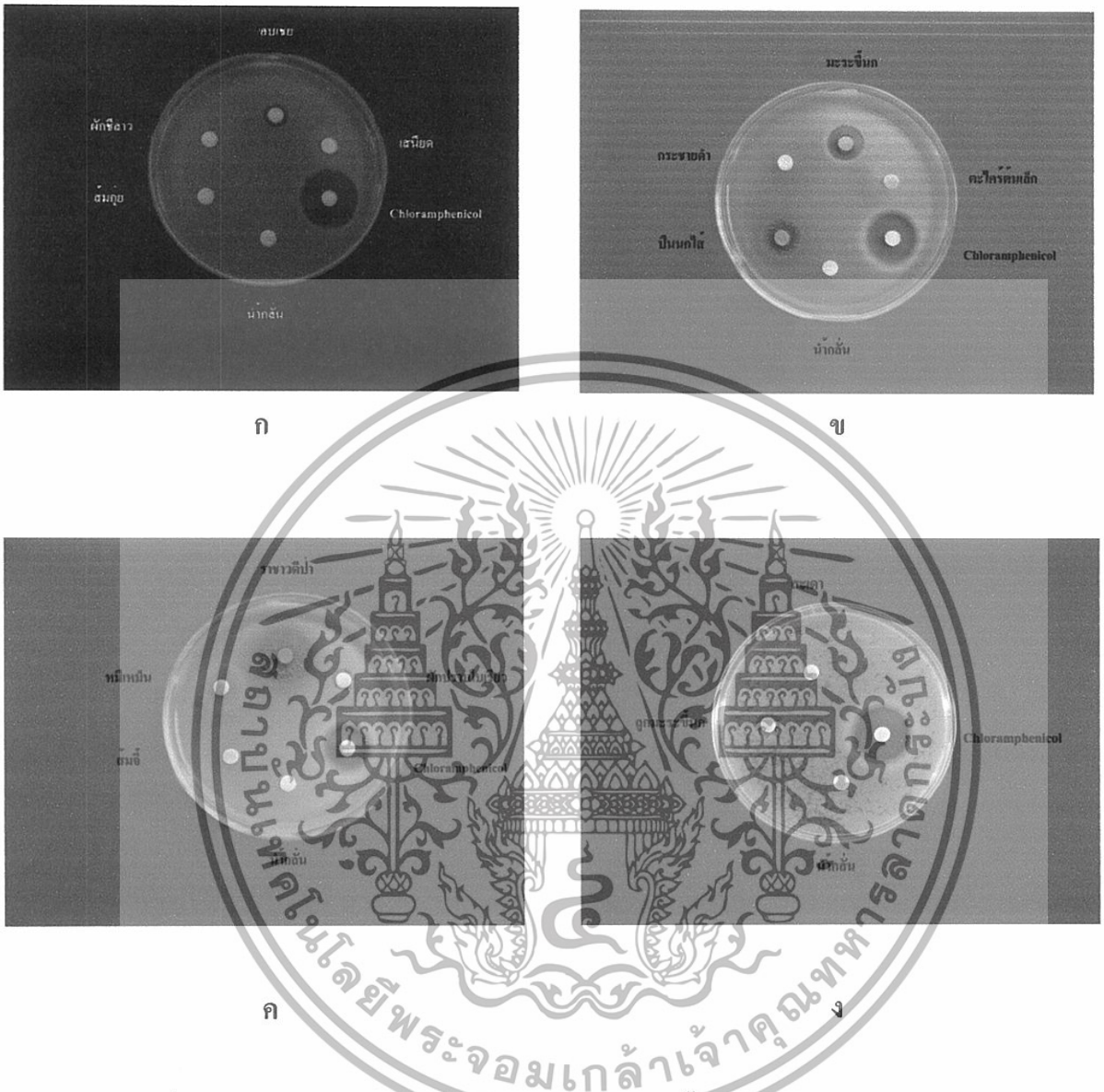
เมื่อเปรียบเทียบผลการยับยั้งในจุลินทรีย์แต่ละชนิดพบว่า *Bacillus cereus* สามารถยับยั้งได้โดยสารสกัดจากต้นมะระขี้นก, อบเชย, ปีนนกไส้, ผักปราบใบเรียว และราชาวดีป่าได้ โดยต้นมะระขี้นกสามารถยับยั้งได้ดีที่สุด (13.92±0.63 มิลลิเมตร)

Enterococcus faecalis สามารถยับยั้งได้โดยสารสกัดจากอบเชยและผักปราบใบเรียว โดยสารสกัดจากอบเชยสามารถยับยั้งได้ดีที่สุด (7.43±0.31 มิลลิเมตร)

Lactobacillus pentosus และ *Pediococcus acidilactici* สามารถยับยั้งได้โดยสารสกัดจากต้นมะระขี้นกและเสนียด โดยสารสกัดจากต้นมะระขี้นกสามารถยับยั้ง *Lactobacillus pentosus* ได้ดีที่สุด (9.53±0.32 มิลลิเมตร) และสารสกัดจากเสนียดสามารถยับยั้งการเจริญของ *Pediococcus acidilactici* ได้ดีที่สุด (11.48±0.81 มิลลิเมตร)

ในขณะที่สารสกัดจากลูกมะระขี้นก, หมีเหม็น, ตะไคร้ต้นเล็ก, สะเดา, ผักชีลาว, ส้มกุ่ย, ส้มจี้ และกระชายดำ ไม่มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ใด ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก ข

ค ง

ถ่ายจากพระราชนิพนธ์ในโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

ภาพที่ 1 แสดงขนาดบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองต่อ *Bacillus cereus*

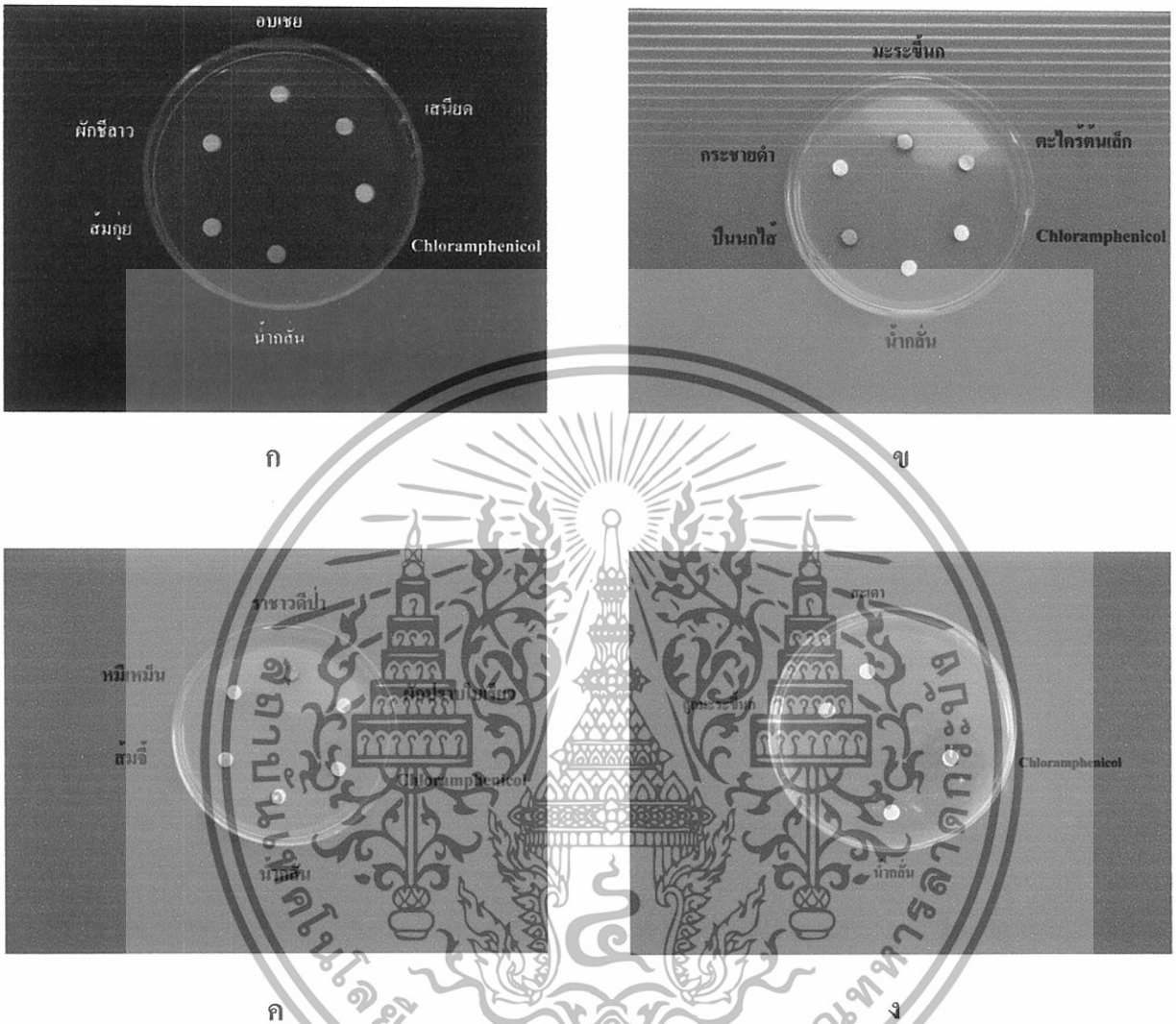
ภาพ ก แสดงการยับยั้ง *Bacillus cereus* ของสารสกัดจากเสนียด, อบเชย, ผักชีลาว, ส้มกุ่ย

ภาพ ข แสดงการยับยั้ง *Bacillus cereus* ของสารสกัดจากตะไคร้ต้นเล็ก, ต้นมะระขี้นก, กระชายดำ, ปีนนกไส้

ภาพ ค แสดงการยับยั้ง *Bacillus cereus* ของสารสกัดจากผักปราบใบเรียว, ราชาวดีป่า, หมีเหม็น, ส้มจี้

ภาพ ง แสดงการยับยั้ง *Bacillus cereus* ของสารสกัดจากสะเดา, ลูกมะระขี้นก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 แสดงขนาดบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองต่อ *Enterococcus faecalis*

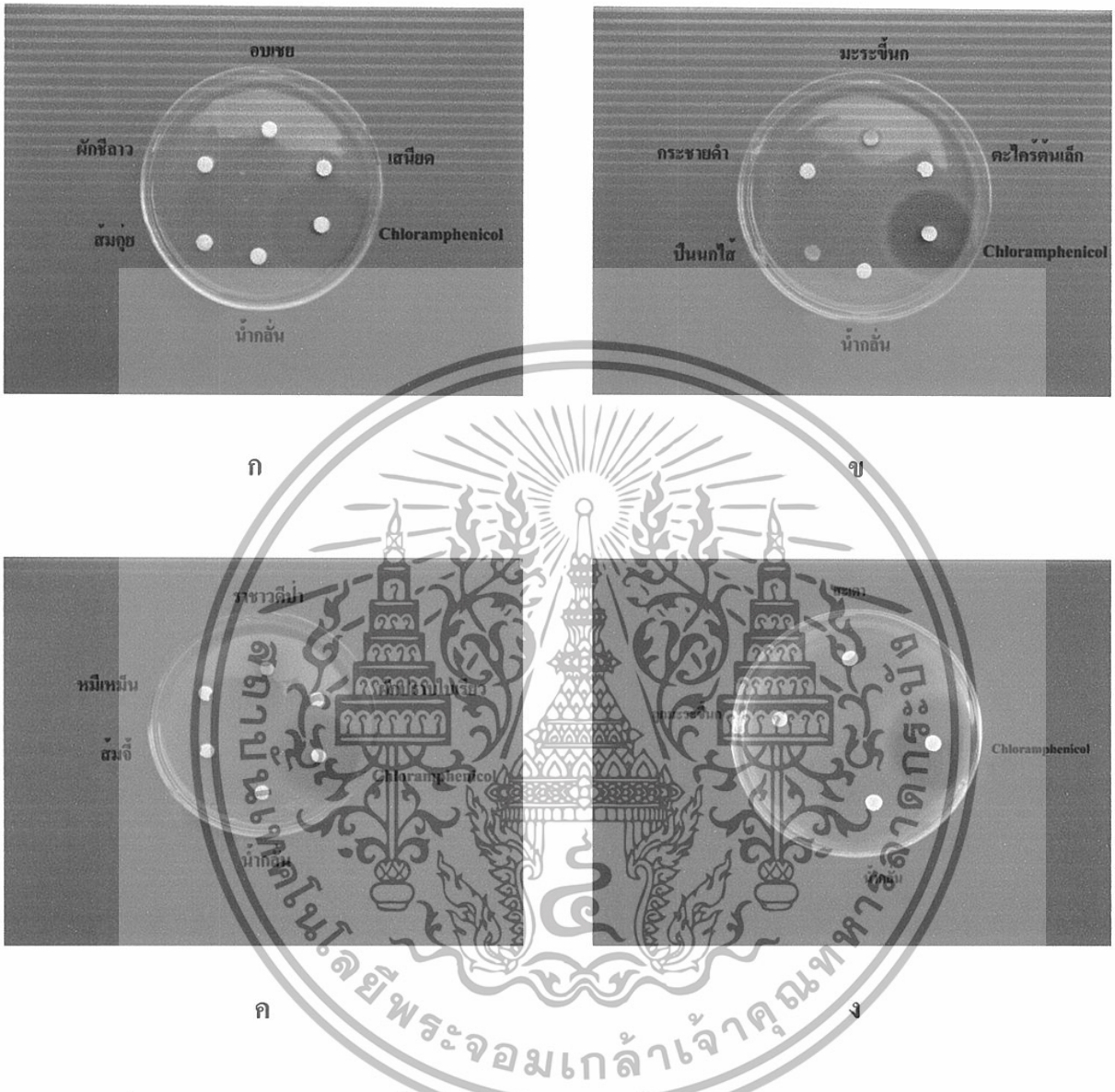
ภาพ ก แสดงการยับยั้ง *Enterococcus faecalis* ของสารสกัดจากเสนียด, อบเชย, ผักชีลาว, ส้มกุ่ย

ภาพ ข แสดงการยับยั้ง *Enterococcus faecalis* ของสารสกัดจากตะไคร้ต้นเล็ก, ต้นมะระขี้นก, กระชายดำ, ปีนนกไส้

ภาพ ค แสดงการยับยั้ง *Enterococcus faecalis* ของสารสกัดจากผักปราบใบเรียว, ราชาวดีป่า, หมีเหม็น, ส้มจี๊

ภาพ ง แสดงการยับยั้ง *Enterococcus faecalis* ของสารสกัดจากสะเดา, ลูกมะระขี้นก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 แสดงขนาดบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองต่อ *Lactobacillus pentosus*

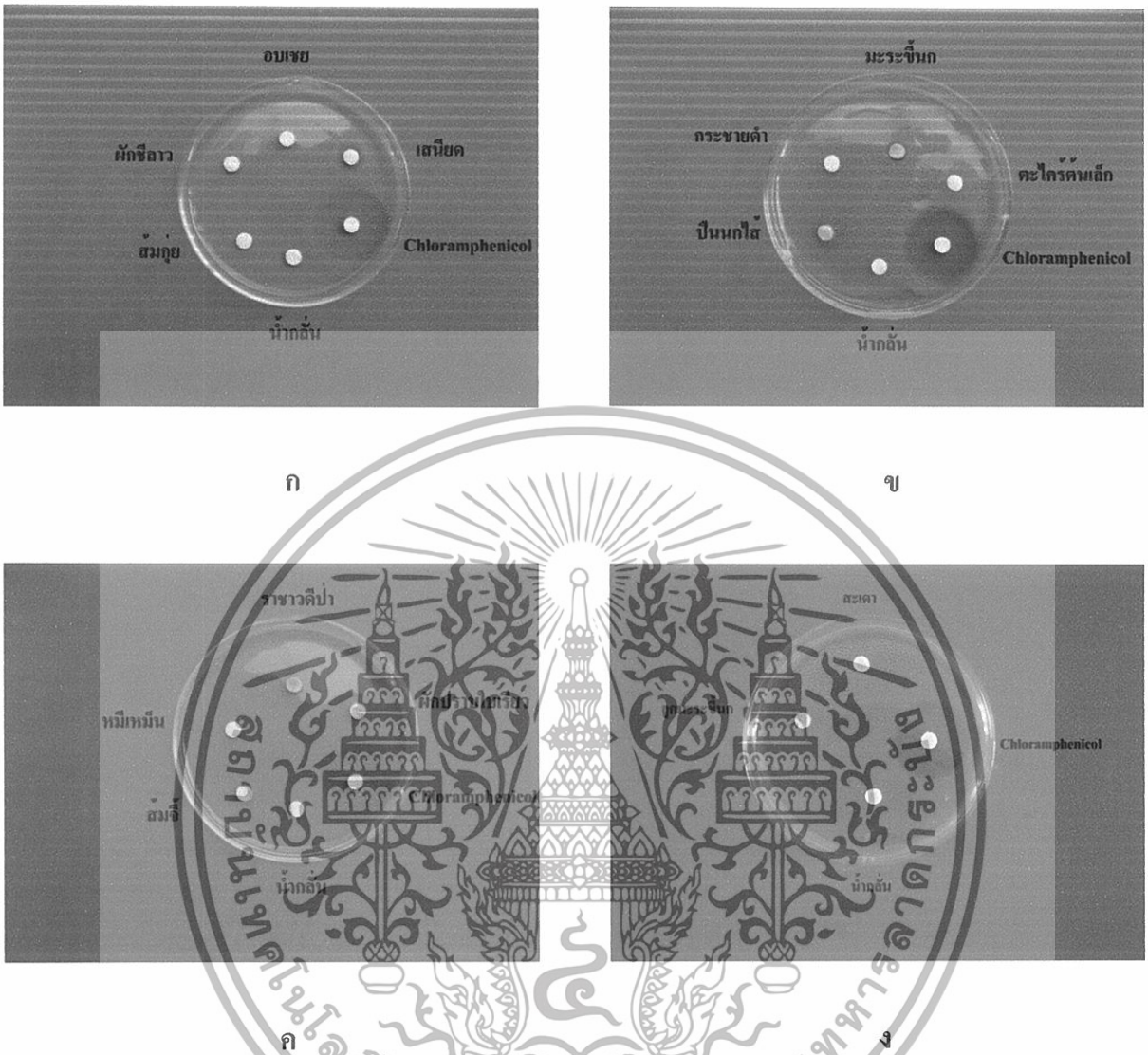
ภาพ ก แสดงการยับยั้ง *Lactobacillus pentosus* ของสารสกัดจากเสนียด, อบเชย, ผักชีลาว, ส้มกุ่ย

ภาพ ข แสดงการยับยั้ง *Lactobacillus pentosus* ของสารสกัดจากตะไคร้ต้นเล็ก, ต้นมะระขี้นก, กระชายดำ, ปีนนกไส้

ภาพ ค แสดงการยับยั้ง *Lactobacillus pentosus* ของสารสกัดจากผักปราบใบเรียว, ราชาวดีป่า, หมีเหม็น, ส้มจี้

ภาพ ง แสดงการยับยั้ง *Lactobacillus pentosus* ของสารสกัดจากสะเดา, ลูกมะระขี้นก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 แสดงขนาดบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองต่อ ***Pediococccus acidilactici***

ภาพ ก แสดงการยับยั้ง *Pediococccus acidilactici* ของสารสกัดจากเสนียด, อบเชย, ผักชีลาว, ส้มกุ่ย

ภาพ ข แสดงการยับยั้ง *Pediococccus acidilactici* ของสารสกัดจากตะไคร้ต้นเล็ก, ต้นมะระขี้นก, กระชายดำ, ปีนนกไส้

ภาพ ค แสดงการยับยั้ง *Pediococccus acidilactici* ของสารสกัดจากผักปราบใบเรียว, ราชาวดีป่า, หมีเหม็น, ส้มจี้

ภาพ ง แสดงการยับยั้ง *Pediococccus acidilactici* ของสารสกัดจากสะเดา, ลูกมะระขี้นก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่1 **ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองเป็นเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone หน่วยเป็นมิลลิเมตร± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน**

จุลินทรีย์ / สารสกัด	*Bacillus cereus*	*Enterococcus faecalis*	*Lactobacillus pentosus*	*Pediococcus acidilactici*
น้ำกลั่น	-	-	-	-
Chloramphenicol 30 เปอร์เซ็นต์	22.26±1.82	25.29±1.24	33.71±1.22	30.10±1.40
เสนียด	-	-	8.75±0.98[a]	11.48±0.81[a]
อบเชย	9.88±0.44[a]	7.43±0.31[a]	-	-
ผักชีลาว	-	-	-	-
ส้มกุ่ย	-	-	-	-
ส้มจี้	-	-	-	-
มะระขี้นก	13.92±0.63[c]	-	9.53±0.32[a]	8.25±0.54[b]
ลูกมะระขี้นก	-	-	-	-
ปีนนกไส้	12.58±0.96[c]	-	-	-
ผักปราบใบเรียว	7.78±0.90[b]	7.40±0.52[a]	-	-
ราชาวดีป่า	13.30±0.27[c]	-	-	-
หมีเหม็น	-	-	-	-
ตะไคร้ต้นเล็ก	-	-	-	-
สะเดา	-	-	-	-
กระชายดำ	-	-	-	-

หมายเหตุ : รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ความแตกต่างของอักษรภาษาอังกฤษตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

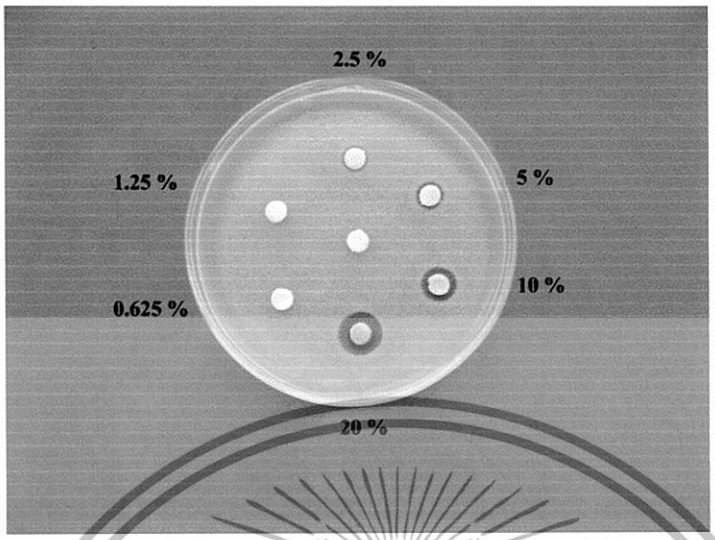
96949

4.2 การหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentrations ; MICs) บนอาหารแข็ง

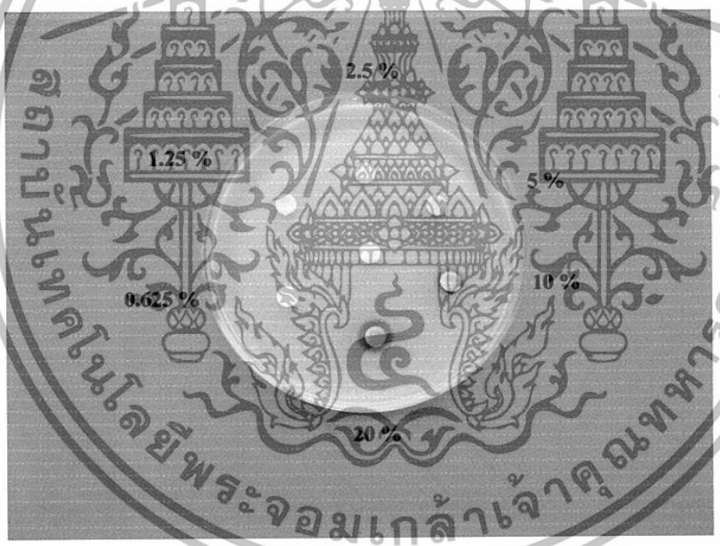
จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชพื้นเมือง ทำการเลือกสารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงที่สุดจำนวน 2 ชนิด โดยพิจารณาจากความชัดเจนและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (หน่วยเป็นมิลลิเมตร) ได้แก่ ต้นมะระขี้นกและปีนนกไส้ มาทำการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentrations ; MICs) บนอาหารแข็ง (ดังภาพที่ 5)

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก. มะระขี้นก



ข. ปีนนกไส้

<u>ภาพที่ 5</u> **แสดงการยับยั้ง *Bacillus cereus* ของสารสกัดจากต้นมะระขี้นกและปีนนกไส้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ**

ภาพ ก แสดงการยับยั้ง Bacillus cereus ของสารสกัดจากต้นมะระขี้นก

ภาพ ข แสดงการยับยั้ง Bacillus cereus ของสารสกัดจากปีนนกไส้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตารางที่ 2</u> ผลการยับยั้งจุลินทรีย์เป็น clear zone หน่วยเป็นมิลลิเมตรของมะระขี้นกและปืนนกไส้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สารสกัด	ระดับความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)						
	20	**10**	**5**	**2.5**	**1.25**	**0.625**	**0.3125**
ต้นมะระขี้นก	12.91 ± 0.50^{a}	10.46 ± 0.68^{b}	8.45 ± 0.46^{c}	7.71 ± 0.36^{c}	-	-	-
ปืนนกไส้	10.45 ± 0.79^{a}	7.7 ± 0.73^{b}	-	-	-	-	-

หมายเหตุ: รวมเส้นผ่านศูนย์กลาง disc 6 มิลลิเมตร

ความแตกต่างของอักษรภาษาอังกฤษตามแถวแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากผลการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Bacillus cereus* (Minimum Inhibitory Concentrations ; MICs) ของมะระขี้นกและปืนนกไส้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของสารสกัดจากต้นมะระขี้นก พบว่าที่ความเข้มข้น 20, 10, 5 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสเล็กลงตามลำดับ โดยค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Bacillus cereus* อยู่ที่ 2.5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาทางสถิติ พบว่าที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างกับ 10, 5 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ความเข้มข้น 5 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าสารสกัดจากต้นมะระขี้นกที่ความเข้มข้นทั้งสองให้ประสิทธิภาพการยับยั้งที่เหมือนกัน ดังนั้นการใช้ที่ความเข้มข้นใดสามารถทดแทนกันได้

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของสารสกัดจากปืนนกไส้ พบว่าที่ความเข้มข้น 20 และ 10 เปอร์เซ็นต์ จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสเล็กลงตามลำดับ โดยค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Bacillus cereus* อยู่ที่ 10 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาทางสถิติ พบว่าที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างกับ 10 เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าสารสกัดจากปืนนกไส้ความเข้มข้น 20 และ 10 เปอร์เซ็นต์ให้ผลการยับยั้งที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืช

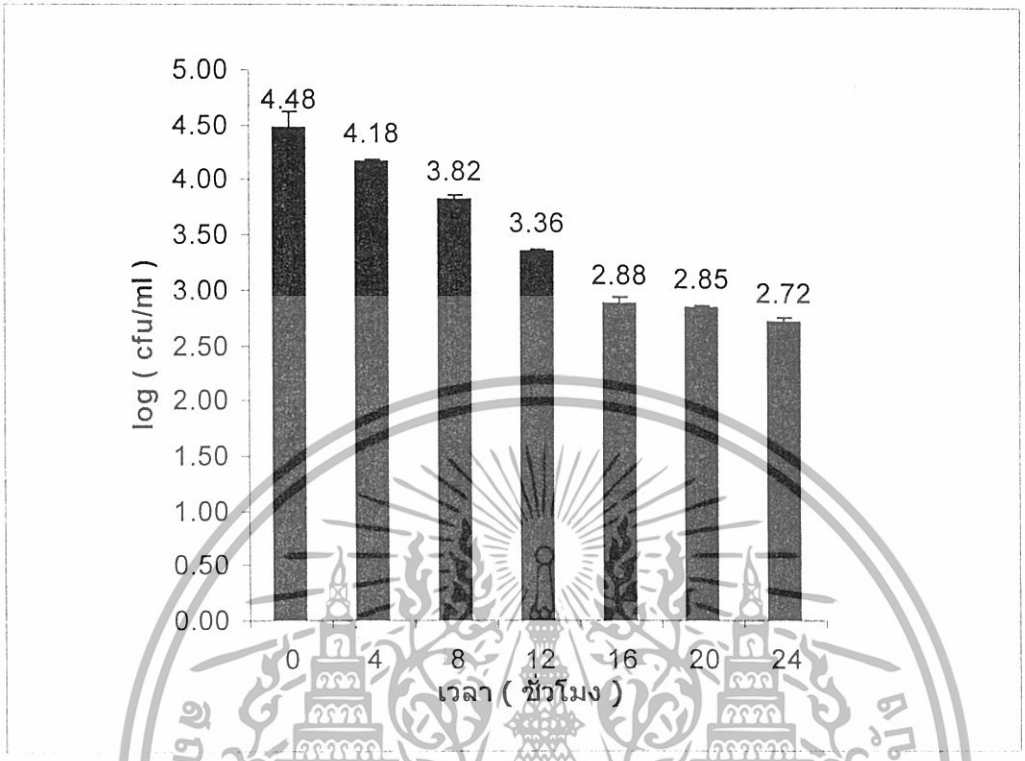
จากผลการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Bacillus cereus* (Minimum Inhibitory Concentrations ; MICs) ของมะระขี้นกและปีนนกไส้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าต้นมะระขี้นกมีความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ 2.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปีนนกไส้มีความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ 10 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงเลือกต้นมะระขี้นกมาทำการทดสอบหากิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหารเหลว โดยศึกษาผลการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดที่ความเข้มข้นของสารสกัดจากต้นมะระขี้นก 1 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต ภายหลังจากการบ่มเพาะเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีสารสกัดจากมะระขี้นก 1 เปอร์เซ็นต์ ทุก ๆ 4 ชม. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ชั่วโมงที่	จำนวนจุลินทรีย์ (cfu/ml)	log (cfu/ml)
0	30000	4.48 ± 0.14^{a}
4	15000	4.18 ± 0.01^{b}
8	6600	3.82 ± 0.05^{c}
12	2300	3.36 ± 0.01^{d}
16	760	2.88 ± 0.07^{e}
20	700	2.85 ± 0.03^{e}
24	530	2.72 ± 0.03^{f}

หมายเหตุ : ความแตกต่างของอักษรภาษาอังกฤษตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
หองสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
จกาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง



ภาพที่ 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนจุลินทรีย์และเวลาในการบ่มเพาะเชื้อ

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์หลังจากการบ่มเพาะเชื้อ โดยกำหนดความเข้มข้นของสารสกัดจากต้นมะระขี้นกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าจำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* มีการลดจำนวนลงทุก ๆ 4 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมงอย่างต่อเนื่อง โดยชั่วโมงที่ 0, 4, 8 และ 12 จะมีการลดจำนวนลงอย่างรวดเร็วและมีความแตกต่างกันทางสถิติ จากผลการทดลองดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดจากต้นมะระขี้นกมีฤทธิ์ในการทำลายจุลินทรีย์ (bacteriocidal effect) ไม่ใช่ฤทธิ์ในการยับยั้ง (bacteriostatic effect) เนื่องจากมีการลดลงของจำนวนเชื้อทดสอบ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อทดสอบต่อไป พบว่า ชั่วโมงที่ 16, 20 และ 24 อัตราการลดจำนวนลงของ *Bacillus cereus* จะเป็นไปอย่างช้า ๆ โดยชั่วโมงที่ 16 และ 20 จะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารสกัดจากพืชอาจทำปฏิกิริยากับจุลินทรีย์ทดสอบ และทำให้ฤทธิ์ในการยับยั้งลดลง หรือ เกิดการสลายตัวตามระยะเวลา ทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Bacillus cereus* ลดลงตามระยะเวลาการบ่มเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาชนิดของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองที่มีฤทธิ์ยับยั้งต่อการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชพื้นเมืองจำนวน 14 ชนิด ที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่าสารสกัดจากมะระขี้นก, อบเชย, ปืนนกไส้, ผักปราบใบเรียว และราชาวดีป่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus cereus* ได้แต่มะระขี้นกสามารถยับยั้งได้ดีที่สุด (13.92±0.63 มิลลิเมตร) ส่วนสารสกัดจากอบเชยและผักปราบใบเรียวสามารถยับยั้งการเจริญของ *Enterococcus faecalis* ได้ โดยสารสกัดจากอบเชยสามารถยับยั้งได้ดีที่สุด (7.43±0.31 มิลลิเมตร) สารสกัดจากมะระขี้นกและเสนียดสามารถยับยั้งการเจริญได้ทั้ง *Lactobacillus pentosus* และ *Pediococcus acidilactici* โดยสารสกัดจากมะระขี้นกสามารถยับยั้ง *Lactobacillus pentosus* ได้ดีที่สุด (9.53±0.32 มิลลิเมตร) และสารสกัดจากเสนียดสามารถยับยั้งการเจริญของ *Pediococcus acidilactici* ได้ดีที่สุด (11.48±0.81 มิลลิเมตร) ในขณะที่สารสกัดจากลูกมะระขี้นก, หมีเหม็น, ตะไคร้ต้นเล็ก, สะเดา, ผักชีลาว, ส้มกุ่ย, ส้มจี๊ และกระชายดำ ไม่มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ใด ๆ

จากการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentrations ; MICs) บนอาหารแข็ง พบว่าสารสกัดจากต้นมะระขี้นกสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Bacillus cereus* บนอาหารแข็ง โดยมีความเข้มข้นต่ำสุดอยู่ที่ 2.5 เปอร์เซ็นต์ และมีฤทธิ์ในการทำลายจุลินทรีย์ (bacteriocidal effect) เนื่องจากเมื่อพิจารณาจากผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืช พบว่ากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์และเวลาในการบ่มเชื้อลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 24 ที่ทำการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. การนำพืชมาใช้ทดสอบควรมีการตรวจสอบชื่อ ชนิด หรือพันธุ์พืชให้ถูกต้องชัดเจน เนื่องจากพืชสมุนไพรในแต่ละท้องถิ่นอาจมีชื่อเหมือนกันแต่เป็นพืชคนละชนิด หรืออาจเป็นพืชชนิดเดียวกันแต่มีชื่อท้องถิ่นที่แตกต่างกันออกไปในแต่ละท้องถิ่น ทำให้เกิดความสับสนในการใช้ได้

2. การใช้ประโยชน์จากพืชควรให้ถูกส่วน เพราะแต่ละส่วนของพืชจะมีสารสำคัญอยู่ในปริมาณที่ไม่เท่ากันหรือมีอยู่เพียงบางส่วนของต้นพืชเท่านั้น ดังนั้นการออกฤทธิ์ทางยาหรือให้สารสำคัญจึงได้ไม่เท่ากันทุกส่วน

3. สำหรับผู้ที่ทำการศึกษาต่อควรศึกษาวิธีการเตรียมพืช หรือวิธีการสกัดสารจากพืชที่เหมาะสมที่สุดสำหรับพืชแต่ละชนิด เพื่อให้ได้สารสกัดออกมาในปริมาณมากที่สุด เนื่องจากวิธีการสกัดแต่ละวิธีจะให้ผลที่แตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด

4. ควรมีการศึกษาหรือวิเคราะห์องค์ประกอบสำคัญของสารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ว่าเป็นสารประเภทใด โดยทำการศึกษาจากข้อมูลที่มีการวิจัยมาแล้วหรือทำการทดลองโดยวิธี GC-MS เพื่อสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในขั้นอุตสาหกรรมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ชาลี ทองเรือง. 2543. การชักนำให้เกิดรากเพาะเลี้ยงและการทดสอบฤทธิ์การต้านจุลชีพของสารสกัดจากรากเพาะเลี้ยงมะระขี้นก. วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร. 8(1): 42-55.

นันทวัน บุญยะประภัศ และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2541. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน. เล่ม 2. บริษัทประชาชน. กรุงเทพฯ. 96 หน้า

นันทวัน บุญยะประภัศ. 2542. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน. เล่ม 3. บริษัทประชาชน. กรุงเทพฯ. 79 หน้า

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527. เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพร. เล่ม 1. ศิลปาบรรณาคาร. กรุงเทพฯ. 127 หน้า

มาลิน จุลศิริ. 2542. ยาต้านจุลชีพ : ความรู้พื้นฐานและประยุกต์. โรงพิมพ์สถาบันพัฒนาการสาธารณสุขอาเซียน. นครปฐม. 114 หน้า

วัชรี สุภาอินทร์. 2543. การตรวจหาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในพืชสมุนไพร 12 ชนิด. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิยาลัยเชียงใหม่. 76 หน้า.

สถาพร ดิเรกบุษราคม, สมพร รุ่งกำเนิดวงศ์, อังคณา หิรัญสาลี และลิลา เรืองแป้น. 2539. ฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุทรไพรไทยบางชนิดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในกุ้งกุลาดำ. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 7/2539. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. 18 หน้า

ศรีกาญจนา คล้ายเรือง. 2541. การคัดเลือกสมุนไพรไทยเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Listeria monocytogenes*. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 116 หน้า.

Bauermann U., Enrich J. and Thomann R. 1994. Herb essential oils , Aetherische krautoele . Lebensmitteltcehnik. 26(10): 36-38.

Bullermam L.B., Lieu F.Y. and Seire S.A. 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils. Cinnamic aldehyde and eugenol. J. Food Sci. 42(4): 1107-1109, 1116.

Chang S., Chen P., Chang S.C., Chang S.T., Chen P.F. and Chang S.C. 2001. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituent from *Cinnamomun osmophloeum*. J. Ethnopharm. 77(1): 123-127.

Chao S.C., Young D.G. and Obery C.J. 2000. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. J. Essent. Oil. Res. 12(5): 639-649.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dicken,J.A., Berrang, M.E., Cox, N.a., 2000. Efficacy of an herbal extract on the microbiological quality of broiler carcasses during a simulated chill. Poult. Sci. 79: 1200-1203.

Farag R.S., Daw Z.Y., Hewedi F.M. and El-Baroty G.S.A. 1989. Antimicrobial activity spice essential oil. J. Food Protect. 52: 665-667.

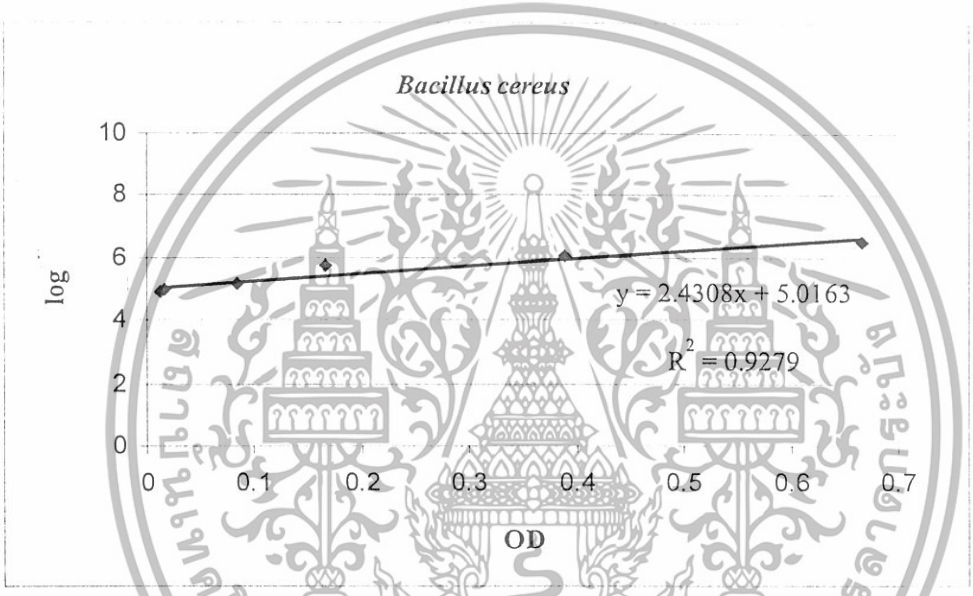
Harpaz, S., Glatman, L., Drabkin, V., Gelman, A., 2003. Effects of herbal essential oils used to extend the shelf-life of freshwater reared Asian sea bass (*Lates calcarifer*) . J. Food Protect. 66: 410-417.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

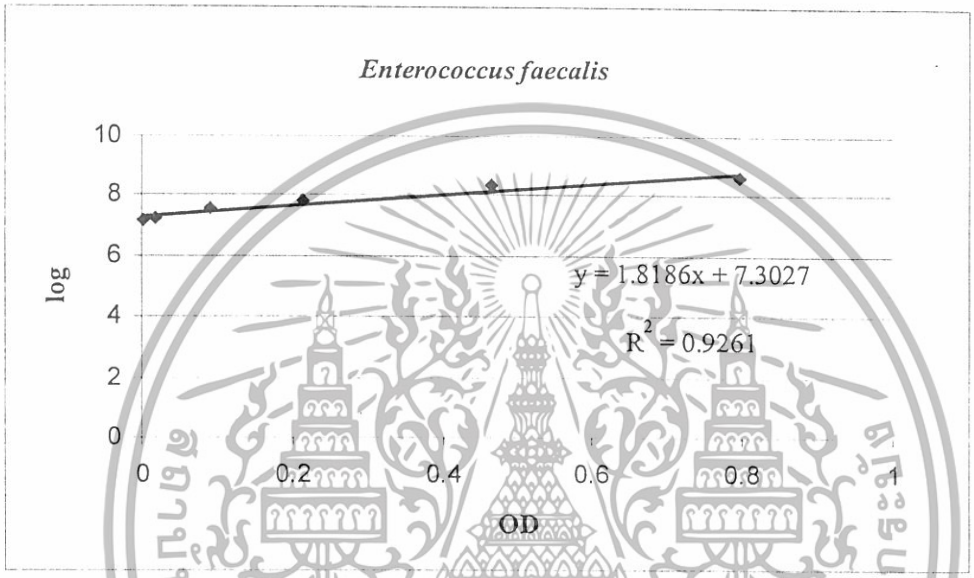
กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Bacillus cereus* กับค่าความขุ่น (optical density: OD) ที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตร



สมการหาปริมาณเชื้อ *Bacillus cereus* ดังนี้ y = 2.4308x + 5.0613

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

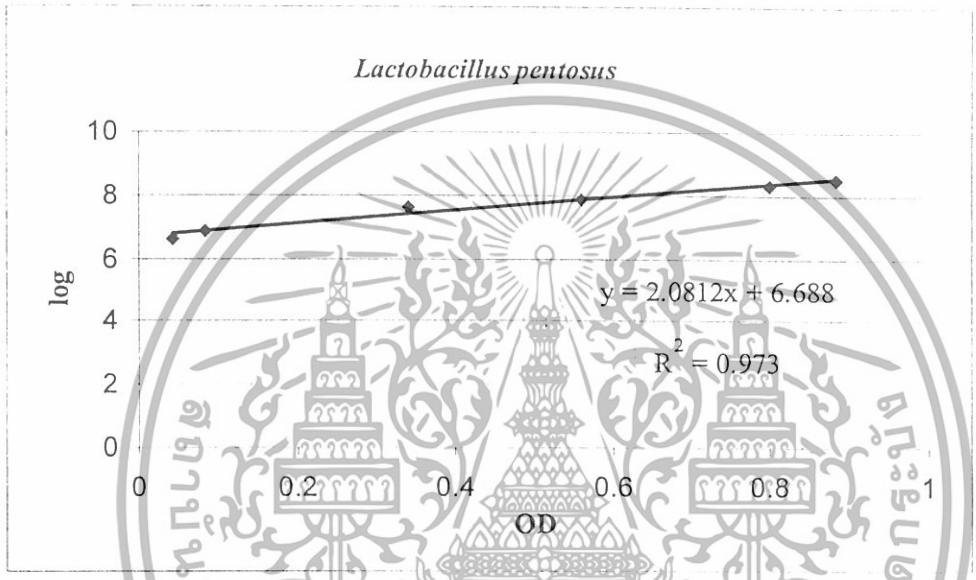
กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Enterococcus faecalis* กับค่าความขุ่น (optical density: OD) ที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตร



สมการหาปริมาณเชื้อ *Enterococcus faecalis* ดังนี้ $y = 1.8186x + 7.3027$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

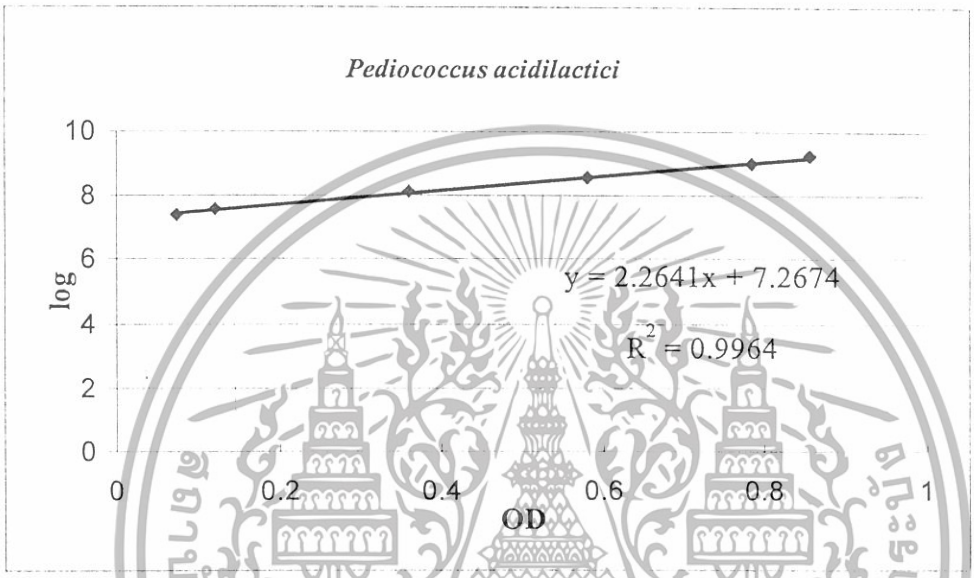
กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Lactobacillus pentosus* กับค่าความขุ่น (optical density: OD) ที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตร



สมการหาปริมาณเชื้อ *Lactobacillus pentosus* ดังนี้ y = 2.0812x + 6.6880

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Pediococcus acidilactici* กับค่าความขุ่น (optical density: OD) ที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตร



สมการหาปริมาณเชื้อ *Pediococcus acidilactici* ดังนี้ y = 2.2641x + 7.2674

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นายเดชพันธุ์ สวัสดี เกิดเมื่อวันที่ 7 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2527 ปัจจุบันอยู่บ้านเลขที่ 80/6 หมู่ 8 ถนนเทวบุรี ตำบลโพธิ์เสด็จ อำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช 80000 ปี พ.ศ. 2544 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากโรงเรียนกัลยาณีศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช ปี พ.ศ. 2548 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร) โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นางสาวสุภาธร ศรีเนาวรัตน์กุล เกิดเมื่อวันที่ 20 ธันวาคม พ.ศ.2526 ปัจจุบันอยู่บ้านเลขที่ 104/135 ซอยเอกชัย 54 ถนนเอกชัย แขวงบางบอน เขตบางบอน จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10150 ปี พ.ศ. 2544 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากโรงเรียนศึกษานารี จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปี พ.ศ. 2548 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร) โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้