ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ฤทธิ์ด้านแบคทีเรียที่ก่อโรคบางชนิดของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากสมุนไพรทางการค้า

(Inhibitory effect of commercial essential oil and herbal extracts on some pathogenic bacteria)

จัดทำโดย

1. นางสาววิชุดา บุญชู รหัส 47040824
2. นางสาวแหม่ม แซ่อึ้ง รหัส 47040834

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.ดร.ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด

วพ. (ร) 5571 2550

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 85395
วัน,เดือน,ปี 11 พ.ย. 2551

ง 12010285
i.....

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ก่อโรคบางชนิดของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากสมุนไพรทางการค้า

(Inhibitory effect of commercial essential oil and herbal extracts on some pathogenic bacteria)

จัดทำโดย

1. นางสาววิชุดา บุญชู รหัส 47040824
2. นางสาวแหม่ม แซ่อึ้ง รหัส 47040834

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..../...../..... **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**

( )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิชุดา บุญชู และแหม่ม แซ่อึ้ง .2550 : ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ก่อโรคบางชนิดของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากสมุนไพรทางการค้า (Inhibitory effect of commercial essential oil and herbal extracts on some pathogenic bacteria). โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด

บทคัดย่อ

จากการศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากกระเพรา, ไพล, ขมิ้น และสารสกัดจากพริกในการยับยั้งและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในลำไส้สัตว์ ได้แก่ Salmonella , *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* โดยวิธี Agar diffusion พบว่าน้ำมันหอมระเหยกระเพราและไพลมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เหล่านี้ได้ดีในขณะที่น้ำมันหอมระเหยขมิ้นและสารสกัดพริก ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เหล่านี้ได้และเมื่อทำการทดลองหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของน้ำมันหอมระเหยกระเพราและไพลด้วยวิธี Agar diffusion พบว่าความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยกระเพราและไพล ขึ้นกับปริมาณที่ใช้และสายพันธุ์ของแบคทีเรีย โดยพบว่ามีค่า MIC อยู่ในช่วง 1:2 ถึง 1:6 สำหรับการยับยั้งแบคทีเรียในกลุ่ม *E. coli* และมีค่า MIC เท่ากับ 1:4 สำหรับการยับยั้งแบคทีเรียในกลุ่ม Salmonella น้ำมันกระเพราและน้ำมันไพลสามารถยับยั้ง *Stap. aureus* ที่ค่า MIC เท่ากับ 1:2 และ 1:4 ตามลำดับน้ำมันกระเพราสามารถยับยั้งการเจริญของ *Lactobacillus acidophilus* ได้ที่ค่า MIC เท่ากับ 1:2 ส่วนน้ำมันไพลไม่แสดงผลยับยั้ง *L. acidophilus* และเมื่อทดลองหาค่า ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Bactericidal Concentration; MBC) ในสภาวะอาหารเหลว พบว่า น้ำมันกระเพราสามารถทำลายเชื้อ *E. coli TISTR* 371 ได้ที่ค่า MBC เท่ากับ 2% โดยปริมาตร

แหม่ม แซ่อึ้ง	(ผศ.ดร.ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด)	3/มี.ค./2551
วิชุดา บุญชู		
นักศึกษา	อาจารย์ที่ปรึกษา	วัน/เดือน/ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จลุล่วงมาได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา คือ อาจารย์ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด ที่สละเวลาคอยดูแลและให้คำแนะนำต่างๆ เพื่อเป็นแนวทางในการแก้ปัญหาที่เกิดขึ้น ตลอดจน อาจารย์บุญเทียม พันธุ์เพ็ง ที่ช่วยเป็นคณะกรรมการในการสอบปัญหาพิเศษ ซึ่งผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณคุณพ่อและคุณแม่ที่คอยเป็นกำลังใจให้ สนับสนุนด้านการเงิน ขอบคุณเพื่อนๆ ที่คอยเป็นกำลังใจและคอยช่วยเหลือมาตลอดการทำปัญหาพิเศษนี้

วิชุดา บุญชู

แหม่ม แซ่อึ้ง

20 มีนาคม 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	จ
บทที่ 1 บทนำ	
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์	
2.1 พืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์	2
2.2 จุลินทรีย์ก่อโรคในสัตว์	6
2.3 เทคนิคในด้านการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัด	7
บทที่ 3 อุปกรณ์ และ วิธีการ	
3.1 วัตถุดิบ อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	10
3.2 วิธีการทดลอง	10
3.2.1 ศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรค	11
3.2.1.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์	11
3.2.1.2 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธี Agar diffusion	11
3.2.1.3 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ของน้ำมันหอมระเหยสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธี Agar diffusion	12
3.2.1.4 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยสมุนไพรในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Bactericidal Concentration; MBC)ในสภาวะอาหารเหลว	12
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำหอมระเหยและสารสกัดสมุนไพร โดยวิธี Agar diffusion	13
4.2 ความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ของน้ำมันหอมระเหยกระเพราและไพลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธี Agar diffusion	14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3 ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันกระเพราในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Bactericidal Concentration; MBC) 16

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง

บรรณานุกรม

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 20

ภาคผนวก ข

ข้อมูลผลการทดลอง 21

ภาคผนวก ค

ภาพที่ ค1 ฤทธิ์ต้านเชื้อ Salmonella, *Stap. aureus* , *E. coli* ,*L. acidophilus* ของน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้น ไพล กระเพรา และสารสกัดจากพริก 32

ภาพที่ ค2 ผลของน้ำมันหอมระเหยกระเพราต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 34

ภาพที่ ค3 ผลของน้ำมันหอมระเหยไพลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของ น้ำมันหอมระเหยกระเพรา ขมิ้น และไพล และสารสกัดจากพริก	13
4.2 ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันกระเพราต่อการยับยั้งจุลินทรีย์	15
4.3 ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันไพลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์	15
4.4 ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันกระเพรา 1 % ในการทำลายแบคทีเรีย	17
4.5 ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันกระเพรา 2 % ในการทำลายแบคทีเรีย	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

ในปัจจุบันได้มีการศึกษาถึงคุณประโยชน์ของพืชสมุนไพรและได้มีการนำมาพัฒนาใช้อย่างแพร่หลาย เช่น ใช้เป็นยา หรืออาหารเสริม รวมทั้งนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ เพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในสัตว์ โดยมีการนำสมุนไพรมาแปรรูป โดยอาจใช้ในรูปแบบของสมุนไพรตากแห้ง แล้วบดเป็นผงแล้วผสมในอาหารสัตว์ หรือใช้ในรูปของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหย ซึ่งจะมีปริมาณของสารออกฤทธิ์ที่เข้มข้นและสม่ำเสมอ จึงช่วยให้สามารถกำหนดค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ต้องการใช้ได้ง่าย

น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชสมุนไพร ได้ถูกค้นคว้าวิจัยเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ที่แตกต่างกันตามคุณสมบัติของพืชแต่ละชนิด น้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ เช่น น้ำมันหอมระเหยจากไพล กระเพรา และขมิ้น เป็นต้น และจากคุณสมบัติด้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชสมุนไพรจึงได้มีการศึกษาการนำน้ำมันหอมระเหยมาใช้เสริมในอาหารสัตว์เพื่อประโยชน์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในสัตว์ โดยเฉพาะด้านเชื้อที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร นอกเหนือจากการใช้เพื่อเพิ่มผลผลิต เร่งการเจริญเติบโต และปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากสมุนไพรทางการค้า ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดในระบบทางเดินอาหารของสัตว์
2. เพื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งและทำลายแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากสมุนไพรบางชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 พืชสมุนไพรบางชนิดที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

พริก (http://th.wikipedia.org/wiki/)

พริกมี ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Capsicum fretescens* Linn. ชื่อวงศ์คือ SOLANACEAE ชื่ออื่นๆ ได้แก่ พริกนก พริกแด้ ดีปลี ตีปลีขี้นก พริกขี้นก พริกแจว หมักเพ็ด ปะแกว พริกเป็นพืชที่มีความสำคัญต่อคนไทย และยังมีประโยชน์และคุณค่าที่ให้มากกว่ารสชาติของความเผ็ด โดยพริกมีวิตามินซีสูง เป็นแหล่งของกรดแอสคอบิค (ascorbic) ซึ่งสารเหล่านี้ ช่วยขยายเส้นโลหิตในลำไส้และกระเพาะอาหาร เพื่อให้ดูดซึมอาหารดีขึ้น ช่วยร่างกายขับถ่าย ของเสียและนำธาตุอาหารไปยังเนื้อเยื่อของร่างกาย (tissue) สำหรับพริกขี้หนูสดและพริกชี้ฟ้าของไทย มีปริมาณวิตามินซี 87.0 - 90 มิลลิกรัม / 100 g นอกจากนี้พริกยังมีสารเบต้า-แคโรทีนหรือวิตามินเอสูง(พริกขี้หนูสด 140.77 RE)

Krogstad และคณะ (2536) ได้มีการศึกษาการลดอาการอาหารไม่ย่อยโดยใช้ capsaicin ในผงพริกแดง กับผู้ป่วยอาหารไม่ย่อยที่ไม่มีอาการ gastro-oesophageal reflux และ irritable bowel syndrome 30 ราย ในขนาด 2.5 กรัมต่อวันนาน 5 สัปดาห์ พบว่า ผงพริกแดงมีประสิทธิภาพในการลดอาการอาหารไม่ย่อยได้ดีกว่ายาหลอก

จากงานวิจัยของ ศ.ดร. นันทวัน บุณยะประภัศร (2540) พบว่าสารสำคัญที่อยู่ในพริกสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ให้สีแดง ได้แก่ สาร Capsanthin มีประโยชน์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อใช้ในการปศุสัตว์ เช่น ใช้เลี้ยงหมู เลี้ยงไก่ เพื่อให้ได้เนื้อสัตว์ที่มีสีสวย และไข่ไก่ที่มีสีสด โดยการพัฒนาผลิตภัณฑ์เหล่านี้ก็เพื่อ หลีกเลี่ยงการใช้ยาปฏิชีวนะในสัตว์ ซึ่งจะส่งผลต่อมนุษย์ โดยจะทำให้เกิดการดื้อยา และกลุ่มที่ให้รสเผ็ด ได้แก่ สาร Capsaicin ซึ่งมีประโยชน์ต่อการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อเสริมสุขภาพ และยาสำหรับมนุษย์

ขมิ้น (http://www.medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/curcuma.html)

ขมิ้น (Turmeric หรือชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma longa*) พืชตระกูลขิงข่าที่ส่วนรากและเหง้าถูกนำมาใช้ในการปรุงอาหาร ให้มีสีเหลืองและกลิ่นหอม สมุนไพรชนิดนี้พบทั่วไป ขมิ้นมีประวัติสรรพคุณทางยายาวนานกว่า 5,000 ปี เริ่มต้นที่สรรพคุณในการรักษาแผล แก้พิษในเลือด และโรคกระเพาะ ในตำรายาอายุรเวชของอินเดีย (India's Ayurvedic system of medicine) ชาวฮินดูใช้รักษาอาการเคล็ด ขัด ยอก และบวม ชาวจีนนำขมิ้นมารักษาอาการปวดท้อง ส่วนคนไทยเรานอกจากจะนำมาสมานแผลแล้วยังใช้ ขัดผิว พอกหน้าอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขมิ้น และสารประกอบ Curcumin ในขมิ้นรวมๆแล้ว เรียก Curcuminoids มีคุณสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ (antioxidant) สารต่อต้านการอักเสบ ต่อต้านไวรัสและแบคทีเรีย ซึ่งสามารถทำงานท้าทายโรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคข้ออักเสบ โรคเรื้อรังต่างๆ

ขมิ้นยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนอง ยับยั้งการเกิดกรดเนื่องจากเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* และ *L. plantarum* และยับยั้งการเกิดก๊าซเนื่องจากเชื้อ *Escherichia coli* สารสำคัญในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียคือ น้ำมันหอมระเหย และ curcumin มีการทดลองพบว่าสารสกัดแอลกอฮอล์และน้ำมันหอมระเหยของขมิ้นมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococci* และน้ำมันจากขมิ้นที่สกัดด้วยเฮกเซน มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* สาร curcumin มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus* spp. และ *Streptococcus* spp. แต่ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Proteus* spp.และ *Klebsiella* spp. ในจานเพาะเชื้อที่ความเข้มข้น 1 ไมโครโมล มีฤทธิ์ต้าน *S. aureus* สารสกัดแอลกอฮอล์และน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Streptococci* และ *Staphylococcus* โดยเหนี่ยวนำการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเชื้อดังกล่าว สารสกัดขมิ้น และน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการแน่นจุกเสียด และท้องเสีย สารสกัดเอทานอลจากเหง้าขมิ้นมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus albus, E. coli* และ *Pseudomonas pyocyanea* และมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *S. aureus* ที่ค่า MIC 16 และ 128 มคก./มล. ตามลำดับ

สารในกลุ่ม monoterpene และ sesquiterpene ในน้ำมันหอมระเหยจากใบ และ sesquiterpene ketone ในน้ำมันหอมระเหยจากเหง้า สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* MTCC 433 ได้ที่ความเข้มข้น 15.62 และ 125 มคล./มล. ตามลำดับ สาร sesquiterpene ที่แยกได้จากขมิ้นแสดงฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *Porphyromonas gingivalis* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเยื่อหุ้มฟันอักเสบ โดยมีค่า MIC 1.6 มคก./มล. (87) น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 1 โมลาร์ มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli, Salmonella paratyphi, Salmonella typhosa* และ *S. aureus* ที่ความเข้มข้น 31.25 มคล./มล. มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Shigella* flexnari และ *Shigella sonnei* ที่ความเข้มข้น 62.5 มคล./มล. มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Shigella boydii* และที่ความเข้มข้น 7.81 มคล./มล. มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* และ *Shigella dysnteriae* เมื่อทดสอบฤทธิ์ดังกล่าวในจานเพาะเชื้อ น้ำมันหอมระเหยของขมิ้นมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) เท่ากับ 125 มคก./มล. เมื่อทดสอบฤทธิ์ดังกล่าวในจานเพาะเชื้อ น้ำมันขมิ้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ที่ค่า MIC 0.25 มก./มล. ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว 2 ชนิด คือ *S. aureus* และ *Propionibacterium acnes* โดยมีค่า MIC 23.0 และ 27.9 มคก./มล.ตามลำดับ น้ำมันจากเหง้าขมิ้นซึ่งอุดมไปด้วย turmerone มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Bacillus subtilis, Corynebacterium diphtheriae* และ *S. aureus* น้ำมันจากใบขมิ้นมีฤทธิ์ต้านเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

E. coli (NCTC 6571), *E. coli, S. aureus* (NCTC 10418), *S. aureus, Klebsiella aerogenes* และ *Pseudomonas aeruginosa* เมื่อใช้ปริมาณน้ำมันต่อตัวทำละลาย 1:8, 1:16 และ 1:32 โดยความสามารถในการออกฤทธิ์ขึ้นกับขนาดน้ำมันที่ใช้

สารสกัดน้ำของขมิ้น ที่ความเข้มข้น 0.3 มก./มล. มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli, Salmonella paratyphi, Salmonella* Typhimurium และ *S. aureus* สารสกัดน้ำและสารสกัดเฮกเซนของขมิ้น ที่ความเข้มข้น 200 มก./มล. ไม่มีฤทธิ์ต้าน *E. coli, Salmonella* Typhimurium และ *S. aureus* สารสกัดน้ำและสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ของขมิ้น ที่ความเข้มข้น 250 มก./มล. มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* และสารสกัดคลอโรฟอร์มของขมิ้น ที่ความเข้มข้น 250 มก./มล. มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* สารสกัด เอทานอล ที่ความเข้มข้น 2.5 มก./แผ่น มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* แต่ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* เมื่อทดสอบด้วยวิธี disc diffusion สารสกัดเอทานอลที่ความเข้มข้น 200 มก./มล. ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ

E. coli สารสกัด 95% เอทานอลที่ความเข้มข้น 250 มก./มล. เมื่อทดลองในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ พบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* แต่ที่ความเข้มข้น 10 มก./มล. ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อดังกล่าว สารสกัดอัลกอฮอล์และน้ำมันหอมระเหยของขมิ้นมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococci* น้ำมันจากขมิ้นที่สกัดด้วยเฮกเซนมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* สาร curcumin มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* แต่ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* และ *Salmonella typhosa* ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ สาร curcumin ความเข้มข้น 10 ไมโครโมล มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Salmonella* Typhimurium และ *E.coli* ในจานเพาะเชื้อ สารสกัดอัลกอฮอล์ของขมิ้นชันสามารถยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* ที่เป็น สาเหตุของโรคฟันผุ เมื่อทดสอบด้วยวิธี agar diffusion พบ inhibition zone ขนาด 6.5 มม.

กระเพรา (กรรณิการ์และฐิติพร, 2544)

กระเพรามี ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Ocimum sanctum, Linn. อยู่ในวงศ์ LABTATAE ชื่ออื่น ได้แก่ กระเพราแดง, กระเพราขาว (ภาคกลาง) กำก้อขาว , กำก้อดำ, กอมก้อขาว, กอมก้อดำ (เชียงใหม่-ภาเหนือ) ห่อตูปลา, ห่อกวอซู (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน)

สารสกัดจากใบและต้นกระเพรามีองค์ประกอบเคมีในกลุ่มของน้ำมันหอมระเหยเป็นสำคัญได้แก่ Eugenol, Methyl Eugenol และ Linalool สาร 2 ตัวแรกอยู่ในกลุ่มของสารประกอบ Phenol ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ในขบวนการ Metabolism ของเชื้อแบคทีเรียโดยทำให้เอนไซม์และโปรตีนอื่นๆ ในเซลล์เสียสภาพ เกิดการบาดเจ็บที่เยื่อหุ้มเซลล์ เป็นผลให้สารต่างๆ ภายในเซลล์ไหลออกสู่ภายนอก ส่วน Linalool นั้นเป็นสารที่มีฤทธิ์ช่วยส่งเสริมการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย จึงเป็นผลให้กระเพรามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 4 ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อวันที่ 15 ตุลาคม 2550 หนังสือพิมพ์เดลินิวส์ (www.dailynews.co.th) ได้รายงานว่า มีการนำน้ำมันหอมระเหยซึ่งได้จากการสกัดพืชที่มีกลิ่นชนิดต่างๆ เช่น กระเพรา นำมาทำเป็นน้ำยาฆ่าเชื้อหัวนมแม่วัว ก่อนและหลังรีดนม ซึ่งช่วยป้องกันการติดเชื้อบ่อยๆในน้ำนม โดยตรวจพบเชื้อ 5 ชนิด ได้แก่ *Streptococcus agalactiae*, *Bacillus cereus*, *Esherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa Staphylococcus aureus* ในรายงานผล พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกระเพรา มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียต่างๆเหล่านี้ได้ดี

ไพล (กรรณิการ์และฐิติพร, 2544)

ไพลมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zinggiber cassummunar* Roxb. หรือ *Zingiber montanum (Koenig) Link ex* (ชื่อพ้อง) เป็นไม้ล้มลุก สูง 0.7-1.5 ม. มีเหง้าใต้ดิน เปลือกนอกสีน้ำตาลแกมเหลือง เนื้อในสีเหลืองแกมเขียวมีกลิ่นเฉพาะ แทงหน่อหรือลำต้นเทียมขึ้นเป็นกอประกอบด้วยกาบหรือโคนใบหุ้มซ้อนกันใบเดียวเรียงสลับ รูปขอบขนานแกมใบหอก กว้าง 3.5-5.5 ซม. ยาว 18-35 ซม. ดอกช่อ แทงจากเหง้าใต้ดิน กลีบดอกสีนวล ใบประดับสีม่วง ผลเป็นผลแห้ง รูปกลม

น้ำมันหอมระเหยของไพลประมาณ 0.8 % มีองค์ประกอบหลักเป็นสารกลุ่ม terpenoid และ phenylbutanoid เช่น a-pinene , sabinene, a-terpinene, terpinen-4-o1 เป็นต้น และมีสารสีเหลือง ชื่อ curcumin ไพลเป็นยาลดการอักเสบ แก้เคล็ด ขัดยอก แก้ปวด โดยทำการศึกษาทางด้านเภสัชวิทยาของ น้ำมันไพล พบว่า มีผลลดการอักเสบได้

Ozaki และคณะ(1991) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของไพลในหนูถีบจักร โดยใช้สารสกัดเหง้าไพลด้วยเมทานอล, อีเทอร์, เฮกเซน และน้ำ พบว่า สารสกัดไพลด้วยเมธานอล (methanol extract) มีฤทธิ์ทั้งฤทธิ์ต้านอักเสบ และ แก้ปวด และเมื่อนำสารสกัดนี้ไปสกัด ต่อด้วยอีเทอร์ (ether) และเฮกเซน (n-hexane) ซึ่งผู้วิจัยสรุปว่าสารนี้ออกฤทธิ์ต้านอักเสบและแก้ปวด

จากงานวิจัยของทีมมหาลัยเชียงใหม่ในปี 2550 (http://www.bangkokbiznews.com) ซึ่งได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากเหง้าไพล กับเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง พบว่าสารสกัดเหง้าไพลสามารถเอ็นไซม์ต้นเหตุการอักเสบในช่องปาก ลดแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรคปริทันต์อักเสบ และลดปริมาณเอนไซม์ เอ็ม-เอ็มพี-9 ซึ่งถูกสารก่อมะเร็งกระตุ้นให้ขยายตัวมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์

Escherichia coli (เกรียงศักดิ์, 2536)

Escherichia coli เป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น (normal flora) ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่นและมนุษย์โดยไม่ทำให้เกิดโรค มีลักษณะเป็นแท่ง เป็นแบคทีเรียชนิด Gram-negative แต่มีบางสายพันธุ์เรียกว่า enteropathogenic *E.coli* ที่สามารถก่อโรคได้ในสัตว์และทำให้เกิดอาการท้องเสียในมนุษย์ โดยเชื้อ *E. coli* จะถูกขับถ่ายปะปนออกมากับอุจจาระ ดังนั้นจึงพบได้บ่อยในสิ่งปฏิกูล น้ำ อาหาร พืชผัก ทั่วไปเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มโคลิฟอร์มที่จะบ่งชี้ว่าอาหารมีการสุขาภิบาลที่ดีเพียงพอหรือไม่มี และ ยังประโยชน์ต่อระบบขับถ่ายของร่างกายคือช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นโทษต่อร่างกาย มีเพียงไม่กี่สายพันธุ์ที่เป็นโทษต่อมนุษย์ โดยมีการสร้างสารพิษที่มีผลทำให้เกิดการระคายเคืองเยื่อบุผนังลำไส้ซึ่งสารสารพิษชนิดนี้คือ verotoxin (VT) และ shiga-like toxin

เชื้อ *E. coli* สามารถก่อให้เกิดโรคโคไลบาซิลโลซิส ซึ่งจากการศึกษาพบว่าโรคนี้จะเกิดขึ้นได้มากในไก่ช่วงอายุกำลังเจริญเติบโต คือ อายุระหว่าง 25-35 วัน ไก่ที่เป็นโรคจะสังเกตได้ง่ายว่าจะยืนซึม เคลื่อนไหวลำบาก บางตัวนอนหมอบ บางรายอาจสังเกตพบอาการท้องเสีย อาการสำคัญคือ การหายใจลำบากเป็นลักษณะเฉพาะคือหายใจโดยใช้กล้ามเนื้อท้องเกือบทุกๆ ตัวที่เป็นโรคมักจะเป็นไก่ที่ค่อนข้างอ้วนสมบูรณ์ อัตราการตายในระยะแรกๆ ประมาณ 0.25% จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ อาจสูงถึง 10% อัตราการเป็นโรคอยู่ในระหว่าง 10-15% ระยะเวลาของการระบาดจะอยู่ในระหว่าง 7-12 วัน มีอยู่บ่อยครั้งที่อาการของโรคติดเชื้อ *E. coli* ในไก่กระทง จะพบว่าไก่เป็นโรคแสดงอาการหน้าบวม ซึ่งคล้ายกับอาการของการแพ้ก๊าซแอมโมเนีย ไก่ป่วยจะแสดงอาการบวมทั้งใบหน้า เยื่อนัยย์ตาอักเสบแดง มีน้ำตา การเกิดการติดเชื้อ *E. coli* ในตาไก่นั่นอาจจะทำให้หนองในตาได้ และจะพบรอยโรคที่ถุงลม ถุงหุ้มหัวใจและตับ

***Salmonella* spp.** (http://www.dld.go.th/niah/)

Salmonella spp. เป็นแบคทีเรียอยู่ในตระกูล Enterobacteriaceae รูปท่อน ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้โดยใช้ แฟลกเจลลาที่มีอยู่รอบเซลล์ เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ เป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไป ได้แก่ ในสัตว์ปีก สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม รวมทั้งมนุษย์ *salmonella* และเป็นแบคทีเรียที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ทำให้อาหารเป็นพิษอาหารที่มักจะปนเปื้อนเชื้อชนิดนี้ได้แก่ เนื้อ ไส้กรอก ไก่ ไข่ นม ซาลโมเนลลาเป็นแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเป็นพิษที่เรียกว่า Salmonellosis

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

S. pullorum เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ แบคทีเรียชนิดนี้เป็นสาเหตุในการทำให้เกิดโรคอุจจาระขาวในไก่ซึ่งเป็นโรคระบาดที่สำคัญ อาการของโรคอุจจาระขาวมักจะเกิดขึ้นกับลูกไก่ที่เกิดมาจากไข่ติดเชื้อพบว่าจะมีลูกไก่แรกเกิด

Staphylococcus aureus

เชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น หรือเป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ ไม่เคลื่อนที่ โคโลนีมีสีเหลืองหรือสีทองเจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศที่มีออกซิเจน ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตคือ 35-40 องศาเซลเซียส ช่วง pH หรือความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ที่ 7-7.5 ส่วนค่า Aw (ปริมาณน้ำอิสระในอาหารที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเติบโต) ต่ำสุดสำหรับการเติบโตในสภาพมีออกซิเจนประมาณ 0.86 สภาพไม่มีออกซิเจน 0.90 ในบางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษ คือ เอนเทอโรทอกซิน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทนต่อความร้อนได้ดี ทำให้อาหารเป็นพิษได้

หนังสือพิมพ์เดลินิวส์เมื่อวันที่ 15 ตุลาคม 2550 (www.dailynews.co.th) รายงานว่าพบการปนเปื้อนเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในน้ำนมวีดสด ซึ่งเป็นผลก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบในวัว

2.3 เทคนิคในด้านการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดในการยับยั้งจุลินทรีย์

(พสุดา, 2550)

1.) การให้ยาแพร่ซึมในอาหารวุ้น (Agar diffusion method)

วิธีนี้อาศัยการแพร่ซึม โดยนำสารที่ต้องการทดสอบใส่ในสิ่งรองรับซึ่งอยู่บน หรือในอาหารวุ้นที่ได้เพาะเชื้อไว้แล้ว ภายหลังการเพาะบ่ม สังเกตรอบบริเวณสิ่งรองรับ ว่ามีการเกิดบริเวณใส (inhibition zone) ซึ่งไม่มีเชื้อเจริญหรือไม่ วิธีนี้สามารถทำได้หลายรูปแบบขึ้นกับสิ่งรองรับตัวยา เช่น หลุมที่เจาะลงในอาหารวุ้น (Agar-well diffusion method) ถ้วยโลหะทรงกระบอก (Cup diffusion method) หรือ กระดาษซับกลมซึมซ่านในอาหารวุ้น(Agar-disc diffusion method) ทั้งนี้ปัจจุบันการใช้กระดาษซับกลมเป็นที่นิยม เนื่องจากสะดวกต่อการใช้งาน แต่การทดสอบแบบใช้สิ่งรองรับเป็นหลุม และถ้วยนั้นสามารถเห็นผลได้ชัดเจนกว่า จึงเหมาะกับสารทดสอบที่แพร่ซึมได้ยาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.) การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) (พสุดา, 2550)

ความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) เป็นระดับความเข้มข้นของสารทดสอบที่มีความเจือจางสูงสุด หรือ ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ

จุลินทรีย์ทดสอบได้ โดยมีเทคนิค 2 วิธี คือ

2.1) Direct plate assay technique เป็นวิธีการตรวจหาสารยับยั้งจุลินทรีย์ และค่า MIC ที่นิยม โดยเตรียมสารให้มีความเจือจางเพิ่มขึ้นทีละ 2 เท่า (Two-fold dilution) ตั้งแต่ 2 ไปถึง 4096 และใช้เทคนิคการให้สารซึมซ่านจากสิ่งรองรับซึ่งอยู่บน หรือในอาหารวุ้นที่ได้เพาะเชื้อไว้ ตรวจสอบความเจือจางสุดท้ายที่ให้วงใส ซึ่งจะเป็นระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

2.2) Tube dilution turbidimetric technique เป็นวิธีการตรวจหาสารยับยั้งจุลินทรีย์ และค่า MIC ที่นิยม โดยเตรียมสารให้มีความเจือจางเพิ่มขึ้นทีละ 2 เท่า หรือทีละ10 เท่า ในหลอดทดลอง โดยเทคนิคการเจือจางสารทดสอบในอาหารเหลว และตรวจสอบการเจริญของเชื้อในอาหารเหลว หลังการบ่มเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง โดยความเจือจางสุดท้ายที่เชื้อไม่สามารถเจริญคือค่า MIC

3.) การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Bactericidal Concentration; MBC)

จากเทคนิคการหาค่า MIC ดังกล่าวสามารถทดสอบและเปรียบเทียบความไวของเชื้อหนึ่งเชื้อใดต่อสารยับยั้งจุลินทรีย์ หรือนำไปประยุกต์ใช้เพื่อตรวจสอบสารใดๆที่คาดว่ามีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแล้ว ยังสามารถศึกษาถึงลักษณะวิธีการออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อของสารนั้นด้วย ซึ่งความเข้มข้นต่ำสุดของสารในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Bactericidal Concentration; MBC) หมายความถึงความเข้มข้นต่ำสุดที่จะทำลายจุลินทรีย์ลงได้ 99.9 เปอร์เซ็นต์ หรือเหลือรอดต่ำกว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์จากเชื้อเริ่มต้น คือค่า MBC เช่น เชื้อเริ่มต้นที่ใช้ทดสอบเท่ากับ 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร ความเข้มข้นใดที่ที่ทำให้เชื้อเหลือรอดไม่เกิน 1,000 โคโลนี/มิลลิลิตร จะเป็นค่า MBC นอกจากนี้ยังต้องพิจารณาถึงระยะเวลาที่สามารถฆ่าทำลายเชื้อได้ โดยทำการศึกษากราฟอัตราการฆ่าเชื้อ หรือปริมาณเชื้อที่เหลือรอดต่อช่วงเวลาในการออกฤทธิ์ ของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) ซึงปัจจัยทั้ง 3 อันได้แก่ ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่มีฤทธิ์ฆ่าทำลายเชื้อจุลินทรีย์ ระยะเวลา และ ปริมาณเชื้อเหลือรอด จะใช้ในการประเมินคุณสมบัติของสารนั้นๆว่าเป็นชนิดยับยั้ง (bacteriostatic) คือ สารที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อไม่ให้เจริญเติบโตหรือเพิ่มจำนวนตลอดระยะเวลาการเพาะบ่ม 24 ชั่วโมง หรือชนิดฆ่าทำลาย (bactericidal) สารที่มีฤทธิ์ ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การฆ่าทำลายเชื้อหรือลดจำนวนเชื้อลง 99.99 เปอร์เซ็นต์จากเชื้อเริ่มต้น และไม่มีการเจริญเติบโตหรือเพิ่มจำนวนของเชื้อขึ้นในระยะเวลาการเพาะบ่ม 24 ชั่วโมง ซึ่งการแปรผลวิถีการออกฤทธิ์ของสารว่าเป็นแบบยับยั้งจะมีค่า MIC ต่ำกว่าค่า MBC อย่างมากในหลายๆเท่าของการเจือจางความเข้มข้นของสารทดสอบ ในขณะที่สารมีวิถีการออกฤทธิ์แบบฆ่าจะมีค่า MIC และค่า MBC เท่ากันหรือใกล้เคียงกันโดยมีความแตกต่างของค่าไม่เกินหนึ่งหรือสองเท่าของการเจือจางความเข้มข้นของสารทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์ และ วิธีการ

3.1 วัตถุดิบ อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 วัตถุดิบ (บริษัท เครื่องหอมไทย-จีน จำกัด)

1.) น้ำมันหอมระเหยขมิ้น

2.) น้ำมันหอมระเหยกระเพรา

3.) น้ำมันหอมระเหยไพล

4.) สารสกัดพริก

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์

- *E. coli TISTR 371*
- *E. coli TISTR 527*
- *E. coli TISTR 780*
- *Salmonella anatum*
- *Salmonella derby*
- *Salmonella* Typhimurum
- *Staphylococcus aureus LTH*
- *Lactobacillus acidophilus TISTR 1034*

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1.) เอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์

2.) MRS Broth (Merck, Germany)

3.) MRS Agar (Merck, Germany)

4.) Nutrient Broth (NB) (ภาคผนวก ก)

5.) Netrient Agar (NA)(ภาคผนวก ก)

6.) Peptone (Merck, Germany)

3.1.4 เครื่องมือและอุปกรณ์

1.) ตู้บ่มเชื้อจุลินทรีย์ (ยี่ห้อ Memmert)

2.) กล้องจุลทรรศน์ (ยี่ห้อ Nikon รุ่น Eclipse E200, Japan)

3.) หม้อนึ่งความดัน (ยี่ห้อ Tomy Autoclave รุ่น SS-325)

4.) กระดาษซับกลม (Paper disc) ขนาด 6 มิลลิลิตร

5.) Autopipette (ยี่ห้อ Pipetman)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.) Haemacytometer

7.) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (ยี่ห้อ Silicon รุ่น S-650, USA)

8.) ตู้เขี่ยเชื้อแบบ Larminar flow (ยี่ห้อ Astec Microflow รุ่น ABS 1200)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 ศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

3.2.1.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

ถ่ายเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์จากหลอดเก็บเชื้อ (stock culture) ด้วยห่วงเขี่ยเชื้อ (loop) จำนวน 1 ลูป ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน18-24 ชั่วโมง จนได้สารแขวนลอยของเซลล์ (cell suspension) ที่เข้มข้นประมาณ 10^6 CFU/ml

สำหรับเชื้อแบคทีเรียแลกติก ใช้วิธีการเตรียมเช่นเดียวกับที่กล่าวมา แต่ใช้อาหาร MRS broth และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน18-24 ชั่วโมง ที่สภาวะมีอากาศเล็กน้อยใน candled jar

3.2.1.2 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี Agar diffusion

(พสุดา, 2550)

เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียลงในอาหารแข็งด้วยวิธี Double layer โดยเทอาหาร NA ที่หลอมเหลว 15 มิลลิลิตร ต่อจานเพาะเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ให้แข็งเป็นอาหารส่วนที่1 จากนั้นปิเปตสารแขวนลอยของเชื้อประมาณ 10^6 CFU/ml ปริมาตร 50 ไมโครลิตร (จากข้อ 3.2.1.1) ลงในอาหาร NA ที่หลอมเหลวอุณหภูมิ 45 - 50 องศาเซลเซียส ปริมาณ 5 มิลลิลิตร เป็นอาหารส่วนที่ 2 เทลงบนผิวหน้าอาหารแข็งส่วนที่ 1 ทำการ pour plateให้อาหารส่วนที่ 2 กระจายทั่วจานอาหาร รอให้อาหารแข็ง จากนั้นวางกระดาษซับกลม (paper disc) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร บนผิวหน้าอาหารที่มีเชื้อแบคทีเรียทดสอบอยู่ ปิเปตสารสกัดสมุนไพร 20 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษซับกลมแล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที จึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (inhibition zone) รอบกระดาษซับกลม 3 ตำแหน่งและรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยของโซนใสมีหน่วยเป็นเซนติเมตร

สำหรับเชื้อแบคทีเรียแลกติก ใช้วิธีการเตรียมเช่นเดียวกัน แต่ใช้อาหาร MRS agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ใน candled jar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.1.3 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ของน้ำมันหอมระเหยสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธี Agar diffusion (พสุดา, 2550)

หาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยการเจือจางสารสกัดด้วยเอทานอล 90% โดยเจือจางเพิ่มขึ้นทีละ 2 เท่า (two-fold dilution) นำสารละลายที่ความเข้มข้นต่างๆไปทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อหาปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัด (MIC) ในการยับยั้งการเกิดโซนใสของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งๆ รอบกระดาษซับกลม

3.2.1.4 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยสมุนไพรในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Bactericidal Concentration; MBC) ในสภาวะอาหารเหลว (พสุดา, 2550)

เตรียมซัสเพนชั่นของแบคทีเรียทดสอบเข้มข้นประมาณ 10^6 CFU/ml ในอาหาร NB แล้วเติมสารสกัดสมุนไพร โดยแปรผันระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ 1% และ 2% โดยปริมาตร บ่มที่ 37 °C 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างมาตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ที่เหลือโดยวิธี spread plate ทุกๆ 4 ชั่วโมง เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหย ที่สามารถทำลายเชื้อได้ 99.9 % หรือเหลือรอดน้อยกว่า 0.1% ใน 24 ชั่วโมง ซึ่งแสดงว่าสารสกัดนี้มีการออกฤทธิ์เป็นแบบทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (bactericidal) และรายงานผลเป็นค่า MBC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำหอมระเหยและสารสกัดสมุนไพรโดยวิธี Agar diffusion

จากการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี Agar diffusion (ตารางที่ 4.1) พบว่าน้ำมันหอมระเหยกระเพราสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Salmonella, *E. coli, Stap. aureus* และ *L. acidophilus* ได้ดีตามลำดับ ส่วนน้ำมันหอมระเหยไพลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุดและยับยั้ง Salmonella, *Stap. aureus* ได้ดีตามลำดับ แต่สามารถ *L. acidophilus* ได้เล็กน้อย ในขณะที่สารสกัดจากขมิ้น และพริก ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ Salmonella, *Stap. aureus* และ *E. coli* ได้

อย่างไรก็ตามได้มีรายงานวิจัยของผู้วิจัยท่านอื่นว่าพริกและขมิ้นมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ได้ ซึ่งฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์นั้นอาจจะแตกต่างกับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบ หรืออาจจะเกิดจากปริมาณและความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่างกันในการนำมาใช้ในการทดลองยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

ตารางที่ 4.1 ผลการยับยั้งจุลินทรีย์ของ น้ำมันหอมระเหยกระเพรา ขมิ้น และไพล และสารสกัดสมุนไพรจากพริก

จุลินทรีย์ทดสอบ	ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส*(cm)			
	น้ำมันกระเพรา	น้ำมันไพล	สารสกัดพริก	น้ำมันหอมระเหยขมิ้น
E.coli TISTR 371	1.40±0.09	1.80±0.06	-	-
E.coli TISTR 527	1.43±0.79	1.73±0.14	-	-
E.coli TISTR 780	1.46±0.06	1.55±0.11	-	-
S. anatum	1.70±0.09	1.52±0.07	-	-
S. derby	1.60±0.06	1.35±0.11	-	-
S. Typhimurium	1.52±0.11	1.35±0.11	-	-
Stap. Aureus	1.36±0.16	1.23±0.11	-	-
L. acidophilus	1.35±0.11	1.06±0.06	-	-

*ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ของน้ำมันหอมระเหยกระเพราและไพลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธีAgar diffusion

จากการทดลองเพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ของน้ำมันกระเพราและไพลที่มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยวิธี Agar diffusion (ตารางที่ 4.2 และ 4.3) พบว่า น้ำมันหอมระเหยกระเพราและไพล สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* TISTR 371 ได้ในระดับความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 1:4 และสามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* TISTR 780 ได้ในระดับความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 1:2 น้ำมันหอมระเหยกระเพรา สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* TISTR 527 ได้ในระดับความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 1:6 ส่วนน้ำมันหอมระเหยไพล สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* TISTR 527 ได้ในระดับความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 1:4 ทั้งน้ำมันหอมระเหยกระเพราและไพล สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. anatum, S. derby* และ *S.* Typhimurium ได้ในระดับความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 1:4 น้ำมันหอมระเหยกระเพราสามารถยับยั้งการเจริญของ *Stap. aureus* ได้ในระดับความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 1:2 ส่วนน้ำมันหอมระเหยไพล สามารถยับยั้งการเจริญของ *Stap. aureus* ได้ในระดับความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 1:6 น้ำมันหอมระเหยกระเพราสามารถยับยั้งการเจริญของ *L. acidophilus* ได้ในระดับความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 1:2 แต่มีขนาดของโซนใสค่อนข้างเล็ก ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยไพลไม่แสดงผลยับยั้งการเจริญของ *L. acidophilus*

จากการทดลองพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยกระเพราและไพลนั้นมีความแตกต่างกัน ซึ่งอาจขึ้นอยู่กับปริมาณที่ใช้และชนิดของจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบและองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้มากน้อยต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันกระเพราต่อการยับยั้งจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ทดสอบ	ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส*(cm)				
	ระดับการเจือจาง				
	1	1:2	1:4	1:6	90% ethanol
E.coli TISTR 371	1.23±0.08	1.03±0.04	0.83±0.12	-	-
E.coli TISTR 527	1.58±0.12	1.15±0.06	1.06±0.06	0.95±0.11	-
E.coli TISTR 780	1.61±0.30	1.23±0.05	0.39±0.31	0.36±0.18	-
S. anatum	1.52±0.07	1.25±0.14	0.8±0.06	-	-
S. derby	1.43±0.18	1.32±0.21	0.76±0.08	-	-
S. Typhimurium	1.10±0.18	1.15±0.08	0.69±0.02	-	-
Stap. aureus	1.49±0.18	1.18±0.02	0.38±0.30	-	-
L. acidophilus	0.89±0.02	0.78±0.03	-	-	-

*ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางที่ 4.3 ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันไพลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ทดสอบ	ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส*(cm)				
	ระดับการเจือจาง				
	1	1:2	1:4	1:6	90% ethanol
E.coli TISTR 371	1.26±0.08	0.93±0.12	0.75±0.18	0.35±0.27	-
E.coli TISTR 527	1.37±0.15	1.08±0.07	0.83±0.04	-	-
E.coli TISTR 780	1.25±0.10	1.04±0.04	0.38±0.29	-	-
S. anatum	1.30	1.15±0.06	0.83±0.12	0.36±0.29	-
S. derby	1.14±0.15	0.92±0.10	0.73±0.05	-	-
S. Typhimurium	1.09±0.06	0.88±0.09	0.79±0.12	-	-
Stap. aureus	1.18±0.10	1.05±0.06	0.80±0.06	0.71±0.07	-
L. acidophilus	-	-	-	-	-

*ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันกระเพราในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Bactericidal Concentration; MBC) ในสภาวะอาหารเหลว

จากการทดลองหาค่า MBC (ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ที่สามารถทำลายเชื้อได้ 99.9% หรือเหลือรอดน้อยกว่า 0.1% ของปริมาณเชื้อเริ่มต้นใน 24 ชั่วโมง) พบว่าน้ำมันหอมระเหยกระเพราเข้มข้น 1% โดยปริมาตร ไม่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ *Stap. aureus* , *E. coli* , *S.* Typhimurium ได้เนื่องจากที่เวลา 24 ชั่วโมง ยังมีปริมาณของเชื้อทั้งสามชนิดรอดชีวิตมากกว่า 0.1% ของปริมาณเชื้อเริ่มต้น ดังแสดงในตารางที่ 4.4 อย่างไรก็ตามเมื่อใช้น้ำมันกระเพราที่ระดับ 2 % พบว่าสามารถทำลายเชื้อ *E. coli TISTR 371* จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น (ชั่วโมงที่0) เท่ากับ 6.18 logCFU/ml ลดลงเหลือน้อยกว่า 2 logCFU/ml ในชั่วโมงที่ 8 และในชั่วโมงที่ 24 ยังคงมีปริมาณเชื้อที่รอดชีวิตเท่ากับ 2.70 logCFU/ml ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 0.1% ของปริมาณเชื้อเริ่มต้น ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยกระเพราเข้มข้น 2 % สามารถยับยั้งเชื้อ *Stap. aureus* จากปริมาณเริ่มต้น 5.95 logCFU/ml ลดลงเหลือน้อยกว่า 2 logCFU/ml ในชั่วโมงที่ 16 อย่างไรก็ตามไม่สามารถทำลายเชื้อดังกล่าวได้ เนื่องจากเชื้อมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 4.17 logCFU/ml แสดงว่ามีเชื้อเหลือรอดมากกว่า 0.1 % ใน 24 ชม. ในทำนองเดียวกันน้ำมันหอมระเหยกระเพราที่ระดับ 2 % สามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Typhimurium จากปริมาณเริ่มต้น 6.54 logCFU /ml ลดลงเหลือน้อยกว่า 2 logCFU/ml ในชั่วโมงที่ 8 อย่างไรก็ตามไม่สามารถทำลายเชื้อได้ เนื่องจากเชื้อมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 3.70 logCFU/ml แสดงว่ามีเชื้อเหลือรอดมากกว่า 0.1% ใน 24 ชม.

จากการทดลองพบว่าน้ำมันหอมระเหยกระเพราสามารถยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ได้ดี โดยเฉพาะ *E. coli* เนื่องจากกลไกการออกฤทธิ์ขององค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยซึ่งได้แก่สารพวก Eugenol, Methyl Eugenol นั้นมีฤทธิ์ในการทำให้เซลล์บาดเจ็บ ส่วน Linalool มีฤทธิ์ในการช่วยยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ โดยสอดคล้องกับหนังสือพิมพ์เดลินิวส์ เมื่อวันที่ 15 ตุลาคม 2550 (www.dailynews.co.th) ที่พบว่าน้ำมันหอมระเหยกระเพรามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ตารางที่ 4.4 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งหรือทำลายโดยแบคทีเรีย โดยใช้น้ำมันกระเพราเข้มข้น 1%

แบคทีเรีย	ปริมาณเชื้อ (logCFU/ml) ณ ชั่วโมงที่						
	0	4	8	12	16	20	24
Stap.aureus LTH	6.04	5.77	6.18	5.36	<3	<2	5.54
S. Typhimurium	6.54	4.30	<2	<2	2.48	6.08	4.70
E. coli TISTR 371	6.18	<3	<3	<3	<3	5.04	3.70

* ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางที่ 4.5 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งหรือทำลายแบคทีเรียโดยใช้น้ำมันกระเพราเข้มข้น 2%

แบคทีเรีย	ปริมาณเชื้อ (logCFU/ml) ณ ชั่วโมงที่						
	0	4	8	12	16	20	24
Stap.aureus LTH	5.95	5.78	4.32	4.72	<2	<2	4.17
S. Typhimurium	6.54	<3	<2	<2	5.28	4.70	3.70
E. coli TISTR 371	6.18	3.40	<2	<2	<2	<2	2.70

* ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ

85395

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

น้ำมันหอมระเหยจากกระเพรา และไพลสามารถยับยั้ง Salmonella , *E. coli* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดี แต่พบว่ามีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *L. acidophilus* ได้พียงเล็กน้อย เมื่อทำการทดสอบโดยวิธี Agar diffusion โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง(Minimal Inhibitory Concentration; MIC) อยู่ในช่วง 1:2 และ 1:6 ขึ้นกับชนิดและสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ทดสอบ น้ำมันหอมระเหยกระเพราทางการค้า ซึ่งมีองค์ประกอบของ eugenol 30-40% มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ *E.coli TISTR 371* ได้ที่ค่า MBC เท่ากับ 2%

จากผลทดลองที่ได้นี้ทำให้ทราบถึงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากกระเพราและไพล โดยสามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการผลิตเป็นอาหารเสริมให้กับสัตว์เพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในการผลิตสัตว์ต่อไปได้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรจะพัฒนาในการหาระดับความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ที่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบได้ทุกชนิด
2. ควรจะมีการคิดค้นและพัฒนานำน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรชนิดอื่นมาใช้ทดสอบในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรรณิการ์ นทีรมณ์ และ ฐิติพร พิทักษ์กมลพันธ์. 2544. " สารสกัดจากพืชที่มีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด" ปัญหาพิเศษ. ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี : หน้า 74.

เกรียงศักดิ์ พูนสุข. 2536. "โรคติดเชื้อในไก่" กรุงเทพ : คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย : หน้า 69-53,138-139.

ศ. ดร.นันทวัน บุณยะประภัศร. 2540 "สมุนไพรเพื่อพัฒนาคุณภาพชีวิต" งานวิจัย. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

พสุดา เจี่ยปียะสกุล. 2550. "การประเมินศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านบางชนิด " วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Ozaki Y, Kawahara, N. and Harada, M. (1991). Anti-inflammatory effect of *Zingiber cassumunar* Roxb. and its activeprinciples. Chem Pharm Bull (Tokyo). Sep;39(9):2353-6.

Krogstad A.L., Lonnroth P., Larson G., Wallin B.G. (1999). Capsaicin treatment induces histamine release and perfusion changes in psoriatic skin. Br J Dermatol. Jul;141(1):87-93.

"Salmonella spp." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.dld.go.th/niah/ (26 ตุลาคม 2550)

"พริก" [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://th.wikipedia.org/wiki (26 ตุลาคม 2550)

"ขมิ้น" [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/curcuma.html (26 ตุลาคม 2550)

หนังสือพิมพ์เดลินิวส์. 2550. "โรคเต้านมอักเสบในโค"[ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก :http://www.dailynews.co.th (18 มีนาคม 2551)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2550 "ไพล" [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก http://www.bangkokbiznews.com/2007/03/16/news_23094221.php? (18 มีนาคม 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. การเตรียมอาหาร Nutrient Agar (NA)

Beef extract	3 g	Peptone	5 g
Agar	15 g	น้ำกลั่น	1 L

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ถ่ายใส่ขวดที่มีจุกหรือฝาปิด นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมอาหาร Nutrient Broth (NB)

Beef extract	3 g	Peptone	5 g
น้ำกลั่น	1 L		

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ถ่ายใส่ขวดที่มีจุกหรือฝาปิด นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. การเตรียมอาหาร MRS Agar (Merck, Germany)

MRS	52.2 g	Agar	15 g
น้ำกลั่น	1 L		

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ถ่ายใส่ขวดที่มีจุกหรือฝาปิด นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. การเตรียมอาหาร MRS Broth (Merck, Germany)

MRS	52.2 g	น้ำกลั่น	1 L

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ถ่ายใส่ขวดที่มีจุกหรือฝาปิด นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121°ซ เป็นเวลา 15 นาที

5. การเตรียมสารละลายเปปโตน

Peptone buffer	1 g	น้ำกลั่น	1 L

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ถ่ายใส่ขวดที่มีจุกหรือฝาปิด นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ข้อมูลผลการทดลอง

ตารางที่ ข1 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli TISTR 371* โดยวิธี Agar diffusion

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระยะ clear zone (ซ้ำ 1)cm			ระยะ clear zone (ซ้ำ 2) cm			เฉลี่ย
	1	2	3	1	2	3	
กระเพรา	1.40	1.30	1.30	1.40	1.50	1.50	1.40±0.09
ไพล	1.80	1.80	1.80	1.90	1.70	1.80	1.80±0.06
พริก	ไม่เกิด clear zone			ไม่เกิด clear zone			
ขมิ้น	ไม่เกิด clear zone			ไม่เกิด clear zone			

* ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ (วัดรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc ขนาด 0.60 cm.)

ตารางที่ ข2 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli TISTR 527* โดยวิธี Agar diffusion

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระยะ clear zone (ซ้ำ 1)cm			ระยะ clear zone (ซ้ำ 2) cm			เฉลี่ย
	1	2	3	1	2	3	
กระเพรา	1.50	1.30	1.50	N/A	N/A	N/A	1.43±0.79
ไพล	1.80	1.90	1.80	1.50	1.70	1.70	1.73±0.14
พริก	ไม่เกิด clear zone			ไม่เกิด clear zone			
ขมิ้น	ไม่เกิด clear zone			ไม่เกิด clear zone			

* ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ (วัดรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc ขนาด 0.60 cm.)

ตารางที่ ข3 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli TISTR 780* โดยวิธี Agar diffusion

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระยะ clear zone (ซ้ำ 1)cm			ระยะ clear zone (ซ้ำ 2) cm			เฉลี่ย
	1	2	3	1	2	3	
กระเพรา	1.40	1.50	1.50	1.50	1.40	1.50	1.46±0.06
ไพล	1.70	1.50	1.60	1.50	1.40	1.60	1.55±0.11
พริก	ไม่เกิด clear zone			ไม่เกิด clear zone			
ขมิ้น	ไม่เกิด clear zone			ไม่เกิด clear zone			

* ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ (วัดรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc ขนาด 0.60 cm.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข4 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella anatum*โดยวิธี Agar diffusion

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระยะ clear zone (ซ้ำ 1)cm			ระยะ clear zone (ซ้ำ 2) cm			เฉลี่ย
	1	2	3	1	2	3	
กระเพรา	1.70	1.60	1.60	1.70	1.80	1.80	1.70±0.09
ไพล	1.50	1.50	1.40	1.60	1.50	1.60	1.52±0.07
พริก	ไม่เกิด clear zone			ไม่เกิด clear zone			
ขมิ้น	ไม่เกิด clear zone			ไม่เกิด clear zone			

* ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ (วัดรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc ขนาด 0.60 cm.)

ตารางที่ ข5 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella derby* โดยวิธี Agar diffusion

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระยะ clear zone (ซ้ำ 1)cm			ระยะ clear zone (ซ้ำ 2) cm			เฉลี่ย
	1	2	3	1	2	3	
กระเพรา	1.60	1.60	1.60	1.70	1.50	1.60	1.60±0.06
ไพล	1.30	1.40	1.50	1.30	1.20	1.40	1.35±0.11
พริก	ไม่เกิด clear zone			ไม่เกิด clear zone			
ขมิ้น	ไม่เกิด clear zone			ไม่เกิด clear zone			

* ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ (วัดรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc ขนาด 0.60 cm.)

ตารางที่ ข6 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* Typhimurium โดยวิธี Agar diffusion

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระยะ clear zone (ซ้ำ 1)cm			ระยะ clear zone (ซ้ำ 2) cm			เฉลี่ย
	1	2	3	1	2	3	
กระเพรา	1.40	1.50	1.40	1.70	1.50	1.60	1.52±0.11
ไพล	1.30	1.30	1.20	1.40	1.50	1.40	1.35±0.11
พริก	ไม่เกิด clear zone			ไม่เกิด clear zone			
ขมิ้น	ไม่เกิด clear zone			ไม่เกิด clear zone			

* ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ (วัดรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc ขนาด 0.60 cm.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข7 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus LTH* โดยวิธี Agar diffusion

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระยะ clear zone (ซ้ำ 1)cm			ระยะ clear zone (ซ้ำ 2) cm			เฉลี่ย
	1	2	3	1	2	3	
กระเพรา	1.50	1.60	1.30	1.20	1.30	1.25	1.36±0.16
ไพล	1.30	1.20	1.40	1.10	1.15	1.20	1.23±0.11
พริก	ไม่เกิด clear zone			ไม่เกิด clear zone			
ขมิ้น	ไม่เกิด clear zone			ไม่เกิด clear zone			

*ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ (วัดรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc ขนาด 0.60 cm.)

ตารางที่ ข8 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus TISTR 1034* โดยวิธี Agar diffusion

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระยะ clear zone (ซ้ำ 1)cm			ระยะ clear zone (ซ้ำ 2) cm			เฉลี่ย
	1	2	3	1	2	3	
กระเพรา	1.40	1.40	1.50	1.20	1.30	1.30	1.35±0.11
ไพล	1.10	1.10	1.00	1.10	1.10	1.00	1.06±0.06
พริก	ไม่เกิด clear zone			ไม่เกิด clear zone			
ขมิ้น	ไม่เกิด clear zone			ไม่เกิด clear zone			

* ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ (วัดรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc ขนาด 0.60 cm.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข9 ผลศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด(Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli TISTR 371* ด้วยวิธี Agar diffusion

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระดับการเจือจาง	ระยะ clear zone (ซ้ำ 1)cm			ระยะ clear zone (ซ้ำ 2) cm			เฉลี่ย
		1	2	3	1	2	3	
กระเพรา	1	1.10	1.20	1.30	1.30	1.20	1.30	1.23±0.08
	1:2	1.00	1.10	1.00	1.00	1.10	1.00	1.03±0.04
	1:4	0.80	0.70	0.70	0.90	1.00	0.90	0.83±0.12
	1:6	-	-	-	-	-	-	-
	Alcohol 90%	-	-	-	-	-	-	-
ไพล	1	1.30	1.40	1.20	1.20	1.30	1.20	1.26±0.08
	1:2	0.80	0.90	0.80	1.00	1.10	1.00	0.93±0.12
	1:4	0.70	0.80	0.70	0.80	0.70	0.80	0.75±0.18
	1:6	0.70	0.70	0.70	-	-	-	0.35±0.27
	Alcohol 90%	-	-	-	-	-	-	-

* ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ (วัดรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc ขนาด 0.60 cm.)

ตารางที่ ข10 ผลศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด(Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli TISTR 527* ด้วยวิธี Agar diffusion

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระดับการเจือจาง	ระยะ clear zone (ซ้ำ 1)cm			ระยะ clear zone (ซ้ำ 2) cm			เฉลี่ย
		1	2	3	1	2	3	
กระเพรา	1	1.50	1.60	1.80	1.50	1.50	1.60	1.58±0.12
	1:2	1.20	1.10	1.20	1.20	1.10	1.10	1.15±0.06
	1:4	1.10	1.10	1.10	1.00	1.00	1.10	1.06±0.06
	1:6	1.10	0.90	0.80	1.00	0.90	1.00	0.95±0.11
	Alcohol 90%	-	-	-	-	-	-	-
ไพล	1	1.30	1.20	1.20	1.50	1.50	1.50	1.37±0.15
	1:2	1.10	1.00	1.00	1.20	1.10	1.10	1.08±0.07
	1:4	0.80	0.90	0.80	0.80	0.90	0.80	0.83±0.04
	1:6	-	-	-	-	-	-	-
	Alcohol 90%	-	-	-	-	-	-	-

* ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ (วัดรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc ขนาด 0.60 cm.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข11 ผลศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli TISTR 780* ด้วยวิธี Agar diffusion

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระดับการเจือจาง	ระยะ clear zone (ซ้ำ 1)cm			ระยะ clear zone (ซ้ำ 2) cm			เฉลี่ย
		1	2	3	1	2	3	
กระเพรา	1	1.30	1.40	1.35	1.90	1.90	1.85	1.61±0.30
	1:2	1.20	1.25	1.25	1.30	1.15	1.20	1.23±0.05
	1:4	0.80	0.80	0.75	-	-	-	0.39±0.31
	1:6	0.65	0.70	0.80	-	-	-	0.36±0.18
	Alcohol 90%	-	-	-	-	-	-	-
ไพล	1	1.30	1.40	1.30	1.15	1.20	1.15	1.25±0.10
	1:2	1.05	1.05	1.10	1.00	1.05	1.00	1.04±0.04
	1:4	0.75	0.75	0.75	-	-	-	0.38±0.29
	1:6	-	-	-	-	-	-	-
	Alcohol 90%	-	-	-	-	-	-	-

*ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ (วัดรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc ขนาด 0.60 cm.)

ตารางที่ ข12 ผลศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella anatum* ด้วยวิธี Agar diffusion

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระดับการเจือจาง	ระยะ clear zone (ซ้ำ 1)cm			ระยะ clear zone (ซ้ำ 2) cm			เฉลี่ย
		I	2	3	1	2	3	
กระเพรา	1	1.50	1.60	1.60	1.50	1.40	1.50	1.52±0.07
	1:2	1.20	1.10	1.10	1.40	1.40	1.30	1.25±0.14
	1:4	0.80	0.70	0.80	0.90	0.80	0.80	0.80±0.06
	1:6	-	-	-	-	-	-	-
	Alcohol 90%	-	-	-	-	-	-	-
ไพล	1	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30±0
	1:2	1.10	1.20	1.20	1.20	1.10	1.10	1.15±0.06
	1:4	0.70	0.80	0.70	1.00	0.90	0.90	0.83±0.12
	1:6	-	-	-	0.80	0.70	0.70	0.36±0.29
	Alcohol 90%	-	-	-	-	-	-	-

*ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ (วัดรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc ขนาด 0.60 cm.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข13 ผลศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella derby* ด้วยวิธี Agar diffusion

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระดับการเจือจาง	ระยะ clear zone (ซ้ำ 1)cm			ระยะ clear zone (ซ้ำ 2) cm			เฉลี่ย
		1	2	3	1	2	3	
กระเพรา	1	1.50	1.70	1.50	1.30	1.20	1.35	1.43±0.18
	1:2	1.60	1.40	1.50	1.10	1.10	1.20	1.32±0.21
	1:4	0.70	0.70	0.70	0.90	0.80	0.80	0.76±0.08
	1:6	-	-	-	-	-	-	-
	Alcohol 90%	-	-	-	-	-	-	-
ไพล	1	1.00	1.00	1.00	1.30	1.30	1.25	1.14±0.15
	1:2	0.80	0.90	0.80	1.00	1.00	1.00	0.92±0.10
	1:4	0.80	0.80	0.70	0.70	0.70	0.70	0.73±0.05
	1:6	-	-	-	-	-	-	-
	Alcohol 90%	-	-	-	-	-	-	-

*ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ (วัดรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc ขนาด 0.60 cm.)

ตารางที่ ข14 ผลศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* Typhimurium ด้วยวิธี Agar diffusion

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระดับการเจือจาง	ระยะ clear zone (ซ้ำ 1)cm			ระยะ clear zone (ซ้ำ 2) cm			เฉลี่ย
		1	2	3	1	2	3	
กระเพรา	1	0.90	0.90	1.05	1.30	1.20	1.25	1.10±0.18
	1:2	1.30	1.10	1.15	1.10	1.10	1.15	1.15±0.08
	1:4	0.70	0.65	0.70	0.70	0.70	0.70	0.69±0.02
	1:6	-	-	-	-	-	-	-
	Alcohol 90%	-	-	-	-	-	-	-
ไพล	1	1.05	1.10	1.00	1.15	1.15	1.10	1.09±0.06
	1:2	0.80	0.80	0.80	0.95	1.00	0.95	0.88±0.09
	1:4	0.70	0.70	0.70	1.00	0.80	0.85	0.79±0.12
	1:6	-	-	-	-	-	-	-
	Alcohol 90%	-	-	-	-	-	-	-

*ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ (วัดรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc ขนาด 0.60 cm.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข15 ผลศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus LTH* ด้วยวิธี Agar diffusion

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระดับการเจือจาง	ระยะ clear zone (ซ้ำ 1)cm			ระยะ clear zone (ซ้ำ 2) cm			เฉลี่ย
		1	2	3	1	2	3	
กระเพรา	1	1.40	1.30	1.35	1.75	1.50	1.65	1.49±0.18
	1:2	1.20	1.20	1.20	1.20	1.15	1.15	1.18±0.02
	1:4	0.80	0.70	0.80	-	-	-	0.38±0.30
	1:6	-	-	-	-	-	-	-
	Alcohol 90%	-	-	-	-	-	-	-
ไพล	1	1.10	1.30	1.30	1.10	1.20	1.10	1.18±0.10
	1:2	1.10	1.00	1.00	1.10	1.10	1.00	1.05±0.06
	1:4	0.80	0.75	0.75	0.90	0.80	0.80	0.80±0.06
	1:6	0.65	0.65	0.65	0.80	0.75	0.75	0.71±0.07
	Alcohol 90%	-	-	-	-	-	-	-

*ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ (วัดรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc ขนาด 0.60 cm.)

ตารางที่ ข16 ผลศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus TISTR 1034* ด้วยวิธี Agar diffusion

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	ระดับการเจือจาง	ระยะ clear zone (ซ้ำ 1)cm			ระยะ clear zone (ซ้ำ 2) cm			เฉลี่ย
		1	2	3	1	2	3	
กระเพรา	1	0.85	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.89±0.02
	1:2	0.80	0.80	0.80	0.80	0.70	0.75	0.78±0.03
	1:4	-	-	-	-	-	-	-
	1:6	-	-	-	-	-	-	-
	Alcohol 90%	-	-	-	-	-	-	-
ไพล	1	-	-	-	-	-	-	-
	1:2	-	-	-	-	-	-	-
	1:4	-	-	-	-	-	-	-
	1:6	-	-	-	-	-	-	-
	Alcohol 90%	-	-	-	-	-	-	-

*ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ (วัดรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่น disc ขนาด 0.60 cm.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข17 ผลการทดสอบค่า MBC ของน้ำมันหอมระเหยหระเพราเข้มข้น 1% ต่อการทำลายเชื้อ

Staphylococcus aureus **LTH**

ชั่วโมงที่	จำนวนโคโลนี ระดับความเจือจาง										CFU/ml	logCFU/ml
	10^{-1}		10^{-2}		10^{-3}		10^{-4}		10^{-5}			
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
0	-	-	-	-	81	137	6	8	3	b	1.1×10^{6}	6.04
4	a	A	608	568	68	b	-	-	-	-	5.9×10^{5}	5.77
8	a	A	a	a	26	277	-	-	-	-	1.5×10^{6}	6.18
12	a	A	0	204	18	27	-	-	-	-	2.3×10^{5}	5.36
16	a	0	0	0	0	0	-	-	-	-	$< 1\times10^{3}$	<3
20	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	$< 1\times10^{2}$	<2
24	-	-	0	0	1	a	3	4	-	-	3.5×10^{5}	5.54

a = เชื้อเยอะมาก นับไม่ได้ b = contaminate

ตารางที่ ข18 ผลการทดสอบค่า MBC ของน้ำมันหอมระเหยหระเพราเข้มข้น 2% ต่อการทำลายเชื้อ

Staphylococcus aureus **LTH**

ชั่วโมงที่	จำนวนโคโลนี ระดับความเจือจาง										CFU/ml	logCFU/ml
	10^{-1}		10^{-2}		10^{-3}		10^{-4}		10^{-5}			
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
0	-	-	-	-	81	137	6	8	3	b	1.1×10^{5}	5.95
4	a	a	a	b	b	60	-	-	-	-	6.0×10^{5}	5.78
8	192	230	90	88	10	11	-	-	-	-	2.1×10^{4}	4.32
12	508	540	0	122	b	9	-	-	-	-	5.2×10^{4}	4.72
16	0	0	0	0	0	b	-	-	-	-	$< 1\times10^{2}$	<2
20	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	$< 1\times10^{2}$	<2
24	-	-	0	0	3	0	0	0	-	-	3.0×10^{4}	4.17

a = เชื้อเยอะมาก นับไม่ได้ b = contaminate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข19 ผลการทดสอบค่า MBC ของน้ำมันหอมระเหยกระเพราเข้มข้น 1% ต่อการทำลายเชื้อ *Salmonella* Typhimurium

ชั่วโมงที่	จำนวนโคโลนี ระดับความเจือจาง										CFU/ml	logCFU/ml
	10^{-1}		10^{-2}		10^{-3}		10^{-4}		10^{-5}			
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
0	-	-	-	-	a	a	a	a	4	3	3.5×10^{6}	6.54
4	a	28	12	28	b	5	-	-	-	-	2.0×10^{4}	4.30
8	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	$<1\times10^{2}$	<2
12	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	$<1\times10^{2}$	<2
16	2	4	0	0	0	0	-	-	-	-	3.0×10^{2}	2.48
20	-	-	b	b	0	0	0	23	-	-	1.2×10^{6}	6.08
24	-	-	-	-	0	0	0	1	0	0	0.5×10^{5}	4.70

a = เชื้อเยอะมาก นับไม่ได้ b = contaminate

ตารางที่ ข20 ผลการทดสอบค่า MBC ของน้ำมันหอมระเหยกระเพราเข้มข้น 2% ต่อการทำลายเชื้อ *Salmonella* Typhimurium

ชั่วโมงที่	จำนวนโคโลนี ระดับความเจือจาง										CFU/ml	logCFU/ml
	10^{-1}		10^{-2}		10^{-3}		10^{-4}		10^{-5}			
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
0	-	-	-	-	a	a	a	a	4	3	3.5×10^{6}	6.54
4	a	a	0	0	b	0	-	-	-	-	$<1\times10^{3}$	<3
8	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	$<1\times10^{2}$	<2
12	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	$<1\times10^{2}$	<2
16	0	0	0	0	37	0	-	-	-	-	1.9×10^{5}	5.28
20	-	-	0	0	0	0	1	0	-	-	0.5×10^{5}	4.70
24	-	-	0	0	0	1	4	0	-	-	0.5×10^{4}	3.70

a = เชื้อเยอะมาก นับไม่ได้ b = contaminate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข21 ผลการทดสอบค่า MBC ของน้ำมันหอมระเหยหระเพราเข้มข้น 1% ต่อการทำลายเชื้อ

E.coli TISTR 371

ชั่วโมงที่	จำนวนโคโลนี ระดับความเจือจาง										CFU/ml	logCFU/ml
	10^{-1}		10^{-2}		10^{-3}		10^{-4}		10^{-5}			
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
0	-	-	-	-	a	a	a	15	b	1	1.5×10^{6}	6.18
4	-	-	0	0	b	0	0	0	-	-	$< 1\times10^{3}$	<3
8	-	-	0	0	0	0	0	0	-	-	$< 1\times10^{3}$	<3
12	-	-	0	0	0	0	0	0	-	-	$< 1\times10^{3}$	<3
16	-	-	0	0	0	0	0	0	-	-	$< 1\times10^{3}$	<3
20	-	-	212	2	0	0	0	0	-	-	1.1×10^{5}	5.04
24	-	-	0	0	1	0	0	0	-	-	1×10^{4}	3.70

a = เชื้อเยอะมาก นับไม่ได้ b = contaminate

ตารางที่ ข22 ผลการทดสอบค่า MBC ของน้ำมันหอมระเหยหระเพราเข้มข้น 2% ต่อการทำลายเชื้อ

E.coli TISTR 371

ชั่วโมงที่	จำนวนโคโลนี ระดับความเจือจาง										CFU/ml	logCFU/ml
	10^{-1}		10^{-2}		10^{-3}		10^{-4}		10^{-5}			
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
0	-	-	-	-	a	a	a	15	b	1	1.5×10^{6}	6.18
4	43	18	1	4	3	0	-	-	-	-	3.1×10^{3}	3.40
8	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	$< 1\times10^{2}$	<2
12	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	$< 1\times10^{2}$	<2
16	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	$< 1\times10^{2}$	<2
20	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	$< 1\times10^{2}$	<2
24	-	-	0	1	1	10	0	0	-	-	5.5×10^{2}	2.70

a = เชื้อเยอะมาก นับไม่ได้ b = contaminate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณ

-วิธีคำนวณเชื้อ (ดร. บุญเทียม พันธุ์เพ็ง และ คณะ ,2549)

1. นับจำนวนโคโลนีในเพลท ให้เอาจำนวนโคโลนีที่อยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี เช่นตัวอย่างมี 2 ตัวอย่าง ในช่วงโคโลนีที่นับได้ อยู่ที่ 175 กับ 208 ที่ความเจือจาง 10^{-2} จะได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 191.5×10^{2} ดั่งนั้นผลการตรวจนับโคโลนีจะได้เท่ากับ 1.9×10^{4}

2.ในกรณีที่จำนวนโคโลนีอยู่ในช่วงที่นับได้ที่ความเจือจาง 2 ความเจือจางโดยหาค่าเฉลี่ย ของแต่ละความเจือจาง แล้วเอาค่าเฉลี่ยของระดับความเจือจางที่มากกว่าหารด้วยค่าเฉลี่ยระดับความเจือจางที่น้อยกว่า

- กรณีที่1 ถ้าผลหารออกมามีค่าน้อยกว่า 2 ให้ใช้ค่าเฉลี่ยทั้ง 4 ซ้ำ
- กรณีที่2 ถ้าผลหารออกมามีค่ามากกว่า2ให้ใช้ค่าเฉลี่ยของ2ซ้ำ ของระดับความเจือจางที่เมื่อ คูณด้วย dilution factor แล้วมีค่าน้อยกว่า

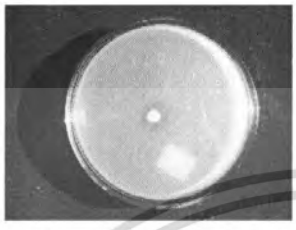
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

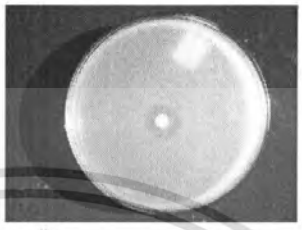
ภาพผลการทดลอง

E. coli

กระเพรา



ไพล



พริก

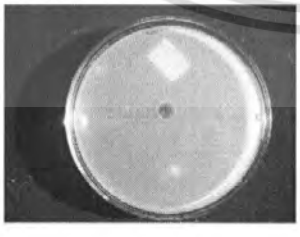
ขมิ้น

Salmonella

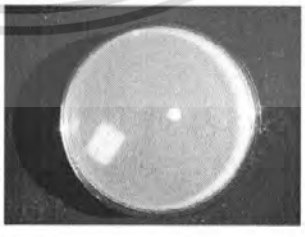
กระเพรา

ไพล

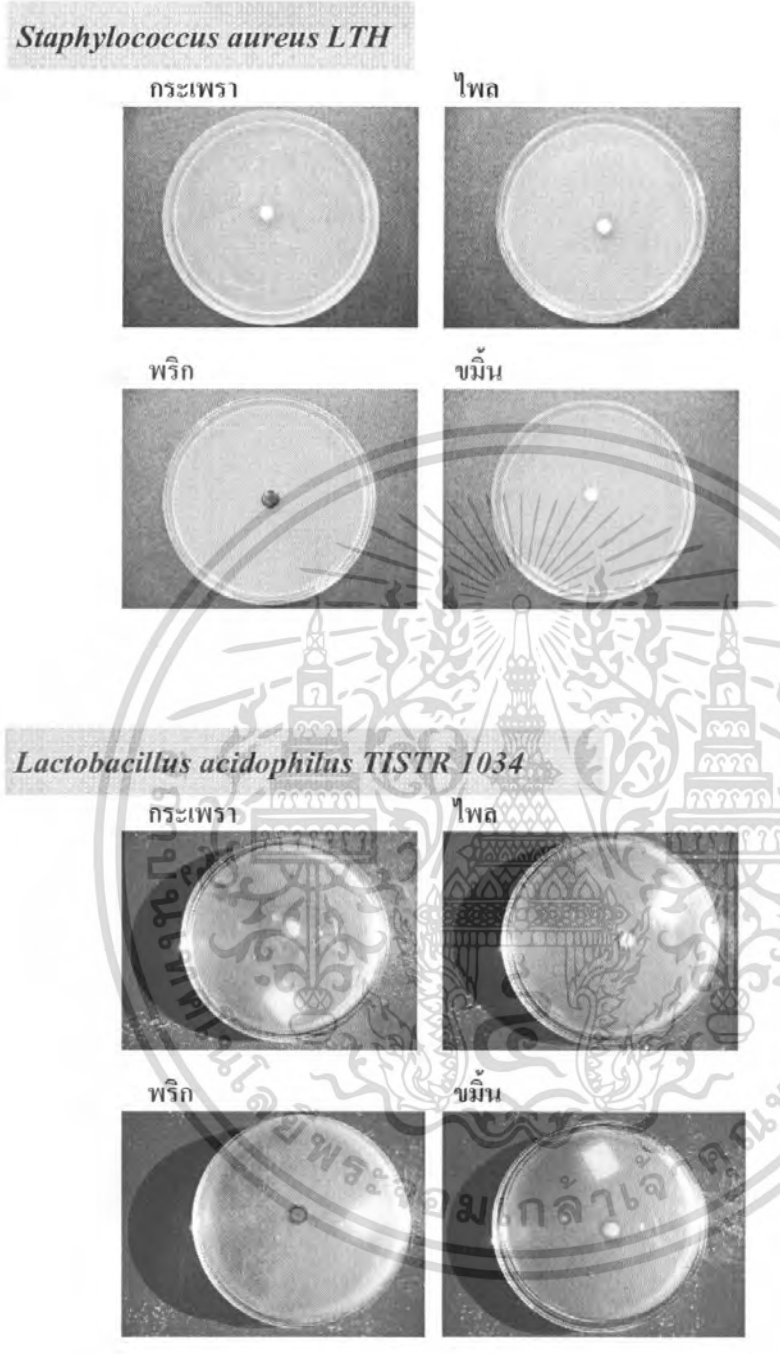
พริก



ขมิ้น

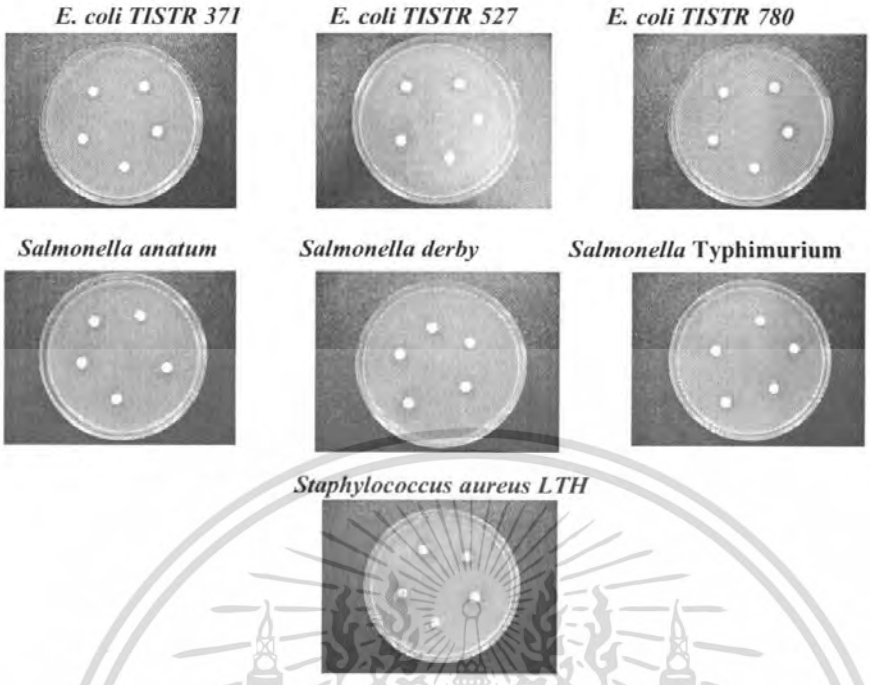


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

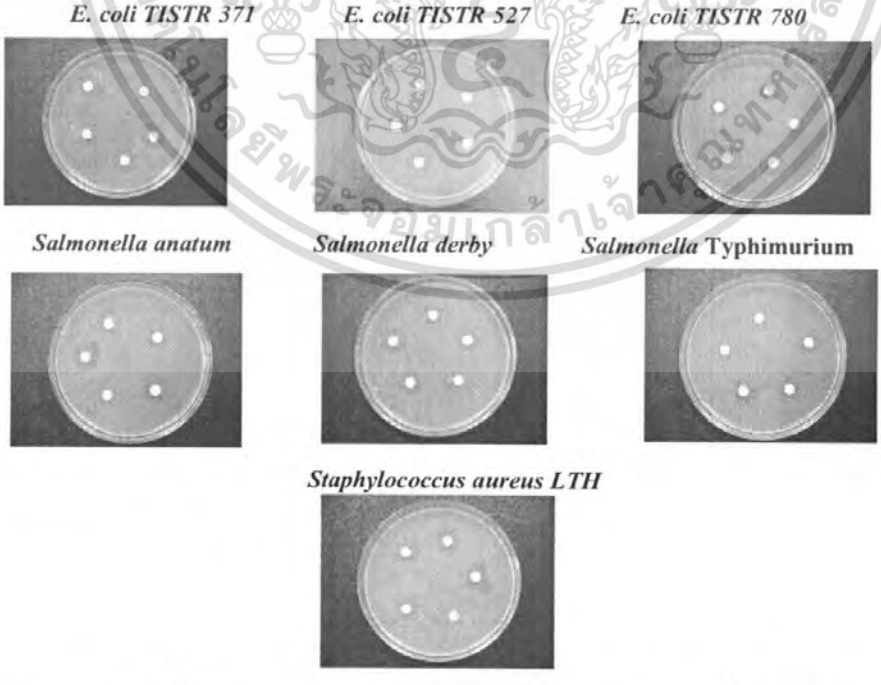


ภาพที่ ค1 ฤทธิ์ต้านเชื้อ Salmonella, *Stap. aureus* , *E. coli* ,*L. acidophilus* ของน้ำมันหอมระเหย จากขมิ้น ไพล กระเพรา และสารสกัดจากพริก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค2 ผลของน้ำมันหอมระเหยกระเพราต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์



ภาพที่ ค3 ผลของน้ำมันหอมระเหยไพลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้