การประเมินความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชป่าในประเทศไทย

ANTIMICROBIAL ASSESSMENT OF THAI WILD PLANT EXTRACTS

ศิริวรรณ พระจิตต์
SIRIWAN PALAJIT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร
คณะสหเวชศาสตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2551

KMITL-2008-AI-M-054-033

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การประเมินความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชป่าในประเทศไทย

ANTIMICROBIAL ASSESSMENT OF THAI WILD PLANT EXTRACTS

T087102

สิริวรรณ พละจิตต์

SIRIWAN PALAJIT

T087102

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 87102
วัน,เดือน,ปี 30 ส.ค. 2552

.b.....
.i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2551

KMITL-2008-AI-M-054-033

ANTIMICROBIAL ASSESSMENT OF THAI WILD PLANT EXTRACTS

SIRIWAN PALAJIT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FOOD SANITATION

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2008

KMITL-2008-AI-M-054-033

COPYRIGHT 2008

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT.S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การประเมินความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชป่าในประเทศไทย

Antimicrobial Assessment of Thai Wild Plant Extracts

ชื่อนักศึกษา นางสาวสิริวรรณ พละจิตต์

รหัสประจำตัว 48068762

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา สุขาภิบาลอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร.วริพัสย์ อารีกุล

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ดร.วริพัสย์ อารีกุล	
รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์	
ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ	
ผศ.ดร.วลัยรัตน์ จันทรปานนท์	

วัน / เดือน/ ปี ที่สอบ 28 ตุลาคม 2551 เวลา 09.00 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ณ ห้องสัมมนา D213 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว

(รศ.ดร.ระติพร หาเรือนกิจ)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่.....14.....**เดือน**.....พฤศจิกายน.....**พ.ศ**.....2551.....

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การประเมินความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชป่าในประเทศไทย
นักศึกษา	นางสาวสิริวรรณ พละจิตต์
รหัสประจำตัว	48068762
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2551
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร.วริพัสย์ อารีกุล

บทคัดย่อ

การประเมินความสามารถของสารสกัดจากพืชป่า 45 ชนิด ที่สกัดด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 9 สายพันธุ์ (*Escherichia coli* TISTR 1034, *Salmonella* Anatum, *Staphylococcus aureus* TCC12600, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Bacillus subtilis* TISTR 008, *Proteus mirabilis* TISTR 100, *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 และ *Lactococcus lactis* JCM 7638) เชื้อยีสต์ 2 สายพันธุ์ (*Pichia anomala* TISTR 5285 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5051) และเชื้อรา 2 สายพันธุ์ (*Aspergillus niger* TISTR 3245 และ *Penicillium pinophilum* TISTR 3386) ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากพืช 44.4 เปอร์เซ็นต์ หรือจำนวน 20 ชนิด แสดงสมบัติการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ ซึ่งพืชแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดทุกชนิดไม่มีผลในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ เชื้อยีสต์ และเชื้อรา รวมทั้งพบว่าสารสกัดหยาบจากผลสะเรียมดง (*Turpinia Montana* (Blume) Kurz.) ให้ผลการยับยั้งได้ดีที่สุดในสารสกัดพืชทั้งหมด ซึ่งมีขอบเขตการยับยั้งในแบคทีเรียแกรมบวกจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. aureus*, *B. subtilis*, *L. innocua* และ *Lc. lactis*

เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จากสารสกัดพืชที่คัดเลือกมาจำนวน 10 ชนิด กับยาปฏิชีวนะคลอแรมฟีนิคอล พบว่าสารสกัดหยาบจากผลสะเรียมดงให้ผลดีที่สุด และมีช่วงการยับยั้งอยู่ระหว่าง 0.15-1.40 มิลลิกรัม (คลอแรมฟีนิคอล)/มิลลิลิตร โดยตรงข้ามกับสารสกัดจากมะเดื่อกวางที่มีผลในการยับยั้งเชื้อต่ำที่สุด โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0.2-0.3 มิลลิกรัม (คลอแรมฟีนิคอล)/มิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าความไวของแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะคลอแรมฟีนิคอลและสารสกัดจากพืชมีความแตกต่างกัน โดยเชื้อ *Lc. lactis* จะไวต่อยาปฏิชีวนะคลอแรมฟีนิคอลมากที่สุด ส่วน *B. subtilis* จะไวต่อสารสกัดจากพืชมากที่สุด อันเนื่องจากกลไกในการออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อที่แตกต่างกัน

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญ (minimal inhibitory concentration, MIC) ด้วยวิธี agar disc diffusion ของสารสกัดหยาบจากผลสะเรียมดงจะยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *B. subtilis* ได้ดีที่สุด และมีค่าเท่ากันคือ 0.11 เปอร์เซ็นต์(น้ำหนัก/ปริมาตร) และมีค่า MIC เท่ากับ 0.45 เปอร์เซ็นต์ ในเชื้อ *L. innocua* ส่วนสารสกัดจากมันปลามีฤทธิ์ในการยับยั้งต่ำที่สุดที่มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 1.44-2.87 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทดสอบหาค่า MIC ด้วยวิธี broth dilution พบว่าผลสะเรียมดงยังคงสามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด และมีค่า MIC ในเชื้อ *S. aureus*, *B. subtilis* และ *L. innocua* เท่ากับ 1.0, 0.5 และ 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนผลหมากม่วงเครือมีฤทธิ์ต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด โดยมีค่า MIC ระหว่าง 8.0 - 35.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้วิธีการเตรียมตัวอย่างที่มีความแตกต่างกัน อาจส่งผลถึงความแตกต่างของผลการทดสอบของสารสกัดจากพืช

การทดสอบวิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชป่าที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่าค่า MIC พบว่าสารสกัดส่วนใหญ่ มีวิถีการออกฤทธิ์แบบฆ่าทำลาย (bactericidal) ต่อเชื้อ *S. aureus* และทุกชนิดมีฤทธิ์ในการฆ่าทำลายเชื้อ *L. innocua* โดยสารสกัดจากผลสะเรียมดง มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *S. aureus* และ *L. innocua* ดีที่สุด และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลาย (minimum bactericidal concentration; MBC) เท่ากับ 3.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนในเชื้อ *B. subtilis* พบว่าสารสกัดส่วนใหญ่มีวิถีการออกฤทธิ์เป็นแบบยับยั้ง (bacteriostatic) ยกเว้น ผลสะเรียมดง หมากฮอด และมันปลา ที่มีฤทธิ์ทำลายเชื้อ *B. subtilis* โดยผลสะเรียมดงมีค่า MBC ต่ำที่สุด เท่ากับ 6.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

จากผลการทดลองทั้งหมด พบว่าสารสกัดจากผลสะเรียมดงมีขอบเขตและความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC และ MBC ต่ำสุด ดังนั้นจึงอาจเป็นแหล่งสารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติแหล่งใหม่ได้

Thesis Title	Antimicrobial assessment of Thai wild plant extracts
Student	Miss Siriwan Palajit
Student ID.	48068762
Degree	Master of Science
Program	Food Sanitation
Year	2008
Thesis Advisor	Dr. Varipat Areekul

ABSTRACT

Antimicrobial activity from 45 ethanolic plant extracts were assessed using agar disc diffusion method against nine bacteria (*Escherichia coli* TISTR 1034, *Salmonella* Anatum, *Staphylococcus aureus* TCC12600, *Listeria innocua* ATCC33090, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Bacillus subtilis* TISTR 008, *Proteus mirabilis* TISTR 100, *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 and *Lactococcus lactis* JCM 7638), two yeasts (*Pichia anomala* TISTR 5285 and *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5051) and two molds (*Aspergillus niger* TISTR 3245 and *Penicillium pinophilum* TISTR 3386). The plant showed 44.4 % (20 plant species) of activity against gram positive bacteria, with significant difference in activity between the different plants. In addition, no inhibitory effect on gram negative bacteria, yeasts and molds were observed. Of all plant extracts, the extract of fruit of *Turpinia Montana* (Blume) Kurz. illustrated the most active and had broad spectrum with 4 species of gram-positive bacteria (*S. aureus*, *B. subtilis*, *L. innocua* and *Lc. lactis*.)

The 10 selected plant extracts were compared to the antimicrobial efficacy with choramphenicol. This research showed that the crude extract of fruit of *Turpinia Montana* (Blume) Kurz. was the most active with a range of 0.15-1.40 mg (choramphenicol equivalent)/ml in tested microorganisms. In contrast to the extract of *Ficus callosa* Willd. had the lowest activity with a range of 0.2-0.3 mg (choramphenicol eq.)/ml. The sensitivity of tested bacteria in choramphenicol and plant extract were different. *Lc. lactis* and *B. subtilis* was found to be the most susceptibility to choramphenicol and plant extract, respectively, indicating the different mode of action.

Further studies were to investigate the minimal inhibitory concentration (MIC) using agar disc diffusion technique. It found that the extract of *Turpinia Montana* (Blume) Kurz. (fruit) showed the highest efficacy with the same MIC values for *S. aureus* and *B. subtilis* (0.11 %(w/v)) and MIC of 0.45 % (w/v) for *L. innocua*. Extract of *Glochidion sphaerogynum* Kurz. showed the lowest inhibition with MIC between 1.44-2.87 %(w/v). For MIC using broth dilution method, the extract of

Turpinia Montana (Blume) Kurz. (fruit) also had the most inhibitory effect with MIC for *S. aureus* (1.0 mg/ml), *B. subtilis* (0.5 mg/ml) and *L. innocua* (0.5 mg/ml) while the lowest inhibition was observed in the fruit extract of *Dracontomelon* sp. with a range of MIC value of 8.0-35.0 mg/ml. The result also indicated that the difference in sample preparations may affect on the tested results.

The mode of actions in selected plant extracts were examined at the concentration above MIC values. Bactericidal effects for *S. aureus* were observed in most plant extracts while all exhibited these effects for *L. innocua*. The best inhibition were found in extracts of *Turpinia Montana* (Blume) Kurz. (fruit) with minimum bactericidal concentration (MBC) value of 3.0 mg/ml. Most of plants extract exhibited bacteriostatic effect for *B. subtilis*. except *Turpinia Montana* (Blume) Kurz. (fruit) extract, flower of *Rhus chinensis* (Mill.) extract and *Glochidion sphaerogynum* Kurz. extract. The best value (6.0 mg/ml) of MBC in this experiment was found in *Turpinia Montana* (Blume) Kurz. (fruit) extract.

From the experimental results, the extract of *Turpinia Montana* (Blume) Kurz. (fruit) had broad spectrum and showed the highest antimicrobial activities with the lowest MIC and MBC values. Therefore, it may be a new potential source of natural antimicrobial.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ดร. วริพัสย์ อารีกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาเสนอแนะแนวทางการวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ และ ผศ.ดร. วลัยรัตน์ จันทรปานนท์ ที่กรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติมในการในการทำงานวิจัย ตลอดจนตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความถูกต้องยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณ ดร.ชานินทร์ ศรีสุวรรณนภา อาจารย์ประจำภาควิชาสถิติ ที่กรุณาให้คำปรึกษาทางด้านสถิติในงานวิจัยให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ที่ได้ให้กำลังใจและส่งเสริมการศึกษาของข้าพเจ้าด้วยดีตลอดมา และขอขอบคุณสำหรับกำลังใจและความช่วยเหลือของพี่ น้องและเพื่อนนักศึกษาปริญญาโททุกสาขาวิชา ตลอดจนเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ควบคุมห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ให้คำปรึกษาและอำนวยความสะดวกในการศึกษาเป็นอย่างดี

ประโยชน์อันเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ จะพึงมีเพียงใด ขอมอบแด่ คุณพ่อ คุณแม่ และคณาจารย์ทุกท่านที่ได้เมตตาอบรมสั่งสอนให้มีความรู้จนถึงปัจจุบัน

สิริวรรณ พละจิตต์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III

กิตติกรรมประกาศ.....V

สารบัญ.....VI

สารบัญตาราง.....VIII

สารบัญภาพ.....XI

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความสำคัญและที่มา.....1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....2

บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....3

2.1 จุลินทรีย์ในอาหาร.....3

2.2 พืชป่า..... 6

2.3 สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในพืช..... 22

2.4 สารสกัดจากพืชบางชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์..... 30

2.5 มาตรฐานในการตรวจสอบความไวของเชื้อต่อสารปฏิชีวนะ 32

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการดลอง.....37

3.1 วัตถุดิบ.....37

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์..... 40

3.3 สถานที่ดำเนินงาน..... 40

3.4 วิธีการทดลอง..... 41

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....48

4.1 การศึกษาความสามารถของสารสกัดจากพืชป่าในการยับยั้ง
การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 48

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 เปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดกับปริมาณความเข้มข้นของ
คลอแรมฟีนิคอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย..... 62
4.3 ความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration, MIC)
ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 66
4.4 วิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดพืชป่าในการยับยั้งการเจริญเติบโต
ของเชื้อจุลินทรีย์.....76

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.. 80
5.1 สรุปผลการทดลอง.....80
5.2 ข้อเสนอแนะ.....81

บรรณานุกรม.....83

ภาคผนวก.....91
ภาคผนวก ก 92
ภาคผนวก ข.....99
ภาคผนวก ค.....104
ภาคผนวก ง.....119
ประวัติผู้เขียน.....121

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 คุณค่าและปริมาณสารอาหารของส่วนที่กินได้ของผลมะขามป้อม.....14

2.2 องค์ประกอบที่พบในน้ำมันหอมระเหย.....23

2.3 คำจำกัดความในการทดสอบความไวของแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ.....35

3.1 ตัวอย่างพืชป่า.....37

4.1 ตัวอย่างพืชป่า.....49

4.2 ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย
แกรมบวกจากสารสกัดพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์.....51

4.3 ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ
จากสารสกัดพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์.....57

4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และราจากสารสกัดพืชด้วย
เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์.....59

4.5 ผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของปริมาณคลอแรมฟินิคอลที่ความเข้มข้นต่างๆ.....63

4.6 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเทียบกับคลอแรมฟินิคอล
ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....64

4.7 ผลของสารสกัดจากผลสะเรียมดงด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ
ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion.....67

4.8 ผลของสารสกัดจากดอกหมากฮอดด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ
ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion.....68

4.9 ผลของสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ
ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion.....69

4.10 ค่า MIC ของสารสกัดจากพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ของเชื้อ
แบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion.....70

4.11 ค่า MIC ของสารสกัดจากพืชต่อเชื้อแบคทีเรียทดสอบ
ด้วยวิธี Broth dilution method.....74

4.12 ค่า MBC ของสารสกัดจากพืชต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ
ด้วยวิธี Broth dilution method.....76

ก1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) 98

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ค1 ผลของสารสกัดจากกอมขมด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion 104

ค2 ผลของสารสกัดจากมะขามป้อมด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion 105

ค3 ผลของสารสกัดจากส้มกำปังด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion.....105

ค4 ผลของสารสกัดจากสาบเสือด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion 106

ค5 ผลของสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion.....106

ค6 ผลของสารสกัดจากมันปลาด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion.....107

ค7 ผลของสารสกัดจากมะเดื่อกวางด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion 107

ค8 ผลของสารสกัดจากกอมขมต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method.....108

ค9 ผลของสารสกัดจากกอมขมต่อเชื้อ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method.....108

ค10 ผลของสารสกัดจากหญ้าแหลมนกไส้ต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method.....108

ค11 ผลของสารสกัดจากหญ้าแหลมนกไส้ต่อเชื้อ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method 109

ค12 ผลของสารสกัดจากหญ้าแหลมนกไส้ต่อเชื้อ *L. innocua* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method 109

ค13 ผลของสารสกัดจากมะขามป้อมต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method 109

ค14 ผลของสารสกัดจากมะขามป้อมต่อเชื้อ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method.....110

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ค15 ผลของสารสกัดจากส้มกำปังต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method 110

ค16 ผลของสารสกัดจากส้มกำปังต่อเชื้อ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method 110

ค17 ผลของสารสกัดจากสาบเสือต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method 111

ค18 ผลของสารสกัดจากสาบเสือต่อเชื้อ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method 111

ค19 ผลของสารสกัดจากสาบเสือต่อเชื้อ *L. innocua* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method 111

ค20 ผลของสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method 112

ค21 ผลของสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือต่อเชื้อ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method.....112

ค22 ผลของสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือต่อเชื้อ *L. innocua* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method 112

ค23 ผลของสารสกัดจากมะเดื่อกวางต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method.....113

ค24 ผลของสารสกัดจากมะเดื่อกวางต่อเชื้อ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method 113

ค25 ผลของสารสกัดจากมะเดื่อกวางต่อเชื้อ *L. innocua* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method.....113

ค26 วิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อเชื้อแบคทีเรียทดสอบ.....117

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

3.1 แผนภูมิแสดงวิธีการ Double layer ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar disc diffusion 43

3.2 แผนภูมิแสดงวิธีการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยวิธี Broth dilution method..... 46

4.1 ผลการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากผลสะเรียมดงที่ความเข้มข้น 0.1 -12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เชื้อ *S. aureus* เริ่มต้น 6.90±0.05 log CFU) 72

4.2 ผลการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ของสารสกัดจากผลสะเรียมดงที่ความเข้มข้น 0.1 -12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เชื้อ *B. subtilis* เริ่มต้น 6.56±0.09 log CFU)..... 73

4.3 ผลการยับยั้งเชื้อ *L. innocua* ของสารสกัดจากผลสะเรียมดงที่ความเข้มข้น 0.1 -12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เชื้อ *L. innocua* เริ่มต้น 6.23±0.21 log CFU).....73

ก 1.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S. aureus* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) 92

ก 1.2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *B. subtilis* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น(OD) 93

ก 1.3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *L. innocua* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น(OD) 93

ก 1.4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *E. coli* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) 94

ก 1.5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Sa.* Anatum (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) 94

ก 1.6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Ps. aeruginosa* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น(OD) 95

ก 1.7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Pr. mirabilis* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) 95

ก 1.8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Lc. lactis* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) 96

ก 1.9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Lb. acidophilus* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น(OD) 96

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

ก 1.10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Pi. anomala* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น(OD) 97

ก 1.11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Sac. cerevisiae* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) 97

ข1 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากพืชป่า ด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ 99

ข2 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากพืชป่า ด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ 100

ข3 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากพืชป่า ด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ 100

ข4 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ของสารสกัดจากพืชป่า ด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ 101

ข5 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ของสารสกัดจากพืชป่า ด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ 101

ข6 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ของสารสกัดจากพืชป่า ด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ 102

ข7 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. innocua* ของสารสกัดจากพืชป่า ด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ 102

ข8 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. innocua* ของสารสกัดจากพืชป่า ด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ 103

ข9 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. innocua* ของสารสกัดจากพืชป่า ด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ 103

ค1 ผลการยับยั้งเชื้อ *S .aureus* ของสารสกัดจากมันปลาที่ความเข้มข้น 0.1 -12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เชื้อ *S. aureus* เริ่มต้น 6.90±0.05 log CFU)..... 114

ค2 ผลการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ของสารสกัดจากมันปลาที่ความเข้มข้น 0.1 -12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เชื้อ *B. subtilis* เริ่มต้น 6.56±0.09 log CFU)..... 114

ค3 ผลการยับยั้งเชื้อ *L. innocua* ของสารสกัดจากมันปลาที่ความเข้มข้น 0.1 -12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เชื้อ *L. innocua* เริ่มต้น 6.23±0.21 log CFU)..... 115

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

ค4 ผลการยับยั้งเชื้อ *S .aureus* ของสารสกัดจากดอกหมากฮอดที่ความเข้มข้น 0.1 -12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เชื้อ *S. aureus* เริ่มต้น 6.90±0.05 log CFU).....115

ค5 ผลการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ของสารสกัดจากดอกหมากฮอดที่ความเข้มข้น 0.1 -12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เชื้อ *B. subtilis* เริ่มต้น 6.56±0.09 log CFU) 116

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบัน ผู้บริโภคได้หันมาให้ความสนใจในเรื่องสุขภาพอย่างแพร่หลาย จึงทำให้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเป็นที่นิยม ดังจะเห็นได้ว่ามีการนำสมุนไพรมาประยุกต์ใช้เพิ่มมากขึ้น ไม่ว่าจะเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร การเกษตร หรือในเครื่องสำอาง เนื่องจากความเชื่อที่ว่า สารจากธรรมชาติจะก่อให้เกิดความเป็นพิษน้อยกว่าสารเคมีสังเคราะห์ รวมถึงวิทยาการที่ก้าวหน้าในการสกัดสารออกฤทธิ์จากสมุนไพรและมีข้อมูลการวิจัยศึกษาคุณสมบัติทั้งทางเคมีกายภาพ ทำให้ประสิทธิภาพในการใช้สมุนไพรมีความน่าเชื่อถือยิ่งขึ้น ประกอบกับประเทศไทยเป็นพื้นที่ที่มีความหลากหลายทางธรรมชาติและมีภูมิปัญญาพื้นบ้านที่สืบต่อกันมาทางด้านการใช้สมุนไพรในการรักษาโรค และการส่งเสริมสุขภาพ

สมุนไพรที่น่าสนใจมีอยู่มากมายหลายชนิดด้วยกัน ซึ่งมีสารพฤกษเคมีที่ออกฤทธิ์ต่างๆ กันไป โดยเฉพาะสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เพื่อการถนอมอาหารไม่ให้เน่าเสีย โดยทั่วไปในอุตสาหกรรมอาหารนิยมใช้สารต้านจุลินทรีย์ที่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ เช่น กรดและเกลือของซอร์บิกและ เบนโซอิก ซึ่งการใช้สารดังกล่าวอาจไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค หากใช้ในปริมาณที่เกินมาตรฐานกำหนดหรือได้รับติดต่อกันเป็นเวลานาน อีกทั้งปัจจุบันผู้บริโภคไม่นิยมบริโภคอาหารที่มีการเติมสารต้านจุลินทรีย์ที่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ แต่ต้องการบริโภคอาหารที่ใช้วิธีการถนอมอาหารแบบธรรมชาติมากขึ้น เช่น การลดค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ด้วยการเติมน้ำตาลกลูโคสหรือซูโครส และการลดพีเอชด้วยกรดซิตริกหรือกรดฟอสฟอริก เพื่อให้อาหารมีความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และสารเคมีที่ใช้เป็นสารกันเสียในอาหาร ทางเลือกหนึ่งที่ได้รับความสนใจ และมีการศึกษากันอย่างกว้างขวางคือ การหาสารกันเสียธรรมชาติมาทดแทน เช่น เครื่องเทศ หรือสารสกัดจากพืชมาใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร สารสกัดดังกล่าวนอกจากจะใช้เพื่อการแต่งกลิ่นและรสแล้ว ยังมีประโยชน์ในทางการแพทย์ เช่น มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ทั้งยังมีความปลอดภัยในการที่จะนำมาใช้ในการถนอมอาหารและเครื่องดื่มได้

ในประเทศไทยยังมีพืชและสมุนไพรมากมายหลายชนิด ซึ่งหลายชนิดยังไม่ได้รับความสนใจเท่าที่ควร ซึ่งหากสามารถศึกษาหาข้อมูลได้อย่างเพียงพอ อาจจะพบพืชชนิดใหม่ ๆ ที่มีศักยภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์มากขึ้น จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะนำพืชป่าแต่ละชนิดมาศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อใช้ทดแทนสารเคมี อีกทั้งยังช่วยก่อให้เกิดผลประโยชน์ในด้านอื่นๆ ต่อไปได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชป่าในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ยีสต์ และราบางชนิดที่ปนเปื้อนในอาหาร

1.2.2 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (minimal inhibitory concentration, MIC) ของพืชป่าที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ยีสต์ และราบางชนิดที่ปนเปื้อนในอาหาร ด้วยวิธี Agar disc diffusion และวิธี Broth dilution method

1.2.3 ศึกษาวิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชป่าในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Broth dilution method

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ เป็นการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชป่า 45 ชนิด และปริมาณความเข้มข้นของสารในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์ และราบางชนิดที่ปนเปื้อนในอาหาร ด้วยวิธี Agar disc diffusion เพื่อคัดเลือกพืชที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ดีที่สุดจำนวน 10 ชนิด มาศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุด (minimal inhibitory concentration, MIC) ของพืชป่าในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar disc diffusion และ Broth dilution method รวมทั้งวิเคราะห์วิถีการออกฤทธิ์ของพืชดังกล่าวด้วยวิธี Broth dilution method ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาสามารถนำไปใช้เป็นพื้นฐานองค์ความรู้ในการพัฒนา เพื่อศึกษาต่อยอดหรือการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ยารักษาโรค เครื่องสำอางและด้านอื่นๆ เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ ทั้งยังส่งเสริมการใช้ประโยชน์ของทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่ เพื่อพัฒนาเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศต่อไป

บทที่ 2

ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 จุลินทรีย์ในอาหาร

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก และสามารถจำแนกออกได้เป็น 6 ชนิด คือ แบคทีเรีย ยีสต์ รา โปรโตซัว สาหร่าย และไวรัส จุลินทรีย์เหล่านี้พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ และอาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ ซึ่งมีทั้งชนิดที่เป็นประโยชน์และเป็นโทษ ในปัจจุบัน การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในวัตถุดิบทางการเกษตร และอาหารที่ผ่านการแปรรูปแล้ว เป็นสิ่งที่หลีกเลี่ยงได้ยาก โดยจุลินทรีย์ในอาหารสามารถจำแนกได้เป็น 3 ประเภท (สุมณฑา, 2545) คือ จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และ จุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตอาหาร

จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในอาหารโดยทั่วไป ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ และรา

2.1.1 แบคทีเรีย (Bacteria)

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะเซลล์เดี่ยว (unicellular) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1-5 ไมโครเมตร แบคทีเรียมีรูปร่างหลายแบบ เช่น เซลล์รูปกลม (cocci form) รูปท่อนยาว ท่อนสั้น (bacilli form) เป็นรูปเกลียว (spiral form) นอกจากนี้ บางชนิดยังมีรูปร่างไม่แน่นอนเรียกว่า pleomorphic มีทั้งกลุ่มที่สามารถเคลื่อนที่ได้เนื่องจากมี flagella และเคลื่อนที่ไม่ได้ (จุรีย์รัตน์, 2548)

แบคทีเรียทั่วไป ยกเว้น ชนิดไมโครพลาสมา (mycoplasma) จะมีผนังเซลล์หนาประมาณ 10-35 นาโนเมตร คิดเป็น 10-40 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง อันเป็นโครงสร้างที่ทำให้เซลล์แบคทีเรียคงรูปร่าง มีความทนทานต่อความดันออสโมติกสูง และช่วยป้องกันไม่ให้เซลล์แตก เนื่องจากความแตกต่างของความดันระหว่างภายนอกและภายในเซลล์ นอกจากนี้ ผนังเซลล์ยังเกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ การเจริญเติบโตของเซลล์ และยังมีสมบัติเป็น somatic antigent หากจำแนกประเภทของแบคทีเรียตามโครงสร้างของผนังเซลล์ สามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด (สุรวิทย์, 2545) คือ

2.1.1.1 แบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive bacteria) ผนังเซลล์ประกอบด้วยเพปทิโดไกลแคนเป็นส่วนใหญ่และเรียงซ้อนกันหลายชั้น (คิดเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง) ผนังเซลล์จึงหนา ทำให้ทนต่อแรงดันออสโมติก แต่ยังสามารถปลดปล่อยเอนไซม์ออกนอกเซลล์และยอมให้สารจากสิ่งแวดล้อมผ่านเข้าในเซลล์ได้ นอกจากนี้ยังประกอบด้วยกรดไทโคนิก(teichonic acid) ซึ่งเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ประกอบด้วยหน่วยย่อยของน้ำตาลและฟอสเฟต กรดชนิดนี้พบในผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก มีหน้าที่ทำให้ผิวเซลล์มีประจุเป็นลบ และเป็นตัวกำหนดชนิดของสารที่จะจับและลำเลียงเข้าสู่เซลล์ แม้ว่าผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกจะมีองค์ประกอบที่ช่วย

ป้องกันไม่ให้เซลล์ถูกทำลายหลายชนิด เช่น เพปทิโดไกลแคนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของน้ำตาล 2 ชนิดคือ NAG (N-acetyl-D-glucosamine) และ NAM (N-acetyl-D-muramic acid) จับกันด้วยพันธะ beta (1->4) glycosidic ต่อสลับกันไป แต่ยาปฏิชีวนะบางชนิด เช่น เพนิซิลินและเซฟาโลสปอริน (cephalosporin) ก็สามารถยับยั้งการสังเคราะห์เพปทิโดไกลแคนได้รวมทั้งไลโซไซม์ ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำลายพันธะเคมีระหว่าง NAG กับ NAM ทำให้ขัดขวางการสร้างผนังเซลล์และแบคทีเรียถูกทำลายในที่สุด

ตัวอย่างของแบคทีเรียแกรมบวกที่มีความสำคัญในอาหาร (สุมณฑา, 2545) คือ

- *Bacillus* เป็นแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ รูปร่างเป็นท่อนยาว เจริญได้ดีในที่มีอากาศ ส่วนมากชอบเจริญที่อุณหภูมิปานกลาง เช่น *B. anthracis* ทำให้เกิดโรคแอนแทร็ค และ *B. cereus* บางสายพันธุ์เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ
- *Lactobacillus* มีรูปร่างท่อนยาว ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน มักพบในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ อีกทั้งพบทั่วไปในธรรมชาติ เช่น นม และพืช ผัก เป็นแบคทีเรียที่ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักหลายชนิด เนื่องจากผลิตกรดแลคติก
- *Listeria* มีรูปร่างเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ สามารถทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เช่น *L. monocytogenes* ตามปกติแบคทีเรียนี้เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง แต่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำถึง 2 องศาเซลเซียส
- *Staphylococcus* มีรูปร่างกลม สร้างเอนไซม์คะตะเลส พบทั่วไปตามธรรมชาติบนร่างกายของมนุษย์ สัตว์ ทำให้เกิดการอักเสบและเป็นสาเหตุของการเกิดฝีและหนอง รวมทั้งก่อโรคอาหารเป็นพิษแก่มนุษย์

2.1.1.2 แบคทีเรียแกรมลบ (Gram-negative bacteria) มีผนังเซลล์ที่บอบบางกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เพราะมีชั้นของเพปทิโดไกลแคนที่บางกว่า คิดเป็น 1-2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งของเซลล์ ผิวด้านนอกของชั้นเพปทิโดไกลแคนจะถูกปกคลุมด้วยเยื่อหุ้มชั้นนอก (outer membrane) โดยบริเวณที่อยู่ระหว่างเยื้อหุ้มเซลล์กับเยื่อหุ้มชั้นนอก เรียกว่า เพอริพลาซึม (periplasm) เยื่อหุ้มชั้นนอกทำหน้าที่ป้องกันสารพิษจากภายนอกไม่ให้เข้าไปทำลายเซลล์ และกักสารที่มีประโยชน์ไม่ให้ออกนอกเซลล์ เช่น การปลดปล่อยโปรตีนจะสามารถผ่านชั้นของเพปทิโดไกลแคนได้อย่างอิสระ แต่จะถูกกั้นไว้โดยเยื้อหุ้มชั้นนอกและเก็บไว้ในชั้นของเพอริพลาซึม โปรตีนเหล่านี้เป็นกลุ่มของเอนไซม์ภายนอกเซลล์ที่ช่วยย่อยสลายสาร และเป็นตัวดอยจับกับสารผ่านสิ่งแวดล้อม เยื่อหุ้มชั้นนอกส่วนที่อยู่ใกล้ชิดกับเพปทิโดไกลแคน ปลายอีกด้านต่อกับฟอสฟอลิปิด-โปรตีน (phospholipid-protein) ซึ่งเป็นเยื่อลิปิด 2 ชั้น มีโมเลกุลลิโปพอลีแซ็คคาไรด์ (lipopolysaccharide, LSP) ซึ่งประกอบด้วยโมเลกุลที่เรียกว่าลิพิด-เอ (lipid A) ที่เชื่อมต่ออยู่กับพอลีแซ็กคาไรด์ ส่วนของพอลิแซ็กคาไรด์จะยื่นออกมาจากผิวเยื่อหุ้มซึ่งเป็นโมเลกุลของผนังเซลล์ที่นอกสุดและเป็นแอนติเจนหลักของแบคทีเรียแกรมลบ

ตัวอย่างของแบคทีเรียแกรมลบที่มีความสำคัญในอาหาร (สุมณฑา, 2545) คือ

- *Escherichia* มีรูปร่างเป็นแท่งตรง มีความสำคัญด้านสุขาภิบาลอาหาร ใช้เป็นดรรชนีบ่งชี้การปนเปื้อนของอุจจาระในอาหาร
- *Proteus* มีรูปร่างท่อนสั้น อาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ สามารถเคลื่อนที่ได้ มักพบทั่วไปในอาหารทั้งพืชและสัตว์ และเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหารที่เก็บ ณ อุณหภูมิห้อง
- *Pseudomonas* เป็นแบคทีเรียแกรมลบกลุ่มใหญ่ที่สุด พบทั่วไปในอาหารสด ดินและน้ำเสีย สามารถเจริญได้ทั้งที่อุณหภูมิปานกลางและอุณหภูมิต่ำ จึงเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหารในตู้เย็น
- *Salmonella* เป็นแบคทีเรียก่อให้เกิดโรคที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ (enteric bacteria) พบมากกว่า 2,000 สปีชี

2.1.2 ยีสต์ (Yeast)

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่พบเป็นเซลล์เดี่ยว (unicellular) มีลักษณะเซลล์เป็นรูปไข่ ท่อน หรือเป็นเซลล์ๆหลาย เป็นเส้นสาย (filamentous) เซลล์ของยีสต์มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย ส่วนใหญ่มักมีลักษณะใสไม่มีสี สามารถมองเห็นองค์ประกอบภายในได้อย่างชัดเจน ไม่ว่าจะเป็น นิวเคลียส แวคิวโอล หรือ แกรนูล ยีสต์ไม่มีรงควัตถุและไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ แต่จะเคลื่อนไหวแบบ บราวเนียน เนื่องจากยีสต์มีขนาดใหญ่กว่าจึงทำให้ได้รับผลกระทบจากปัจจัยภายนอกได้น้อยกว่าแบคทีเรีย ยีสต์เพิ่มจำนวนและแบ่งเซลล์โดยการสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ เรียกว่า การแตกหน่อ (budding) ซึ่งมีลักษณะเป็นตุ่มเล็กๆ งอกจากเซลล์แม่ (mother cell) อาจมี 1 หรือ หลายหน่อ หน่อหรือเซลล์ลูกเหล่านี้จะมีขนาดใหญ่ขึ้นและแยกตัวออกไปเป็นเซลล์แม่ต่อไป (จุรีย์รัตน์, 2548)

ตัวอย่างของยีสต์ที่มีความสำคัญในอาหาร (สุมณฑา, 2545) คือ

- *Candida* เป็นยีสต์ที่พบทั่วไปในอาหารประเภทเนื้อสัตว์ สัตว์ปีก ผัก และผลไม้บางชนิด มักเกี่ยวข้องกับการเสื่อมเสียในการหมักโกโก้ พืชตระกูลป่าน เบียร์ ไวน์ และน้ำผลไม้
- *Saccharomyces* เป็นยีสต์ที่รู้จักกันดีและพบทั่วไปในอาหาร ไม่มีสมบัติในการหมักน้ำตาลแลคโตส *S. cerevisiae* เป็นสปีชีที่ใช้ในการผลิตขนมปัง และหมักแอลกอฮอล์ บางสปีชี เช่น *S. bailii* เป็นยีสต์ที่ทนต่อวัตถุกันเสียและเป็นสาเหตุสำคัญของการเสื่อมเสียในซอสมะเขือเทศ มายองเนส น้ำสลัด น้ำอัดลม น้ำผลไม้ ไซเดอร์ และไวน์

2.1.3 เชื้อรา (Fungi)

ราเป็นจุลินทรีย์ชนิด eukaryote ซึ่งโครงสร้างของเซลล์มักเป็นแบบหลายเซลล์ (multicellular) ที่เรียงตัวเป็นเส้นสาย (hyphae หรือ mycelium) ลักษณะเส้นสายมี 2 แบบ คือ เส้นใยแบบมีผนังกั้น (septate hyphae) ที่มีผนังเซลล์แบ่งเส้นสายราเป็นช่องๆ หรือเป็นห้องๆ และแบบที่ 2 คือ เส้นใยแบบที่ไม่มีผนังกั้น (non-septate hyphae) (จุรีย์รัตน์, 2548) ราเป็นจุลินทรีย์ที่มีความหลากหลาย มีความ

แตกต่างกันมากทั้งในด้านขนาด รูปร่างของโครงสร้างและระบบการสืบพันธุ์ด้วยการสร้างสปอร์ ซึ่งพบทั้งสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual spores) เช่น zygospore, ascospore และ basidiospores เป็นต้น ส่วนสปอร์แบบอาศัยเพศ (sexual spore) ได้แก่ conidia, sporangiospore และ arthrospore เป็นต้น (กนกรัตน์, 2548)

ตัวอย่างของเชื้อราที่มีความสำคัญในอาหาร (สุมณฑา, 2545) คือ

- *Aspergillus* สร้างสปอร์ในอาหารทำให้มีสีเขียวจนถึงดำ และเป็นสาเหตุการเกิดโรคเน่าดำกับผลไม้หลายชนิด นอกจากนี้ ยังพบในแฮมและเบคอนที่บ่มแบบพื้นบ้าน บางสปีชีเจริญในน้ำมันพืช บางชนิดใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตซีอิ้วและเต้าเจี้ยว เช่น *A. oryzae* และบางชนิดสามารถผลิตเอนไซม์ได้ เช่น *A. niger* เป็นต้น
- *Penicilium* สปอร์มีลักษณะคล้ายปุยนุ่น สีน้ำเงินถึงสีน้ำเงินอมเขียว เป็นสาเหตุของการเน่าเสียในผลไม้หลายชนิด บางสปีชีสามารถสร้างสารพิษ ได้แก่ ซิตรินิน โอคราทอกซิน และแพทูลิน แต่ *P. roqueforti* ใช้ประโยชน์ในการบ่มเนยแข็ง (Blue cheese)

2.2 พืชป่า (Wild plants)

ความหมายของพืชป่าในพระราชบัญญัติคุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ. 2542 ได้ระบุว่า "พันธุ์พืชป่า หมายถึง พันธุ์พืชที่มีหรือเคยมีอยู่ในประเทศตามสภาพธรรมชาติ และยังมิได้นำมาใช้เพาะปลูกอย่างแพร่หลาย" (www.doa.go.th/public/.html, 2007) จากการวิจัยด้านพฤกษศาสตร์พบว่า ชาวเขาหรือกลุ่มชนตามท้องถิ่นนั้นๆ ได้มีการนำพืชป่าจำนวนมากมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ แตกต่างกันออกไป ทั้งการบริโภคเป็นอาหาร การสร้างที่อยู่อาศัย และใช้เป็นยารักษาโรค แม้กระทั่งเป็นสมุนไพรเพื่อบำรุงร่างกาย (ปริทรรศน์ และคณะ, 2545)

2.2.1 กอมขม

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Picrasma javanica* Blume อยู่ในวงศ์ Simaroubaceae ลักษณะเป็นไม้ต้นไม่ผลัดใบขนาดเล็กถึงกลาง พบใกล้ริมน้ำในป่าดิบแล้งและป่าดิบชื้นทั่วไป (กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช, 2548)

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามีผลในการกดประสาทส่วนกลาง และลดไข้ในสัตว์ทดลองได้ปานกลาง และในเปลือกต้นพบองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญได้แก่ สารอัลคาลอยด์ (พเยาว์, 2530)

2.2.2 ก้างปลาแดง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Breynia retusa* (Dennst.) Alston อยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดเล็กลำต้นสีแดงอมน้ำตาลหรืออมม่วง ใบรูปหอกมีขนาดเล็ก ก้านใบสั้นมาก มักพบในป่าดิบแล้ง ป่าดิบเขา ขึ้นอยู่ในที่โล่งแจ้งแสงแดดจัด

ชาวไทยใหญ่ใช้รากและกิ่งตำพวกตุ่มฝีรักษาแผลเปื่อยต่างๆ ชาวบ้านในจีนตอนใต้และประเทศต่างๆ ใช้น้ำต้มจากใบเป็นยาระงับเชื้อ ใช้ทั้งชะล้างแผลสดและแผลเปื่อย แต่ไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (สุธรรม และคณะ, 2547)

2.2.3 เกล็ดปลาช่อนแดง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Phyllodium pulchellum*(L.) Desv. อยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดกลางสูงประมาณ 2-3 เมตร กิ่งและก้านใบมีขนอ่อนนุ่มสีเทาถึงสีน้ำตาลอ่อน ปลายกิ่งโค้งลง ใบประกอบแบบมีใบย่อย 3 ใบ ดอกช่อออกเป็นกระจุกที่ซอกใบ มีใบประดับลักษณะคล้ายเกล็ดปลาประกบหุ้มไว้ 2 ใบ กลีบดอกสีขาวรูปดอกถั่ว ผลเป็นฝักแบนยาวคอดเป็นข้อๆ เมล็ดเล็กเป็นรูปไต (เต็ม, 2523)

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ ได้แก่ สารกลุ่ม indolic bases ที่พบตามส่วนต่างๆของพืชอยู่ประมาณ 15 กลุ่ม ซึ่งแบ่งออกตามลักษณะโครงสร้างอย่างกว้างๆ เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ indole-3-alkylamine, β -carboline และ tetra-β-carboline นอกจากนี้สารประกอบ N, N-dimethyltryptamine มีความสำคัญในการเร่งการเปลี่ยนแปลงของ tryptophan ในพืชให้ลดลง เมื่อมีกลุ่ม congener base เกิดขึ้นและสะสมในส่วนต่างๆ ของพืช การสะสม Nb-oxides พบในผล ส่วนกลุ่ม quaternary base พบในรากเป็นหลัก (สุธรรม และคณะ, 2550) อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานทางเภสัชวิทยา

2.2.4 ขี้กาแดง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Gymnopetalum integrifolium* (Roxb.) Kurz อยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae ลักษณะเป็นไม้เถา พบตามป่าทั่วไป รากมีสรรพคุณช่วยลดไข้ เหง้าเป็นยาบำรุงธาตุและหัวใจ ส่วนต้นและผลใช้เป็นยาระบาย (ลีนาและธวัชชัย, 2530) อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี

2.2.5 ไข่ปูใหญ่

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Rubus alceifolius* Poir. อยู่ในวงศ์ Rosaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มเลื้อย ทอดยาวได้ถึง 6-8 เมตร มีขนยาวสีน้ำตาลอ่อนและหนามแหลมปกคลุมทุกส่วน ใบเป็นใบเดี่ยวรูปไข่กว้างหรือรูปกลม แผ่นใบหนา โคนใบเว้าเป็นรูปหัวใจ ขอบใบจักถี่และหยักเว้า ดอกสีขาว ออกเป็นช่อที่ซอกใบ ผลเป็นผลสดชนิดผลรวม สีแดง ทรงกลม ขนาด 1-2 เซนติเมตร ในรัฐซาบา ประเทศมาเลเซียใช้เนื้อไม้บดเป็นแป้งทาแก้แผลเปื่อยหรือแผลเป็นหนอง ในเวียดนามใช้ผลสุกกินเป็นยาธาตุเพื่อเจริญอาหาร ใน

มาเลเซียใช้รากเป็นยาแก้ท้องเดิน (สุธรรม และคณะ, 2550) ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

2.2.6 เครือข้าวตอก

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Aerva sanguinolenta* Blume อยู่ในพืชวงศ์ Amaranthacea เป็นไม้ล้มลุก ลำต้นยาว มีลักษณะกึ่งเลื้อย มีขนละเอียดนุ่มสีขาวปกคลุมตลอดทั้งลำต้น ใบเป็นใบเดี่ยวรูปใบหอกกว้าง โคนใบรูปลิ่มปลายใบแหลมขอบเรียบมีขนปกคลุมตลอดผิวใบทั้งด้านบนและล่าง มีดอกออกเป็นช่อจากปลายและซอกกิ่ง มีลักษณะเป็นกระจุกแน่น ผิวกลีบมีขนละเอียดสีขาวค่อนข้างใสปกคลุม (สุธรรม และคณะ, 2547)

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ในศรีลังกาใช้น้ำต้มจากกิ่งอ่อนพันธุ์สีแดง ดื่มแก้ปัสสาวะเป็นเลือด และประจำเดือนไม่ปกติหรือปวดประจำเดือน ในอินเดียใช้ใบตำให้ละเอียดพอกสมานแผลแก้แผลเปื่อย สารสกัดจากใบมีสารยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส tobacco mosaic virus และ sunhemp rosette virus อันเป็นสาเหตุของโรคพืชหลายชนิด อีกทั้งยังสร้างภูมิคุ้มกันไม่ให้ไวรัสเข้าทำลายเป็นเวลานาน นอกจากนี้ สารที่สกัดจากใบในระดับความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ยังสามารถยับยั้งการระบาดของโรค yellow mosaic virus ของถั่วเขียวได้เป็นเวลานาน (Pdua de และคณะ, 1999) ยังไม่พบรายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี

2.2.7 จิตรละดา

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Rubia cordifolia* L. อยู่ในวงศ์ Rubiaceae ลักษณะเป็นไม้เถาหรือไม้เลื้อยขนาดเล็ก ยาวได้ถึง 10 เมตร ลำต้นเป็นสันเหลี่ยม มีข้อห่างเป็นระยะสม่ำเสมอ ใบรูปไข่หรือหัวใจ เนื้อใบค่อนข้างหนา ผิวใบเกลี้ยงเป็นมัน ดอกออกเป็นช่อแยกแขนง บางครั้งเป็นช่อกระจุกออกจากข้อรวม ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่า สารสกัดจากรากยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในอินเดียและจีนใช้รากเป็นยาแก้ท้องร่วงและยาสมานแผล โดยบดเป็นผงผสมน้ำคล้ายแป้งเปียกพอกหรือทาแผลเปื่อยและอาการคุ่มคันตามผิวหนัง ในฟิลิปปินส์ใช้น้ำต้มจากใบและลำต้นดื่มเป็นยาขับพยาธิ ใช้น้ำสกัดจากพืชเป็นองค์ประกอบในการแก้จมูกอักเสบ องค์ประกอบทางเคมีพบสารที่ให้สีจากรากเป็นส่วนใหญ่ ได้แก่ alizarin (1,2-dihydroxy-anthraquinone), purpuroxanthin (1,3- dihydroxy-anthraquinone) และ munjistin (1, 3 –dihydroxy-2-methoxy-anthraquinone) นอกจากนี้ยังมี anthraquinone อีกด้วย (สุธรรม และคณะ, 2550)

2.2.8 ชาป่า

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Acalypha siamensis* Oliv. Ex Gage อยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก แตกกิ่งก้านสาขาเรียวเล็กได้มาก ลำต้นมีผิวเกลี้ยงไม่มีขน ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยวก้านยาวรูปหอก ขอบใบหยักมนคล้ายลูกคลื่น (สุธรรม และคณะ, 2548) สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทาง

เภสัชวิทยา พบว่า กะเหรี่ยง ไทยใหญ่และพม่าใช้ใบชงเป็นชาดื่มเพื่อบำรุงร่างกายให้สดชื่น เป็นยาช่วยบำรุงท้องและช่วยย่อยอาหาร หรือใช้ทั้งต้นตำพอกศีรษะเป็นยาลดไข้หรือต้มน้ำอาบสำหรับคนที่เพิ่งฟื้นไข้ใหม่ๆ ส่วนชาวบ้านพื้นล่างใช้เป็นยาพื้นบ้าน โดยนำใบมาต้มน้ำดื่มเพื่อบำรุงธาตุ ขับปัสสาวะ (วุฒิ, 2540) อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี

2.2.9 ซ้อ

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Gmelina arborea* Roxb.อยู่ในวงศ์ Labiatae ลักษณะเป็นไม้ต้นขนาดกลาง ใบรูปไข่ ปลายใบแหลมหรือแหลมยาว โคนใบรูปลิ่มกว้าง แผ่ออกคล้ายรูปหัวใจ แผ่นใบด้านบนเกลี้ยง ด้านล่างมีนวลและมีขนสั้นนุ่ม กลีบดอก รูปปากแตรโป่งด้านเดียว ยาว 2-4 เซนติเมตร ผลแบบเมล็ดเดียวแข็ง สุกสีเหลือง รูปไข่หรือรูปไข่ ยาว 1.5-2 เซนติเมตร มีเขตการกระจายพันธุ์กว้าง พบตั้งแต่อินเดีย ศรีลังกา เนปาล บังคลาเทศ ภูฏาน พม่า จีนตอนใต้ ภูมิภาคอินโดจีนและมาเลเซีย ในไทยพบกระจายทั่วทุกภาค ขึ้นตามป่าเบญจพรรณ ป่าดิบแล้ง ป่าดิบเขา และป่าดิบชื้น (กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช, 2548)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่า สารสกัดจากลำต้นด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อมาลาเรีย Piasmodium falciparum มีค่า IC_{50} เท่ากับ 30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และที่ความเข้มข้น 50-10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จะยับยั้งเชื้อได้ 59-85 เปอร์เซ็นต์ องค์ประกอบทางเคมีพบสารในกลุ่ม monoacylated, diacylated และ triacylated iridoid glycosides (สุธรรม และคณะ, 2548)

2.2.10 โทงเทง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Physalis angulata* L. อยู่ในวงศ์ Solanaceae ลักษณะเป็นพืชล้มลุก ลำต้นมีสัน ลักษณะคล้ายหนามเล็กๆหยาบกระด้าง เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นกลมผิวเกลี้ยง หรืออาจมีขนสั้นๆ ภายในลำต้นกลวง แตกกิ่งก้านสาขาได้มาก กิ่งก้านจะทอดไปตามดิน และมีรากงอกออกจากข้อกิ่งใบเดี่ยวเรียงสลับรอบลำต้นหรือกิ่งก้าน มีขนละเอียดปกคลุมประปราย ผิวใบด้านบนสีเขียว ด้านล่างเขียวอ่อนเกลี้ยง ยกเว้นบริเวณเส้นใบมีขนละเอียดแบนราบปกคลุม

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ชาวเขาโดยทั่วไปใช้ทั้งต้นทาเพื่อขจัดแผลและโรคตามผิวหนัง ใบใช้เป็นยาพอก แก้ผดผื่นคัน ตุ่มหนองแผลพุพองตามร่างกาย นอกจากนี้ ยังใช้เป็นยาห้ามเลือด สมานแผลสด พืชชนิดนี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวหลายชนิด ให้ผลในการยับยั้งเอนไซม์ topoidomerase II สารสกัดให้ผลในการต้านเชื้อ *Trypanosoma brucei* ที่เกี่ยวข้องกับโรคหลับตายของคน นอกจากนี้ สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ให้ผลในการยับยั้งเชื้อหนองใน *Neisseria gonorhoeae* ของคน องค์ประกอบทางเคมีในพืชมีสารกลุ่ม steroidal lactones หลายชนิด สารอื่นที่พบในราก ได้แก่ pyrrolidine alkaloid phygrine เป็นต้น (สุธรรม และคณะ, 2550)

2.2.11 ปิ้งขาว

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Clerodendrum colebrookianum* Walp.อยู่ในวงศ์ Verbenaceae ลักษณะเป็นพรรณไม้ขนาดกลาง ลำต้นนั้นใหญ่ประมาณเท่าข้อมือ ลำต้นมีความสูงประมาณ 3-4 เมตร ใบมีสีเขียวสด เป็นรูปไข่ยาว ริมขอบใบเรียบยาวประมาณ 6-18 เซนติเมตร และ กว้างประมาณ 2.5 เซนติเมตร ดอกออกตลอดปี และมีขนาดเล็กเป็นพวงเหมือนดอกเข็มธรรมดาแต่จะมีดอกเป็นสีขาว ส่วนผลมีลักษณะเป็นทรงกลมและมีสีเขียว (สุธรรม และคณะ, 2547) ไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

2.2.12 ปิ้งหอม

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb. อยู่ในวงศ์ Verbenaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก ลำต้นตรง สูงประมาณ 1-2 เมตร ใบเดี่ยวลักษณะมนกว้างคล้ายรูปหัวใจ ขอบใบเป็นจัก ก้านใบยาว ดอกออกเป็นช่อที่ส่วนยอด ดอกย่อยลักษณะคล้ายดอกมะลิ อัดกันแน่น ดอกมีสีขาวกลิ่นหอม ผลมีเนื้ออ่อน เปลือกหุ้มแยกเป็น 4 กลีบ (สุธรรม และคณะ, 2547)

รากใช้รักษาโรคเหน็บชา ปวดขา ปวดเอว ปวดตามข้อ เหน็บชามีอาการบวมน้ำ นอกจากนี้ยังใช้เป็นยาขับฤดูขาว แก้หลอดลมอักเสบ ส่วนใบใช้รักษาโรคผิวหนังผื่นคัน หรือต้มน้ำรับประทานเป็นยาขับระดูขาว แก้หลอดลมอักเสบ หรือใช้ทั้งต้นเป็นยาแก้พิษเพื่อฝีกาฬภายใน (www.thaigoodview.com, 2545) องค์ประกอบทางเคมีทั้งต้น ได้แก่ ฟลาโวนอยด์, ไกลโคไซด์, ซาโปนิน และแทนนิน (วิทย์, 2531)

2.2.13 ผักขมหัด

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Amaranthus viridis* L. อยู่ในวงศ์ Apocynaceae ลักษณะเป็นไม้ล้มลุกฤดูเดียว ลำต้นตรง สูง 10-35 ซม. แตกกิ่งก้านน้อยใกล้โคนต้น มีขนหนาแน่น ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม รูปขอบขนานแกมใบหอก รูปไข่กลับแกมวงรีกว้าง 0.3-1 เซนติเมตร ยาว 1-3 เซนติเมตร ปลายใบแหลมหรือมน โคนใบเรียวปลายสอบเข้าหาก้านใบ ขอบใบจักโค้งมนหรือกึ่งฟันเลื่อย ท้องใบเกลี้ยง ดอกช่อกระจะออกที่ซอกใบ และปลายยอด ดอกย่อย 2-10 ดอก มีขนหนาแน่น ใบประดับรูปหอกแคบ กลีบดอกสีม่วง เชื่อมติดกันเป็นหลอดปลายแยกเป็น 2 ปาก ปากบนแยกเป็น 2 พูรูปไล่ ปากล่างแยกเป็น 3 พู ผลเป็นฝักแห้ง แตกได้ รูปกระสวย (นันทวันและอรนุช, 2541)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ผักขมหัดสามารถต้านไวรัสและยับยั้งการเกิดเนื้องอก และกระตุ้นการเจริญของเชื้อรา สารสกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ทำให้หนูทดลองตายร้อยละ 50 เมื่อฉีดเข้าช่องท้องอยู่ในระดับ 0.1 กรัม ต่อ 1 กิโลกรัม (สุธรรม และคณะ, 2547) ส่วนองค์ประกอบทางเคมีพบสาร amaranthin, amarsterol, cholesterol, 22-dehydro, 24-ethyl cholesterol, 24-ethyl lathosterol, 24-ethyl latuorterol และ วิตามินซี (นันทวันและอรนุช, 2542)

2.2.14 ผักขมหนาม

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Amaranthus spinosus* L. อยู่ในวงศ์ Apocynaceae เป็นพืชล้มลุก ใบเดี่ยวก้านใบยาว ใบรูปไข่ปลายแหลม ดอกมีสีเขียวออกเป็นช่อแบบหางกระรอก ที่ซอกใบมีหนามแหลม ผลเป็นฝักรูปกระสวย แห้งแตกได้ มีเมล็ดเล็กสีดำ

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ชาวบ้านพื้นล่างนำรากมาตำพอกและใช้น้ำรักษาแผลสัตว์มีพิษกัดต่อย แก้กลากเกลื้อน เรื้อนกวางฝี ต้มกินเพื่อขับน้ำนม แก้ลิ้นเป็นฝ้า เจ็บคอ แก้ไข้ แน่นท้อง ช้ำใน บวมอักเสบ บิดถ่ายเป็นเลือด ลำต้นและใบใช้ตำพอกบ่มหนองฝีให้แตกเร็ว ตกเลือด ตกขาวผิดปกติ นิ่วในถุงน้ำดี ริดสีดวงทวาร (บุศบรรณ, 2525) นอกจากนี้ผักขมหนามยังใช้เป็นยารักษาโรคทางเพศสัมพันธ์ ฝีและแผลพุพองต่างๆ (Siemonsma และ Piluek, 1994)

ผักขมหนามมีฤทธิ์ในทางเภสัชวิทยาคือสามารถยับยั้ง เอนไซม์ reverse transcriptase และ glutamate-puruvate ซึ่งเกี่ยวกับการหดเกร็งของกล้ามเนื้อ กระตุ้นการทำงานของ phagocyte และประสาทส่วนกลาง เพิ่มอัตราการหายใจ การทรงตัวเปลี่ยนแปลงและขนลุก มีผลทำให้เกิดอาการภูมิแพ้ทางเดินหายใจ (นันทวันและอรนุช, 2542) องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของพืชชนิดนี้มีสารอยู่หลายชนิด เช่น amaranthin, amarsterol, cholesterol, 22-dehydro, 24-ethyl cholesterol, 24-ethyl lathosterol และ 24-ethyl latuorterol เป็นต้น (นันทวันและอรนุช, 2542)

2.2.15 ผักเครือไข่

ในบางท้องถิ่นเรียกว่า ผักแมะ มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Momordica subangulata Blume* อยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae ลักษณะเป็นไม้เถาอายุปีเดียว ตระกูลเดียวกับมะระ เลื้อยพันไปตามต้นไม้อื่น ลำต้นเล็กยาวคล้ายเส้นด้าย มีสันเหลี่ยม ปลายม้วนงอบิดเป็นเกลียว ใบเดี่ยวเรียงแบบเวียนรอบ เนื้อใบค่อนข้างบาง เมื่อยังอ่อนผิวย่น เมื่อแก่ผิวค่อนข้างเรียบเกลี้ยง พบได้ในป่าละเมาะ ป่าเบญจพรรณในที่โล่งแจ้งหรือที่กึ่งร่ม ขึ้นปกคลุมต้นไม้พุ่มและไม้ยืนต้นทั่วไป (สุธรรม และคณะ, 2548) โดยทั่วไปนิยมใช้ใบอ่อน ผลอ่อน และดอก มาปรุงเป็นอาหารหรือกินกับน้ำพริก คุณค่าทางโภชนาการใน 100 กรัม พบเยื่อใย 3.8 กรัม เบตาแคโรทีน 9,102 ไมโครกรัม วิตามินเอ 1,517 ไมโครกรัม และโปรตีน 5.7 กรัม (ณัฐ, 2551) อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานวิจัยทางเภสัชวิทยา

2.2.16 ผักเผ็ด

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Spilanthes paniculata* Wall. ex DC. อยู่ในวงศ์ Compositae ลักษณะเป็นไม้พุ่ม ลำต้นทอดเลื้อยไปตามผิวดิน ใบรูปสามเหลี่ยมปลายแหลม ดอกย่อยเล็กๆ จัดกันแน่นมีกลีบดอกสีเหลืองเรียงเป็นวงรอบ นิยมกินเป็นผักสดกับน้ำพริก ลาบ ส้มตำ ช่วยให้เจริญอาหารและขับลมในกระเพาะ สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ใช้แก้พิษ แก้ไข้ในเด็ก ในช่อดอกและก้านช่อดอกมีสาร spilanthol ที่มีฤทธิ์เป็นยาชาสามารถนำมาอุดฟันแก้ปวดฟันได้ (อุไร, 2547) ยังไม่พบรายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี

2.2.17 ผักหนอกช้าง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Hydrocotyl javanica* Ponten ex Thunb. อยู่ในวงศ์ Umbelliferae ลักษณะเป็นพืชล้มลุก เลื้อยไปตามหน้าดินยาวได้ถึง 2 เมตร ลำต้นค่อนข้างกลม แตกกิ่งและไหลยื่นออกไปได้หลายด้าน ตามข้อกิ่งสามารถงอกรากได้ ใบเดี่ยวเรียงสลับแบบขั้นบันได ใบอาจจะเกลี้ยงหรือมีขนละเอียดปกคลุม ดอกออกเป็นช่อจากด้านล่างของง่ามใบหรือข้อที่ไม่มีใบ

ชาวเขาส่วนใหญ่และชาวพม่าใช้ทั้งต้นตำพอกหรือเอาน้ำทาแก้กลากเกลื้อน แผลพุพองตามร่างกาย ใช้ผสมกับพืชชนิดอื่น เช่น โล่ติ้นเป็นยาเบื่อปลา ใช้ห้ามเลือดในแผลสด เป็นยาสมานแผล (สุธรรม และคณะ, 2548) อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงายวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

2.2.18 ผักเฮือด

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ficus infecoiria* Roxb. อยู่ในวงศ์ Moraceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้นผลัดใบ ลำต้นตรงหรืออาจโค้งงอรัดต้นไม้อื่นได้ ใบอ่อนมีเนื้อสีชมพูอมแดงหรือค่อนข้างไปทางสีแดง ใบแก่สีเขียวหรือเขียวอมเหลือง ผิวเรียบเกลี้ยงเนื้อค่อนข้างเหนียว นิยมใช้ยอดอ่อนกินเป็นผัก (สุธรรม และคณะ, 2548)

คุณค่าทางโภชนาการในใบพืชแห้งที่รับประทานได้ในปริมาณ 100 กรัม มีเบตาแคโรทีน 2.55 มิลลิกรัม แซนโทฟิลด์ 1.59 มิลลิกรัม วิตามินซี 6.26 มิลลิกรัม วิตามินอี 0.0037 มิลิกรัม แทนนิน 30.88 มิลลิกรัม สารประกอบฟีนอลิค 44.26 มิลลิกรัม (นวลศรีและอัญชนา, 2546) มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการยับยั้งการเกิดเนื้องอก ส่วนองค์ประกอบทางเคมีพบ α- amyrin, β- amyrin, campesterol, cholesterol, fucosterol, 28-iso: n-hentriacontane, hexacosan-1-oltane, lupeol, n-nonacosane, octacosan-1-ol, β-sitosterol, stigmasterol, triacontan-1-ol และ n-tritriacon (นันทวันและอรนุช , 2543)

2.2.19 ฝอยทอง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cuscuta chinensis* Lam. อยู่ในวงศ์ Cuscutaceae ลักษณะเป็นพวกกาฝากขึ้นเกาะต้นไม้อื่น ลำต้นเป็นเส้นกลมยาวอ่อนนุ่ม แตกกิ่งก้านมาก สีเหลือง ใบมีลักษณะเป็นเกล็ดรูปสามเหลี่ยมเล็กๆ ดอกออกเป็นช่อสีขาว มักพบตามพุ่มไม้ที่ชุ่มชื่นทั่วไปเป็นกาฝากชอบเกาะต้นไม้ตระกูลถั่วและทานตะวัน สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา สารสกัดจากลำต้นด้วยแอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ ทาแก้ผิวหนังเป็นปื้นขาว (Vitilago) และใช้ภายนอกทำให้บาดแผลหายเร็วขึ้น ส่วนองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ ได้แก่ สารจำพวกเอสเทอร์ แป้งและวิตามินในลำต้น ส่วนเมล็ดมีสารจำพวกเรซิน ไกลโคไซด์ และน้ำตาล (กัมพล และคณะ, 2528)

2.2.20 มันปลา

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Glochidion sphaerogynum* Kurz. อยู่ใน วงศ์ Euphorbiaceae เป็นไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ลำต้นมีเปลือกสีน้ำตาลแก่หรือสีน้ำตาลอมดำ แตกกิ่งก้านสาขาได้มาก กิ่งอ่อนมักจะมีสีแดงบริเวณยอดและจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมเทาเมื่อแก่ตัวลง ใบรูปยาวรี ก้านใบยาวมักจะมีสีแดงหรือเขียวอมแดงเมื่อยังอ่อนอยู่ ปลายใบเรียวแหลม โคนใบโค้งมนเล็กน้อย

ชาวเขาแทบทุกเผ่ากินผลสุก ยอดอ่อนใช้กินเป็นผักสดหรือใส่แกง เนื้อไม้ใช้ทำฟืนสำหรับการหุงต้มและผิงไฟในหน้าหนาว จีนฮ่อและม้งใช้เปลือกลำต้นต้มน้ำอมแก้ปวดฟัน แต่ยังไม่พบการใช้ประโยชน์ในชาวบ้านพื้นล่าง (สุธรรม และคณะ, 2548) อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและคุณค่าทางพลังงานตลอดจนสารในพืช

2.2.21 มะขามป้อม

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Phyllanthus emblica* L. อยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้น มีผลทรงกลม กินได้ เนื้อมีรสฝาด เปรี้ยวขมและอมหวาน สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา รากต้มกินเป็นยาลดไข้ ฟอกเลือด และทำให้อาเจียน เปลือกและเนื้อผลแห้งเป็นยาฝาดสมาน เพราะมีแทนนิน ดอกมีกลิ่นหอมคล้ายกลิ่นมะนาว ใช้เข้าเครื่องยาเป็นยาเย็นและยาระบาย น้ำคั้นจากผลสด มีปริมาณวิตามินซีสูงกว่าน้ำส้มคั้นประมาณ 20 เท่า ใช้แก้โรคลักปิดลักเปิด ยางจากผลใช้หยอดตาแก้ตาอักเสบ กินเป็นยาช่วยย่อยและขับปัสสาวะ (กรมป่าไม้, 2542)

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญที่พบในมะขามป้อมนั้น ส่วนใหญ่จะพบได้ในใบและผล เช่น สารกลุ่ม ascorbic acid, astragalin, chelulagic acid, chibulinic acid, corilabin, ellagic acid, emblicol, gallic acid, gallic acid ethyl ester, gallic acid, di-gallin, gluco, galloyl-β-D-glucose, 1, 6-di-O, gibbetellin A-1, gibberellin A-3, gibbetellin A-4, gibberellin A-7, gibbetellin A-9, glucose, 3,6-di-O-galloyl, inositol, myo, kaempferol, leucodeplhinindin, linoleic acid, linolenic acid, lupeol, myristic acid, oleic acid, palmitic acid, phyllantidine, phyllantine phyllemblic acid, polysaccharide, putranjivain A, qeurcetin-3-O-β-D-glucoside, quercetin, rutin, β-sitosterol, stearic acid, tannin, zeatin, zeatin nuclecotide และ zeatin riboside โดยพบว่าสารเหล่านี้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่างๆ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านสารที่เป็นพิษต่อยีน ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ต้านการอักเสบ ปกป้องตับและป้องกันการเป็นมะเร็งตับ ลดระดับไขมันในเลือด เพิ่มหน้าที่ของ Natural killer cell ป้องกันการอักเสบแบบเฉียบพลันของตับอ่อน ป้องกันการทำลายโครโมโซมโดยการเหนี่ยวนำด้วยรังสี ต้านเอนไซม์ reverse transcriptase ของ HIV-1 virus (Summanen และคณะ, 1997)

กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข (2530) รายงานคุณค่าและปริมาณสารอาหารของส่วนที่กินได้ของผลมะขามป้อม 100 กรัม และสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายประกอบด้วย

ตารางที่ 2.1 คุณค่าและปริมาณสารอาหารของส่วนที่กินได้ของผลมะขามป้อม

สารอาหาร	ผลสด	หน่วย
พลังงาน	58	แคลอรี
น้ำ	84.1	กรัม
ไขมัน	0.5	กรัม
คาร์โบไฮเดรต	14.3	กรัม
เยื่อใยในอาหาร	2.4	กรัม
โปรตีน	0.7	กรัม
แคลเซียม	29	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	21	มิลลิกรัม
เหล็ก	0.5	มิลลิกรัม
วิตามินเอ	100	หน่วยสากล (I.U.)
วิตามินบี 1	0.03	มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	0.04	มิลลิกรัม
ไนอะซิน	0.2	มิลลิกรัม
วิตามินซี	276	มิลลิกรัม

ที่มา : กระทรวงสาธารณสุข (2530)

ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากผลมะขามป้อมด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ในหนูถีบจักร ด้วยวิธีการกิน ขนาด 10 กรัม/กิโลกรัม จะไม่แสดงอาการของความเป็นพิษ แต่การฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ที่ทำให้สัตว์ทดลองตายครึ่งหนึ่ง มีค่า 4.8 กรัม/กิโลกรัม และการฉีดสารสกัดจากใบหรือกิ่งด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ในช่องท้องหนูถีบจักรเพศผู้และเพศเมีย มีค่า LD_{50} เท่ากับ 0.415 และ 0.288 กรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนการทดสอบพิษกึ่งเฉียบพลันโดยวิธีการกินสารสกัดขนาด 0.1 และ 0.5 กรัม/กิโลกรัม เป็นเวลาติดต่อกัน 10 สัปดาห์นั้น ตรวจไม่พบความผิดปกติทางจุลพยาธิของอวัยวะภายใน (สุธรรม และคณะ, 2550)

2.2.22 มะเดื่อกวาง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ficus callosa* Willd อยู่ในวงศ์ Moraceae มีลักษณะเป็นไม้พุ่ม ลำต้นมีเปลือกสีเทา ผิวเรียบ ภายในมียางสีขาว มีใบรูปไข่ค่อนข้างใหญ่ปลายโค้งมน ขอบเรียบ เนื้อใบคล้ายหนังบางๆ (กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช, 2548)

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ชาวเขาหลายเผ่าโดยเฉพาะกะเหรี่ยง ไทยใหญ่ มูเซอ และพม่า ใช้ยางจากลำต้นเป็นยาสมานแผลสด แผลเปื่อยและทาแก้อาการเคล็ด หรืออาการปวดตามร่างกาย ในอินเดียใช้ราก เปลือก ใบ ผล และยางจากลำต้นเป็นยาพื้นบ้าน โดยใช้เดี่ยวๆ หรือผสมกับสมุนไพรอื่น แก้แผลถูกของมีคม แผลเรื้อรัง แก้โรคฝี เม็ดตุ่มพอง รวมไปถึงอาการปวดต่างๆ อันเกิดจากอาการเคล็ด ปวดหลัง และปวดศีรษะ (ก่องกานดา, 2540) อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี

2.2.23 มะเดื่อปล้อง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ficus hispida L.f.* อยู่ในวงศ์ Moraceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้นแตกกิ่งก้านสาขากว้างขวาง ทุกส่วนมีขนสากสีขาวหรือน้ำตาลอ่อน สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ส่วนเปลือกต้น ผล เมล็ด มีฤทธิ์ทำให้อาเจียน เป็นยาระบาย ใช้เป็นยาพอกฝีมะม่วง เป็นยาบำรุงและยาแก้มาลาเรีย ใบแก้ไข้ ใส่แผลฝี แผลในจมูก แผลหนองอักเสบ ผลมีรสขมเป็นยาแก้กระหายน้ำ ยาเย็น ยาฝาดสมาน แก้บิด แก้บวมอักเสบ โรคผิวหนังเรื้อรัง อาการปวดกระเพาะ (ก่องกานดาและลีนา, 2545)

องค์ประกอบทางเคมีพบในสารสกัดจากเปลือกแห้งโดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ มีสาร acetates ของ n-triacontanol, β-amyrin และ gluanol และสารที่สกัดจากใบมีสาร bergapten, psoralen (มี furanocouma-rina 2 ชนิดที่อาจเป็นพิษต่อพืช), β-amyrin และ β-sittosterol (สุธรรม และคณะ, 2548) นอกจากนั้นนันทวันและอรนุช (2542) ยังพบสาร alkanes (C14-C32), β-amyrin, β-amyrin acetate, bergapten, hispidine, oleanolic acid acetate, pergularinine, (-)-deoxy, β-sitosterol, triacontan-l-ol acetate, tylophorinidine และ (+)-0-methyl

2.2.24 ไม้ก้าว

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Tristaniopsis burmanica* (Griff.) Peter G. Wilson & J.T. Waterh. อยู่ในวงศ์ Myrtaceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้นไม่ผลัดใบ ขนาดเล็ก เปลือกชั้นในสีขาวทึบ แตกกิ่งก้านตั้งขึ้นและกิ่งก้านมักคดงอ ผิวใบเมื่อยังอ่อนมีขนละเอียดมีน้ำตาลอมแดง เมื่อแก่ผิวเรียบเกลี้ยง ด้านบนสีเขียวเข้ม มีไขปกคลุมเป็นมัน ด้านล่างสีอ่อนกว่าและมักมีต่อมคล้ายจุดใสกระจายทั่ว ดอกออกเป็นช่อกระจุกจากง่ามใบบริเวณยอดหรือปลายกิ่ง พบได้ในป่าที่ค่อนข้างแห้งแล้ง หรือตามสันเขาแสงแดดจัดในป่าสน (กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช, 2548) อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงายวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา แต่พบการใช้ประโยชน์จากเปลือกลำต้นทำสีย้อมผ้า ด้าย แห และเส้นใยอื่นๆ (สุธรรม และคณะ, 2550)

2.2.25 ไม้อั้น

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Glochidion velutinum* Wight. อยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มกึ่งไม้ยืนต้น ขนาดเล็ก ผลัดใบ ลำต้นมีเปลือกสีน้ำตาลอมแดง ผิวเกลี้ยง เนื้อใบค่อนข้างหนา ผิวด้านบนสีเขียว ด้านล่างสีอ่อนกว่า ดอกออกจากง่ามใบตามกิ่งก้านที่อยู่ใกล้ยอด มีลักษณะเป็นกระจุก ผลค่อนข้างกลมแบนเล็กน้อย ชาวเขาทั่วไปใช้ใบและยอดอ่อนกินเป็นอาหารประเภทผัก จีนฮ่อใช้เปลือกสำหรับย้อมหนัง มูเซอใช้ย้อมพวกภาชนะต่างๆ ที่ทำด้วยหวายและไม้ไผ่ ชาวเขาโดยทั่วไปใช้ไม้สำหรับทำฟืน (สุธรรม และคณะ, 2548) ยังไม่พบรายงายวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

2.2.26 ลำโพง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Datura metel* L. var. *metel* อยู่ในวงศ์ Solanaceae ลักษณะเป็นไม้ล้มลุกพุ่มเล็ก ดอกเป็นรูปลำโพงกลีบดอกข้างนอกสีม่วงข้างในสีขาว พบทั่วไปในเขตร้อน องค์ประกอบ ทางเคมีที่สำคัญพบในทุกส่วนของลำต้น ใบ ดอก ผลของลำโพง มีคุณสมบัติ เป็นพิษทั้งสิ้น เช่น ลำโพงที่มีชื่อว่า *Datura stramonium* มีอัลคาลอยด์ (alkaloid) หลายชนิดรวมกันประมาณ 0.7 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ hyoscyamine, atropine, belladonine และ scopolamine

ส่วนฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่า สารพิษในต้นลำโพงไม่สามารถทำลายด้วยความร้อน หากได้รับพิษจะมีอาการ ปากแห้ง กระหายน้ำ กลืนอาหารยาก ผิวหนังแห้ง ม่านตาขยาย มีอาการประสาทหลอน มีไข้ ชีพจรเต้นเร็ว บางทีเกิดอาการชัก หากได้รับสารในปริมาณมากอาจเสียชีวิต ทางภาคเหนือของไทยเรียกลำโพงว่า "มะเขือบ้า" เนื่องจากหากได้รับสารจากเมล็ดลำโพงเข้าไปจะทำให้ตาแข็ง ประสาทหลอน วิกลจริต (สมพร, 2546)

2.2.27 ส้มสังกา

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Oxalis corniculata* L. อยู่ในวงศ์ Oxalidaceae ลักษณะเป็นพืชล้มลุกที่เลื้อยไปตามดิน พบทั่วไปในประเทศที่มีอากาศร้อน ใบเป็นใบรวมรูปฝ่ามือประกอบด้วยใบย่อย 3 ใบ ใบย่อยมีรูปร่างค่อนข้างกลมปลายเว้า ขอบใบเรียบ ดอกสีเหลือง ออกที่ง่ามระหว่างใบกับลำต้น ผลเป็นรูปทรงกระบอกปลายแหลม ปกคลุมด้วยขน (นิจศิริ และพยอม, 2534) ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่ามีสาร กรดโปตัสเซียมออกซาเลท (acid potassium oxalate) ซึ่งเป็นสารที่ละลายน้ำได้ มีรายงานจากประเทศออสเตรเลียว่า แกะที่กินพืชนี้เข้าไป มีอาการตัวสั่น เดินไม่ตรง เนื่องจากแคลเซียมใน blood serum ลดลง องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญในใบมีสารกรดโปตัสเซียมออกซาเลท กรดทาร์ทาริค และกรดซิตริก (นิจศิริและพยอม, 2534)

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.2.28 ส้มโอมะละกอ

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus medica* L. var. *medica* อยู่ในวงศ์ Rutaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่ม เปลือกลำต้นสีเทาอ่อน ใบเดี่ยวก้านสั้น รูปไข่ยาวหรือค่อนไปทางรูปหอก ผลสีเหลืองเปลือกหนามาก มีกลิ่นหอม เนื้อในเป็นกลีบสีเขียวซีด น้ำในเปรี้ยวมากหรือน้อยแล้วแต่กรณี พบได้ในป่าซึ่งขึ้นเองโดยธรรมชาติ (สุธรรม และคณะ, 2547)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่า น้ำมันหอมระเหยสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา เช่น *Hendersonula toruloidea* ซึ่งทำให้เกิดโรคในผิวหนังและเล็บของคน สารสกัดจากพืชชนิดนี้มีฤทธิ์ในการฆ่าพยาธิไส้เดือนตัวกลม *Ascaris lumbricoides* นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ glutamate oxaloacetate transaminase และ glutamate pyruvate transaminase ยับยั้งเอนไซม์ cycloxygenase และ lipoxygenase มีสารแอนติออกซิแดนท์ และสารต้านมะเร็ง (นันทวันและอรนุช, 2542) องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญพบสาร campesterol, choresterol, citropten, citrusin, daucosterol, diosmin, eriocitrin, hesperidin และ limettin เป็นต้น (นันทวันและอรนุช, 2542)

2.2.29 สะบ้า

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Entada rheedii* Spreng. อยู่ในวงศ์ Mimosaceae ลักษณะเป็นไม้เลื้อยสูงได้ถึง 120 เมตร ใบเป็นใบประกอบแบบขนนกสองชั้น ผลเป็นฝักแบบตรงหรือโค้ง ยาวได้ถึง 2 เมตร เมล็ดแบนกลมตรงกลางนูนขึ้นเล็กน้อย เมื่อแก่และแห้งสีแดงคล้ำ เปลือกและเนื้อแข็ง ทางเภสัชวิทยาพบว่า ต้นและเปลือกตำใช้เป็นยาพอกรักษาแผล ล้างแผล แก้คันศีรษะ ในฟิลิปปินส์ใช้ทั้งเปลือกและลำต้นเป็นยาเบื่อปลา พบสารในกลุ่ม saponins ซึ่งมีทั้งในเปลือกและเมล็ด (สุธรรม และคณะ, 2547)

2.2.30 สะเรียมดง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Turpinia Montana* (Blume) Kurz. อยู่ในวงศ์ Staphyleaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่ม กิ่งเลื้อย ลำต้นแตกกิ่งก้านสาขาได้มาก ผิวเกลี้ยง มีใบรูปหอกปลายใบเรียวแหลม โคนใบรูปลิ่ม ขอบใบเรียบผิวเกลี้ยงเป็นมัน ดอกออกเป็นช่อและเกิดแขนงแตกที่ซอกใบ (สุธรรม และคณะ, 2550)

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ชาวเขาทุกเผ่าใช้ยอดอ่อนกินเป็นทั้งผักสดและปรุงกับผักอื่นๆ เป็นอาหารประเภทผัก ส่วนชาวบ้านพื้นล่างยังไม่พบการใช้ประโยชน์ แต่พบในต่างประเทศโดยในเวียดนามใช้รากของพืชชนิดนี้ต้มน้ำดื่มเป็นยาบำรุงร่างกาย ช่วยเจริญอาหาร แก้ประจำเดือนผิดปกติ น้ำคั้นจากใบใช้เป็นยาระงับเชื้อบาดแผล แก้แผลเปื่อย ตุ่มพุพองตามผิวหนัง และแก้โรคหิด (Lemmens และ Bungpraphatsara, 2003) องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญส่วนของพืชที่อยู่เหนือดินมีสารในกลุ่ม chromenes หลายชนิด รวมทั้ง 2, 2-dimethylcromene และ dicromenes นอกจากนี้ ยังมี quinolene alkaloids, terpenes และ coumarins (Lemmens และ Bungpraphatsara, 2003)

87102

2.2.31 สาบแร้งสาบกา

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Agratum conyzoides* L. อยู่ในวงศ์ Compositae เป็นไม้ล้มลุก ลำต้นกลมแตกกิ่งก้านสาขาตั้งขึ้น มีขนละเอียดสีเทาปกคลุม รูปใบหอกแกมรูปไข่ ขอบใบจักคล้ายฟันเลื่อยผิวปกคลุมด้วยขนละเอียดทั้งสองด้าน ดอกออกเป็นกระจุกที่ยอดลำต้นหรือกิ่ง ชาวเขาเผ่าอีก้อ มูเซอ และม้ง ใช้ใบขยี้หรือตำพอกแผลสดเพื่อห้ามเลือด และใช้แก้พิษเมื่อถูกสัตว์มีพิษ เช่น ตะขาบกัดต่อย ชาวบ้านพื้นล่างใช้ใบตำพอกแก้อาการบวมอักเสบ พอกแผลสด ช่วยห้ามเลือดและรักษาแผลเรื้อรัง

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการห้ามเลือด ทำให้เลือดแข็งตัว แก้ปวด ลดอาการอักเสบต้านเชื้อแบคทีเรีย เช่น เชื้อมาลาเรีย เชื้อรา และไวรัส (นันทวันและอรนุช, 2543) มีรายงานการวิจัยว่าสารสกัดจากใบและทั้งต้นของพืชชนิดนี้ มีฤทธิ์ในการฆ่าแมลง รวมทั้งต่อต้านการกินอาหารและเจริญเติบโตของแมลง (สุธรรม และคณะ, 2534) องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญมีรายงานวิจัยเกี่ยวกับสารในพืชชนิดนี้เป็นจำนวนมาก อาทิ เช่น ageconyflavon A, B และ C, ageratochronene, α-bergamotene, bichroman, β-bisabolone;borneol, β-bourbonene,butan, β-cadinene, tricyclene, tritriacontene, vitamin A และ B (นันทวันและอรนุช, 2543)

2.2.32 สาบเสือ

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Chromolaena odoratum* R.M.King & H.Rob. อยู่ในวงศ์ Compositae ลักษณะเป็นไม้พุ่ม ลำต้นค่อนข้างกลม เปราะ หักได้ง่าย มีขนอ่อนนุ่มปกคลุมประปราย แผ่นใบเป็นรูปหอกโคนใบรูปลิ่ม ปลายเรียวแหลม ขอบใบหยักเป็นซี่คล้ายฟันเลื่อย สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา พบการใช้ประโยชน์ทั้งในชาวเขาและชาวบ้านพื้นล่าง โดยใช้ยอดและใบตำใส่แผลสด เป็นยาห้ามเลือด แก้แผลเปื่อย สมานแผล ต้มน้ำดื่มเป็นยาถอนพิษ แก้อักเสบ พิษน้ำเหลือง ริดสีดวงทราวหนัก แก้ตาฟางและตาแฉะ ส่วนดอกใช้ เป็นยาชูกำลัง แก้ไข้ร้อนใน กระหายน้ำ บำรุงหัวใจ ลำต้นแก้ปวดท้อง ท้องขึ้น ท้องเฟ้อ ใช้แก้บวมดูดหนองและแก้บาดทะยัก (ก่องกานดา, 2528)

นอกจากนั้นยังพบว่า สารสกัดจากพืชชนิดนี้มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียโกโนเรีย *Pseudomonas aeruginosa* และ *Streptococcus faecalis* ช่วยห้ามเลือดทำให้หลอดเลือดหดตัว กระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบให้หดเกร็ง ลดการอักเสบ จับกับอนุมูลอิสระ ยับยั้งความเป็นพิษต่อตับ (นันทวันและอรนุช, 2543) องค์ประกอบสารเคมีที่สำคัญ ได้แก่ acacetin, β-amyrin, anisic acid, aromadendrin-4, 7-dimethyl ether, boeneol acetate, β-bourbonene และ cadinene (นันทวันและอรนุช, 2543)

2.2.33 สาบหมาสาบแมว

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Eupatorium adenophorum* Sprengel อยู่ในวงศ์ Asteracae ลักษณะคล้ายกับต้นสาบเสือ เพียงแต่ใบเล็กกว่าและลำต้นสีออกแดงม่วง เป็นพืชล้มลุกที่มักจะพบตามชายป่าระดับสูงทั่วไป มีรายงานว่า ชาวเขาเผ่าอีก้อและมูเซอ ใช้ราก ต้น ใบหรือทั้งต้นตำเป็นยาพอกห้ามเลือด ใส่

แผลสด แก้ตุ่มคัน โรคตามผิวหนัง แก้อาการฟกช้ำดำเขียว ปวดกล้ามเนื้อ ใช้อาบแก้วัณโรค (สุธรรม และคณะ, 2547) ไม่พบรายงายวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

2.2.34 ห้าส้วย

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Clerodendrum sarratum* (L.) Moon ver. *Wallidhii* C.B Clarke อยู่ในวงศ์ Verbenaceae ลักษณะไม้พุ่มยืนต้นขนาดเล็กสูง 2-3 เมตร เปลือกลำต้น บางผิวเรียบ สีน้ำตาลเข้ม ใบเป็นใบเดี่ยว ออกจากลำต้นตรงข้ามกันเป็นคู่แบบสลับ ใบเรียงรูปใบหอกสีเขียวสด ขอบใบหยักฟันเลื่อย ดอกออกเป็นช่อ ลักษณะเป็นหลอดขนาดเล็ก กลีบดอกมี 5 กลีบ กลีบกลางมีสีม่วง กลีบข้างมีสีฟ้า ผลรูปร่างกลม สีม่วงดำ หรือสีดำเป็นมัน ชาวเขาใช้ทั้งต้นและใบเป็นยาพอกหรือทาแก้บวม ฟกช้ำ หรือทาบาดแผลสด เป็นยาระงับเชื้อหรือรักษาแผลเปื่อย (สุธรรม และคณะ, 2547) ไม่พบรายงายวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

2.2.35 หางกระรอกแดง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Acalypha hispida* Burm.f. อยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่ม สูงไม่เกิน 3 เมตร แตกกิ่งก้านสาขาโดยรอบ มีใบเดี่ยวรูปไข่ค่อนไปทางกว้าง ดอกออกเป็นช่อยาวจากซอกใบมีสีแดง (สุธรรม และคณะ, 2547)

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา หางกระรอกแดงมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ยีสต์ และพยาธิประเภท trypanosoma กระตุ้นปฏิกิริยาไวรัสบางชนิด (นันทวันและอรนุช, 2543) นอกจากนั้นยังมีความสามารถในการต้านเชื้อราในพืช (Pandey และคณะ, 1982) มีฤทธิ์คล้าย juvenile hormone ในแมลง ทำให้แมลงเป็นตัวอ่อนอยู่นานและเป็นตัวเต็มวัยช้าลง อีกทั้งยังมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญคือ gentistic acid (Gopakumar และคณะ, 1979) ยังไม่พบรายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี

2.2.36 หางปลาช่อน

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Emilia sonchifolia* (L.) DC. Ex Wight อยู่ในวงศ์ Compositae ลักษณะเป็นไม้ล้มลุก ผิวใบดานบนสีเขียวจัดเกลี้ยงหรือเกือบเกลี้ยง ด้านล่างสีอ่อนกว่า หรือมีจุดสีม่วงกระจาย ผิวหยาบขรุขระ ใบด้านบนมีรูปคล้ายหัวลูกศร พบตามทุ่งหญ้าโล่งหรือขึ้นปะปนกับวัชพืชทั่วไป (สุธรรม และคณะ, 2547) คุณค่าทางโภชนาการใน 100 กรัม พบ น้ำ 90 กรัม โปรตีน 2.2 กรัม ไขมัน 0.3 กรัม คาร์โบเดรต 5.3 กรัม กากใย 1.1 กรัม และเถ้า 1.1 กรัม (Siemonsma และ Piluek, 1994)

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา สรรพคุณสามารถใช้ทั้งต้นเป็นยาแก้ไข้ ห้ามเลือด แก้ทอนซิลอักเสบ เจ็บคอ ตาแดง ใช้พอกแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก บาดแผลต่างๆ บาดแผลเรื้อรัง (ก่อง กานดา, 2528) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และต้านเชื้อไวรัสโรคเริม ยับยั้งเอนไซม์ glutamate-pyruvate transaminase และลดการบีบตัวของลำไส้เล็ก (นันทวันและอรนุช, 2543)องค์ประกอบทางเคมีพบสาร doronine, hexacosan-1-ol, hyperroside, palmitic acid, potassium nitrate, quercetin, rutin,

senkirkine, simiaral, β-sitosterol, stigmasterol, triacontanoic acid, trifolin และ ursolic acid (นันทวันและอรนุช, 2543)

2.2.37 หญ้าแหลมนกไส้

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Bidens bipinnata* , L. อยู่ในวงศ์ Asteraceae เป็นไม้ล้มลุก ลำต้นเป็นสี่เหลี่ยม มีใบประกอบแบบขนนกสองชั้น ขอบใบหยักลึกคล้ายฟันเลื่อยหยาบๆ มีดอกสีเหลืองออกใกล้ช่อใบ สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ชาวเขาเผ่าเย้าและเผ่าอื่นๆ อีกหลายเผ่าใช้ใบอ่อน ยอดอ่อน เป็นผักจิ้มหรือปรุงใส่แกง ใช้ทั้งต้นเป็นยาแก้ปวดต่างๆ โดยต้มน้ำดื่มหรือนำมาตำพอกบาดแผลเพื่อหยุดเลือดในแผลสดและดูดหนองในแผลเปื่อย แผลพุพอง น้ำเหลืองเสียจากฝี ในจีนใช้ทั้งต้นเป็นยาแก้พิษแมลงต่อยและงูกัด ตลอดจนถึงบาดแผลตามร่างกาย (สุธรรม และคณะ, 2547) ส่วนในไต้หวันใช้ทั้งต้นต้มน้ำดื่มแก้อาการท้องร่วง (Pdua de และคณะ, 1999)

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ พบว่ามีสารในกลุ่มของ acetylenes 9 ชนิดที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อมาเลเรีย สารสกัดเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อมาเลเรียชนิด *Plasmodium falciparum* ได้ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองในหลอดแก้ว สาร phenyl-hepta-1, 3, 5-trine เป็นหนึ่งใน 9 ชนิดที่ได้จากสารสกัดจากใบและดอกของหญ้าแหลมนกไส้ซึ่งเป็นพิษต่อเชื้อมาเลเรีย เชื้อแบคทีเรียอื่นๆ เชื้อยีสต์และเป็นพิษต่อหนอนกระทู้ *Spodoptera frugiperda* (Pdua de และคณะ, 1999)

2.2.38 หญ้าเอ็นยืด

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Plantago major* Linn. อยู่ในวงศ์ Plantaginaceae ลักษณะเป็นพรรณไม้ล้มลุกขนาดเล็กที่มีเนื้ออ่อน สูงไม่เกิน 1 ฟุต ใบแทงขึ้นมาจากดินคล้ายกับใบผักกาด แต่จะมีก้านใบยาวกว่าแผ่นใบหนาและกว้าง ลักษณะของใบคล้ายช้อนสังกะสีขนาดใหญ่ แตกใบออกรอบ ๆ ต้น

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ ในเมล็ดพบสารในกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ และยังมีไอโซเมอร์ของ ricinoleic acid หรือ β-hydroxyloefinic acid 9 – hydroxyl – cis – 11 – octadecenoic acid ประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำมันของเมล็ด ในใบมีสารกลุ่ม iridoids และ ฟีนอล เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิค และฟีนิลโพรพาโนลิค เอสเทอร์ ของไกลโคไซด์ เช่น verbascoside, plantamajoside และมีสาร iridoid glucoside majoroside, aucubin และ catalpol

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา สาร iridoids ในใบของพืชมีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบ นอกจากนั้น ยังมีสาร aucubigenin มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อวัณโรค ปอด ไวรัสตับ ต้านเชื้อมาลาเรีย ต้านการติดเชื้อ Giardia ที่ทำให้เกิดอาการท้องร่วง สารสกัดจากพืชสามารถฆ่าเชื้อ *Giardia duodenalis* ได้ถึง 76 เปอร์เซ็นต์ ในหลอดทดลอง ยับยั้งแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้ ยับยั้งการก่อเกิดมะเร็ง เนื้องอก และเอนไซม์ β-glucuronidase ลดการบีบตัวของ

ลำไส้เล็ก ลดการซึมผ่านของหลอดเลือดฝอย และอาการแพ้ที่เกิดจากมลพิษในสิ่งแวดล้อม (สุธรรม และคณะ, 2550)

2.2.39 หนาด

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Blumea balsamifera* (L.) DC อยู่ในวงศ์ Compositae เป็นไม้ยืนต้นมีขนอ่อนนุ่มสีขาวทั่วทั้งต้น พบขึ้นเองตามท้องนาและหุบเขาทั่วไป ส่วนใบและยอดอ่อนสามารถนำมากลั่นเอาน้ำมันหอมระเหยใช้เป็นยา องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญในก้านและใบ คือ น้ำมันหอมระเหย ประกอบด้วย *l* –borneol, cineol, limonene, *l*-camphor, terpenol, dimehy ether of phloroacetophen และยังมีพวก sesquiterpenes ทั้งต้นมี ฟลาโวนอยด์ คูมาริน กรดอะมิโน และไตรเทอร์ปีน (กัมพล และคณะ, 2523) อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานทางเภสัชวิทยา

2.2.40 หมากฮอด

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Rhus chinensis* (Mill.) อยู่ในวงศ์ Anacardiaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้นขนาดเล็ก เปลือกนอกมีผิวสีน้ำตาลอมขาวหม่น เมื่อแก่จะพบรูอากาศขนาดใหญ่สีน้ำตาลอมแดงเรียงเป็นแถว ใบเป็นใบเรียงสลับระหว่างข่อกิ่งหรือต้น ดอกออกเป็นช่อแยกแขนงที่ยอดหรือปลายกิ่ง แขนงช่อดอกยาวได้ถึง 25 เซนติเมตร มีสีขาวอมเหลืองอ่อนหรือเขียวอ่อน ผลรูปร่างเกือบกลมเมื่ออ่อนสีขาวอมเขียวแล้วเปลี่ยนเป็นสีชมพูหรือสีแดงจัดและเปลี่ยนเป็นสีขาวอีกเมื่อแก่

ชาวเขาใช้ใบเป็นยาสำหรับห้ามเลือด สมานแผล แก้อาการผื่นคัน ตุ่มพองและโรคผิวหนังตามร่างกาย ส่วนจีนใช้เป็นยาพอกสมานแผล และแก้แผลมีหนอง แผลเปื่อย สารสกัดจากพืชชนิดนี้มีฤทธิ์ในการต้านไวรัสเริม HSV และให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacteroides fragilis, Clostridium perfringens, Clostridium paraputrificum, Escherichia coli, Eubacterum limosum* และ *S. aureus* และยังมีฤทธิ์ต่ำในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bifidobacterium adolesentis* และ *B. longum* มีการยับยั้งการเจริญในแบคทีเรีย *B. animalis, B. bifidum, B. breve, B. unfantis, B. thermophilum, Lactobacillus acidophillus, Lb. plantarum* และ *Streptococcus faecalis* (สุธรรม และคณะ, 2550)

องค์ประกอบทางเคมีพบสาร agathisflavone, 2-hydroxy 6-pentadecyl benzoic acid, 3-heptadecyl catechol, 7-hydroxy 6- methoxy coumarin, dibenzomethane, ethy gallate, (-)-epicatechol, (-)-epigallocatechol, 3, 4, 7-trihydroxy flavone, (+)-gallocatechol, gallotannin, myricetin, myricitrin, 1, 2, 3, 4, 6-penta-O-galloyl- β-D-glucose, quercetin, rhuslactone, 6-heptadeca, 8, 11, 14-trienyl salicylic acid, 6-heptadeca, 8-enyl salicylic acid, semialotic acid, semimoronic acid, β-sitosterol, tannic acid และ tannin (นันทวันและอรนุช, 2542)

2.3 สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในพืช

2.3.1 สารพฤกษเคมี (Phytochemicals)

ชนิดและส่วนของพืชสมุนไพร จะประกอบด้วยชนิดและปริมาณของสารพฤกษเคมีที่แตกต่างกัน สารพฤกษเคมีเหล่านี้จะเป็นตัวกำหนดสรรพคุณของสมุนไพรบางชนิด นอกจากนี้ปริมาณของสารดังกล่าวอาจขึ้นอยู่กับพันธุ์พืช ช่วงเวลาที่เก็บเกี่ยวสมุนไพรและสภาพแวดล้อมที่ปลูก เช่น อุณหภูมิ แสงสว่าง ฤดูกาล ความชื้นในอากาศ ลม ปริมาณน้ำในดิน เป็นต้น (นิจศิริและพยอม, 2534) พืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีสารพฤกษเคมีที่สำคัญที่มีฤทธิ์ทางยาแตกต่างกัน โดยสารพฤกษเคมีที่พบในเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชทุกชนิด เป็นผลจากการสังเคราะห์แสงของพืชทั้งสิ้น และอาจมีผลต่อระบบการทำงานของร่างกาย เช่น อัลคาลอยด์ ไกลโคไซด์ น้ำมันหอมระเหย แทนนิน กัม น้ำยาง สเตียรอยด์ และฟลาโวนอยด์ เป็นต้น

สารเคมีในพืชสมุนไพรแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม (วันดี, 2538) ได้แก่

2.3.1.1 **สารปฐมภูมิ (primary metabolites)** เป็นสารที่พบในพืชชั้นสูงทั่วๆ ไปแทบทุกชนิด สารดังกล่าวเป็นผลิตผลที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) โดยพืชดูดน้ำ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และรับพลังงานจากแสงแดดเพื่อใช้ในสร้างสารคาร์โบไฮเดรต ด้วยเหตุนี้พืชเกือบทุกชนิดจึงมีองค์ประกอบหลักคือแป้งและน้ำตาล ที่มนุษย์ได้ใช้เป็นอาหาร นอกจากนี้สารปฐมภูมิยังรวมถึงสารจำพวกไขมัน โปรตีน รงควัตถุ (pigment) และเกลืออนินทรีย์ (inorganic salt) ชนิดต่างๆ อีกด้วย

2.3.1.2 **สารทุติยภูมิ (secondary metabolites)** เป็นสารประกอบที่พืชสร้างขึ้น มีลักษณะพิเศษและมีความแตกต่างในกระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) ในพืชแต่ละชนิด ไม่ว่าจะเป็นความแตกต่างกันของสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ และเอนไซม์ที่เฉพาะเจาะจง เอนไซม์นี้จะทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาต่างๆในพืช ตัวอย่างของสารกลุ่มนี้ได้แก่ อัลคาลอยด์ ไกลโคไซด์ น้ำมันหอมระเหย สารในกลุ่มนี้ส่วนมากจะมีสรรพคุณทางยาหรือเป็นสารพิษ

กลุ่มของสารเคมีทั้งสารปฐมภูมิและทุติยภูมิที่พบเสมอๆ ในพืช (นิจศิริและพยอม, 2534) ได้แก่

- **คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate)** ได้แก่ สารประเภทแป้ง น้ำตาล และเซลลูโลส (cellulose) ที่เป็นกากใยที่พบในพืช รวมทั้งวุ้นและสารเมือกจำพวกกัมและมิวซิเลจ (gum and mucilage) โดยส่วนมากพบในส่วนต่างๆ เช่น หัว ราก ใบ และเมล็ด ซึ่งคาร์โบไฮเดรตใช้เป็นอาหารและแหล่งพลังงาน ส่วนกากใยช่วยในการขับถ่าย วุ้นใช้เป็นยาระบาย เป็นต้น

-**ไขมัน (lipid)** เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) มักใช้ประโยชน์ในการเตรียมขี้ผึ้ง หรือใช้ในทางยา เช่น น้ำมันละหุ่งเป็นยาระบาย และน้ำมันกระเบาใช้รักษาโรคผิวหนัง เป็นต้น

-น้ำยาง (latex) พืชบางชนิดจะให้น้ำยางที่มีลักษณะขาวเหมือนน้ำนม ในน้ำยางประกอบด้วย แป้ง กัม เรซิน และสารอื่นๆ น้ำยางของพืชบางชนิดใช้ประโยชน์ทางยา เช่น น้ำยาง จากผลฝิ่นใช้เป็นยาแก้ปวด หรือใช้ในทาง อุตสาหกรรม เช่น ยางพารา เป็นต้น

- เรซิน (resin) เป็นสารประกอบที่เกิดจากสารเคมีหลายชนิดรวมกัน มีรูปร่างไม่แน่นอน มักเปราะ แตกง่าย แต่บางชนิดอาจนิ่ม เมื่อให้ความร้อนจะหลอมเหลวได้สารที่มีลักษณะใสข้น เหนียว เช่น ชันสน เป็นต้น มักใช้เป็นสารที่ช่วยให้ผลิตภัณฑ์แข็งตัว (Stiffening agent)

- น้ำมันหอมระเหย (volatile oil หรือ essential oil) เป็นสารที่มีกลิ่นหอม พบได้ในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ดอก ใบ ผล และกลีบเลี้ยง สามารถสกัดน้ำมันโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ เพราะระเหยง่ายในอุณหภูมิปกติ น้ำมันหอมระเหยใช้เป็นส่วนผสม เช่น ใช้เป็นเครื่องหอม เครื่องเทศ น้ำมันหอมระเหยหลายชนิดมีฤทธิ์เป็นยาขับลม หรือบางชนิดมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เช่น ดอกกุหลาบ ดอกมะลิ กระเทียม ขิง มะกรูด และมะนาว เป็นต้น

องค์ประกอบที่พบในน้ำมันหอมระเหยแสดงในตารางที่ 2.2 ตัวอย่างขององค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญในน้ำมันหอมระเหย เช่น การบูร (camphor) บาร์นีออล (borneol) ซิโทรเนลลาล (citronellal) และไลนาลูออล (linalool) เป็นต้น (วันดี, 2538)

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบที่พบในน้ำมันหอมระเหย

ไฮโดรคาร์บอน	เทอร์ปีน (terpenes)
สารประกอบออกซิเจน	แอลกอฮอล์ (alcohol) อัลดีไฮด์ (aldehydes) คีโตน (ketone) เอสเทอร์ (esters) ฟีนอล (phenols) ออกไซด์ (oxides) เปอร์ออกไซด์ (peroxides) แลคโตน (lactones) กรด (acids) ฟูแรน (furans) อีเทอร์ (ethers)
สารประกอบอื่นๆ	สารประกอบซัลเฟอร์ (Sulphur compounds)

ที่มา : Tisserand และ Balacs (1995)

- **โปรตีนและกรดอะมิโน (protein and amino acid)** เป็นสารอินทรีย์ที่เกิดจากกรดอะมิโนมาจับกันเป็นโมเลกุลใหญ่ โปรตีนจะถูกสร้างขึ้นในสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ พืชมักเก็บโปรตีนในรูปของเม็ดอะลูโรน (aleurone grain) นอกจากจะมีประโยชน์ในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่สึกหรอแล้ว ยังนำไปใช้ในการรักษาอีกด้วย เช่น เซรุ่ม (serum) โกลบูลิน (globulins) แอนติทอกซิน (antitoxin) โปรตีนบางชนิดอาจเป็นพิษต่อร่างกาย เช่น โปรตีนจากเมล็ดละหุ่ง โปรตีนจากเมล็ดมะกล่ำตาหนู สำหรับโปรตีนที่ใช้ในทางเภสัชกรรม เช่น เยลลาติน (gelatin) ใช้เป็นสารเคลือบยาเม็ด สารแขวนตะกอนในยาน้ำและใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ

- **เอนไซม์ (enzyme)** เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 13,000 ถึง 840,000 ดาลตัน ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาต่างๆในพืช เช่น เร่งการสลายตัวของสารเร่งปฏิกิริยา oxidation reduction ที่เกิดขึ้นระหว่างสารสองชนิด เป็นต้น นอกจากนี้ เอนไซม์ยังมีประโยชน์ในการย่อยแป้งและโปรตีน ช่วยให้เลือดหยุดไหล เป็นต้น

- **อัลคาลอยด์ (alkaloid)** เป็นสารกลุ่มใหญ่ ส่วนมากพบในพืชชั้นสูง มีรสขม โมเลกุลมีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ มีสมบัติเป็นด่าง เมื่ออยู่ในรูปของเกลือจะละลายน้ำได้ ตัวอย่างของอัลคาลอยด์ที่นำมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆ เช่น อะโทรปีน (atropine) จากต้นและใบลำโพงมีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ จึงใช้ผสมในยาแก้ปวดท้อง มอร์ฟีน (morphine) เป็นอัลคาลอยด์ที่พบในผลฝิ่นใช้เป็นยาระงับปวด นอกจากประโยชน์ในการรักษาแล้ว ยังมีอัลคาลอยด์บางชนิดที่เป็นพิษต่อร่างกาย โดยมีการใช้เป็นยาฆ่าแมลงและใช้ในการล่าสัตว์ ตัวอย่างเช่น นิโคติน (nicotine) จากใบยาสูบจะออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทอัตโนมัติทำให้กล้ามเนื้อเกิดอัมพาตได้

- **สเตียรอยด์ (steroid)** เป็นสารประกอบในพืชที่ละลายได้ดีในไขมันหรือตัวทำละลายที่ละลายในไขมัน ได้ มีสูตรโครงสร้างคล้ายกับฮอร์โมนและยาต้านการอักเสบ จึงใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ยาต้านการอักเสบและฮอร์โมนบางชนิด ตัวอย่างเช่น ไดออสเจนิน (diosgenin) ซึ่งพบในหัวกลอย เป็นต้น

- **ไกลโคไซด์ (glycoside)** เป็นสารที่ประกอบด้วยน้ำตาลและส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาล ส่วนที่มีน้ำตาลจับมีผลทำให้สารละลายน้ำได้ดี ส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลมีสูตรโครงสร้างและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่แตกต่างกันออกไป และมักพบได้ในส่วนต่าง ๆ ของพืชชั้นสูง ไกลโคไซด์เป็นสารกลุ่มใหญ่อีกกลุ่มหนึ่ง ที่นำมาใช้เป็นยารักษาโรค อาทิ ยาบำรุงหัวใจ ยาระบาย ซึ่งได้จากใบและฝักมะขามแขก ยาฝาดสมานของแทนนินซึ่งพบในเปลือกต้นสีเสียด ผลและเมล็ดหมาก เปลือกผลมังคุดและใบฝรั่ง เป็นต้น ไกลโคไซด์หลายชนิดมีฤทธิ์เป็นสารพิษ เช่น ไซยาโนเจนีติกไกลโคไซด์ เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์หรือเร่งด้วยปฏิกิริยาทางเคมีแล้วจะให้สารไซยาไนด์ซึ่งเป็นพิษต่อร่างกาย เนื่องจากไซยาไนด์ไปจับเม็ดเลือดแดงทำให้เม็ดเลือดแดงไม่สามารถจับกับออกซิเจนได้

ไกลโคไซด์พบมากในส่วนต่างๆ ของพืชชั้นสูง แบ่งออกเป็นหลายชนิดที่สำคัญ (วันดี, 2538) ได้แก่

1. Cardioactive หรือ Cardiac glycosides เป็นไกลโคไซด์ที่ออกฤทธิ์ต่อกล้ามเนื้อหัวใจ เช่น digitoxin, digoxin พบได้ในใบ *Digitallis purpura* L. ใช้เป็นยาบำรุงหัวใจ

2. Anthraquinone glycosides เป็นกลุ่มสารที่ออกฤทธิ์เป็นยาถ่ายหรือยาระบาย ตัวอย่างเช่น สารเซนโนไซด์ (sennosides) ในใบและฝักมะขามแขก สารอะโล-อีโมดิน (aloe-emodin)ในโกศน้ำเต้า และฝักคูน สารบาร์บาโลอิน (barbaloin) ในเปลือกใบว่านหางจระเข้ เป็นต้น

3. Saponin glycosides เป็นสารที่ทำให้เกิดฟองเมื่อเขย่ากับน้ำ เป็นสารที่ลดแรงตึงผิวที่ดีและมีคุณสมบัติทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้ สารในกลุ่มนี้ใช้ประโยชน์เป็นสารชะล้างแทนสบู่ได้ ใช้เป็นสารพ่นดับไฟ ใช้เป็นยาเบื่อปลา และประโยชน์ที่สำคัญที่สุดคือ ใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ยาจำพวกสเตียรอยด์ฮอร์โมน (steroid hormones) ตัวอย่างสมุนไพรที่มีซาโปนิน เช่น พืชจำพวกกลอย มีสารไดออสเจนิน (diosgenin) เป็นต้น

4. Cyanogenetic glycocides เป็นไกลโคไซด์ซึ่งสลายให้สารพิษจำพวกไซยาไนด์ พืชที่มีสารกลุ่มนี้มักจะมีพิษ ก่อนนำมาใช้ปรุงเป็นอาหารต้องทำให้สุกก่อน เพื่อให้สารจำพวกไซยาไนด์สลายไป ต้นหญ้าบางชนิดที่มีสารจำพวกนี้อยู่เมื่อสัตว์กินเข้าไปอาจทำให้สัตว์ตายได้ ตัวอย่างพืชที่พบไกลโคไซด์กลุ่มนี้ เช่น รากมันสำปะหลังพบสารแมนนีโฮท็อกซิน (manihotoxin) เมล็ดเฮ่งยิ้งพบสารอะมิกดาลิน (amygdalin) และแม้แต่ฝักสะตอและชะอมก็มีรายงานว่าพบสารชนิดนี้เช่นกันแต่พบในปริมาณน้อย สารจำพวกไซยาไนด์ทำให้เกิดพิษโดยการไปทำลายเอนไซม์และเนื้อเยื่อต่างๆ ทำให้ออกซิเจนในเลือดมาเลี้ยงไม่ได้ และทำให้การหายใจหยุดชะงักได้

5. Flavonol glycosides หรือ Flavonoids เป็นรงควัตถุ (pigment) ที่พบในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น กลีบดอก กลีบเลี้ยง ใบไม้ ผลไม้ เป็นต้น สารนี้แบ่งออกได้เป็นหลายชนิด เช่น

- ในดอกไม้สีเหลือง มักจะพบสารจำพวกฟลาโวนส์ (flavones) ฟลาโวนอล (flavonols) ซาลโคนส์ (chalcones) หรือออโรนส์ (aurones)

- ดอกไม้สีแดง ม่วง น้ำเงิน มักพบสารจำพวกแอนโธไซยานินส์ (anthocyanins)

สารฟลาโวนอยส์หลายชนิดใช้เป็นยาได้ เช่น รูทิน (rutin) ใช้รักษาโรคเส้นโลหิตฝอยเปราะ บางชนิดใช้เป็นยาฆ่าแมลง แก้อักเสบ ขับปัสสาวะ เป็นต้น

6. Lactone glycosides สารในกลุ่มนี้บางชนิดมีกลิ่นหอม เช่น คูมาริน (coumarin) จากโกศสอ เปลือกต้นชะลูด ใช้เป็นสารแต่งกลิ่นหอมในเครื่องสำอาง บางชนิดใช้ป้องกันการแข็งตัวของเลือด และใช้เป็นส่วนผสมในครีมป้องกันการแพ้แสงแดด หรือผสมในแป้งฝุ่นทาตัว เป็นต้น

7. Tannins เป็นกลุ่มสารที่พบได้ในพืชเกือบทุกชนิด มีรสฝาด เช่น พบในเปลือกต้นสีเสียด ผลและเมล็ดหมาก เปลือกผลมังคุดและทับทิม ใบฝรั่ง เป็นต้น แทนนินมีคุณสมบัติตกตะกอนโปรตีนได้ จึงใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง ใช้เป็นยาฝาดสมาน และยาแก้ท้องเสีย ช่วยรักษาแผล เช่น แผลไฟไหม้ ทำให้แผลสมานเร็วขึ้น

2.3.2 การสกัดสารสำคัญจากพืช

การสกัดสารสำคัญจากพืชอาจทำได้หลายวิธี ขึ้นอยู่กับชนิดของสารสกัด คุณสมบัติของสารในการทนต่อความร้อน ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ (รัตนา, 2545) แต่ละวิธีมีข้อดีและข้อจำกัด วิธีเหล่านี้ได้แก่

2.3.2.1 Maceration เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยวิธีหมักสมุนไพรเข้ากับตัวทำละลายในภาชนะปิด เช่น ขวดปากกว้าง ขวดรูปชมพู่ เป็นต้น หมั่นเขย่าและทิ้งไว้ 3 วัน เมื่อครบกำหนดเวลาจึงรินเอาสารสกัดออก และเอาสารละลายออกจากกาก (Marc)ให้มากที่สุด จากนั้นรวมสารสกัดที่ได้นำไปกรอง ถ้าต้องการสกัดสารให้หมด (exhausted) ต้องทำการสกัดซ้ำหลายๆ ครั้ง วิธีนี้มีข้อดีคือสารไม่ได้รับความร้อน แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก

2.3.2.2 Percolation เป็นวิธีสกัดสารอย่างต่อเนื่องโดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Percolation นำพืชมาหมักกับตัวทำละลายพอท่วม ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้พืชดูดซับสารละลายเต็มที่ แล้วจึงบรรจุลงใน Percolator เติมตัวทำละลายลงไปให้สูงกว่าระดับพืชประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงเริ่มแยกสารสกัดออก และต้องเติมตัวทำละลายให้มีระดับสูงกว่าพืชอยู่เสมอ เมื่อได้ปริมาณสารสกัดที่ต้องการแล้วนำสารสกัดที่ได้ทั้งหมดรวมกันแล้วนำไปกรอง

2.3.2.3 Soxhlet Extractor เป็นวิธีการสกัดอย่างต่อเนื่องที่ใช้ตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำ โดยให้ความร้อนในระหว่างทำการสกัด ทำให้ตัวทำละลายในฟลาสก์ระเหยขึ้นไป แล้วกลั่นตัวลงมาใน thimble ซึ่งบรรจุพืชไว้

2.3.2.4 Liquid-liquid Extraction เป็นการสกัดสารจากสารละลายซึ่งเป็นของเหลวลงในตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งไม่ผสมกับตัวทำละลายชนิดแรกแบ่งเป็น 2 ชนิดคือ

- Extractant lighter คือ ตัวทำละลายที่ใช้สกัดเบากว่าตัวทำละลายที่ใช้ละลายสาร
- Raffinate lighter คือ ตัวทำละลายที่ใช้สกัดหนักกว่าตัวทำละลายที่ใช้ละลายสาร

2.3.2.5 Extraction by thermomicrodistillation เป็นการสกัดสารโดยใช้เครื่องมือ Thermomicro Analysis and Separation Ovens (TAS oven) เป็นการสกัดสารในปริมาณน้อยมาก

ตัวทำละลายที่นิยมใช้ ได้แก่

1. คลอโรฟอร์ม เป็นตัวทำละลายที่ดี แต่มีความจำเพาะ (selectivity) น้อย เกิดอิมัลชั่นง่าย ถ้าใช้สารสกัดที่เป็นด่างแก่อาจสลายตัวให้กรดเกลือ

2. อีเทอร์ มีอำนาจในการละลายน้อยกว่าคลอโรฟอร์ม แต่มีความจำเพาะดีกว่า ข้อจำกัดคือ ระเหยง่าย ระเบิดง่าย

3. เฮกเซน เหมาะสำหรับสารจำพวกไม่มีขั้ว มักใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับกำจัดไขมันจากพืช แต่มีข้อดีคือราคาถูก

4. แอลกอฮอล์ ที่นิยมใช้มากคือ เมทานอล และเอทานอล

2.3.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้น (Concentration)

เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้มักมีปริมาณมากและเจือจาง ทำให้นำไปแยกส่วนไม่สะดวก และไม่มีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องทำให้มีความเข้มข้นมากขึ้น ซึ่งอาจทำได้หลายวิธี (สุมาลีและจุฑามาศ, 2542) คือ

2.3.3.1 Free evaporation คือการระเหยแห้งจากหม้ออังไอน้ำ (water bath) หรือ hot plate หรืออาจให้ความร้อนกับสารสกัดโดยผ่านตัวพาความร้อน เช่น น้ำหรืออากาศ จะช่วยทำให้ตัวทำละลายระเหยเร็วขึ้น

2.3.3.2 Distillation in vacuo เป็นวิธีการระเหยแห้งโดยกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำและลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ vacuum pump เครื่องมือนี้เรียกว่า Rotary evaporator ประกอบด้วย 3 ส่วนคือ condenser, receiving flask และ distillation flask ซึ่งจะหมุนและแช่อยู่ในเครื่องอังไอน้ำเพื่อให้การกระจายของความร้อนทั่วถึงและสม่ำเสมอ

2.3.3.3 Ultrafiltration เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้เมมเบรน ใช้กับสารที่มีมวลโมเลกุลสูงกว่า 5,000

2.3.3.4 การทำแห้งแบบใช้ความเย็น (freeze drying) สารที่ไวต่อความร้อน ง่ายต่อการถูกออกซิไดซ์โดยออกซิเจนในอากาศ เช่น ยาปฏิชีวนะ ฮอร์โมน เชื้อจุลินทรีย์ วัคซีน เป็นต้น ควรทำแห้งด้วยการใช้ความเย็น (กุลยาและสุภาพร, 2537) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้คือ

- การทำให้สารเปลี่ยนสถานะเป็นของแข็ง โดยทำให้สารเปียกและลดอุณหภูมิจนถึงจุดเยือกแข็งของสาร

- การทำให้สารระเหิด โดยทำให้สารที่เยือกแข็งร้อนขึ้นเล็กน้อยภายใต้สุญญากาศ เพื่อให้ของเหลวซึ่งเยือกแข็งนั้นระเหิดออกมาเหลือของแข็งไว้ในลักษณะผงแห้ง

การทำแห้งแบบใช้ความเย็นด้วยวิธีนี้อาจเรียกว่า lyophilization หรือ drying by sublimation การระเหิดจะเกิดขึ้นที่ความดันและอุณหภูมิ ภายใต้ triple point คือที่ 0.0099 องศาเซลเซียส และ 4.579 มิลลิเมตรปรอท อย่างไรก็ตามมักพบว่า น้ำที่อยู่ในผลิตภัณฑ์ที่ต้องการทำให้แห้งอาจมีของแข็งละลายอยู่ ซึ่งมีผลทำให้ความสัมพันธ์ของความดันและอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไป ในกรณีนี้ ณ จุดที่เกิดการระเหิดของของเหลวซึ่งเยือกแข็งจะเรียกว่า “eutectic point”

การทำแห้งแบบใช้ความเย็นจะต้องทำที่ความดันและอุณหภูมิต่ำกว่า eutectic point เพื่อป้องกันไม่ให้น้ำในสภาวะของแข็งหลอมตัวเป็นของเหลว ในทางปฏิบัติการทำเภสัชผลิตภัณฑ์ให้แห้งแบบใช้ความเย็นจะทำที่อุณหภูมิ -10 ถึง -40 องศาเซลเซียส และความดัน 2,000 ถึง 100 ไมครอนปรอท

2.3.4 สารประกอบเคมีในพืชที่มีสมบัติเป็นสารต้านจุลินทรีย์และกลไกการออกฤทธิ์ (Mechanism of Action or mode of Action)

สารประกอบเคมีในพืชที่พบในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์มีหลายชนิด เช่น Tereschuk และคณะ (1997) พบว่า สาร quercetagetin-7-arabinosyl-galactoside ซึ่งเป็นสารประกอบหลักในใบของพืชบางชนิด สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *B. subtilis, E. coli, P. aeruginosa, S. aureus* และ *S. epidermidis* ต่อมา Haraguchi (1998) ได้ศึกษาสารประกอบที่ยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ที่ได้จากพืช พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่จำเพาะได้คล้ายยาปฏิชีวนะ ซึ่งสารประกอบกลุ่ม sesquiterpenoids มีผลทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของรา และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ sulfhydryl หรือสารประกอบกลุ่ม sesquiterpenoids จะทำให้เซลล์แบคทีเรียแตก ส่วนสารประกอบกลุ่ม diterpenes ที่จะขัดขวางการเผาผลาญไขมันของรา และสารประกอบกลุ่ม diterpenes สามารถยับยั้งกระบวนการหายใจของแบคทีเรียได้อีกด้วย ส่วนสาร benzoquinone เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของราตรงบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ สำหรับสารประกอบ flavonoids (เช่น robinetin และ myricetin) จะขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA) และอาร์เอ็นเอ (RNA) ในแบคทีเรีย ส่วน anacardic acids จะมีการทำงานคล้ายกับยาปฏิชีวนะ beta-lactam โดยยับยั้งเอนไซม์ beta-lactamase ในเวลาเดียวกัน Urzua และคณะ (1998) รายงานถึง สารประกอบที่ได้จากการสกัดจากใบและกิ่งของ *Eupatorium salvia* โดยสกัดแยกเรซินด้วย dichloromethane และพบว่า เรซินสามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus, S. aureus, Micrococcus luteus, B. subtilis* และ *Clavibacter michiganensis* ได้

Allyl isothiocyanate (AITC) เป็นสารประกอบธรรมชาติในพืชตระกูล Cruciferae สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์คล้ายกับ polymyxin B โดยมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์และการรั่วของสารเมทาบอไลท์ภายในเซลล์พบว่า *S.* Montevideo และ *E. coli* O157:H7 จะไวต่อ AITC มากกว่า *L. monocytogenes* (Lin และคณะ, 2000) นอกจากนี้ Rabe และ Staden (2000) ยังรายงานถึงสารประกอบ muzigadial จัดอยู่ในกลุ่มของ sesquiterpenoid มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์มีค่าอยู่ระหว่าง 12.5-100 ไมโครกรัม/ลิตร ในขณะเดียวกัน สารประกอบ flavone, quercetin และ naringenin มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งสารสกัดจากพืชที่พบสารประกอบนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis, E. coli, Micrococcus luteus, S. epidermidis* และ *S. aureus* ได้เช่นกัน (Rauha และคณะ, 2000)

Watt และ Pretorius (2001) ได้แยกองค์ประกอบสำคัญของสารสกัดพืชด้วยเมทานอล ซึ่งมีสมบัติเป็นยารักษาอาการท้องเสีย และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ โดยนำส่วนที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียไปวิเคราะห์ พบว่าประกอบด้วยสารประกอบฟลาโวนอยด์ 5 ชนิด ได้แก่ รูทิน (rutin) นิโอเฮสเพอริดีน (neohesperidin) โฮเปอร์โรไซด์ (hyperocide) แคคทิชิน (catechin) และ

กรดเฟอรร์รูริด (ferrulic acid) ต่อมา Yff และคณะ (2002) แยกสารสกัดของพืชในส่วนที่ละลายในเอทิลอะซิเตท ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis, E. coli, S. aureus* และ *Klebsiella pneumoniae* จากนั้นจึงนำสารสกัดไปหาโครงสร้างทางเคมี พบว่าสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียคือ กรดพาลมิติก

กลไกการออกฤทธิ์ของสารที่มีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ (มาลิน, 2542) ที่สำคัญมีดังนี้

2.3.4.1 การยับยั้งการสร้างผนังเซลล์

ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์เป็นโครงสร้างที่แข็งแรงและทำให้เซลล์คงรูปร่างอยู่ได้ นอกจากนี้ ยังช่วยป้องกันอันตรายอันเนื่องมาจากการแตกของเซลล์ จากแรงดันออสโมซิสสูงๆ ได้ สารต้านจุลินทรีย์จำพวกนี้ จะออกฤทธิ์โดยการขัดขวางการสังเคราะห์องค์ประกอบของผนังเซลล์ที่สำคัญ คือ N-acetyl muranmic acid ด้วยการรวมตัวกับ N- acetyl glucosamine ขึ้นเป็นโครงสร้างของผนังเซลล์ ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถแบ่งเซลล์ได้ เกิดการบวมเต่งและแตกออกในที่สุด เนื่องจากแรงดันออสโมติกสูง ซึ่งผลการออกฤทธิ์ในลักษณะนี้เป็นแบบฆ่าทำลาย (bactericidal)

2.3.4.2 การรบกวนหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์

เยื่อหุ้มเซลล์มีสมบัติเป็น semipermeable membrane โดยสารที่จะผ่านเข้ามานั้นส่วนมากเกิดแบบ active transport ที่ต้องใช้พลังงานเข้าช่วยและพบการขับสารบางอย่างออกมานอกเยื่อหุ้มเซลล์ เช่น เอนไซม์สำหรับการสร้างผนังเซลล์ สารต้านจุลินทรีย์จะมีผลไปขัดขวางหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ เป็นผลให้การนำสารเข้าสู่เซลล์และการขับเอนไซม์ออกมาภายนอกเซลล์ผิดปกติ ส่งผลให้เซลล์ตายในที่สุด ซึ่งการออกฤทธิ์ในลักษณะนี้เป็นแบบฆ่าทำลาย (bactericidal)

2.3.4.3 การยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก

กรดนิวคลีอิกเป็นสารที่สำคัญของแบคทีเรีย เนื่องจากมีความสำคัญในการควบคุมเมตาบอลิซึมต่างๆ ทั้งทางตรงและทางอ้อม ดังนั้นการยับยั้งหน้าที่ของกรดนิวคลีอิกจะทำให้เมตาบอลิซึมของเซลล์ผิดปกติไปด้วย

2.3.4.4 การยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน

การสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรียเป็นกระบวนการที่สำคัญสำหรับการซ่อมแซมและสร้างเสริมเพื่อให้เซลล์เจริญได้เป็นอย่างดี หากกระบวนการนี้ถูกขัดขวางจะทำให้เซลล์ตายได้

2.3.4.5 การรบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึม

กระบวนการเมตาบอลิซึมทำให้เกิดพลังงานซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับสิ่งมีชีวิต ที่ต้องใช้ในกิจกรรมต่างๆ ของเซลล์ เช่น การสังเคราะห์โปรตีน ฯลฯ ถ้าหากการสร้างพลังงานถูกขัดขวางทำให้กิจกรรมของเซลล์ต่ำลงและทำให้เซลล์ตายในที่สุด

2.4 สารสกัดจากพืชบางชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

อัญชัญ และอดิศักดิ์ (2545) ได้ศึกษาวิธีการสกัดของเหลวจากใบสะระแหน่ที่เหมาะสม 2 วิธี ได้แก่ การสกัดแบบธรรมดา และการสกัดโดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ และประเมินผลการยับยั้งแบคทีเรีย 5 ชนิด คือ *Bacillus subtilis, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella* Typhimurium และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี disk diffusion assay พบว่าสารสกัดจากใบสะระแหน่ผึ่งลม ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่าของเหลวที่สกัดด้วยวิธีการสกัดแบบธรรมดา โดยพบว่าแบคทีเรียที่ไวต่อการยับยั้งด้วยของเหลวสกัดจากใบสะระแหน่ ได้แก่ *E. coli* และ *S. aureus* เมื่อทดลองนำมาประยุกต์ใช้ในกุ้งแช่เย็นและกุ้งแช่แข็ง พบว่าสารสกัดจากใบสะระแหน่จะช่วยยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์

Krasaekoopt และ Kongkarnchanatip (2005) ได้ทดลองนำสารสกัดจากส่วนดอกของผักพื้นบ้านของไทย 3 ชนิด ได้แก่ แค ขี้เหล็ก และขจร เพื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้ง จุลินทรีย์ ได้แก่ *B. cereus, E. coli* และ *S. aureus* ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าสารสกัดทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมดโดยเฉพาะ *S. aureus* นอกจากนั้นยังพบว่าสารสกัดจากดอกขี้เหล็กและดอกแค มีฤทธิ์ในการยับยั้งสูงกว่าดอกขจร และเมื่อทำการวิเคราะห์โดย column chromatography พบว่ามีองค์ประกอบของ ฟลาโวนอยส์ในสารสกัดจากดอกแค ดอกขี้เหล็กและดอกขจร เท่ากับ 8.4, 8.6 และ 3.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสรุปว่าปริมาณฟลาโวนอยส์ มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดอีกด้วย ในปีเดียวกัน Kongcharoensuntorn และคณะ (2005) ได้รายงานผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และสารต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพรไทยจำนวน 14 ชนิด ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าสารสกัดจากพืชทุกชนิดสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ โดยเฉพาะสารสกัดจากฝางมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25913, *S. aureus* และ *B. subtilis* ดีที่สุด โดยมีขนาดโซนใสเท่ากับ 2.10, 2.23 และ 1.30 ซม. ตามลำดับ และอีกทั้งยังยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *Serratia marcescens* ได้อีกด้วย โดยมีขนาดโซนใสเท่ากับ 2.0 และ 2.0 ซม. ตามลำดับ นอกจากนั้นยังพบสารต้านอนุมูลอิสระในพืชทั้ง 14 ชนิด ในปริมาณระหว่าง 1.76-3.29 มิลลิโมลสมมูล trolox/ลิตร

นอกจากพืชพื้นบ้านและพืชทั่วไปแล้ว ยังพบรายงานการสกัดสารจากพืชที่ใช้เป็นเครื่องเทศหลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น Nanasombat และ Lohasupthawee (2005) ได้ศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Salmonella* 20 สายพันธุ์ และ enterobacteria 5 สายพันธุ์ของสารสกัดหยาบด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และน้ำมันหอมระเหยของเครื่องเทศ 14 ชนิด ได้แก่ กระวาน อบเชย กานพลู ผักชียี่หร่า กระเทียม ขิง กระเพรา ใบและผิวมะกรูด ตะไคร้ ดอกจันทน์เทศ ลูกจันทน์ พริกไทยขาว พริกไทยดำ และขมิ้น โดยใช้วิธี disk diffusion พบว่าสารสกัด 9 ชนิดและน้ำมันหอมระเหย 11 ชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้ง โดยสารสกัดเอทานอลจากกานพลูให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ดี

ที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากกานพลูและผิวมะกรูดให้ผลในการยับยั้งเชื้อดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศชนิดอื่นๆ ต่อมา Pattaratanawadee และคณะ (2006) ทำการสกัดสารจากขิง ข่า ขมิ้นและกระชาย เพื่อศึกษาการต้านเชื้อจุลินทรีย์ชนิดก่อโรคและชนิดที่ทำให้อาหารเน่าเสีย รวมทั้งเชื้อราด้วยวิธี agar dilution พบว่าสารสกัดทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella enterica* serotype Typhimurium และ *E. coli* O157:H7 โดยสารสกัดจากกระชายให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes*, *B. cereus* และ *S. aureus* ได้ดีกว่าสารสกัดชนิดอื่นๆ ส่วนสารสกัดจากข่ามีฤทธิ์ที่รุนแรงที่สุดในเชื้อ *Lactobacillus plantarum* และ *Lb. cellobiosus* โดยมีค่า MIC อยู่ที่ 4 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) นอกจากนั้นสารสกัดจากกระชายและขิงมีผลในการต้านการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. parasiticus* และ *Fusarium oxysporum* อีกด้วย ในปีต่อมา Vuddhakula และคณะ (2007) รายงานการศึกษาฤทธิ์ของเครื่องปรุงที่ใช้ในอาหารไทย 13 ชนิดต่อการยับยั้งการเจริญเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ด้วยวิธี disk diffusion โดยใช้ความเข้มข้นเท่ากับ 10 มล./ดิสก์ ผลปรากฏว่า ข่า กระเทียม มะนาว สามารถยับยั้งเชื้อได้โดยมีขนาดโซนใสเท่ากับ 13.6, 11.6 และ 8.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ

หลายประเทศมีรายงานวิจัยเกี่ยวกับพืชสมุนไพรรักษาโรค เช่น Duffy และ Power (2001) ได้ศึกษาสมบัติของสารสกัดจากพืชในประเทศจีน ด้วยสารละลายผสมระหว่างเอทิลแอลกอฮอล์และน้ำ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่างๆ พบว่าสารสกัดของ licorice (*Glyerrhzae uralensis*) มีความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* เท่ากับ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดจาก goldthread rhizome และ skullcap root มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* ที่ 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สำหรับ *E. coli* จะถูกยับยั้งด้วย goldthread rhizome และ skullcap ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทางด้าน Mau และคณะ (2001) พบว่าสารสกัดจาก Chinese chive, cinnamon และ corni fructus สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่มักพบปนเปื้อนในอาหาร เช่น *B. subtilis*, *E. coli* และ *L. monocytogenes* เป็นต้น เมื่อนำเอาสารสกัดทั้ง 3 ชนิดมารวมกัน จะทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ดีกว่าการใช้ potassium sorbate 2–5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และยังมีความคงตัวต่อความร้อน พีเอช และการเก็บรักษาด้วย

Camporese และคณะ (2003) ทำการศึกษาสารสกัดทั้งหมด 21 ชนิดจากแต่ละส่วนของ พืชสมุนไพรซึ่งใช้เป็นยาพื้นบ้านในแถบอเมริกากลาง โดยทำการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ในเชื้อ *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923 และ *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 พบว่าสารสกัดทุกชนิดมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์อย่างน้อย 1 ชนิดคือ *E. faecalis* หรือมากกว่านั้น นอกจากนี้สารสกัดเฮกเซนจากใบและเปลือกของ *Aristolochia trilobata* ให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ดีที่สุด (MIC = 0.31 และ 0.625 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ) ในปีเดียวกัน Sagdic และ Ozcan (2003) ได้ศึกษาความสามารถของสารสกัดจากเครื่องเทศที่ได้จากการกลั่น ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย 15 สายพันธุ์ พบว่าออริกาโนและซัมเมอร์ซาวอรี (summer savory) สามารถ

ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ดังนี้ *B. amyloliquefaciens* ATCC 23842, *B. brevis* FMC 3, *B. cereus* FMC 19, *B. subtilis* var. *niger* ATCC 10, *Enterobacter aerogenes* CCM 2531, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* O157: H7 ATCC 33150, *Klebsiella pneumoniae* FMC 5, *Proteus vulgaris* FMC 1, *Sa.* Enteritidis, *Sa.* Gallinarum, *Sa.* Typhimurium, *S. aureus* ATCC 2392, *S. aureus* ATTC 28213, *Y. enterocolitica* ATCC 1501

Alzoreky และ Nakahara (2003) ศึกษาความสามารถของสารสกัดจากพืชที่กินได้จากจีน ญี่ปุ่น ไทย และเยเมน ในการยับยั้งการเจริญของ *B. cereus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* และ *Sa.* Infantis ซึ่งค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชที่มีต่อแบคทีเรียเหล่านี้ มีค่าอยู่ระหว่าง 165 - 2,640 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยสารสกัดจาก *Azadirachta indica, Cinnamomum cassia, Rumex nervosus, Ruta graveolens, Thymus serpyllum* และ *Zingiber officinale* จะยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 165–660 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่ *E. coli* และ *Sa.* Infantis จะถูกยับยั้งได้ด้วย *Cinnamomum cassia* เพียงชนิดเดียวที่ความเข้มข้น 2,640 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนในประเทศเกาหลีพบรายงานของ Lee และคณะ (2006) ซึ่งได้ศึกษาประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค salmonellosis โดยใช้สารสกัด 2 ชนิดคือ น้ำและเมทานอล ผลการทดลองพบว่ามีสารสกัด 16 ชนิดที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* ทั้งหมด 6 สายพันธุ์ โดยสารที่สกัดด้วยเมทานอลให้ผลในการยับยั้งสูงกว่าสารที่สกัดด้วยน้ำ ค่า MIC ของสารสกัดที่ยับยั้งเชื้ออยู่ในช่วงตั้งแต่ 15.6 - 125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนั้นยังมีศึกษาผลของสารสกัดจากพืช 26 ชนิดในประเทศบราซิล ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aeromonas hydrophila, B. subtilis, Ps. aeruginosa* และ *S. aureus* โดยใช้วิธี agar diffusion และ broth microdilution พบว่ามีพืช 13 ชนิดที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยสารสกัดจาก *Lantana lilacina* และ *Phyllanthus tenellus* ให้ผลดีที่สุด (Oliveira และคณะ, 2007)

2.5 มาตรฐานในการตรวจสอบความไวของเชื้อต่อสารปฏิชีวนะ (Standardized antimicrobial susceptibility procedure)

ในช่วงปี 1950 เป็นต้นมา วิธีการตรวจสอบความไวของเชื้อต่อสารปฏิชีวนะ ยังไม่มีวิธีการมาตรฐาน ดังนั้นผลการทดลองจะมีความแปรปรวนที่แตกต่างกันขึ้นกับแต่ละห้องปฏิบัติการ เช่น การทดสอบปริมาณสารปฏิชีวนะบนแผ่นดิสก์ (disc) ที่มีความหนาและเส้นผ่าศูนย์กลางที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ การใช้อาหารเลี้ยงเชื้อวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น ระยะเวลารวมทั้งอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ทำให้การอ่านและแปลผลการทดลองมีความแตกต่างกันขึ้นกับแต่ละห้องปฏิบัติการ ดังนั้นองค์การอนามัยโลก (WHO) จึงได้แต่งตั้งคณะกรรมการทำงานเพื่อพัฒนาวิธีการมาตรฐานในการตรวจสอบความไวของเชื้อต่อสารปฏิชีวนะ โดยวิธีแรกได้แก่ วิธีของแอนเดอร์สัน (Anderson method)

ซึ่งต่อมาในปี 1960 ได้ถูกพัฒนาปรับปรุงโดย Bauer และ Kirby ในการตรวจสอบความไวของเชื้อต่อสารปฏิชีวนะ โดยใช้หลักการแพร่กระจายของสารปฏิชีวนะจากแผ่นกระดาษกรองหรือแผ่นดิสก์รอบ ๆ อาหารเลี้ยงเชื้อ เรียกชื่อวิธีนี้ว่า เอการ์ดิฟฟิวชั่น (agar diffusion) ในปัจจุบันวิธีทดสอบความไวหรือการดื้อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียนี้กำหนดเป็นมาตรฐานไว้ โดย National Committee for Laboratory Standards (NCCLS), Subcommittee on antimicrobial susceptibility testing และสิ่งที่กำหนดเป็นมาตรฐานคือ ปริมาณของแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ (inoculum's size) อาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิและระยะเวลาของการบ่ม ขนาดความเข้มข้นของยาที่ทดสอบ และความเข้มข้นของยาที่ทดสอบรวมทั้งสายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบเพื่อควบคุมคุณภาพของการทดสอบ และสามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้ (กนกรัตน์, 2548)

วิธีทดสอบความไวของแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพทำได้หลายวิธีด้วยกัน เช่น agar diffusion methods, tube-dilution methods, E-test เป็นต้น

2.5.1 วิธี agar diffusion methods (มาลิน, 2542)

หลักการคือ นำยาต้านจุลชีพใส่ในสิ่งรองรับซึ่งอยู่บนหรือในอาหารวุ้นที่ได้เพาะเชื้อไว้แล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม ตรวจสอบผลโดยสังเกตบริเวณใสรอบๆ disc (inhibition zone) ซึ่งเป็นบริเวณยาต้านจุลชีพแพร่กระจายจากดิสก์ออกมาโดยรอบ และออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ส่งผลให้บริเวณดังกล่าวไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ บริเวณดังกล่าวนี้จะกว้างหรือแคบนั้นขึ้นอยู่กับองค์ประกอบหลายอย่าง เช่น อัตราการแพร่กระจายของยาผ่านวุ้น ปริมาณของเชื้อ ขนาดความเข้มข้นของยาที่ใช้ ความไวของเชื้อต่อยา เป็นต้น วิธีนี้สามารถทำได้หลายรูปแบบขึ้นกับสิ่งรองรับตัวยา เช่น สิ่งรองรับเป็นหลุมที่เจาะลงในอาหารวุ้น (agar-well diffusion method) สิ่งรองรับเป็นถ้วยโลหะทรงกระบอก (cup diffusion method) หรือกระดาษซับกลมซึมซ่านในอาหารวุ้น (agar–disc diffusion method) ทั้งนี้ปัจจุบันการใช้กระดาษซับกลมเป็นที่นิยม เนื่องจากสะดวกต่อการใช้งาน แต่การทดสอบแบบใช้สิ่งรองรับเป็นหลุมและถ้วยนั้นสามารถเห็นผลการทดสอบได้ชัดเจนกว่า จึงเหมาะกับยาที่ซึมซ่านได้ยาก

ปัจจัยที่มีผลต่อวิธีการทดสอบ (www.ilti.kku.ac.th , 2007)

- อาหารเลี้ยงเชื้อ (medium)

องค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิดอาจส่งผลกระทบต่อผลการทดสอบได้ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ดีควรส่งเสริมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิด ไม่มีสารรบกวนการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ โดยทั่วไปนิยมใช้มูลเลอร์ ฮินตันหรือเอ็มเอช มีเดียม (Mueller-Hinton, MH medium) ความหนาของอาหารเลี้ยงเชื้อ ควรหนาประมาณ 4 มิลลิเมตร เนื่องจากหากหนาหรือบางเกินไป จะส่งผลต่อการกระจายของสารปฏิชีวนะ ทำให้ค่า inhibition zone ที่ได้กว้างหรือแคบกว่าความเป็นจริง

- เชื้อเริ่มแรกหรือกล้าเชื้อ (inoculum)

หากจำนวนเชื้อเริ่มแรกมีปริมาณน้อยเกินไป จะทำให้จุลินทรีย์ใช้เวลานานในการเพิ่มจำนวนเซลล์ให้มีจำนวนมากพอที่จะสามารถต้านการทำลายของสารปฏิชีวนะ ขณะเดียวกันสารปฏิชีวนะสามารถแพร่กระจายในอาหารวุ้นไปได้กว้าง จึงทำให้ inhibition zone กว้างกว่าความเป็นจริง ในทางตรงกันข้าม หากจำนวนเชื้อเริ่มแรกมีมากเกินไป จะทำให้ inhibition zone แคบกว่าความเป็นจริง

- แผ่นดิสก์ชุบสารปฏิชีวนะ (antibiotic disc)

การวางแผ่นดิสก์บนผิวหน้าอาหารแต่ละแผ่นควรมีระยะห่าง 20 มิลลิเมตร เพื่อป้องกันการซ้อนกันของ inhibition zone และต้องวางให้ห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 15 มิลลิเมตร ส่วนการกำหนดปริมาณสารปฏิชีวนะบนแผ่นดิสก์ สามารถทำได้โดยใช้ไมโครปิเปตหยดสารปฏิชีวนะปลอดเชื้อที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนลงบนแผ่นดิสก์ปลอดเชื้อ

- ระยะเวลาในการบ่ม (incubation)

ระยะเวลาในการบ่มอาจมีผลกระทบต่อการเจริญและการแพร่ซึมของสารปฏิชีวนะในอาหารได้ ดังนั้นเมื่อวางแผ่นดิสก์แล้วควรนำเข้าตู้บ่มทันที โดยกำหนดอุณหภูมิและเวลาให้เหมาะสมกับเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด หากใช้เวลาบ่มนานเกินไปจะทำให้ความกว้างของ inhibition zone คลาดเคลื่อนเนื่องจากอาหารวุ้นแห้งหรือการเสื่อมของสารปฏิชีวนะ และพบการเจริญของจุลินทรีย์มากเกินไป (overgrowth)

- การวัดความกว้างของ inhibition zone (Measurement of zone diameters)

สามารถวัดโดยใช้ไม้บรรทัดหรือใช้คาลิปเปอร์ (caliper) หรือใช้เครื่องวัด inhibition zone วัดเส้นผ่านศูนย์การทั้งแนวนอน จากนั้นจึงหาค่าเฉลี่ย การวัด inhibition zone ให้วัดเฉพาะบริเวณที่เห็นได้อย่างชัดเจน

2.5.2 วิธี tube-dilution methods หรือ broth dilution methods (กนกรัตน์, 2548)

เป็นวิธีทดสอบในอาหารเหลว โดยใช้หลอดทดลองปราศจากเชื้อใส่สารละลายของยาต้านจุลชีพที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน โดยทำการเจือจาง แล้วเติมเชื้อที่แยกได้ลงในแต่ละหลอดในปริมาณที่เท่าๆ กัน นำไปบ่มในตู้อบ จากนั้นดูผลของยาต้านจุลชีพที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อในหลอดทดลอง อาจตรวจผลโดยการวัดความขุ่นด้วยสายตาซึ่งผลที่ได้อาจไม่แม่นยำ วิธีที่ดีกว่าคือการวัดค่าการดูดกลืนแสงหรือเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งเพื่อนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์

2.5.3 Minimal inhibitory concentration (MIC)

Minimal inhibitory concentration (MIC) หมายถึงความเข้มข้นต่ำสุดของยาหรือสารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ หน่วยที่ใช้โดยทั่วไปคือ ไมโครกรัม(µg, mcg, microgram) มิลลิลิตร (ml, milliliter) หรือหน่วยสากล (IU, international unit) ต่อ 1 มิลลิเมตร ค่า MIC นี้สามารถนำมาใช้เป็นค่าเปรียบเทียบเพื่อตรวจสอบความไวของเชื้อต่อระดับความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ โดยในการ

ทดสอบเพื่อหาค่า MIC ควรทำการเจือจางสารให้มีความเข้มข้นลดลง หรือทำการเจือจางแบบ (2-fold serial dilution) ถ้าระดับ MIC มีค่าน้อยลงมากเท่าใด แสดงว่าสารนั้นมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญได้มากที่สุด (มาลิน, 2540)

2.5.4 Minimal bactericidal concentration (MBC)

Minimal bactericidal concentration (MBC) หมายถึง ความเข้มข้นต่ำสุดของยาหรือสารที่ฆ่าทำลายเชื้อแบคทีเรีย (หรือมีเชื้อเจริญไม่เกินกำหนด) โดยนำเชื้อในหลอดทดลองที่มีความเข้มข้นของสารทดสอบเป็นค่า MIC ไปตรวจจำนวนเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้ออีกครั้ง คำจำกัดความของคำศัพท์ที่ใช้ในการตรวจสอบความไวของแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ แสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 คำจำกัดความในการทดสอบความไวของแบคทีเรียต่อยาต้านจุลินทรีย์

คำศัพท์	คำจำกัดความ
Minimum inhibitory concentration (MIC)	- ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถลดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ - ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้อย่างสมบูรณ์ ภายใต้การบ่มในเวลา 48 ชั่วโมง - ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งแสดงผลโดยสามารถตรวจสอบได้ด้วยสายตา
Minimum bactericidal concentration (MBC)	- ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียลงได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญ - ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าทำลายเชื้อแบคทีเรียตั้งต้นได้ 99 เปอร์เซ็นต์ หรือมากกว่า - ความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว
Bacteriostatic concentration	- ความเข้มข้นต่ำสุดที่แบคทีเรียไม่สามารถเจริญได้ในอาหารเหลว แต่เมื่อนำอาหารเหลวนั้นไปทดสอบเพื่อหาปริมาณเชื้อในอาหารแข็งที่ไม่มีสารยับยั้ง อาจสามารถพบการเจริญของเชื้อได้
Bactericidal concentration	- ความเข้มข้นต่ำสุดที่แบคทีเรียไม่สามารถเจริญได้ในอาหารเหลวและเมื่อนำอาหารเหลวนั้นไปทดสอบเพื่อหาปริมาณเชื้อในอาหารแข็งที่ไม่มีสารยับยั้งก็ไม่พบการเจริญเช่นกัน

ที่มา: Burt (2004)

ในปัจจุบันมาตรฐานของค่า MBC กำหนดไว้โดย National Committee for Laboratory Standards (NCCLS), Subcommittee on antimicrobial susceptibility testing ซึ่งได้จำกัดความว่า ค่า

MBC คือ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าทำลายเชื้อแบคทีเรียตั้งต้นได้มากกว่าหรือเท่ากับ 99.9 เปอร์เซ็นต์ สารต้านแบคทีเรียที่มีวิถีการออกฤทธิ์เป็นแบบฆ่าทำลาย (bactericidal) จะมีค่า MIC และ MBC เหมือนหรือใกล้เคียงกัน ส่วนสารที่มีวิถีการออกฤทธิ์เป็นแบบยับยั้ง (bacteriostatic) จะพบค่า MBC สูงกว่าค่า MIC ในหลายๆ ความเข้มข้น และอัตราส่วนของ MIC และ MBC มักแปรผันตามชนิดของสารและเชื้อที่ใช้ทดสอบ (มาลิน, 2540)

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 พืชป่า

ตัวอย่างพืชป่าทั้งหมด 45 ชนิดที่ใช้ในการทดลอง ได้รับมาจากมูลนิธิโครงการหลวงดอยอ่างขาง อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ มีรายชื่อดังนี้

ตารางที่ 3.1 ตัวอย่างพืชป่า

ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้ทดลอง
1. กอมขม	*Picrasma javanica* Blume	ใบ
2. ก้างปลาแดง	*Breynia retusa* (Dennst.) Alston	ใบ
3. เกล็ดปลาช่อนแดง	*Phyllodium pulchellum*(L.) Desv.	ใบ
4. ขี้กาแดง	*Gymnopetalum integrifolium*(Roxb.)Kurz	ใบ
5. ไข่ปูใหญ่	*Rubus alceifolius* Poir.	ใบ
6. เครือข้าวตอก	*Aerva sanguinolenta* Blume	ใบ
7. จะค่านหัววอก	*Piper sp.*	ใบ
8. จิตรละดา	*Rubia cordifolia* L.	ใบ
9. ชาป่า	*Acalypha siamensis* Oliv. Ex Gage	ใบ
10. ซ้อ	*Gmelina arborea* Roxb.	ใบ
11. โทงเทง	*Physalis angulata* L.	ใบ
12. ปลวกน้ำ	*Isodon coetsa* (Buch.-Ham. ex D.Don) Kudo	ใบ
13. ปิ้งขาว	*Clerodendrum colebrookianum* Walp.	ใบ
14. ปิ้งหอม	*Clerodendrum chinense*(Osbeck)Mabb.	ใบ
15. ผักขมหัด	*Amaranthus viridis* L.	ก้านและใบ
16. ผักขมหนาม	Amaranthus spinosus L.	ก้านและใบ
17. ผักเครือไข่	*Momordica subangulata Blume*	ใบ
18. ผักเผ็ด	*Spilanthes paniculata* Wall. ex DC.	ใบ
19. ผักหนอกช้าง	*Hydrocotyl javanica* Ponten ex Thunb.	ส่วนต้นเหนือดิน

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้ทดลอง
20. ผักเฮือด	*Ficus infecoiria* Roxb.	ใบ
21. ฝอยทอง	*Cuscuta chinensis* Lam.	ส่วนต้นเหนือดิน
22. มันปลา	*Glochidion sphaerogynum* Kurz.	ใบ
23. มะขามป้อม	*Phyllanthus emblica* L.	ใบ
24. มะเดื่อกวาง	*Ficus callosa* Willd.	ใบ
25. มะเดื่อปล้อง	*Ficus hispida* L.f.	ใบ
26. ไม้ก้าว	*Tristaniopsis burmanica* (Griff.) Peter G. Wilson & J.T. Waterh.	ใบ
27. ไม้อั้น	*Glochidion velutinum* Wight.	ใบ
28. ลำโพง	*Datura metel* L. var. *metel*	ใบ
29. ส้มกำปึง	*Antidesma sootepensa* Craib	ใบ
30. ส้มสังกา	*Oxalis corniculata* L.	ใบ
31. ส้มโอมะละกอ	*Citrus medica* L. var. *medica*	ใบ
32. สะบ้า	*Entada rheedii* Spreng.	ใบ
33. สะเรียมดง	*Turpinia Montana* (Blume) Kurz.	ใบและผล
34. สาบแร้งสาบกา	*Agratum conyzoides* L.	ใบ
35. สาบเสือ	*Chromolaena odoratum* R.M.King&H.Rob.	ใบ
36. สาบหมาสาบแมว	*Eupatorium adenophorum* Sprengel	ใบ
37. ห้าส้วย	*Clerodendrum sarratum* (L.) Moon ver. *Wallidhii* C.B Clarke	ใบ
38. หางกระรอกแดง	*Acalypha hispida* Burm.f.	ใบ
39. หางปลาช่อน	*Emilia sonchifolia* (L.) DC. Ex Wight	ใบ
40. หญ้าแหลมนกไส้	*Bidens bipinnata* , L.	ก้านและใบ
41. หญ้าเอ็นยืด	*Plantago major* Linn.	ส่วนต้นเหนือดิน
42. หนาด	*Inula cappa* (Ham.) DC	ใบ
43. หมากม่วงเครือ	*Dracontomelon* sp	ใบและผล
44. หมากฮอด	*Rhus chinensis* (Mill.)	ดอก
45. อั้นอ้อ	*Foeniculum vulgare* Miller	ใบ

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ แบ่งเป็น

เชื้อแบคทีเรีย 9 สายพันธุ์

- *Escherichia coli* TISTR 1034
- *Salmonella* Anatum (WHO Salmonella-Shigilla Center) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
- *Staphylococcus aureus* ATCC12600
- *Listeria innocua* ATCC33090
- *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781
- *Bacillus subtilis* TISTR 008
- *Proteus mirabilis* TISTR 100
- *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034
- *Lactococcus lactis* JCM 7638

เชื้อยีสต์ 2 สายพันธุ์

- *Pichia anomala* TISTR 5285
- *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5051

เชื้อรา 2 สายพันธุ์

- *Aspergillus niger* TISTR 3245
- *Penicillium pinophilum* TISTR 3386

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

- Trypticase Soy Broth (TSB) (Merck, Germany)
- Trypticase Soy Agar (TSA) (Merck, Germany)
- Mueller-Hinton Broth (MHB) (Merck, Germany)
- Yeast Extracts (Scharlau, Germany)
- Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (Scharlau, Germany)
- Sabouraud Dextrose Broth (SDB) (Scharlau, Germany)
- de Man-Rogosa-Sharpe (MRS)Broth (Scharlau, Germany)
- Agar (Merck, Germany)

3.1.4 สารเคมี

- เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์
- Chloramphenicol (Oxoid, England)
- Nystatin (Sigma Chemical Co., USA)

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotavapor BUCHI R-114, Switzerland)
- เครื่องชั่งชนิดละเอียด (Mettler PE 3000, Switzerland)
- ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ (Memmert, Germany)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath , Memmert, Germany)
- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave, Tomy SS-245, Japan)
- เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer, Labomed, inc., USA)
- Freeze Dryer (FreeZone, Labconco, USA)
- Microtiter Plate Reader (Multimode Detector DTX 880, Beckman coulter, USA)
- ตู้บ่มเชื้อ (Memmert, Germany)
- เครื่องบด (Blender)
- ตู้เขี่ยเชื้อแบบ Larminar flow
- Autopipette
- Haemacytometer
- 96 well microtiter plates
- กระดาษซับกลม (Paper disc) ขนาด 6 มิลลิเมตร

3.3 สถานที่ดำเนินงาน

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชป่าบางชนิดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ยีสต์ และราบางชนิดที่ปนเปื้อนในอาหาร

3.4.1.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

นำตัวอย่างพืชสด ล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งจนแห้ง หั่นเป็นชิ้นขนาดเล็ก และนำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน ควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บดพืชด้วยเครื่องบดแห้งให้เป็นผงเพื่อใช้สกัดต่อไป

3.4.1.2 การสกัดสารจากตัวอย่างพืช

การสกัดสารจากพืช ดัดแปลงจากวิธีของ Dupont และคณะ (2005) โดยชั่งตัวอย่างพืชบดละเอียดที่ผ่านการกรองด้วยตะแกรงขนาด 60 mesh ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วนพืชต่อเอทานอลเท่ากับ 1 : 4 แล้วผสมให้เข้ากัน ปิดฟอยล์ให้รอบขวด จากนั้นนำเข้าเครื่องเขย่าเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ณ อุณหภูมิห้อง

นำสารสกัดที่ได้กรองผ่านกรวยกรองบุชเนอร์ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No.1) แบ่งสารสกัดออกเป็นสองส่วน โดยส่วนแรกนำไปหาความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้ด้วยการหาน้ำหนักแห้งโดยนำสารสกัดไปชั่งน้ำหนักแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง จากนั้นรอให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วนำมาชั่งอีกครั้ง แล้วนำค่าทั้งก่อนและหลังอบคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารสกัด ส่วนที่สองทำให้ปลอดเชื้อโดยกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมครอน เก็บตัวอย่างสารที่สกัดได้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.4.1.3 การเตรียมกราฟมาตรฐานของเชื้อจุลินทรีย์

- **เชื้อแบคทีเรีย** ถ่ายเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์จากหลอดเก็บเชื้อ (stock culture) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยห่วงเขี่ยเชื้อ (loop) จำนวน 1 ลูป ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB+YE (trypticase soy broth + 0.6% yeast extracts) 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18 - 24 ชั่วโมง ได้สารแขวนลอยของเซลล์ (cell suspension) แบ่งสารละลายแขวนลอยของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ไปเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยอาหารเหลว TSB+YE และนำสารละลายแขวนลอยของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ไปวัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) และแบ่งตรวจสอบจำนวนเชื้อโดยวิธีเกลี่ยบนผิวหน้าอาหารแข็ง (spread plate) ที่ระดับความเจือจางต่างๆ ของสารละลายแขวนลอยของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ นำผลที่ได้เขียนกราฟมาตรฐาน (standard curve)

ระหว่างค่าความขุ่น (OD) กับจำนวนของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ (log CFU/ml) ที่ทดสอบ เพื่อใช้ในการคำนวณความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์แต่ละชนิดให้มีค่าประมาณ 10^8 เซลล์/มิลลิลิตร (ภาคผนวก ก)

ส่วนเชื้อแบคทีเรียแลคติก ใช้วิธีการเช่นเดียวกัน แต่ใช้อาหาร de Man-Rogosa-Sharpe (MRS) และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

- **เชื้อยีสต์** ถ่ายเชื้อยีสต์บริสุทธิ์จากหลอดเก็บเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จำนวน 1 ลูป ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ sabouraud dextrose broth (SDB) 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง ทำการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อใช้คำนวณความเข้มข้นของเซลล์ให้มีค่าประมาณ 10^8 เซลล์/มิลลิลิตรเช่นเดียวกับแบคทีเรีย (ภาคผนวก ก)

3.4.1.4 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

- **การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย** ถ่ายเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ทั้ง 9 สายพันธุ์ จากหลอดเก็บเชื้อ (stock culture) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยห่วงเขี่ยเชื้อ (loop) จำนวน 1 ลูป ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB+YE (trypticase soy broth + 0.6% yeast extracts) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรียแลคติก ใช้ MRS broth บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง นำไปเจือจางจนได้ความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 10^8 เซลล์/มิลลิลิตร โดยการคำนวณจากสมการกราฟมาตรฐานของเชื้อแต่ละชนิด ในข้อ 3.4.1.3

- **การเตรียมเชื้อยีสต์** ถ่ายเชื้อยีสต์บริสุทธิ์ทั้ง 2 สายพันธุ์ จากหลอดเก็บเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จำนวน 1 ลูป ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SDB บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง นำไปเจือจางจนได้ความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 10^8 เซลล์/มิลลิลิตร โดยการคำนวณจากสมการกราฟมาตรฐานของเชื้อแต่ละชนิด ในข้อ 3.4.1.3

- **การเตรียมเชื้อรา** ถ่ายเชื้อราบริสุทธิ์จากหลอดเก็บเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อ (needle) เขี่ยสปอร์ของเชื้อราแล้วนำมาเจาะลงกลาง slant บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 4-7 วัน จนเกิดสปอร์เจริญเต็มผิวหน้าอาหาร จากนั้นเตรียมสปอร์แขวนลอย (spore suspension) โดยเติมน้ำเกลือปลอดเชื้อ (0.85% น้ำเกลือ + 0.05% Tween 80) เท่ากับ 5 มิลลิลิตร ลงใน slant แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อขูดสปอร์ออกจากผิวหน้าอาหารให้แขวนลอยในน้ำเกลือ และกรองเส้นใยของเชื้อราที่ปนเปื้อนออกจากสปอร์แขวนลอยด้วยใยแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นตรวจนับจำนวนสปอร์ด้วย Haemacytometer แล้วทำการเจือจาง (dilute) สปอร์แขวนลอยให้มีความเข้มข้นของสปอร์ประมาณ 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร

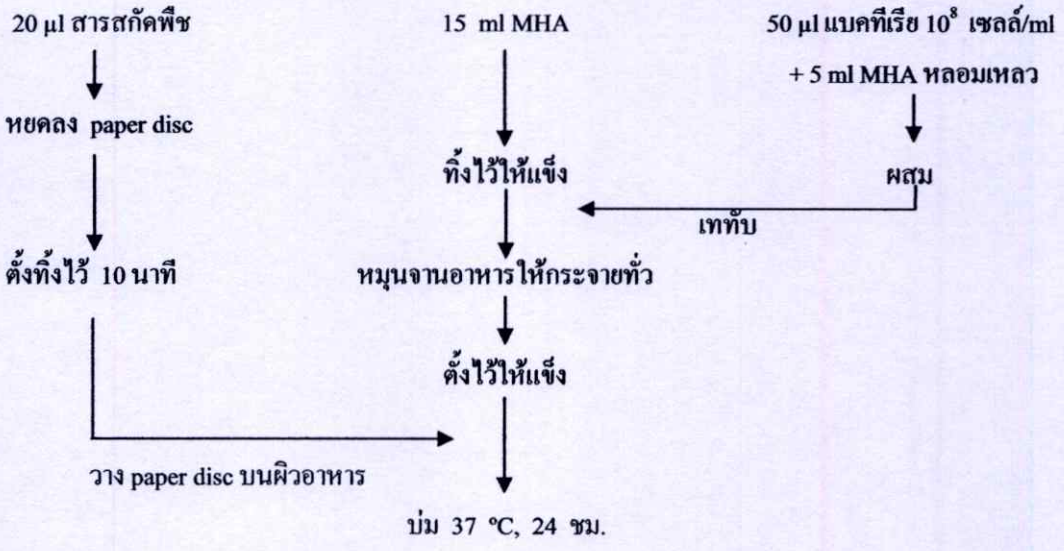
3.4.1.5 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ โดยนำสารสกัดจากพืชที่สกัดด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ไปทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และรา ด้วยวิธี agar disc diffusion (ดัดแปลงจากวิธีของ แสงระวี, 2543)

- **แบคทีเรีย** เพาะเลี้ยงเชื้อลงในอาหารแข็งด้วยวิธี double layer ดังภาพที่ 3.1 (ดัดแปลงจากวิธีของ Oonmetta-aree และคณะ, 2006) โดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton Agar (MHA) เตรียมไว้ 15 มิลลิลิตรต่อจานเพาะเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ให้แข็ง จากนั้น ผสมสารแขวนลอยของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ 10^8 เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาณ 50 ไมโครลิตร กับอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ที่หลอมเหลวอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ให้ได้ปริมาณเชื้อทดสอบเริ่มต้นเท่ากับ 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร แล้วเททับลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA อีกครั้ง หมุนจานอาหารให้อาหารที่มีเชื้อทดสอบกระจายให้ทั่วจานอาหาร

นำสารสกัดจากพืชข้อ 3.4.1.2 ปริมาณ 20 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษซับกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อ รอให้ตัวทำละลายระเหยจนแห้ง จากนั้นคีบกระดาษซับกลมไปวางลงบนผิวหน้าอาหารที่มีเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบที่แข็งตัวแล้ว ตั้งไว้นานประมาณ 30 นาที เพื่อให้สารแพร่ในชั้นอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แปลผลการทดลองโดยใช้เวอร์เนียมิเตอร์วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (inhibition zone) รอบกระดาษซับกลม และรายงานผล

สำหรับเชื้อแบคทีเรียแลคติก ใช้วิธีการและปริมาณเชื้อทดสอบเริ่มต้นที่ 10^8 เซลล์/มิลลิลิตร เช่นเดียวกันกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น แต่ทำการทดสอบในอาหาร MRS agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสโดยมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร



ภาพที่ 3.1 แสดงวิธีการ Double layer ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar disc diffusion

- **ยีสต์** ใช้วิธีการเดียวกันกับเชื้อแบคทีเรีย โดยมีปริมาณเชื้อทดสอบเริ่มต้นเท่ากับ 10^8 เซลล์/มิลลิลิตร แต่ทำการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยโซนใสโดยมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

- **เชื้อรา** ใช้วิธีการ double layer เช่นเดียวกัน แต่ใช้สารแขวนลอยของสปอร์ ความเข้มข้น 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ผสมในอาหารแข็ง SDA ที่หลอมเหลว อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ปริมาณ 5 มิลลิลิตร จะได้ปริมาณเชื้อทดสอบเริ่มต้นเท่ากับ 10^4 สปอร์/มิลลิลิตร จากนั้นใช้วิธีการทดสอบเช่นเดียวกันกับเชื้อแบคทีเรีย บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยโซนใสโดยมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

วิธีการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดพืชใช้เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นชุดควบคุมให้ผลเชิงลบ (negative control) และใช้คลอแรมฟีนิคอล (chloramphenicol) ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมให้ผลเชิงบวก (positive control) สำหรับการทดสอบการยับยั้งเชื้อยีสต์และเชื้อรา มีชุดควบคุมให้ผลเชิงลบ (negative control) เช่นเดียวกับเชื้อแบคทีเรีย แต่ใช้นัยสเตติน (nystatin) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมให้ผลเชิงบวก แทนการใช้คลอแรมฟีนิคอล

3.4.2 เปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดกับปริมาณความเข้มข้นของคลอแรมฟีนิคอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

ทดสอบฤทธิ์ของคลอแรมฟีนิคอลที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-1.6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*, *B. subtilis*, *L. innocua* และ *Lc. lactis* ด้วยวิธี agar disc diffusion เช่นเดียวกับวิธีการในข้อ 3.4.1.5 แปลผลการทดสอบโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (inhibition zone) รอบกระดาษซับกลม แล้วนำผลการทดลองขนาดวงใสที่เกิดจากสารปฏิชีวนะคลอแรมฟีนิคอลเปรียบเทียบกับขนาดวงใสที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบด้วยสารสกัดจากพืช ในข้อ 3.4.1 ที่มีวงใสขนาดใกล้เคียงหรือเท่ากัน เพื่อนำไปหาค่าประสิทธิภาพการยับยั้งเทียบเท่าความเข้มข้นของคลอแรมฟีนิคอล (มิลลิกรัม(คลอแรมฟีนิคอล)/มิลลิลิตร)

3.4.3 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Agar disc diffusion

นำสารสกัดจากพืชที่ให้ผลการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์จากข้อ 3.4.1 โดยคัดเลือกพืชที่มีผลเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสมากกว่า 10.0 มิลลิเมตร มาหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยทำการเจือจางสารสกัดของพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ จากความเข้มข้นเริ่มต้น (stock solution) เจือจางไปอีก 5 ลำดับ ในอัตราส่วน 1:2 (two-fold dilution) นำสารละลายที่ความเข้มข้นต่างๆ ไปทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ที่ให้ผลการยับยั้งการเจริญเช่นเดียวกับวิธีการข้อ 3.4.1.4 เพื่อหาปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเกิดโซนใสของจุลิ

นทรีย์รอบกระดาษซับกลม แปลผลโดยระดับความเข้มข้นน้อยสุดที่เจือจางของสารสกัดพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ คือ ค่า MIC ของสารสกัดที่มีต่อจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆ

3.4.4 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี broth dilution method

นำชนิดของพืชที่ให้ผลการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์จากข้อ 3.4.1 โดยคัดเลือกพืชที่มีผลเชิงบวก จากการทดสอบด้วยวิธี agar disc diffusion โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสมากกว่า 10.0 มิลลิเมตร นำมาทำการทดสอบด้วยวิธีเจือจางในอาหารเหลว (ทำตามวิธีของ Sahin และคณะ, 2003) โดยมีวิธีการเตรียมตัวอย่างและขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.4.4.1 การเตรียมสารสกัดจากพืช

ชั่งตัวอย่างพืชบดละเอียด 50 กรัม และ เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ใส่ขวดลูกชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปิดฟอยล์ให้รอบขวด จากนั้นนำเข้าเครื่องเขย่าเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ณ อุณหภูมิห้อง นำสารสกัดที่ได้กรองผ่านกรวยกรองบุชเนอร์ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จะได้สารสกัดจากพืชส่วนที่ 1 ซึ่งนำไปเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำกากมาทำการสกัดอีกครั้งโดยเติมเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ อีก 200 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง กรองและนำสารสกัดที่ได้ไปผสมกับส่วนแรก นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศที่ 200 มิลลิบาร์ (mbar) อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารสกัดเข้มข้นใส่ลงในจานแก้วแล้วลดอุณหภูมิจนต่ำกว่าจุดเยือกแข็งลงอย่างรวดเร็วด้วยน้ำแข็งแห้ง แล้วจึงทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งเยือกแข็งภายใต้สภาวะสุญญากาศ (freeze dryer) เก็บสารสกัดแห้งในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส เมื่อนำสารสกัดไปทดสอบจะใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นตัวทำละลายและกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมครอนอีกครั้ง

3.4.4.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

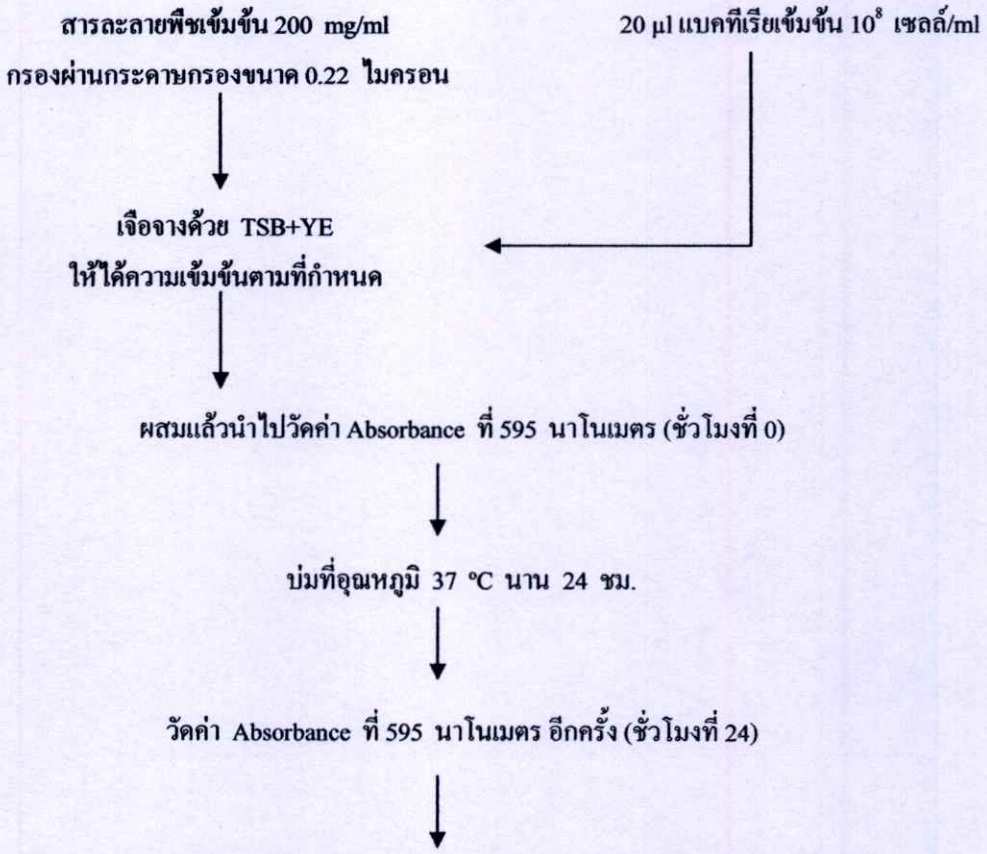
เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีเดียวกับข้อ 3.4.1.4 โดยใส่สารแขวนลอยของเซลล์จุลินทรีย์เริ่มต้น ให้มีจุลินทรีย์ทดสอบเข้มข้น 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร

3.4.4.3 ทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Broth dilution method

นำสารสกัดที่เตรียมในข้อ 3.4.4.1 ที่มีความเข้มเริ่มต้น 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยอาหารเหลว TSB+YE ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ ในหลอดทดลองคือ 0.75, 1.5, 3.0, 6.0, 12.0, 25.0 และ 50.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยมีปริมาตรของอาหารเหลวและสารสกัดทดสอบในหลอดทดลองรวมกันเท่ากับ 2 มิลลิลิตร ปิเปตเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.4.2 ลงในหลอดของสารสกัดที่เจือจางแต่ละความเข้มข้นที่เป็นชุดทดสอบ หลอดละ 20 ไมโครลิตร หยอด

สารที่ผสมเชื้อจุลินทรีย์แล้วลงใน 96 well microtiter plates โดยทำแผนผังระบุชนิดและตำแหน่งที่หยอดสาร ตรวจผลการออกฤทธิ์ที่ 0 ชั่วโมง โดยนำไปวัดความขุ่นโดยเครื่อง Microtiter Plate Reader ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิเหมาะสมนาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการตรวจผลอีกครั้งด้วยวิธีเดียวกัน ดังภาพที่ 3.2 โดยค่า MIC (Minimal inhibitory concentration) คือ ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยมีชุดควบคุม ดังนี้

- อาหารเหลว (control)
- อาหารเหลวผสมสารแขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์ (negative control)
- อาหารเหลวผสมสารสกัดแต่ละระดับความเจือจาง (color control)



ภาพที่ 3.2 แสดงการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยวิธี Broth dilution method

3.4.5 ศึกษาวิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

จากข้อ 3.4.4 ทำการทดสอบสมบัติการออกฤทธิ์ว่าเป็นแบบชนิดต้านจุลินทรีย์ (Bacteriostatic) หรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Bactericidal) ด้วยวิธีการเดียวกับข้อ 3.4.4 โดยทดสอบที่ระดับความเจือจางตั้งแต่ช่วงค่า MIC ขึ้นไป เมื่อบ่มครบ 24 ชั่วโมง ทำการตรวจผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบที่เหลือรอด ด้วยวิธีนับจำนวนเชื้อที่เกลี่ยบนผิวหน้าอาหารแข็ง (log CFU/ml.) หากปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลือรอดมีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารสกัด สารสกัดนั้นมีการออกฤทธิ์เป็นแบบชนิดต้านจุลินทรีย์ (Bacteriostatic) แต่กรณีที่ไม่พบปริมาณเชื้อที่เหลือรอดหรือเหลือน้อยกว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้น 99.9 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดนั้นมีการออกฤทธิ์เป็นแบบทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Bactericidal)

3.5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองตามวิธีการข้อ 3.4.1 วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (SPSS Version 16) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยข้อมูลโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการทดลองตามวิธีการข้อ 3.4.4 วางแผนการทดลองแบบ CRD และนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีเดียวกัน

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาความสามารถของสารสกัดจากพืชป่าในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ผลการศึกษาสารสกัดของพืชป่าด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ทั้งหมด 45 ชนิด ได้แก่ กอมขม ก้างปลาแดง เกล็ดปลาช่อนแดง ขี้กาแดง ไข่ปูใหญ่ เครือข้าวตอก จะค่านหัววอก จิตรละดา ชาป่า ซ้อ โทงเทง ปลวกน้ำ ปี้งขาว ปี้งหอม ผักขมหัด และ อั้นอ้อ เป็นต้น สามารถแสดงดังตารางที่ 4.1 จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ของพืชป่ามีความเข้มข้นระหว่าง 1.05-13.68 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยสารสกัดจากลำโพงมีเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารสกัดสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 13.68 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) รองลงมาได้แก่ มันปลา มีความเข้มข้น 11.48 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ส่วนสารสกัดจากไข่ปูใหญ่มีความเข้มข้นของสารสกัดต่ำที่สุด มีค่าเท่ากับ 1.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) แสดงว่า ชนิดและปริมาณของสารประกอบที่มีความสามารถในการละลายของพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ซึ่งสารสกัดจากต้นลำโพงมีความเข้มข้นของสารสกัดสูงที่สุด แสดงว่า สารประกอบในพืชชนิดดังกล่าวสามารถละลายในตัวทำละลายเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ได้ดี จึงมีปริมาณของแข็งมาก อย่างไรก็ตาม เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นที่สูงไม่ได้หมายความว่า สารสกัดจากพืชชนิดนั้นจะสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (วันดี, 2538)

ผลของสารสกัดด้วยเอทานอลของพืชดังกล่าวต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli, Sa.* Anatum, *S. aureus* , *Ps. aeruginosa, Pr. mirabilis, L. innocua, B. subtilis, Lb. acidophilus, Lc. lactis Pi. anomala, Sac. cerevisiae, A. niger* และ *Pe. pinophilum* ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบมีทั้งหมด 20 ชนิด คือ กอมขม ก้างปลาแดง จะค่านหัววอก ชาป่า ผักเผ็ด ผักเฮือด มันปลา มะขามป้อม มะเดื่อกวาง ไม้ก้าว ไม้อั้น ส้มกำปัง สะบ้า ผลและใบสะเรียมดง สาบเสือ ห้าส้วย หางกระรอกแดง หญ้าแหลมนกไส้ ผลและใบหมากม่วงเครือดอกหมากฮอด (ภาพในภาคผนวกที่ ข1-ข9) โดยสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญจะต้องมีความกว้างของโซนใสมากกว่าความกว้างของดิสก์ที่มีขนาด 6 มิลลิเมตร

ตารางที่ 4.1 ตัวอย่างพืชป่า

ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้ทดลอง	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (w/v)
1. กอมขม	*Picrasma javanica* Blume	ใบ	7.52
2. ก้างปลาแดง	*Breynia retusa* (Dennst.) Alston	ใบ	7.30
3. เกล็ดปลาช่อนแดง	*Phyllodium pulchellum* (L.) Desv.	ใบ	6.29
4. ขี้กาแดง	*Gymnopetalum integrifolium* (Roxb.)Kurz	ใบ	11.07
5. ไข่ปูใหญ่	*Rubus alceifolius* Poir.	ใบ	1.05
6. เครือข้าวตอก	*Aerva sanguinolenta* Blume	ใบ	3.51
7. จะค่านหัววอก	*Piper sp.*	ใบ	3.78
8. จิตรละดา	*Rubia cordifolia* L.	ใบ	4.7
9. ชาป่า	*Acalypha siamensis* Oliv. Ex Gage	ใบ	3.17
10. ซ้อ	*Gmelina arborea* Roxb.	ใบ	1.52
11. โทงเทง	*Physalis angulata* L.	ใบ	8.96
12. ปลวกน้ำ	*Isodon coetsa* (Buch.-Ham. ex D.Don) Kudo	ใบ	9.29
13. ปี้งขาว	*Clerodendrum colebrookianum* Walp.	ใบ	6.4
14. ปี้งหอม	*Clerodendrum chinense*(Osbeck)Mabb.	ใบ	5.22
15. ผักขมหัด	*Amaranthus viridis* L	ก้านและใบ	10.41
16. ผักขมหนาม	Amaranthus spinosus L.	ก้านและใบ	6.89
17. ผักเครือไข่	*Momordica subangulata Blume*	ใบ	3.48
18. ผักเผ็ด	*Spilanthes paniculata* Wall. ex DC.	ใบ	2.84
19. ผักหนอกช้าง	*Hydrocotyl javanica* Ponten ex Thunb.	ส่วนต้นเหนือดิน	5.22
20. ผักเฮือด	*Ficus infecoiria* Roxb.	ใบ	4.83
21. ฝอยทอง	*Cuscuta chinensis* Lam.	ส่วนต้นเหนือดิน	8.35
22. มันปลา	*Glochidion sphaerogynum* Kurz.	ใบ	11.48
23. มะขามป้อม	*Phyllanthus emblica* L.	ใบ	8.49
24. มะเดื่อกวาง	*Ficus callosa* Willd.	ใบ	4.57
25. มะเดื่อปล้อง	*Ficus hispida* L.f.	ใบ	6.05
26. ไม้ก้าว	*Tristaniopsis burmanica* (Griff.) Peter G. Wilson & J.T. Waterh.	ใบ	6.44
27. ไม้อั้น	*Glochidion velutinum* Wight.	ใบ	4.98
28. ลำโพง	*Datura metel* L. var. *metel*	ใบ	13.68
29. ส้มกำปิง	*Antidesma sootepensa* Craib	ใบ	6.57
30. ส้มสังกา	*Oxalis corniculata* L.	ใบ	6.31

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้ทดลอง	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (w/v)
31. ส้มโอมะละกอ	*Citrus medica* L. var. *medica*	ใบ	5.16
32. สะบ้า	*Entada rheedii* Spreng.	ใบ	3.62
33. สะเรียมดง	*Turpinia Montana* (Blume) Kurz.	ใบ	5.87
		ผล	3.57
34. สาบแร้งสาบกา	*Agratum conyzoides* L.	ใบ	6.32
35. สาบเสือ	*Chromolaena odoratum* R.M.King&H.Rob.	ใบ	6.26
36. สาบหมาสาบแมว	*Eupatorium adenophorum* Sprengel	ใบ	8.55
37. ห้าส้วย	*Clerodendrum sarratum* (L.) Moon ver. *Wallidhii* C.B Clarke	ใบ	7.31
38. หางกระรอกแดง	*Acalypha hispida* Burm.f.	ใบ	5.33
39. หางปลาช่อน	*Emilia sonchifolia* (L.) DC. Ex Wight	ใบ	8.88
40. หญ้าแหลมนกไส้	*Bidens bipinnata* , L.	ก้านและใบ	4.58
41. หญ้าอึ่นยืด	*Plantago major* Linn.	ส่วนต้นเหนือดิน	5.36
42. หนาด	*Inula cappa* (Ham.) DC	ใบ	3.98
43. หมากม่วงเครือ	*Dracontomelon* sp.	ใบ	6.78
		ผล	8.95
44. หมากฮอด	*Rhus chinensis* (Mill.)	ดอก	9.13
45. อั้นอ้อ	*Foeniculum vulgare* Miller	ใบ	7.77

4.1.1 ความสามารถของสารสกัดจากพืชป่าในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก

สารสกัดพืชที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด ได้แก่ ผลสะเรียมดง (ตารางที่ 4.2) โดยสารสกัดจากผลสะเรียมดงมีความเข้มข้น 3.57 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ 4 ชนิด คือ *S. aureus*, *B. subtilis*, *L. innocua* และ *L. lactis* อีกทั้งยังมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ได้ดีที่สุด ซึ่งสารสกัดจากผลสะเรียมดงมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* โดยมีขนาดวงใส 20.15 ± 0.64 มิลลิเมตร ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่มีขนาดวงใสอยู่ระหว่าง 13.53 ± 0.14 ถึง 16.77 ± 0.80 มิลลิเมตร แต่เมื่อนำส่วนของใบสะเรียมดงซึ่งมีความเข้มข้นของสารสกัดมากกว่าคือ 5.87 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) มาทดสอบ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เพียง 1 ชนิด คือ *B. subtilis* และมีขนาดวงใสเล็กกว่าวงใสของสารสกัดจากผล คือ 8.52 ± 0.73 มิลลิเมตร จากผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าส่วนต่างๆ ของพืช จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป สอดคล้องกับรายงาน

ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกจากสารสกัดพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์

ตัวอย่างพืช	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) *				
		S. aureus	*B. subtilis*	*L. innocua*	*Lc. lactis*	*Lb. acidophilus*
ผลสะเรียมดง	3.57	16.77 ± 0.80^{m}	20.15 ± 0.64^{m}	14.92 ± 0.07^{j}	13.53 ± 0.14^{b}	-
ใบสะเรียมดง	5.87	-	8.52 ± 0.73^{c}	-	-	-
ผลหมากม่วงเครือ	8.95	12.87 ± 0.19^{i}	16.63 ± 0.05^{l}	15.33 ± 0.05^{k}	-	-
ใบหมากม่วงเครือ	6.78	11.18 ± 0.21^{g}	10.00 ± 0.05^{f}	10.77 ± 0.05^{h}	-	-
สาบเสือ	6.26	12.92 ± 0.16^{i}	16.00 ± 0.38^{k}	8.60 ± 0.05^{e}	8.32 ± 0.07^{a}	-
หญ้าแหลมนกไส้	4.58	14.20 ± 0.33^{k}	10.67 ± 0.28^{g}	11.00 ± 0.09^{i}	-	-
มันปลา	11.48	12.43 ± 0.28^{h}	11.72 ± 0.07^{i}	10.93 ± 0.00^{h}	-	-
มะเดื่อกวาง	4.57	12.20 ± 0.05^{h}	11.07 ± 0.05^{h}	8.23 ± 0.05^{d}	-	-
ชาป่า	3.17	8.70 ± 0.33^{c}	8.90 ± 0.05^{d}	8.73 ± 0.00^{f}	-	-
ไม้ก้าว	6.44	8.63 ± 0.42^{c}	8.47 ± 0.24^{c}	8.53 ± 0.09^{e}	-	-
ก้างปลาแดง	7.30	8.58 ± 0.35^{c}	10.38 ± 0.21^{g}	9.98 ± 0.07^{g}	-	-
ไม้อั้น	4.98	7.80 ± 0.05^{b}	7.70 ± 0.28^{b}	7.43 ± 0.19^{b}	-	-
หางกระรอกแดง	5.33	7.77 ± 0.28^{b}	$7.47 \pm 0.09^{a-b}$	7.57 ± 0.14^{c}	-	-
ผักเฮือด	4.83	7.10 ± 0.00^{a}	7.10 ± 0.00^{a}	7.17 ± 0.05^{a}	-	-
ดอกหมากฮอด	9.13	16.02 ± 0.12^{l}	12.90 ± 0.19^{j}	-	-	-
กอมขม	7.52	14.35 ± 0.54^{k}	11.48 ± 0.12^{i}	-	-	-
มะขามป้อม	8.49	13.60 ± 0.05^{j}	11.60 ± 0.24^{i}	-	-	-
ส้มกำปิง	6.57	13.43 ± 0.19^{j}	9.53 ± 0.24^{e}	-	-	-
สะบ้า	3.62	10.43 ± 0.05^{f}	8.48 ± 0.35^{c}	-	-	-
ผักเผ็ด	2.84	9.92 ± 0.31^{e}	-	-	-	-
ห้าส้วย	7.31	9.15 ± 0.16^{d}	-	-	-	-
จะค่านหัววอก	3.78	8.10 ± 0.05^{b}	-	-	-	-
เครือข้าวตอก	3.51	-	-	-	-	-
สาบแร้งสาบกา	6.32	-	-	-	-	-
ผักขมหนาม	6.89	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

ตัวอย่างพืช	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) *				
		S. aureus	*B. subtilis*	*L. innocua*	*Lc. lactis*	*Lb. acidophilus*
ผักขมหัด	10.41	-	-	-	-	-
ส้มโอมะละกอ	5.16	-	-	-	-	-
ปิ้งหอม	5.22	-	-	-	-	-
ลำโพง	13.68	-	-	-	-	-
หางปลาช่อน	8.88	-	-	-	-	-
ขี้กาแดง	11.07	-	-	-	-	-
ส้มสังกา	6.31	-	-	-	-	-
ปิ้งขาว	6.4	-	-	-	-	-
ปลวกน้ำ	9.29	-	-	-	-	-
ใบหนาด	3.98	-	-	-	-	-
สาบหมาสาบแมว	8.55	-	-	-	-	-
ฝอยทอง	8.35	-	-	-	-	-
อั้นอ้อ	7.77	-	-	-	-	-
ผักหนอกช้าง	5.22	-	-	-	-	-
ช้อ	1.52	-	-	-	-	-
มะเดื่อปล้อง	6.05	-	-	-	-	-
ผักเครือไข่	3.48	-	-	-	-	-
เกล็ดปลาช่อนแดง	6.29	-	-	-	-	-
โทงเทง	8.96	-	-	-	-	-
ไข่ปูใหญ่	1.05	-	-	-	-	-
จิตรละดา	4.7	-	-	-	-	-
หญ้าแอ็นยืด	5.36	-	-	-	-	-
เอทานอล 80%	**	-	-	-	-	-
Chloramphenicol	**	**20.07 ± 0.14**	**20.50 ± 0.14**	**18.63 ± 0.07**	**26.40±0.07**	**24.86 ± 0.14**

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

(**) ไม่ทำการทดสอบ

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ของ Schinor และคณะ (2007) ได้ศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบและองค์ประกอบของ *Chresta scapigera* พบว่าสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของพืช อาทิ เปลือก ใบ ราก มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดได้แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวิธีการและตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดด้วย ดังนั้นสารสกัดจากส่วนที่แตกต่างกันของพืชอาจจะให้ผลการยับยั้งที่แตกต่างกัน ขึ้นกับองค์ประกอบและปริมาณของสารพฤกษเคมีในแต่ละส่วนของพืชชนิดนั้นๆ

นอกจากนี้ ยังพบว่า ส่วนของใบและผลของหมากม่วงเครือมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. aureus, B. subtilis* และ *L. innocua* แต่สารสกัดจากผลจะมีประสิทธิภาพดีกว่าจากส่วนใบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และปริมาณของแข็งในสารสกัดจากผลยังมีค่ามากกว่าจากใบ คือมีค่าเท่ากับ 8.95 กับ 6.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) แสดงว่ามีปริมาณสารที่ละลายด้วยแอลกอฮอล์ 80 เปอร์เซ็นต์ออกมามากกว่าส่วนของผล ผลการทดลองการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Rojas และคณะ (2006) ที่พบว่าสารสกัดทั้งส่วนรากและก้านของพืชมีผลในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *B. cereus* ได้เช่นเดียวกัน นอกจากนี้ ผลการทดลองนี้ยังคล้ายคลึงกับในสารสกัดของสะเรียมดง ที่พบว่าสารสกัดจากส่วนผลจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อมากกว่าส่วนใบ อย่างไรก็ตาม สารสกัดจากผลสะเรียมดง (3.57%) มีปริมาณของแข็งต่ำกว่าสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือ แต่มีฤทธิ์ในการยับยั้งมากกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณและชนิดของสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในส่วนพืชแต่ละชนิดที่มีฤทธิ์แตกต่างกัน นอกจากนั้นยังพบว่า สารสกัดจากแต่ละส่วนของพืชชนิดเดียวกันอาจยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้เหมือนหรือแตกต่างกันก็ได้ แสดงให้เห็นว่าในแต่ละส่วนของพืชมีจะคุณสมบัติและความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์แตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ต้องพิจารณาถึงวิธีที่ใช้ในการสกัดส่วนต่างๆ ของพืช ความหลากหลายของสิ่งแวดล้อมในแต่ละพื้นที่ ล้วนเป็นปัจจัยที่สามารถทำให้ประสิทธิภาพของสารสกัดมีความแตกต่างได้ (นิจศิริและพยอม, 2534)

สารสกัดจากสาบเสือความเข้มข้น 6.26 เปอร์เซ็นต์ มีขอบเขตการยับยั้งแบคทีเรียได้เช่นเดียวกันกับสารสกัดจากผลสะเรียมดง แต่พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 4 สายพันธุ์ได้น้อยกว่าผลสะเรียมดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีขนาดวงใสอยู่ระหว่าง 8.32 ± 0.07 ถึง 16.00 ± 0.38 มิลลิเมตร ในขณะที่ผลสะเรียมดงมีขนาดวงใสอยู่ระหว่าง 13.53 ± 0.14 ถึง 20.15 ± 0.64 มิลลิเมตร ดังนั้นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวกัน พืชแต่ละชนิดก็มีประสิทธิภาพที่แตกต่างกัน Thakong (1999) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของสาบเสือ พบสาร isosakuranetin เมื่อสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นยังพบองค์ประกอบสารเคมีที่สำคัญ ได้แก่ acacetin, β-amyrin, anisic acid, aromadendrin-4, 7-dimethyl ether, boeneol acetate, β-bourbonene และ cadinene (นันทวันและอรนุช, 2543) ซึ่งฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์อาจเนื่องมาจากสารสำคัญดังกล่าว

สารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ 3 ชนิด (*S. aureus, B. subtilis* และ *L. innocua*) ได้แก่ ผลและใบหมากม่วงเครือ หญ้าแหลมนกไส้ มันปลา มะเดื่อกวาง ชาป่า ไม้ก้าวก้างปลาแดง ไม้อั้น หางกระรอกแดง และผักเฮือด โดยพบว่าสารสกัดจากหญ้าแหลมนกไส้มี

ความสามารถในการยับยั้งเชื้อทั้ง *S. aureus* ได้ดีกว่าสารสกัดชนิดอื่นๆ (14.20 ± 0.33 มิลลิเมตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือจะยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* และ *L. innocua* โดยมีขนาดวงใสเท่ากับ 16.63 ± 0.05 และ 15.33 ± 0.05 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ส่วนสารสกัดจากดอกหมากฮอด กอมขม มะขามป้อม ส้มกำปัง และสะบ้า (ความเข้มข้น 9.13, 7.52, 8.49, 6.57 และ 3.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 2 ชนิด คือ *S. aureus* และ *B. subtilis* โดยสารสกัดจากดอกหมากฮอดมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ได้ดี โดยมีขนาดวงใสในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เท่ากับ 16.02 ± 0.12 มิลลิเมตร และ *B . subtilis* 12.90 ± 0.19 มิลลิเมตร รองลงมาได้แก่สารสกัดจากกอมขม มะขามป้อม ส้มกำปัง และสะบ้า ตามลำดับ

ผลการทดลองในสารสกัดจากมะขามป้อมสอดคล้องกับรายงานของ Ray และ Majumdar (1976) พบว่าสารสกัดผลมะขามป้อมด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ ต่อมาปรีชา (2551) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนสจากมะขามป้อม โดยสกัดสารสำคัญจากส่วนต่างๆ ของมะขามป้อม พบในส่วนของใบ กิ่งก้าน และผลของมะขามป้อม สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด พบว่าได้สารบริสุทธิ์ 11 ชนิด เป็นสารประกอบกลุ่มกรดไขมัน กลุ่มสเตียรอยด์ และกลุ่มอะโรมาติก พบว่า ส่วนสกัดหยาบจากผลมะขามป้อมในชั้นเมทานอลและสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากผลมะขามป้อมสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญที่พบในมะขามป้อมนั้น ส่วนใหญ่จะพบได้ในใบและผล เช่น สารกลุ่ม ascorbic acid, astragalin, chelulagic acid, chibulinic acid, corilabin, ellagic acid, gallic acid, tannin และ zeatin riboside โดยพบว่าสารเหล่านี้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่างๆ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านสารที่เป็นพิษต่อยีน และต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Summanen และคณะ, 1997) นอกจากนั้นยังพบว่าผลการทดลองของสารสกัดจากใบมะขามป้อมมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* แต่ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ ซึ่งไม่สอดคล้องกับรายงานที่พบว่าสารสกัดจากผลมะขามป้อมด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ และน้ำ มีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Ps. aeruginosa* ขณะที่สารสกัดจากคลอโรฟอร์มไม่สามารถยับยั้งได้ และสารสกัดทั้ง 3 ชนิดไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* (Sankaranarayanan และ Jolly, 1993) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากส่วนของพืช ตัวทำละลาย และวิธีที่ใช้ในการสกัดมีความแตกต่างกันทำให้ผลที่ได้แตกต่างกันออกไปด้วย (รัตนา, 2545)

สารสกัดจากสะบ้ามีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *S. aureus* และ *B. subtilis* ที่สอดคล้องกับรายงานของพรรนิภาและคณะ (2520) ซึ่งได้ทำการตรวจสอบสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ทำลายเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าสารสกัดจากสะบ้า สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และ *B. subtilis* ได้ แต่ไม่มีผลต่อเชื้อ *E. coli* มีรายงานว่า ต้นและเปลือกสะบ้าใช้เป็นยารักษาแผล และพบสารในกลุ่ม saponins ซึ่งมีทั้งในเปลือกและเมล็ด (สุธรรมและคณะ, 2547) ดังนั้นสารในกลุ่มนี้จึงอาจมีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้

ส่วนสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เพียง 1 ชนิด ได้แก่ ใบสะเรียมดง ผักเผ็ด ห้าส้วย และจะค่านหัววอก (ความเข้มข้น 5.87, 2.84, 7.31 และ 3.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* โดยมีขนาดวงใสเท่ากับ 8.52 ± 0.73, 9.92 ± 0.31, 9.15 ± 0.16 และ 8.10 ± 0.05 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านเชื้อของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดพบว่ามีความสามารถในการยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

สารสกัดจากพืชบางชนิดมีความเข้มข้นแตกต่างกัน แต่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้ใกล้เคียงกัน เช่น สารสกัดจากมันปลา (11.48 เปอร์เซ็นต์) และมะเดื่อกวาง (4.57 เปอร์เซ็นต์) สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้เท่ากัน โดยมีขนาดวงใสใกล้เคียงกัน (12.43 ± 0.28 และ 12.20 ± 0.05 มิลลิเมตร ตามลำดับ) ส่วนสารสกัดจากชาป่า ไม้ก้าว และก้างปลาแดงที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 3.17, 6.44 และ 7.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ก็มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติเช่นกัน โดยมีขนาดวงใสอยู่ระหว่าง 8.58-8.70 มิลลิเมตร ส่วนในเชื้อ *B. subtilis* ก็พบว่าสารสกัดจากหญ้าแหลมนกไส้และก้างปลาแดงที่มีขนาดวงใสใกล้เคียงกัน(10.67 ± 0.28 และ 10.38 ± 0.21 มิลลิเมตร ตามลำดับ) ทั้งที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ หญ้าแหลมนกไส้ 4.58 และก้างปลาแดง 7.30 เปอร์เซ็นต์ แต่ในขณะเดียวกันสารสกัดบางชนิด เช่น สาบเสือและส้มกำปัง ซึ่งมีความเข้มข้นใกล้เคียงกัน แต่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อต่างกัน โดยสารสกัดจากสาบเสือยับยั้งเชื้อได้หลายชนิดและมีขนาดวงใสกว้างกว่า แต่ส้มกำปังยับยั้งเชื้อได้เพียง 2 ชนิดและมีขนาดวงใสที่เล็กกว่าสาบเสือ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่าความเข้มข้นของสารสกัดไม่สามารถบ่งบอกประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารพฤกษเคมีในพืชแต่ละชนิดและการออกฤทธิ์ต่อเชื้อจุลินทรีย์ด้วย

สำหรับสารสกัดจากพืชอื่นๆ เช่น ขี้กาแดง โทงเทง ปลวกน้ำ ผักเครือไข่ ผักหนอกช้าง ฝอยทอง มะเดื่อปล้อง ลำโพง ส้มกำปัง ส้มโอมะละกอ สาบแร้งสาบกา สาบหมาสาบแมว หางปลาช่อน หญ้าเอ็นยืด และหนาด เป็นต้น ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบทุกสายพันธุ์ ซึ่งไม่สอดคล้องกับรายงานบางรายงาน เช่น สารสกัดจากโทงเทง ฝอยทอง มีผลในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *B. subtilis* ได้ (พรรนิภาและคณะ, 2520) จากการทดลองยังพบว่าสารสกัดจากหญ้าเอ็นยืดไม่มีฤทธิ์ยับยั้งในเชื้อทุกชนิด ซึ่งขัดแย้งกับรายงานของอ้อมบุญ (2536) ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพร 84 ชนิด พบว่าหญ้าเอ็นยืดมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E. coli, Sa.* Typhimurium และ *Sa.* Enteritidis ซึ่งผลการทดลองที่แตกต่างกันนี้ อาจเนื่องมาจากวิธีการที่ใช้สกัด การเลือกส่วนของพืชที่นำมาใช้ในการทดลอง รวมทั้งปัจจัยสิ่งแวดล้อมของพืชในแต่ละพื้นที่ ทำให้ผลในการยับยั้งเชื้อแตกต่างกันไปด้วย (รัตนา, 2545)

จากการทดลองสารสกัดจากผักเครือไข่เป็นพืชตระกูลเดียวกับมะระ พบว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ สอดคล้องกับรายงานศึกษาสารประกอบในสารสกัดจากพืชชนิดนี้ พบว่ามีสารประเภทไกลโค

โปรตีนและสารชนิดนี้ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli, Sa.* Typhimurium, *Ps. aeruginosa*, *S. aureus* และ *B. subtilis* (Prapaitrakul, 2001) ซึ่งขัดแย้งกับรายงานของ Watthanachaiyingcharoen (2002) พบว่าโปรตีนนี้สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *B. subtilis*, *S. aureus* และ *Sa.* Typhimurium แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราและยีสต์ได้

4.1.2 ความสามารถของสารสกัดจากพืชป่าในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ

ในการทดสอบสารสกัดจากพืชป่าทั้งหมดในการทดลองนี้ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกเพียงบางชนิด (ตารางที่ 4.2) และไม่มีผลต่อแบคทีเรียแกรมลบ (ตารางที่ 4.3) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานของพรรนิภาและคณะ (2520) ได้ทำการตรวจสอบสมุนไพรไทย ที่มีฤทธิ์ทำลายเชื้อจุลินทรีย์ เช่น สะบ้า สะเดา มะขามเทศ มะขามป้อม มะเดื่อ ฝอยทอง และโทงเทง เป็นต้น พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ จากการทดลองยังพบว่า สารสกัดจากสาบเสือ (ความเข้มข้น 6.26 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งผลการทดลองขัดแย้งกับรายงานของนันทวันและอรนุช (2543) พบว่าสารสกัดจากสาบเสือมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Ps. aeruginosa* และเชื้อ *Strep. faecalis* ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปัจจัยต่างๆ เช่น วิธีที่ใช้ในการสกัด ส่วนของพืช ความหลากหลายของสิ่งแวดล้อมในแต่ละพื้นที่ อาจส่งผลให้ประสิทธิภาพของสารสกัดมีความแตกต่างได้ (นิจศิริและพยอม, 2534)

สุพรรณี (2521) ได้ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากผลมะระต่อเชื้อแกรมบวก ได้แก่ *S. aureus* และ *B. subtilis* พบว่ามีความไวต่อสารสกัดมากกว่าเชื้อแกรมลบ นอกจากนี้ ธนันต์ชัยและทวีชัย (2544) สรุปผลการวิจัยว่า ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดพืชสมุนไพร 46 ชนิด ด้วยวิธี agar disc diffusion พบเพียงสารสกัดเพียง 1 ชนิดคือ สารสกัดเต่าเกียด ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* ในขณะที่ไม่มีสารสกัดชนิดใดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้ Palombo และ Semple (2001) ที่ได้ศึกษาฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียของพืชท้องถิ่นในออสเตรเลีย 39 ชนิด พบว่าสารสกัดจากพืชส่วนใหญ่สามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แต่ไม่มีสารสกัดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ โดยใช้ *S. aureus, B. cereus, E. coli* และ *Ps. aeruginosa* เช่นเดียวกับ การศึกษาความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชที่พบได้ทั่วไปในประเทศจีน ญี่ปุ่น ไทย และเยเมน จำนวน 16 ชนิด พบว่าพืชทุกชนิดสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ โดยเชื้อที่ไวต่อสารสกัดที่สุดคือ *B. cereus* และไม่มีสารสกัดชนิดใดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ (Alzoreky และ Nakahara, 2003)

จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียแกรมลบมีความต้านทานมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีผนังเซลล์ที่เรียกว่า lipopolysaccharide (LPS) layer ซึ่งมีลักษณะไม่มีขั้วห่อหุ้มอยู่ภายนอก ทำหน้าที่ป้องกันการซึมผ่านของน้ำรวมทั้งสารต้านแบคทีเรีย

ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบจากสารสกัดพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์

ตัวอย่างพืช	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) *			
		Pr. mirabilis	*Ps. aeruginosa*	*E. coli*	*Sa.* Anatum
ผลสะเรียมดง	3.57	-	-	-	-
ใบสะเรียมดง	5.87	-	-	-	-
ผลหมากม่วงเครือ	8.95	-	-	-	-
ใบหมากม่วงเครือ	6.78	-	-	-	-
สาบเสือ	6.26	-	-	-	-
หญ้าแหลมนกไส้	4.58	-	-	-	-
มันปลา	11.48	-	-	-	-
มะเดื่อกวาง	4.57	-	-	-	-
ไม้ก้าว	6.44	-	-	-	-
ก้างปลาแดง	7.30	-	-	-	-
ไม้อั้น	4.98	-	-	-	-
หางกระรอกแดง	5.33	-	-	-	-
ผักเสือด	4.83	-	-	-	-
ดอกหมากฮอด	9.13	-	-	-	-
กอมขม	7.52	-	-	-	-
มะขามป้อม	8.49	-	-	-	-
ส้มกำปัง	6.57	-	-	-	-
สะบ้า	3.62	-	-	-	-
ผักเผ็ด	2.84	-	-	-	-
ห้าส้วย	7.31	-	-	-	-
จะค่านหัววอก	3.78	-	-	-	-
เครือข้าวตอก	3.51	-	-	-	-
สาบแร้งสาบกา	6.32	-	-	-	-
ผักขมหนาม	6.89	-	-	-	-
ผักขมหัด	10.41	-	-	-	-
ส้มโอมะละกอ	5.16	-	-	-	-
ปี้งหอม	5.22	-	-	-	-

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

ตัวอย่างพืช	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) *			
		Pr. mirabilis	*Ps. aeruginosa*	*E. coli*	*S.* Anatum
ลำโพง	13.68	-	-	-	-
หางปลาช่อน	8.88	-	-	-	-
ขี้กาแดง	11.07	-	-	-	-
ส้มสังกา	6.31	-	-	-	-
ปิ้งขาว	6.4	-	-	-	-
ปลวกน้ำ	9.29	-	-	-	-
ใบหนาด	3.98	-	-	-	-
สาบหมาสาบแมว	8.55	-	-	-	-
ฝอยทอง	8.35	-	-	-	-
อั้นอ้อ	7.77	-	-	-	-
ผักหนอกช้าง	5.22	-	-	-	-
ซ้อ	1.52	-	-	-	-
มะเดื่อปล้อง	6.05	-	-	-	-
ผักเครือไข่	3.48	-	-	-	-
เกล็ดปลาช่อนแดง	6.29	-	-	-	-
โทงเทง	8.96	-	-	-	-
ไข่ปูใหญ่	1.05	-	-	-	-
จิตรละดา	4.7	-	-	-	-
หญ้าแอ็นยืด	5.36	-	-	-	-
เอทานอล 80%	**	-	-	-	-
Chloramphenicol	**	**19.57 ± 0.07**	**18.53 ± 0.07**	**19.32 ± 0.14**	**21.36 ± 0.14**

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

(**) ไม่ทำการทดสอบ

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ในขณะที่แบคทีเรียแกรมบวกพบเพียงผนังเซลล์ที่ประกอบด้วย peptidoglycan และเยื่อหุ้มเซลล์เท่านั้น (Palmer และคณะ, 1998) ดังนั้นสารสกัดจึงสามารถซึมผ่านผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกได้ง่ายกว่าแกรมลบ (Lambert และคณะ, 2001) มีผลให้สารสกัดสามารถเข้าไปขัดขวางกลไกในการเจริญของเชื้อ รบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึม รบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์และยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก รวมทั้งยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนส่งผลให้กิจกรรมของเซลล์ต่ำลง เซลล์แบคทีเรียถูกทำลายและตายในที่สุด (มาลิน, 2542)

4.1.3 ความสามารถของสารสกัดจากพืชป่าในการยับยั้งการเจริญของยีสต์และรา

จากการทดลองสารสกัดจากพืชป่าทั้ง 45 ชนิด ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์และรา ดังนี้ *Pi. anomala, Sac. cerevisiae, A. niger* และ *Pe. pinophilum* (ตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และราจากสารสกัดพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์

ตัวอย่างพืช	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) *			
	ยีสต์		รา	
	Pi. anomala	*Sac. cerevisiae*	*A. niger*	*Pe. pinophilum*
ผลสะเรียมดง	-	-	-	-
ดอกหมากฮอด	-	-	-	-
กอมขม	-	-	-	-
หญ้าแหลมนกไส้	-	-	-	-
มะขามป้อม	-	-	-	-
ส้มกำปัง	-	-	-	-
สาบเสือ	-	-	-	-
ผลหมากม่วงเครือ	-	-	-	-
มันปลา	-	-	-	-
มะเดื่อกวาง	-	-	-	-
ผักเผ็ด	-	-	-	-
หมากม่วงเครือ	-	-	-	-
สะบ้า	-	-	-	-
ห้าส้วย	-	-	-	-
ชาป่า	-	-	-	-
ไม้ก้าว	-	-	-	-
ก้างปลาแดง	-	-	-	-
จะค่านหัวงอก	-	-	-	-
ไม้อั้น	-	-	-	-
หางกระรอกแดง	-	-	-	-

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

ตัวอย่างพืช	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) *			
	ยีสต์		รา	
	Pr. anomala	*Sac. cerevisiae*	*A. niger*	*Pe. pinophilum*
ผักเฮือด	-	-	-	-
สะเรียมดง	-	-	-	-
เครือข้าวตอก	-	-	-	-
สาบแร้งสาบกา	-	-	-	-
ผักขมหนาม	-	-	-	-
ผักขมหัด	-	-	-	-
ส้มโอมะละกอ	-	-	-	-
ปิ้งหอม	-	-	-	-
ลำโพง	-	-	-	-
หางปลาช่อน	-	-	-	-
ขี้กาแดง	-	-	-	-
ส้มสังกา	-	-	-	-
ปิ้งขาว	-	-	-	-
ปลวกน้ำ	-	-	-	-
ใบหนาด	-	-	-	-
สาบหมาสาบแมว	-	-	-	-
ฝอยทอง	-	-	-	-
อั้นอ้อ	-	-	-	-
ผักหนอกช้าง	-	-	-	-
ซ้อ	-	-	-	-
มะเดื่อปล้อง	-	-	-	-
ผักเครือไข่	-	-	-	-
เกล็ดปลาช่อนแดง	-	-	-	-

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

ตัวอย่างสารพืช	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) *			
	ยีสต์		รา	
	Pi. anomala	*Sac. cerevisiae*	*A. niger*	*Pe. pinophilum*
โทงเทง	-	-	-	-
ไข่ปูใหญ่	-	-	-	-
กวางหีแจ๊ะ	-	-	-	-
หญ้าเอ็นยืด	-	-	-	-
เอทานอล 80%	-	-	-	-
Nystatin	**10.44 ± 0.49**	**15.52 ± 0.36**	**17.43 ± 0.56**	**11.04 ± 0.23**

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานของ ปรีชา (2551) ซึ่งศึกษาองค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราจากมะขามป้อม พบว่า ส่วนสกัดหยาบจากผลมะขามป้อมในชั้นเมทานอลและสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากผลมะขามป้อม ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา ทั้งนี้อาจเนื่องจากโครงสร้างของยีสต์และรา มีความซับซ้อนและแข็งแรงกว่าโครงสร้างของแบคทีเรีย ทำให้ทนต่อการยับยั้งโดยสารสกัดได้ เนื่องจากโครงสร้างที่แข็งแรงและซับซ้อนนี้ทำให้สารสกัดไม่สามารถผ่านเข้าไปในเซลล์ สารสกัดจึงไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งหรือส่งผลกระทบต่อการเจริญของเชื้อได้ พืชสมุนไพรทั่วไปมีหลายชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสมุนไพร ชนิดของเชื้อรา และระดับความเข้มข้นของสมุนไพร โดยทั่วไปแล้วหากเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดประสิทธิภาพในการยับยั้งก็อาจจะเพิ่มขึ้นด้วย (อาภา, 2538)

จากผลการทดสอบในเชื้อแบคทีเรีย สามารถคัดเลือกสารสกัดจากพืชที่ให้ผลการยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรียที่ดี โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสมากกว่า 10 มิลลิเมตร ได้จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ ผลสะเรียมดง ดอกหมากฮอด กอมขม หญ้าแหลมนกไส้ มะขามป้อม ส้มกำปิง สาบเสือ ผลหมากม่วงเครือ มันปลา และมะเดื่อกวาง ซึ่งจะใช้ในการทดสอบในขั้นตอนต่อไป

4.2 เปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดกับปริมาณความเข้มข้นของคลอแรมฟินิคอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

จากการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *S. aureus*, *B. subtilis*, *L. innocua* และ *Lc. lactis* โดยใช้คลอแรมฟินิคอลเป็นสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.1-1.6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ให้ผลดังตารางที่ 4.5 โดยแบคทีเรียที่มีความไวต่อคลอแรมฟินิคอลมากที่สุด ได้แก่ *Lc. lactis* ที่มีขนาดวงใสอยู่ระหว่าง 9.33 ± 0.35 ถึง 26.40 ± 0.07 มิลลิเมตร รองลงมาได้แก่ เชื้อ *S. aureus* และ *B. subtilis* ซึ่งมีความไวต่อคลอแรมฟินิคอลและขนาดวงใสใกล้เคียงกัน โดยมีขนาดอยู่ระหว่าง 7.30 ± 0.07 ถึง 20.50 ± 0.14 มิลลิเมตร ส่วนเชื้อ *L. innocua* มีความไวน้อยที่สุดโดยมีขนาดวงใสในช่วง 8.07 ± 0.21 ถึง 18.63 ± 0.07 มิลลิเมตร และเมื่อใช้คลอแรมฟินิคอลความเข้มข้น 0.15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จะไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อได้อีกต่อไป ดังนั้นความเข้มข้นต่ำสุดของคลอแรมฟินิคอลที่สามารถยับยั้งเชื้อ *L. innocua* ได้ มีค่าระหว่าง 0.15-0.20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเชื้อทั้ง 4 พบว่า *L. innocua* มีความต้านทานต่อคลอแรมฟินิคอลมากที่สุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำข้อมูลที่ได้ไปทดลองเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของคลอแรมฟินิคอล และค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางวงใส พบว่าการยับยั้งเชื้อมีลักษณะเป็นสมการเส้นตรงในช่วงแรก หรือระหว่างความเข้มข้นที่ 0.20 ถึง 0.40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในเชื้อทดสอบทั้ง 4 สายพันธุ์ จากนั้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของคลอแรมฟินิคอล พบว่าเส้นกราฟความสัมพันธ์จะค่อยๆ ลดความชันลง และมีค่าเฉลี่ยวงใสเพิ่มขึ้นทีละน้อย แสดงว่า การเพิ่มความเข้มข้นของคลอแรมฟินิคอลจะทำให้ความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มสูงขึ้น แต่ไม่สามารถใช้สมการเพื่อคำนวณปริมาณเทียบเท่าความเข้มข้นของคลอแรมฟินิคอลได้

เมื่อนำผลการทดลองในข้อ 4.1 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ในพืชที่คัดเลือกเพื่อทดสอบในขั้นตอนต่อมา จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ ผลสะเรียมดง ดอกหมากฮอด กอมขม หญ้าแหลมนกไส้ มะขามป้อม ส้มกำปัง สาบเสือ ผลหมากม่วงเครือ มันปลา และมะเดื่อกวาง (ตารางที่ 4.2) มาเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งหรือขนาดวงใสในการยับยั้งเชื้อชนิดเดียวกันของสารปฏิชีวนะคลอแรมฟินิคอล (ตารางที่ 4.5) เพื่อหาประสิทธิภาพการยับยั้งเทียบเท่ากับความเข้มข้นของคลอแรมฟินิคอล โดยวิเคราะห์จากขนาดวงใสที่เกิดจากสารสกัดจากพืชป่าและขนาดวงใสที่เกิดจากสารปฏิชีวนะคลอแรมฟินิคอลที่มีขนาดเท่ากัน และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ถ้าค่าประสิทธิภาพการยับยั้งของสารสกัดจากพืชเทียบเท่าความเข้มข้นของคลอแรมฟินิคอลมีค่ามาก แสดงว่าสารสกัดจากพืชชนิดนั้นมีประสิทธิภาพมาก

ตารางที่ 4.5 ผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของปริมาณคลอแรมฟีนิคอลที่ความเข้มข้นต่างๆ

คลอแรมฟีนิคอล (มิลลิกรัม / มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) * แบคทีเรีย			
	S. aureus	*B. subtilis*	*L.innocua*	*Lc. lactis*
1.60	20.07 ± 0.14^{b}	20.50 ± 0.14^{b}	18.63 ± 0.07^{a}	26.40 ± 0.07^{c}
1.40	19.50 ± 0.14^{b}	19.73 ± 0.14^{b}	17.93 ± 0.07^{a}	25.43 ± 0.21^{c}
1.20	18.77 ± 0.35^{b}	19.20 ± 0.14^{b}	17.40 ± 0.14^{a}	24.83 ± 0.07^{c}
1.00	18.27 ± 0.07^{b}	18.70 ± 0.07^{b}	16.83 ± 0.00^{a}	23.50 ± 0.14^{c}
0.90	17.83 ± 0.14^{b}	18.00 ± 0.14^{b}	16.10 ± 0.07^{a}	22.63 ± 0.14^{c}
0.80	17.43 ± 0.07^{b}	17.67 ± 0.07^{b}	15.20 ± 0.14^{a}	21.93 ± 0.00^{c}
0.70	16.53 ± 0.28^{b}	17.30 ± 0.14^{b}	14.33 ± 0.14^{a}	21.13 ± 0.07^{c}
0.60	15.97 ± 0.21^{b}	16.73 ± 0.00^{b}	13.73 ± 0.07^{a}	20.70 ± 0.14^{c}
0.50	15.20 ± 0.14^{b}	16.00 ± 0.00^{b}	13.03 ± 0.00^{a}	20.30 ± 0.07^{c}
0.45	14.33 ± 0.07^{b}	15.53 ± 0.21^{b}	12.27 ± 0.21^{a}	19.97 ± 0.14^{c}
0.40	13.60 ± 0.07^{b}	15.00 ± 0.07^{c}	11.60 ± 0.14^{a}	19.60 ± 0.00^{d}
0.35	12.70 ± 0.14^{b}	14.43 ± 0.21^{c}	10.93 ± 0.07^{a}	19.07 ± 0.21^{d}
0.30	12.17 ± 0.14^{b}	14.03 ± 0.21^{c}	10.03 ± 0.00^{a}	18.50 ± 0.07^{d}
0.25	11.23 ± 0.07^{b}	12.13 ± 0.07^{b}	9.10 ± 0.07^{a}	17.70 ± 0.28^{c}
0.20	9.73 ± 0.14^{b}	10.20 ± 0.00^{b}	8.07 ± 0.21^{a}	15.60 ± 0.28^{c}
0.15	8.33 ± 0.07^{a}	8.33 ± 0.07^{a}	-	12.50 ± 0.07^{b}
0.10	7.30 ± 0.07^{a}	7.53 ± 0.00^{a}	-	9.33 ± 0.35^{b}

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a- d ตามแนวแถวแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.6 สารสกัดจากผลสะเรียมดงให้ผลในการยับยั้งดีกว่าสารสกัดจากพืชชนิดอื่นๆ ที่คัดเลือกมา โดยมีประสิทธิภาพดีกว่า 1.40, 0.70, 0.70 และ 0.15 มิลลิกรัม (คลอแรมฟีนิคอล)/มิลลิลิตร ในการยับยั้ง *B. subtilis*, *S. aureus*, *L. innocua* และ *Lc. lactis* ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเทียบกับคลอแรมฟีนิคอลที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตัวอย่างพืช	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (w/v)	ประสิทธิภาพการยับยั้งเทียบกับความเข้มข้นของคลอแรมฟีนิคอล (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
		S. aureus	*B. subtilis*	*L. innocua*	*Lc. lactis*
ผลสะเรียมดง	3.57	0.70	1.40	0.70	0.15
ดอกหมากฮอด	9.13	0.60	0.25	-	-
กอมขม	7.52	0.45	0.20	-	-
หญ้าแหลมนกไส้	4.58	0.40	0.20	0.35	-
มะขามป้อม	6.57	0.40	0.20	-	-
ส้มกำปิง	8.49	0.35	0.15	-	-
สาบเสือ	6.26	0.35	0.50	0.20	< 0.10
ผลหมากม่วงเครือ	8.95	0.35	0.50	0.80	-
มันปลา	11.48	0.30	0.20	0.35	-
มะเดื่อกวาง	4.57	0.30	0.20	0.20	-

หมายเหตุ : (-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ดังนั้นสารสกัดจากผลสะเรียมดงสามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 4 ชนิด เทียบเท่าคลอแรมฟีนิคอลที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.15-1.40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดจากมะเดื่อกวางมีผลในการยับยั้งเชื้อเพียง 3 ชนิด และมีค่าต่ำที่สุดในเชื้อ 2 ชนิด คือ *S. aureus* และ *L. innocua* โดยมีประสิทธิภาพดีกว่า 0.30 และ 0.20 มิลลิกรัม (คลอแรมฟีนิคอล)/มิลลิลิตร ตามลำดับ และไม่มีผลในการยับยั้ง *Lc. lactis* ดังนั้นจึงมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อเทียบเท่า 0.20-0.30 มิลลิกรัม(คลอแรมฟีนิคอล)/มิลลิลิตร เท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดจากส้มกำปิงมีผลในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ได้ต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากพืชที่ให้ผลการยับยั้ง

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เปรียบเทียบกับคลอแรมฟีนิคอลพบว่ามีค่าระหว่าง 0.30-0.70 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยสารสกัดจากผลสะเรียมดงให้ผลในการยับยั้งได้ดีที่สุด หรือมีประสิทธิภาพมากกว่าที่ความเข้มข้น 0.70 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

รองลงมาได้แก่ สารสกัดจากดอกหมากฮอด และ กอมขม มีค่า 0.60 และ 0.45 มิลลิกรัม(คลอแรมฟีนิคอล) /มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วน สารสกัดจากมันปลาและมะเดื่อกวางมีผลการยับยั้งต่ำที่สุด คือ 0.30 มิลลิกรัม(คลอแรมฟีนิคอล) /มิลลิลิตร อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดทั้ง 2 ชนิด พบว่า มีค่าเท่ากับ 11.48 และ 4.57 เปอร์เซ็นต์ ของสารสกัดจากมันปลาและมะเดื่อกวาง ตามลำดับ แสดงว่า ที่ความเข้มข้นเท่ากัน สารสกัดจากมะเดื่อกวางจะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าสารสกัดจากมันปลา (ตารางที่ 4.6)

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ของสารสกัดจากพืชที่คัดเลือกทั้ง 10 ชนิด มีค่าระหว่าง 0.20-1.40 มิลลิกรัม (คลอแรมฟีนิคอล)/มิลลิลิตร โดย สารสกัดจากผลสะเรียมดง ยังคงมีผลในการยับยั้งดีที่สุด หรือดีกว่าคลอแรมฟีนิคอลที่ความเข้มข้น 1.40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รองลงมาคือ สารสกัดจากสาบเสือและผลหมากม่วงเครือที่มีค่าเท่ากัน คือ 0.50 มิลลิกรัม(คลอแรมฟีนิคอล)/มิลลิลิตร แต่เมื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกันแล้ว สารสกัดจากสาบเสือจะมีประสิทธิภาพดีกว่าผลหมากม่วงเครือที่ความเข้มข้นเดียวกัน เนื่องจากสารสกัดจากสาบเสือและผลหมากม่วงเครือมีความเข้มข้น ณ การทดสอบ เท่ากับ 6.26 และ 8.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากส้มกำปังมีผลการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ต่ำที่สุด คือ 0.15 มิลลิกรัม(คลอแรมฟีนิคอล) /มิลลิลิตร จากผลการทดสอบในเชื้อทั้ง 2 แสดงให้เห็นว่า สารสกัดของพืชแต่ละชนิดจะมีประสิทธิภาพแตกต่างกันในเชื้อทดสอบ ทั้งนี้เนื่องจากสารพฤกษเคมีในพืชที่มีความแตกต่างกันนั่นเอง

จากการทดลองพบว่า สารสกัดพืชเพียง 6 ชนิดเท่านั้นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *L. innocua* ได้แก่ ผลสะเรียมดง หญ้าแหลมนกไส้ สาบเสือ ผลหมากม่วงเครือ มันปลา และมะเดื่อกวาง และมีค่าระหว่าง 0.20-0.80 มิลลิกรัม (คลอแรมฟีนิคอล)/มิลลิลิตร ซึ่งสารสกัดที่มีความสามารถในการยับยั้งดีที่สุดคือ ผลหมากม่วงเครือ รองลงมาได้แก่ ผลสะเรียมดง โดยดีกว่าคลอแรมฟีนิคอลที่ความเข้มข้น 0.80 และ 0.70 มิลลิกรัม(คลอแรมฟีนิคอล)/มิลลิลิตร ตามลำดับ แต่เปอร์เซ็นต์ของสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือและผลสะเรียมมีค่าเท่ากับ 8.95 และ 3.57 ตามลำดับ ดังนั้น สารสกัดจากผลหมากม่วงเครืออาจมีประสิทธิภาพด้อยกว่าผลสะเรียมดงที่ความเข้มข้นที่เท่ากัน ส่วนสาบเสือและมะเดื่อกวางมีผลในการยับยั้งต่ำที่สุดคือดีกว่า 0.20 มิลลิกรัม (คลอแรมฟีนิคอล)/มิลลิลิตร

นอกจากนี้ การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Lc. lactis* พบในสารสกัดจากพืชเพียง 2 ชนิดเท่านั้น คือสารสกัดจากผลสะเรียมดงและสาบเสือ โดยสารสกัดจากผลสะเรียมดงจะดีกว่า 0.15 มิลลิกรัม (คลอแรมฟีนิคอล)/มิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากสาบเสือมีผลในการยับยั้งต่ำกว่า 0.10 มิลลิกรัม(คลอแรมฟีนิคอล)/มิลลิลิตร ดังนั้นจากผลการทดลองเชื้อ *Lc. lactis* จะมีความต้านทานต่อสารสกัดพืชมากที่สุด เนื่องจากมีสารสกัดเพียงสองชนิดเท่านั้นที่มีผลในการยับยั้ง และมีปริมาณความเข้มข้นระดับต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการยับยั้งในเชื้อชนิดอื่นๆ จากผลการทดลองดังกล่าวจึงคัดเลือกเชื้อเพียง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. aureus*, *B. subtilis* และ *L. innocua* เพื่อทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชที่คัดเลือกทั้ง 10 ชนิด

ในการเปรียบเทียบความไวของเชื้อแบคทีเรียในสารสกัดจากพืชพบว่า สารสกัดจากพืชส่วนใหญ่มีแนวโน้มความไวต่อการยับยั้งในจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะไม่สอดคล้องกับคลอแรมฟีนิคอล โดยพบว่า *S. aureus* มีความไวต่อสารสกัดพืชมากที่สุด รองลงมาได้แก่ *L. innocua* และ *B. subtilis* ตามลำดับ ส่วน *Lc. lactis* มีความต้านทานต่อสารสกัดพืชมากที่สุด แต่มีพืชเพียง 2 ชนิดเท่านั้นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง ส่วนคลอแรมฟีนิคอลนั้นจะพบว่า *Lc. lactis* จะไวต่อคลอแรมฟีนิคอลมากที่สุด รองลงมาได้แก่ *B. subtilis* และ *S. aureus* มีค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ *L. innocua* มีความต้านทานมากที่สุด ผลการทดลองขัดแย้งกับรายงานของ Rojas และคณะ (2003) ได้ทำการศึกษาความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ของพืชที่ใช้เป็นยา พบว่าเชื้อ *B. subtilis* มีความไวต่อสารสกัดมากที่สุด โดยมีขนาดวงใสกว้างกว่าวงใสของเชื้อชนิดอื่นๆ ดังนั้นจึงแสดงว่า กลไกการออกฤทธิ์ของสารที่มีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชนั้นแตกต่างจากคลอแรมฟีนิคอล ซึ่งกลไกในการออกฤทธิ์ของคลอแรมฟีนิคอล จะไปขัดขวางกระบวนการสร้างโปรตีนของแบคทีเรียโดยรวมตัวกับส่วน "50S" ซับยูนิตของไรโบโซมของแบคทีเรียอย่างถาวรและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เปปติทรานส์เฟอเรส ทำให้การสร้างสายเปปไทด์ใหม่ในกระบวนการสร้างโปรตีนถูกขัดขวางไปด้วย มีผลทำให้การสร้างโปรตีนของแบคทีเรียหยุดลงทันที (สุกัญดา, 2549)

4.3 ความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

4.3.1 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Agar disc diffusion

การทดสอบความไวของแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. aureus*, *B. subtilis* และ *L. innocua* ต่อการยับยั้งด้วยสารสกัดจากพืชที่คัดเลือกจำนวน 10 ชนิดในเบื้องต้น เพื่อหาระดับความเข้มข้นต่ำสุด (Minimum inhibitory concentration; MIC)ในการยับยั้งด้วยวิธี agar disc diffusion โดยทำการเจือจางในอัตราส่วน 1:2 (Two-fold dilution) ด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ให้มีความเข้มข้นลดลง 6 ลำดับ แล้วนำมาทดสอบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียบนอาหารแข็ง ผลการทดลองสามารถแสดงดังนี้ ผลสะเรียมดง (ตารางที่ 4.7) ดอกหมากฮอด (ตารางที่ 4.8) ผลหมากม่วงเครือ (ตารางที่ 4.9) และพืชอื่นๆ (ภาคผนวกตารางที่ ค1-ค7) จากผลการทดลอง พบว่า การลดความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชลงทุกๆ 2 เท่า จะทำให้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสของเชื้อทดสอบ หรือความสามารถในการยับยั้งเชื้อแต่ละชนิดลดลงตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แต่ความเข้มข้นต่ำสุด หรือ MIC ในการยับยั้งจะแตกต่างกันตามชนิดของพืชและแบคทีเรีย

สารสกัดจากผลสะเรียมดงจะยับยั้ง *S. aureus* และ *B. subtilis* ได้ต่ำสุดที่ความเข้มข้น 0.11 เปอร์เซ็นต์ หรือเจือจางลง 32 เท่า และเมื่อลดความเข้มข้นลงเหลือ 0.6 เปอร์เซ็นต์จะไม่สามารถยับยั้ง

การเจริญของเชื้อทั้ง 2 ได้ต่อไป (จากผลการทดลองในตารางที่ 4.7) ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้ง *L. innocua* มีค่าเท่ากับ 0.45 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าเชื้อ *L. innocua* มีความต้านทานต่อการยับยั้งด้วยสารสกัดจากผลสะเรียมดงมากกว่าเชื้อ *S. aureus* และ *B. subtilis* ดังนั้นระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากผลสะเรียมดง หรือ MIC ในเชื้อ *S. aureus* และ *B. subtilis* มีค่าเท่ากับ 0.11 เปอร์เซ็นต์ ส่วนความเข้มข้น 0.45 เปอร์เซ็นต์ เป็น MIC ของเชื้อ *L. innocua*

ตารางที่ 4.7 ผลของสารสกัดจากผลสะเรียมดงด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion

เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสารสกัด (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (mm.) *		
	S. aureus	***B. subtilis***	***L. innocua***
3.57	17.35 ± 0.02^{f}	20.27 ± 0.33^{f}	13.88 ± 0.21^{d}
1.79	14.78 ± 0.68^{e}	19.20 ± 0.05^{e}	11.35 ± 0.02^{c}
0.89	13.33 ± 0.47^{d}	17.33 ± 0.00^{d}	8.92 ± 0.21^{b}
0.45	11.58 ± 0.73^{c}	16.30 ± 0.09^{c}	7.78 ± 0.02^{a}
0.22	8.85 ± 0.49^{b}	13.37 ± 0.47^{b}	-
0.11	7.40 ± 0.24^{a}	8.80 ± 0.47^{a}	-
0.06	-	-	-
เอทานอล 80%	-	-	-
Chloramphenicol	9.73 ± 0.14	10.20 ± 0.00	8.07 ± 0.21

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร
(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์
พิจารณาอักษร a-f ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากผลการทดสอบสารสกัดจากดอกหมากฮอด (ตารางที่ 4.8) พบว่า การลดความเข้มข้นของสารสกัด ส่งผลให้ความสามารถในการยับยั้งเชื้อลดลง ยกเว้นในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้น 2.28 และ 1.14 เปอร์เซ็นต์ จะให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่า MIC ของสารสกัดจากดอกหมากฮอดจะยับยั้ง *S. aureus* และ *B. subtilis* ได้มีค่า 0.57 เปอร์เซ็นต์ หรือเจือจางลง 16 เท่า อย่างไรก็ตาม แนวโน้มการลดลงของขนาดวงใสของ *B. subtilis* มีค่าต่ำกว่า *S. aureus* เมื่อลดความเข้มข้นของสารสกัด และที่ความเข้มข้นต่ำที่สุด มีขนาด 8.80 ± 0.47 และ 7.40 ± 0.24 มิลลิเมตร

ตารางที่ 4.8 ผลของสารสกัดจากดอกหมากฮอดด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion

เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสารสกัด (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (mm.) *		
	S. aureus	*B. subtilis*	*L. innocua*
9.13	15.45 ± 0.68^{e}	12.57 ± 0.09^{d}	-
4.57	13.98 ± 0.35^{d}	11.53 ± 0.33^{c}	-
2.28	11.13 ± 0.66^{c}	10.40 ± 0.38^{b}	-
1.14	9.32 ± 0.07^{b}	9.95 ± 0.12^{b}	-
0.57	7.52 ± 0.40^{a}	8.38 ± 0.45^{a}	-
0.29	-	-	-
0.14	-	-	-
เอทานอล 80%	-	-	-
Chloramphenicol	9.73 ± 0.14	10.20 ± 0.00	8.07 ± 0.21

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a-e ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า *S. aureus* น่าจะมีความไวต่อการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดดอกหมากฮอดมากกว่า *B. subtilis* ส่วนในเชื้อ *L. innocua* นั้นไม่ได้ทำการทดสอบ เนื่องจาก การทดสอบในเบื้องต้น พบว่าสารสกัดไม่มีความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ ดังนั้น MIC ของสารสกัดหยาบดอกหมากฮอดในเชื้อ *S. aureus* และ *B. subtilis* มีค่าเท่ากับ 0.57 เปอร์เซ็นต์

จากการทดสอบในสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือ (ตารางที่ 4.9) พบว่า ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสจะลดลง เมื่อลดความเข้มข้นของสารสกัดลงทุกๆ 2 เท่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นเชื้อ *S. aureus* ที่พบว่าเส้นผ่าศูนย์กลางจะมีแนวโน้มค่อยๆ ลดลง และที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 1.12-4.48 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดวงใสเท่ากับ 10.55 – 11.24 มิลลิเมตรนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ สารสกัดจากผลหมากม่วงเครือมีค่า MIC สำหรับ *S. aureus* เท่ากับ 0.56 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อ *B. subtilis* และ *L. innocua* มีค่า MIC เท่ากับ 1.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงว่าเชื้อ *B. subtilis* และ *L. innocua* มีความต้านทานต่อการยับยั้งด้วยสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือดีกว่าเชื้อ *S. aureus*

ตารางที่ 4.9 ผลของสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion

เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสารสกัด (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (mm.) *		
	S. aureus	***B. subtilis***	***L. innocua***
8.95	13.03 ± 0.80^{c}	14.67 ± 0.61^{d}	15.03 ± 0.09^{d}
4.48	11.27 ± 0.24^{b}	10.80 ± 0.00^{c}	13.98 ± 0.02^{c}
2.24	10.95 ± 0.16^{b}	9.52 ± 0.40^{b}	10.85 ± 0.12^{b}
1.12	10.55 ± 0.21^{b}	7.52 ± 0.12^{a}	8.70 ± 0.33^{a}
0.56	7.07 ± 0.09^{a}	-	-
0.28	-	-	-
0.14	-	-	-
เอทานอล 80%	-	-	-
Chloramphenicol	9.73 ± 0.14	10.20 ± 0.00	8.07 ± 0.21

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a-d ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่า MIC ของสารสกัดจากพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 10 ชนิด ต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 4.10 จากตารางพบว่าสารสกัดหยาบจากผลสะเรียมดงจะสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากพืชชนิดอื่นๆ โดยมีค่า MIC ต่ำที่สุดในเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิดที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *S. aureus, B. subtilis* และ *L. innocua* เท่ากับ 0.11, 0.11 และ 0.45 เปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบ ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแต่ละชนิด พบว่า MIC ใน *S. aureus* ของสารสกัดจากพืชทั้ง 10 ชนิด พบว่า สารสกัดจากผลสะเรียมดงจะมีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 0.11 รองลงมาได้แก่ สารสกัดจากดอกหมากฮอด ผลหมากม่วงเครือ และมะเดื่อกวาง ที่มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.56-0.57 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนสารสกัดจากส้มกำปังจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งต่ำที่สุด หรือเท่ากับ 1.64 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ของสารสกัดจากผลสะเรียมดงเช่นเดียวกันจะมีประสิทธิภาพสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ สารสกัดจากมะเดื่อกวางและดอกหมากฮอดที่มีค่า MIC เท่ากับ 0.28 และ 0.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนสารสกัดจากมันปลา จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งต่ำที่สุดหรือเท่ากับ 1.44 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.10 ค่า MIC ของสารสกัดจากพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ของเชื้อแบคทีเรียทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion

ตัวอย่างพืช	ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration ; MIC)		
	S. aureus	*B. subtilis*	*L. innocua*
ผลสะเรียมดง	0.11[a]	0.11[a]	0.45[a]
ดอกหมากฮอด	0.57[b]	0.57[c]	-
กอมขม	0.94[d]	0.94[e]	-
หญ้าแหลมนกไส้	1.15[e]	1.15[f]	2.29[c]
มะขามป้อม	1.06[e]	1.06[f]	-
ส้มกำปัง	1.64[g]	0.82[d]	-
สาบเสือ	0.78[c]	0.78[d]	3.13[e]
ผลหมากม่วงเครือ	0.56[b]	1.12[f]	1.12[b]
มันปลา	1.44[f]	1.44[g]	2.87[d]
มะเดื่อกวาง	0.57[b]	0.28[b]	2.29[c]

หมายเหตุ : (-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a-g ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ในขณะที่สารสกัดจากสาบเสือมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *L. innocua* ที่ต่ำที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า *L. innocua* มีความต้านทานต่อสารสกัดจากพืชมากที่สุด เนื่องจากค่า MIC มีค่ามากที่สุด และส่วนใหญ่เชื้อ *B. subtilis* และ *S. aureus* จะมีความไวต่อสารสกัดจากพืชเท่ากัน แต่เชื้อ *B. subtilis* จะไวต่อส้มกำปังและมะเดื่อกวางมากกว่า *S. aureus* ในขณะที่ *B. subtilis* จะต้านทานมากกว่าในสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือ ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าสารประกอบที่มีผลต่อกลไกการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 ชนิดของสารสกัดจากพืชมีความแตกต่างกัน

จากผลการทดลอง สารสกัดจากดอกหมากฮอด ผลหมากม่วงเครือ และ มะเดื่อกวาง ที่มีค่า MIC เท่ากันคือ ประมาณ 0.56-0.57 เปอร์เซ็นต์ในการยับยั้ง เชื้อ *S. aureus* แต่มีค่า MIC ที่แตกต่างกันในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* โดยมีค่าเท่ากับ 0.57, 1.12 และ 0.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงว่า แม้จะใช้ความเข้มข้นเดียวกันของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดในการยับยั้งเชื้อชนิดหนึ่ง อาจให้ผลการยับยั้งหรือมีค่า MIC ที่แตกต่างกันในเชื้ออีกชนิดหนึ่งได้ ดังนั้น ผลของสารประกอบที่แตกต่างกันในพืชแต่ละชนิดจะส่งผลต่อกลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน หรือทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่แตกต่างกัน เช่น องค์ประกอบทางเคมีที่พบในหมากฮอดประกอบด้วยสารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอล เช่น ฟลาโวน แทนนิน และกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้แก่ agathisflavone, 3-heptadecyl

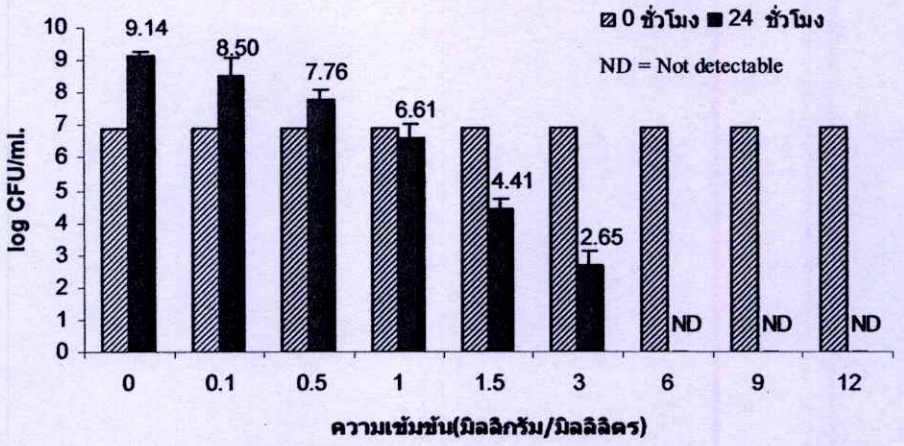
catechol, (+)-gallocatechol, gallotannin, semialotic acid, semimoronic acid, tannic acid และ tannin เป็นต้น นอกจากนั้นยังมีสารในกลุ่ม alkylsalicylic ที่มีฤทธิ์ในการต้านเนื้องอก รวมถึงเอนไซม์ hyaluronidase ที่ต้านการอักเสบและการแพ้อีกด้วย (นันทวันและอรนุช, 2542)

4.3.2 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Broth dilution method

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากพืช โดยทำการเจือจางสารสกัดที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยอาหารเหลว จนได้ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 3 สายพันธุ์คือ *S. aureus*, *B. subtilis* และ *L. innocua* โดยวิธี broth dilution method แล้วตรวจผลการเจริญภายหลังการบ่ม 24 ชั่วโมง ด้วยการวัดความขุ่นจากการเจริญของเชื้อด้วยเครื่อง Microtiter Plate Reader ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร เพื่อหาค่า MIC ของสารสกัดที่เป็นค่าต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดลองสามารถแสดงดังตารางที่ ค8-ค25 (ภาคผนวก ข) นอกจากนี้ยังพบว่า มีพืชจำนวน 3 ชนิดได้แก่ ดอกหมากฮอด ผลสะเรียมดง และมันปลา ไม่สามารถวัดความขุ่นได้ เนื่องจากสีของสารสกัดรบกวนการดูดกลืนแสงของเครื่องสเปคโตรมิเตอร์ รวมทั้งพบการตกตะกอนของสารสกัดอีกด้วย ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์การเจริญของเชื้อด้วยวัดความขุ่นจากการเจริญของเชื้อได้ ดังนั้นจึงตรวจผลการออกฤทธิ์ภายหลังการบ่ม 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับเชื้อเริ่มต้น (control) ณ 0 ชั่วโมง ด้วยการนับจำนวนเชื้อบนผิวหน้าอาหารแข็ง ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากผลสะเรียมดง มันปลาและหมากฮอด ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*, *B. subtilis* และ *L. innocua* โดยปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลือรอดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมสารสกัดจากผลสะเรียมแสดงดังภาพที่ 4.1-4.3 ส่วนในสารสกัดมันปลาและหมากฮอดแสดงในภาคผนวก ค (ภาพที่ ค1-ค5)

จากผลการทดลองทั้งจากการวิเคราะห์ด้วยวิธีการวัดความขุ่น พบว่า ค่า MIC จะวิเคราะห์ได้จากความขุ่นที่ไม่เปลี่ยนแปลง เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของความขุ่น แสดงว่า เชื้อจุลินทรีย์มีการเจริญเติบโต ส่วนค่า MIC ที่วิเคราะห์ด้วยวิธีการนับจำนวนเชื้อบนผิวหน้าอาหารแข็ง จะคำนวณจากปริมาณเชื้อที่คงที่ อย่างไรก็ตาม การทดลองทั้ง 2 จะให้ผลสอดคล้องกัน กล่าวคือ การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด จะมีความสัมพันธ์กับการลดลงของปริมาณเชื้อที่เหลือรอด

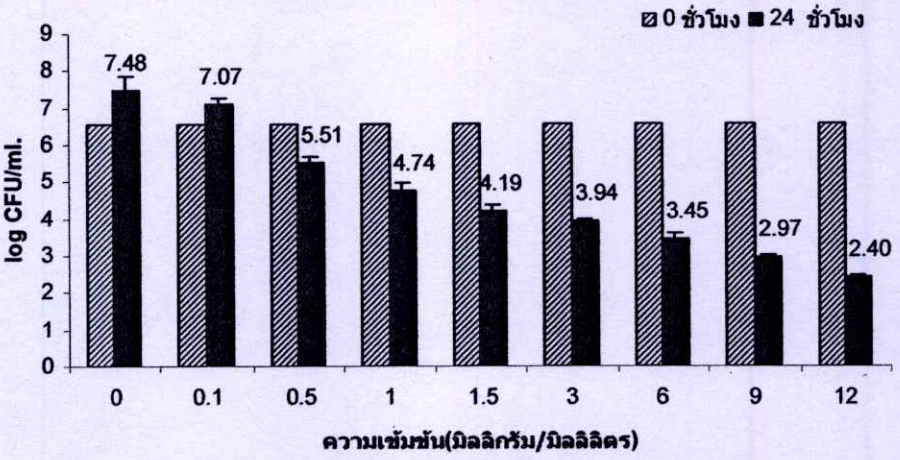
ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อของ *S. aureus* มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.90±0.05 log CFU และภายหลังจากการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้น 2.24 log CFU ต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 4.1) จากกราฟแสดงให้เห็นว่า การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากผลสะเรียมดง จะส่งผลให้ปริมาณจุลินทรีย์ลดลงตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การใช้สารสกัดจากผลสะเรียมดงที่ความเข้มข้น



ภาพที่ 4.1 ผลการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากผลสะเรียมดงที่ความเข้มข้น 0.1 -12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เชื้อ *S. aureus* เริ่มต้น 6.90±0.05 log CFU)

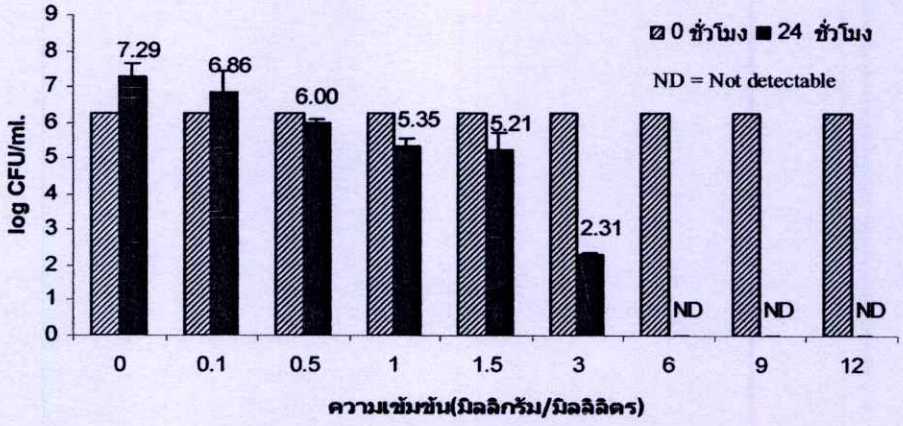
มากกว่า 6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่พบการเหลือรอดของจุลินทรีย์ ส่วนการเพิ่มความเข้มข้นจาก 0 ถึง 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* แต่ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลสะเรียมดงเท่ากับ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีปริมาณจุลินทรีย์เท่ากับ 6.61±0.38 log CFU ต่อมิลลิลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกับปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากผลสะเรียมดงที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ หรือ MIC จึงเท่ากับ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 1.5 และ 3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ลดลงเฉลี่ย 2.49 และ 4.25 log CFU ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น และมีค่า MBC เท่ากับ 3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยปริมาณเชื้อมีค่าลดลงมากกว่า 3 log CFU หรือ 99.9 เปอร์เซ็นต์

ปริมาณ *B. subtilis* ที่เวลา 0 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.56±0.09 log CFU /มิลลิลิตร และภายหลังจากการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 7.48±0.35 log CFU/มิลลิลิตร และสารสกัดจากผลสะเรียมดงที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อชนิดนี้ได้ แต่การเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดจากผลสะเรียมดงให้มากกว่า 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนเชื้อเริ่มต้น (ภาพที่ 4.2) โดย มีปริมาณจุลินทรีย์เหลือรอด 5.51±0.14 log CFU/มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร หรือลดจำนวนลง 1.04 log CFU ดังนั้นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อในการทดลองนี้ จึงมีค่าเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



ภาพที่ 4.2 ผลการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ของสารสกัดจากผลสะเรียมดงที่ความเข้มข้น 0.1 -12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เชื้อ *B. subtilis* เริ่มต้น 6.56±0.09 log CFU)

เชื้อ *L. innocua* จะเพิ่มขึ้น 1.06 log CFU/มิลลิลิตร ภายหลังจากการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.3) การใช้สารสกัดจากผลสะเรียมดงเข้มข้น 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีปริมาณจุลินทรีย์เท่ากับ 6.86 และ 6.00 log CFU /มิลลิลิตรตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารที่ผสมสารสกัดจากผลสะเรียมดงเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างกับปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นค่า MIC จึงเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบค่า MBC เท่ากับ 3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร การใช้สารสกัดเข้มข้นสูงกว่า 6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จะไม่พบการเหลือรอดของจุลินทรีย์



ภาพที่ 4.3 ผลการยับยั้งเชื้อ *L. innocua* ของสารสกัดจากผลสะเรียมดงที่ความเข้มข้น 0.1 -12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เชื้อ *L. innocua* เริ่มต้น 6.23±0.21 log CFU)

ผลการทดสอบสารสกัดจากพืชที่คัดเลือกไว้ต่อจุลินทรีย์ทั้ง 3 สายพันธุ์ (ตารางที่ 4.11) พบว่า สารสกัดจากผลสะเรียมดงและดอกหมากฮอดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รองลงมา ได้แก่สารสกัดจากพืชที่มีค่า MIC ค่าเท่ากันจำนวน 2 ชนิด หรือเท่ากับ 1.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร คือ มันปลาและส้มกำปัง ส่วนค่า MIC ของสารสกัดจากสาบเสือมีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าความเข้มข้นต่ำสุดของพืชป่าทั้ง 10 ชนิดที่คัดเลือกมาทดสอบในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* นั้น ส่วนใหญ่มีค่า MIC ระหว่าง 1.0-6.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้ ยังพบว่า สารสกัดจากผลหมากม่วงเครือที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อต่ำกว่าสารสกัดจากพืชชนิดอื่น หรือมีค่า MIC เท่ากับ 35.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ตารางที่ 4.11 ค่า MIC ของสารสกัดจากพืชต่อเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Broth dilution method

ตัวอย่างพืช	ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากพืชที่มีวิถีการออกฤทธิ์แบบยับยั้ง (Minimum inhibitory concentration ; MIC) (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)		
	S. aureus	*B. subtilis*	*L. innocua*
กอมขม	3.0	1.5	-
หญ้าแหลมนกไส้	3.0	3.0	6.0
มะขามป้อม	3.0	1.5	-
ส้มกำปัง	1.5	1.5	-
สาบเสือ	6.0	6.0	12.0
ผลหมากม่วงเครือ	35.0	8.0	15.0
มะเดื่อกวาง	3.0	1.5	6.0
ผลสะเรียมดง	1.0	0.5	0.5
มันปลา	1.5	0.5	1.0
ดอกหมากฮอด	1.0	0.5	-

หมายเหตุ : (-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

สำหรับ *B. subtilis* ความเข้มข้นต่ำสุดของพืชป่าที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ส่วนใหญ่มีค่า MIC ระหว่าง 1.5-8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยสารสกัดที่มีค่า MIC ต่ำที่สุด หรือสามารถยับยั้งเชื้อชนิดนี้ได้ดีที่สุดมี 3 ชนิด คือ ผลสะเรียม มันปลา และดอกหมากฮอด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รองลงมาคือ กอมขม มะขามป้อม ส้มกำปัง และมะเดื่อกวาง โดยมีค่า MIC เท่ากับ 1.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือจะมีประสิทธิภาพด้อยที่สุด คือมีค่า MIC เท่ากับ 8.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สำหรับการทดสอบใน *L. innocua* มีค่า MIC ระหว่าง 0.5-15.0

มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าสารสกัดจากผลสะเรียมดงสามารถยับยั้งเชื้อ *L. innocua* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รองลงมาได้แก่ มันปลามีค่า MIC เท่ากับ 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สารสกัดจากหญ้าแหลมนกไส้และมะเดื่อกวางและมีค่า MIC เท่ากัน คือ 6.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากสาบเสือและผลหมากม่วงเครือมีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถในการยับยั้งเชื้อที่ระดับ 12.0 และ 15.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

จากตารางที่ 4.11 จะเห็นได้ว่า ค่า MIC ของเชื้อ *B. subtilis* ส่วนใหญ่มีค่าต่ำกว่า หรือเท่ากับเชื้อ *S. aureus* ดังนั้น เชื้อ *B. subtilis* มีแนวโน้มที่จะไวต่อสารสกัดพืชมากที่สุด ส่วน เชื้อ *L. innocua* จะมีความต้านทานมากที่สุด เนื่องจากมีค่า MIC สูงกว่าเชื้อชนิดอื่นๆ ยกเว้น สารสกัดจากหมากม่วงเครือที่มีค่า MIC เท่ากับ 35.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่า ผลการทดลองในขั้นตอนนี้สอดคล้องกับผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อในข้อ 4.1 เบื้องต้น ที่พบว่าเชื้อ *B. subtilis* จะมีความไวต่อสารสกัดมากที่สุด

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบผลที่ได้กับค่า MIC ด้วยวิธี broth dilution method กับการทดสอบด้วยวิธี agar disc diffusion ในข้อ 4.3.1 พบว่าสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *L. innocua* ต่ำกว่า ซึ่งผลที่ได้จากการทดลองด้วยสารสกัดหยาบด้วยวิธี agar disc diffusion มีค่า MIC เท่ากับ 5.6 และ 11.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนค่า MIC ที่ได้จากวิธี broth dilution method มีค่าเท่ากับ 35.0 และ 15.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากขั้นตอนที่ใช้ในการเตรียมสารสกัดจากพืช จะต้องผ่านกระบวนการทำให้เข้มข้นด้วยการระเหยตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จากนั้นทำให้แห้งด้วยวิธี freeze dry แล้วจึงเตรียมสารละลายโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายแทนแอลกอฮอล์ 80 เปอร์เซ็นต์ และขั้นตอนสุดท้ายเป็นการกรองผ่านเมมเบรน ดังนั้น ขั้นตอนเหล่านี้อาจส่งผลกระทบต่อชนิดและความเข้มข้นของสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ ไม่ว่าจะเป็น การถูกทำลายด้วยความร้อน หรือ การสัมผัสอากาศทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เป็นต้น รวมทั้งความสามารถในการละลาย เช่น น้ำมันหอมระเหยที่สามารถละลายได้ในส่วนของเอทานอล แต่ไม่ละลายในน้ำ จึงพบการแยกชั้นเป็นแผ่นฟิลม์ที่ผิวหน้าของสารละลาย และไม่สามารถกรองผ่านเมมเบรนได้ ดังนั้น จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือลดลง การทดลองสอดคล้องกับรายงานของ เกล้ายุคล (2547) พบว่า การทดสอบเบื้องต้นสารสกัดหยาบจากเมล็ดธูปฤาษีสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ได้ดี แต่เมื่อนำมาทำให้เข้มข้นขึ้นกลับไม่ได้ผลนั้นอาจเนื่องมาจากกระบวนการที่ใช้อาจทำให้สารบางอย่างถูกแยกออกไป คงมีแต่สารบางชนิดที่ผ่านกระบวนการมาได้ ซึ่งอาจมีปริมาณและชนิดของสารลดลง จึงทำให้การออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลง

4.4 วิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดพืชป่าในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

ภายหลังการวิเคราะห์หาค่า MIC หรือความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากพืชที่คัดเลือกทั้ง 10 ชนิด ในการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus*, *B. subtilis* และ *L. innocua* จึงตรวจสอบวิถีการออกฤทธิ์แบบทำลาย (Bactericidal effect) ของสารสกัดพืชต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ เริ่มจากค่า MIC และเพิ่มขึ้นไปอีก 2 ระดับ โดยตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ภายหลังการบ่ม 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลการทดลองเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อ (Minimum bactericidal concentration ; MBC) โดยค่า MBC คือความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียตั้งต้นได้มากกว่าหรือเท่ากับ 99.9 เปอร์เซ็นต์ หรือ 3 log CFU ต่อมิลลิลิตร ภายหลังบ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (NCCLS, 1999) ผลการทดลองสามารถแสดงตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 ค่า MBC ของสารสกัดจากพืชต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

ตัวอย่างพืช	ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากพืชที่มีวิถีการออกฤทธิ์แบบทำลาย (Minimum bactericidal concentration ; MBC) (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)		
	S. aureus	*B. subtilis*	*L. innocua*
กอมขม	6.0	>6.0	*
หญ้าแหลมนกไส้	6.0	>9.0	9.0
มะขามป้อม	9.0	>6.0	*
ส้มกำปัง	6.0	>6.0	*
สาบเสือ	12.0	>9.0	15.0
ผลหมากม่วงเครือ	45.0	>12.0	20.0
มะเดื่อกวาง	>9.0	>6.0	9.0
ผลสะเรียมดง	3.0	6.0	3.0
มันปลา	9.0	9.0	12.0
ดอกหมากฮอด	6.0	9.0	*

หมายเหตุ : (*) ไม่ได้ทดสอบ

ค่า MBC คือความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าทำลายเชื้อแบคทีเรียได้มากกว่าหรือเท่ากับ 99.9 เปอร์เซ็นต์ (NCCLS, 1999)

จากผลการทดลองในตาราง 4.12 เห็นได้ว่าความเข้มข้นต่ำสุดของพืชป่าทั้ง 10 ชนิด ในการทำลายเชื้อ *S. aureus* และ *L. innocua* นั้น ส่วนใหญ่มีค่า MBC สูงกว่าค่า MIC ขึ้นไปอีกสองระดับ

ซึ่งค่า MBC ต่ำสุดของทั้งเชื้อ 2 เท่ากับ 3.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *B. subtilis* เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นที่สูงกว่าค่า MIC ขึ้นอีกสองระดับ พบว่าสารสกัดส่วนใหญ่ยังคงมีฤทธิ์แบบยับยั้งการเจริญของเชื้อ (bacteriostatic effect) และมีสารสกัดจากพืชเพียง 3 ชนิดที่มีผลในการทำลายเชื้อโดยมีค่าเท่ากับ 0.60 และ 0.90 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แสดงว่าเชื้อ *B. subtilis* สามารถมีความต้านทานในการทำลายของสารสกัดมากที่สุด (ตารางที่ 4.12) ซึ่งผลการทดลองในขั้นตอนนี้ขัดแย้งกับผลการทดลองในการหาค่าความต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ ในข้อ 4.3 ที่พบว่า เชื้อ *B. subtilis* มีความไวต่อสารสกัดมากที่สุด แสดงให้เห็นว่าถึงแม้เชื้อจะมีความไวต่อการยับยั้ง แต่ฤทธิ์ของสารสกัดอาจไม่สามารถทำลายจุลินทรีย์ให้ตายลง หรือลดจำนวนลงได้มากกว่า 99.9 เปอร์เซ็นต์ได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกลไกการออกฤทธิ์ในการทำลายของสารสกัดที่มีต่อเชื้อชนิดนั้นๆ

จากผลการวิเคราะห์หาค่า MBC ของเชื้อ *S. aureus* พบว่าสารสกัดจากผลสะเรียมดงมีความสามารถในการทำลายเชื้อได้ดีที่สุด โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นจากค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อซึ่งเท่ากับ 1 เป็น 3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าจำนวนเชื้อลงลด 3.96 log CFU/มิลลิลิตร (ภาพที่ 4.1) และไม่พบการเจริญของเชื้อเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งปริมาณเชื้อลดลงมากกว่า 99.9 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดจากผลสะเรียมดงมีสมบัติการออกฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *S. aureus* โดยมีค่า MBC เท่ากับ 3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ตารางที่ 4.12)

เมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดจากดอกหมากฮอด ส้มกำปัง กอมขม และหญ้าแหลมนกไส้ จากค่า MIC เป็น 6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าดอกหมากฮอดและส้มกำปังสามารถลดจำนวนเชื้อ *S. aureus* ลงได้ 3.39 และ 3.80 log CFU /มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางในภาคผนวกที่ ค26) และไม่พบการเจริญของเชื้อในสารสกัดกอมขมและหญ้าแหลมนกไส้ นอกจากนั้นยังพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของมะขามป้อมเป็น 6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีปริมาณเชื้อลดลงเหลือ 4.78 log CFU/มิลลิลิตร (ตารางในภาคผนวกที่ ค26) และไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้น 9 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ดังนั้นสารสกัดจากดอกหมากฮอด ส้มกำปัง กอมขม และหญ้าแหลมนกไส้มีสมบัติการออกฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *S. aureus* โดยค่า MBC เท่ากับ 6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และมะขามป้อมที่ 9 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือมีฤทธิ์ในการทำลายต่ำที่สุด โดยมีค่า MBC สูงถึง 45 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนั้นยังพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสารสกัดจากมะเดื่อกวางเป็น 9 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จะสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ในระดับหนึ่งแต่ไม่สามารถลดลงได้ 99.9 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าสารสกัดจากมะเดื่อกวางที่ 9 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขึ้นไป ออกฤทธิ์เป็นแบบยับยั้ง

ส่วนในเชื้อ *B. subtilis* พบว่าสารสกัดจากผลสะเรียมดง ดอกหมากฮอด และมันปลามีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อเท่ากันที่ 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดจากผลสะเรียมดงเป็น 6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าเชื้อมีจำนวนลดลงมากกว่า 99.9 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.2) ในขณะที่ดอกหมากฮอดและมันปลาต้องใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 9 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จึงจะลดปริมาณได้เช่นเดียวกัน (ภาพในภาคผนวกที่ ค1-5) ดังนั้นพืชที่มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อดีที่สุด คือ

ผลสะเรียมดง มีค่า MBC เท่ากับ 6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รองลงมาได้แก่ หมากฮอดและมันปลา ซึ่งมีค่า MBC เท่ากันคือ 9 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากพืชชนิดอื่นพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นอีก 2 ระดับจากค่า MIC จะมีผลทำให้เชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่สามารถลดลงได้ถึง 99.9 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นสารสกัดจากพืชส่วนใหญ่จึงมีวิถีการออกฤทธิ์เป็นแบบยับยั้ง ตามข้อกำหนดของ National Committee for Laboratory Standards (NCCLS, 1999) กำหนดให้สารต้านแบคทีเรียที่มีวิถีการออกฤทธิ์เป็นแบบฆ่าทำลายจะต้องสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ 99.9 เปอร์เซ็นต์

การออกฤทธิ์ของสารสกัดที่มีต่อเชื้อ *L. innocua* พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดผลสะเรียมดงเป็น 3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เชื้อมีจำนวนลดลง 3.92 log CFU/มิลลิลิตร (ภาพที่ 4.3) หญ้าแหลมนกไส้และมะเดื่อกวางจะมีปริมาณเชื้อลดลงมากกว่า 99.9 เปอร์เซ็นต์ (ตารางในภาคผนวกที่ ค26) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 9 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนมันปลาเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าเชื้อมีจำนวนลดลงเหลือ 2.95 log CFU/มิลลิลิตร (ตารางในภาคผนวกที่ ค26) ซึ่งลดลงมากกว่า 99.9 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสาบเสือและผลหมากม่วงเครือมีความสามารถในการทำลายต่ำ ซึ่งมีค่า MBC เท่ากับ 15 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดจากผลสะเรียมดงมีสมบัติการออกฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *L. innocua* สูงที่สุด โดยมีค่า MBC เท่ากับ 3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

เมื่อพิจารณาผลการทดสอบของสารสกัดจากดอกหมากฮอด กอมขม ส้มกำปัง และหญ้าแหลมนกไส้ ซึ่งมีค่า MBC เท่ากันคือ 6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แต่มีค่า MIC ที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4.12) แสดงว่าถึงแม้ว่าสารสกัดของพืชแต่ละชนิดจะมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ไม่เท่ากัน แต่อาจมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันได้ ในขณะเดียวกันสารสกัดที่มีค่า MIC เท่ากัน เช่น กอมขม หญ้าแหลมนกไส้ และมะขามป้อม เป็นต้น กลับพบว่ามีความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในพืชแต่ละชนิด รวมถึงสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบด้วย Haraguchi (1998) ได้ศึกษาสารประกอบที่ยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ที่ได้จากพืช พบว่า สารประกอบกลุ่ม sesquiterpenoids มีผลทำให้เซลล์แบคทีเรียแตก ส่วนสารประกอบกลุ่ม diterpenes จะยับยั้งกระบวนการหายใจของแบคทีเรีย สำหรับสารประกอบ flavonoids (เช่น robinetin และ myricetin) จะขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA) และอาร์เอ็นเอ (RNA) ในแบคทีเรีย

เมื่อเปรียบเทียบค่า MIC และ MBC ของสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ต่อเชื้อ *S. aureus*, *B. subtilis* และ *L. innocua* พบว่าสารสกัดบางชนิด เช่น ผลสะเรียมดงที่มีค่าต่ำสุดในการยับยั้งและการทำลายใกล้เคียงกัน โดยมีค่า MIC ของเชื้อ *S. aureus*, *B. subtilis* และ *L. innocua* เท่ากับ 1.0, 0.5 และ 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนค่า MBC เท่ากับ 3.0, 6.0 และ 3.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงว่ามีการออกฤทธิ์เป็นแบบฆ่าทำลาย ซึ่งสารต้านแบคทีเรียที่มีวิถีการออกฤทธิ์เป็นแบบฆ่าทำลายจะมีค่า MIC และ MBC เหมือนหรือใกล้เคียงกัน ส่วนสารที่มีวิถีการออกฤทธิ์เป็นแบบยับยั้ง จะให้ค่า MBC สูงกว่าค่า MIC ในหลายๆความเข้มข้น และอัตราส่วนของ MIC และ

MBC มักแปรผันตามชนิดของสารและเชื้อที่ใช้ทดสอบ (มาลิน, 2540) จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าความสามารถของสารสกัดในการยับยั้งแบคทีเรีย ไม่สามารถกำหนดได้ว่าสารสกัดชนิดนั้นๆ จะมีการออกฤทธิ์ว่าเป็นแบบฆ่าทำลาย(bactericidal) หรือออกฤทธิ์เป็นแบบยับยั้ง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารออกฤทธิ์ที่พบในพืช ปริมาณความเข้มข้นของสาร และกลไกการยับยั้งที่มีต่อจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์

การออกฤทธิ์ของสารสกัดในลักษณะแบบฆ่าทำลายนี้มักเกิดจากสารต้านจุลินทรีย์มีผลยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ซึ่งออกฤทธิ์โดยการขัดขวางการสังเคราะห์องค์ประกอบของผนังเซลล์ที่สำคัญ คือ N-acetyl muranmic acid และ N- acetyl glucosamine ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถแบ่งเซลล์ได้ และทำให้เซลล์แตกในที่สุด นอกจากนี้การรบกวนหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ก็เป็นอีกกลไกที่มีผลการออกฤทธิ์แบบฆ่าทำลาย โดยสารต้านจุลินทรีย์จะมีผลไปขัดขวางหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ เป็นผลให้การนำสารเข้าสู่เซลล์และการขับเอนไซม์ออกมาภายนอกเซลล์ผิดปกติ ส่งผลให้เซลล์ตายในที่สุด (มาลิน, 2542)

จากการทดลองทั้งหมดสรุปได้ว่าสารสกัดจากผลสะเรียมดง มีขอบเขตการยับยั้งในแบคทีเรียได้มากที่สุดจำนวน 4 สายพันธุ์ คือ *S. aureus*, *B. subtilis*, *L. innocua* และ *Lc. lactis* รวมทั้งมีขนาดวงใสในทุกเชื้อทดสอบขนาดใหญ่กว่าสารสกัดจากพืชชนิดอื่นๆ โดยมีขนาดระหว่าง 13.53±0.14 ถึง 20.15±0.64 มิลลิเมตร เมื่อวิเคราะห์หาค่า MIC ด้วยวิธี Agar disc diffusion ในแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ยกเว้น *Lc. lactis* พบว่ามีค่าระหว่าง 0.11-0.45 เปอร์เซ็นต์ ส่วน MIC โดยวิธี Broth dilution method มีค่าเท่ากับ 0.5-1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และมีวิถีการออกฤทธิ์แบบทำลายต่อเชื้อทุกชนิด โดยมีค่า MBC เท่ากับ 3.0-6.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากผลสะเรียมดงให้ค่าในการยับยั้งสูงกว่าสารสกัดจากพืชชนิดอื่นๆ ในทุกวิธีการทดสอบ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบของสารพฤกษเคมีที่มีอยู่ในผลสะเรียมดง มีปริมาณสารที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อสูงกว่าพืชชนิดอื่นๆ และมีการออกฤทธิ์ที่กว้างต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ นอกจากนั้นสารสกัดยังมีความคงตัวสูง แม้ว่าจะผ่านกระบวนการเตรียมในขั้นตอนต่างๆ ก็ตาม

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

สารสกัดด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ของพืชป่าจำนวน 45 ชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์ และราจำนวนทั้งสิ้น 13 สายพันธุ์ พบว่าสารสกัดจากพืชจำนวน 20 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบและให้ผลการแสดงฤทธิ์ได้ดีที่สุด ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกบางสายพันธุ์ แต่ไม่มีผลยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และรา ส่วนสารสกัดจากพืชป่าอีก 25 ชนิด ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทุกสายพันธุ์

สารสกัดจากพืชป่าที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย คือ กอมขม ก้างปลาแดง จะค่านหัววอก ชาป่า ผักเผ็ด ผักเฮือด มันปลา มะขามป้อม มะเดื่อกวาง ไม้ก้าว ไม้อั้น ส้มกำปัง สะบ้า ผลและใบสะเรียมดง สาบเสือ ห้าส้วย หางกระรอกแดง หญ้าแหลมนกไส้ ผลและใบหมากม่วงเครือ และดอกหมากฮอด นอกจากนี้สารสกัดจากผลของสะเรียมดง จะมีขอบเขตการยับยั้งและความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด โดยยับยั้งการเจริญของ *S. aureus*, *B. subtilis*, *L. innocua* และ *Lc. lactis* และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ของแบคทีเรีย พบว่าเชื้อ *B. subtilis* มีความไวมากที่สุด โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสขนาดใหญ่กว่าในแบคทีเรียชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดจากพืชส่วนใหญ่จะสามารถยับยั้งของ *S. aureus*, *B. subtilis* และ *L. innocua* และสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Lc. lactis* ได้มีเพียง 2 ชนิด คือ สารสกัดจากผลสะเรียมดง และสาบเสือ

การเปรียบเทียบสารสกัดจากพืชที่คัดเลือกจำนวน 10 ชนิด กับความเข้มข้นของคลอแรมฟีนิคอล พบว่าสารสกัดจากผลสะเรียมดงที่ความเข้มข้น 3.57 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* , *L. innocua* และ *B. subtilis* สูงที่สุด มีฤทธิ์ดีกว่าคลอแรมฟีนิคอล ความเข้มข้น 0.70, 0.70 และ 1.40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ สำหรับเชื้อ *Lc. lactis* ยับยั้งได้ดีกว่าคลอแรมฟีนิคอลที่ความเข้มข้น 0.15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สารสกัดจากมะเดื่อกวางมีผลในการยับยั้งเชื้อต่ำที่สุด โดยให้ผลยับยั้งอยู่ในช่วง 0.2 - 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในเชื้อทดสอบทั้ง 3 ชนิด

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากผลสะเรียมดงให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC ของเชื้อ *S. aureus* และ *B. subtilis* เท่ากับ 0.11 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ส่วน MIC ของเชื้อ *L. innocua* มีค่า 0.45 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 0.06 เปอร์เซ็นต์ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ ส่วนสารสกัดหยาบจากมันปลา จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งต่ำที่สุดที่มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 1.44-2.87 เปอร์เซ็นต์

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (MIC) ของสารละลายพืชด้วยน้ำกลั่น ในการทดสอบแบบ broth dilution พบว่าผลสะเรียมดงให้ผลในการยับยั้งเชื้อดีที่สุด โดยในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* มีค่า MIC เท่ากับ 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนเชื้อ *B. subtilis* และ *L. innocua* มีค่าเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมีวิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดแบบทำลาย โดยค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลาย (MBC) เท่ากับ 3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในเชื้อ *S. aureus* และ *L. innocua* ส่วน *B. subtilis* มีค่าเท่ากับ 6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้ ผลหมากม่วงเครือมีฤทธิ์ต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด

วิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชป่าในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่าค่า MIC 2 อันดับ พบว่าสารสกัดส่วนใหญ่ มีวิถีการออกฤทธิ์แบบทำลายต่อเชื้อ *S. aureus* ส่วนในเชื้อ *L. innocua* พบว่าสารสกัดจากพืชทุกชนิดมีฤทธิ์ในการทำลายการเจริญของเชื้อโดยสารสกัดจากผลสะเรียมดง มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *S. aureus* และ *L. innocua* ดีที่สุด โดยมีค่า MBC เท่ากับ 3.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนั้นยังพบว่าสารสกัดส่วนใหญ่มีวิถีการออกฤทธิ์เป็นแบบยับยั้งต่อเชื้อ *B. subtilis* ยกเว้น ผลสะเรียมดง หมากฮอด และมันปลา ที่มีฤทธิ์ทำลายเชื้อ *B. subtilis* โดยผลสะเรียมดงมีค่า MBC ต่ำที่สุด เท่ากับ 6.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

จากการทดลองทั้งหมดสรุปได้ว่า สารสกัดจากพืชหลายชนิดยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดี โดยเฉพาะผลสะเรียมดงซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งได้ดีที่สุด โดยพิจารณาจากจำนวนเชื้อที่ยับยั้งได้ขนาดวงใส และมีค่า MIC ต่ำสุดเมื่อทดสอบด้วยวิธี agar disc diffusion และ broth dilution method นอกจากนั้นยังมีวิถีการออกฤทธิ์แบบทำลายต่อเชื้อทุกชนิด ซึ่งมีค่า MBC ต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดชนิดอื่น จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากผลสะเรียมดงให้มีความสามารถในการยับยั้งสูงกว่าสารสกัดจากพืชชนิดอื่นๆ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาสารสำคัญและสารที่ออกฤทธิ์ต่อเชื้อจุลินทรีย์ รวมถึงความเป็นพิษและความเป็นไปได้ในการนำสารจากผลสะเรียมดง เพื่อใช้ทดแทนสารเคมีที่ใช้ยับยั้งจุลินทรีย์เพื่อก่อให้เกิดประโยชน์ต่อไป

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การนำพืชมาใช้ทดสอบควรมีการตรวจสอบชื่อ ชนิด หรือพันธุ์พืชให้ถูกต้องชัดเจน เนื่องจากพืชบางชนิดมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่คล้ายกัน อาจทำให้เกิดการสับสนได้ รวมทั้งการเลือกส่วนต่างๆของพืชมาใช้ทดสอบ เพราะแต่ละส่วนของพืชจะมีปริมาณสารสำคัญไม่เท่ากันหรือมีอยู่เพียงบางส่วนของต้นพืชเท่านั้น ซึ่งจะทำให้ผลการออกฤทธิ์แตกต่างกัน

5.2.2 การเลือกวิธีทดสอบ รวมถึงการเลือกอาหารเลี้ยงที่ใช้ในการทดลอง ควรเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อทดสอบแต่ละชนิด และไม่ทำปฏิกิริยากับสารทดสอบเพื่อให้สามารถตรวจสอบวงใสในการยับยั้งเชื้อได้ชัดเจน โดยสามารถปฏิบัติตามวิธีการมาตรฐานในการตรวจสอบความไวของเชื้อต่อ

สารปฏิชีวนะโดย National Committee for Laboratory Standards (NCCLS) ซึ่งได้กำหนดปัจจัยต่างๆ รวมถึงวิธีการในการทดสอบ ทำให้ผลการทดลองมีความน่าเชื่อถือยิ่งขึ้น

5.2.3 การละลายสารสกัดด้วยน้ำกลั่นอาจละลายได้ยาก โดยเฉพาะสารที่มีลักษณะเป็นน้ำมัน จึงอาจทำให้สารบางส่วนละลายได้ไม่หมด ส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อได้ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาสารที่ใช้เป็นตัวทำละลาย เพื่อให้สารสกัดสามารถละลายได้มากที่สุด และไม่มีผลกระทบต่อการฤทธิ์ของสารสกัด

5.2.4 การนำสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อสูงไปประยุกต์ใช้ ควรมีการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดในด้านอื่นๆ รวมถึงความเป็นพิษหรือวิเคราะห์องค์ประกอบสำคัญของสารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เพื่อสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในขั้นอุตสาหกรรมต่อไป

บรรณานุกรม

กนกรัตน์ ศิริพานิชกร. 2548. **คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยา.** กรุงเทพฯ : ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 182 หน้า.

กรมป่าไม้. 2542. **พรรณไม้ต้นของประเทศไทย.** ไดมอนด์ พริ้นติ้ง จำกัด. กรุงเทพฯ. 212 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2550. **พระราชบัญญัติคุ้มครองพันธุ์พืช.** [Online], available: http//www.doa.go.th/public/.html. (Accessed 27 September 2007).

กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. 2548. **คู่มือศึกษาพันธุ์พืชป่า เล่ม 1.** กรุงเทพฯ. 190 หน้า.

กระทรวงสาธารณสุข. 2530. **ตารางแสดงคุณค่าอาหารไทยในส่วนที่กินได้ 100 กรัม.** [Online], available: http://nutrition.anamai.moph.go.th (Accessed 24 September 2008).

การตรวจสอบความไวของเชื้อต่อสารปฏิชีวนะ. 2550. [Online], available: http://www.ilti.kku.ac.th/ams/course/5sensitivity_test. (Accessed 27 September 2007).

ก่องกานดา ชยามฤต. 2528. **สมุนไพรไทย ตอนที่ 4.** ชุติมาการพิมพ์. กรุงเทพฯ. 290-515 หน้า.

ก่องกานดา ชยามฤต. 2540. **สมุนไพรไทย ตอนที่ 6.** ไดมอนด์ พริ้นติ้ง จำกัด. กรุงเทพฯ. 175 หน้า.

ก่องกานดา ชยามฤต และ ลีนา ผู้พัฒนพงศ์. 2545. **สมุนไพรไทย ตอนที่ 7.** ส่วนพฤกษศาสตร์ ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ หอพรรณไม้ กรมป่าไม้. ไดมอนด์ พริ้นติ้ง จำกัด. กรุงเทพฯ. 110 หน้า.

กัมพล อิศรางกูร ณ อยุธยา, ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ, เกรียงศักดิ์ พูนสุข, โสภณ เริงสำราญ, สมใจ เพ็งปรีชา และ อมร เพชรสม. 2523. **สมุนไพร : การรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นสำหรับงานวิจัย ของโครงการศึกษาวิจัยสมุนไพร อันดับที่ 01.** จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 211 หน้า.

กัมพล อิศรางกูร ณ อยุธยา, ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ, เกรียงศักดิ์ พูนสุข, มยุรี หาญตระกูล และโสภณ เริงสำราญ. 2528. **สมุนไพร : การรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นสำหรับงานวิจัย ของโครงการศึกษาวิจัยสมุนไพร อันดับที่ 03.** จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 195 หน้า.

กุลยา วงศ์วัชรไพบูลย์ และ สุภาพร ถาวรพรชัย. 2537. **เทคโนโลยีการเตรียมสารสกัดจากพืช.** ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 125 หน้า.

เกล้ายุคล สุจิรา. 2547. **ผลของสารสกัดจากธูปฤาษี *(Typha angustifolia Linn.)* ต่อการเจริญเติบโตของพืชและการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรค.** วิทยานิพนธมหาบัณฑิต. วิทยานิพนธ์ (วท.ม. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 104 หน้า.

จุรีย์รัตน์ ลีสมิทธิ์. 2548. **ปฏิบัติการจุลชีววิทยาทั่วไป**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 142 หน้า.

ณัฐ อาจสมิติ. 2551. **คุณค่าทางโภชนาการของพืชผักพื้นบ้านในประเทศไทย**. สรุปการบรรยายประชุมวิชาการ. กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข. [Online], available: http://www.dtam.moph.go.th (Accessed 27 September 2007).

เต็ม สมิตินันทน์. 2523. **ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย** (ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง). กรมป่าไม้ 379 หน้า.

ธนันต์ชัย กิจวิวัฒนาชัย และ ทวีชัย วชิรยนเสถียร. 2544. **การสำรวจสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพและ Hepatitis B Virus**. คณะเภสัชศาสตร์ สาขาวิจัยและพัฒนาเภสัชภัณฑ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 40 หน้า.

นวลศรี รักอริยะธรรม และอัญชนา เจนวิถีสุข. 2546. **แอนติออกซิแดนท์ สารต้านมะเร็งในผักสมุนไพรไทย**. นพบุรีการพิมพ์ จำกัด. เชียงใหม่. 218 หน้า.

นิจศิริ เรืองรังษี และ พยอม ตันติวัฒน์. 2534. **พืชสมุนไพร**. โอ. เอส. พริ้นติ้ง เฮ้าส์. กรุงเทพฯ. 243 หน้า.

นันทวัน บุญยะประภัศ และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. 2541. **สมุนไพรไม้พื้นบ้าน เล่ม 2**. บริษัทประชาชน กรุงเทพฯ. 640 หน้า.

นันทวัน บุญยะประภัศ และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. 2542. **สมุนไพรไม้พื้นบ้าน เล่ม 3**. บริษัทประชาชน. กรุงเทพฯ. 823 หน้า.

นันทวัน บุญยะประภัศ และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. 2543. **สมุนไพรไม้พื้นบ้าน เล่ม 4**. บริษัทประชาชน. กรุงเทพฯ. 740 หน้า.

บุศบรรณ ณ สงขลา. 2525. **สมุนไพรไทย ตอนที่ 1**. งานพฤกษศาสตร์ป่าไม้ กองบำรุง กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ. 95 หน้า.

ปริทรรศน์ ไตรสนธิ, พิทยา สรวมศิริ, นุชนารถ จงเลขา, ชูศรี ไตรสนธิ, เกรียงศักดิ์ ไชยโรจน์, กฤษณา ภูตะคาม, ญาณี พงศ์ไพบูลย์, ไพโรจน์ วิริยารี และ พรสวรรค์ ดิษยบุตร. 2545. **การใช้ประโยชน์พืชสมุนไพรในพื้นที่มูลนิธิโครงการหลวง**. รายงานการวิจัย. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 311 หน้า.

ปรีชา มูลสิน. 2551. **องค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราและยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส**. สำนักวิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี. 24 หน้า.

พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ. 2530. **สมุนไพรที่มีศักยภาพรักษามาลาเรีย**. ใน : การสัมมนาเนื่องในวันสถาปนา มหาวิทยาลัยมหิดล สมุนไพรที่มีศักยภาพรักษามาลาเรีย. กรุงเทพฯ : ห้างหุ้นส่วนจำกัด ภาพพิมพ์. 25-34 หน้า.

พรรนิภา ชุมศรี. 2520. **การตรวจสอบสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์**. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพฯ. 48 หน้า.

มาลิน จุลศิริ. 2540. **ยาต้านจุลชีพ : ความรู้พื้นฐานและประยุกต์**. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพฯ. 209 หน้า.

มาลิน จุลศิริ. 2542. **ยาต้านจุลชีพ : ความรู้พื้นฐานและประยุกต์**. โรงพิมพ์สถาบันพัฒนาการสาธารณสุขอาเซียน. นครปฐม. ไม่เรียงลำดับหน้า.

เมธิรา ถาวรสุขศิริ. **สมุนไพรพื้นบ้าน**. 2545. [Online], available: http://www.thaigoodview.com. (Accessed 22 September 2008).

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2545. **การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพร**. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. สมุทรปราการ. 196 หน้า.

วันดี กฤษณพันธ์. 2538. **สมุนไพรสารพัดประโยชน์**. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 264 หน้า.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2531. **พจนานุกรมสมุนไพรไทย**. โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ. 880 หน้า.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2540. **สารานุกรมสมุนไพร** : รวมหลักเภสัชกรรมไทย. สำนักพิมพ์โอเดียน สโตร์. กรุงเทพฯ . 616 หน้า.

ลีนา ผู้พัฒนพงศ์ และ ธวัชชัย วงศ์ประเสริฐ. 2530. **สมุนไพรไทย ตอนที่ 5**. ฝ่ายพฤกษศาสตร์ป่าไม้ กองบำรุง กรมป่าไม้. กรุงเทพฯ. 231 หน้า.

สมพร หิรัญรามเดช. 2546. **สมุนไพรใกล้ตัว เล่ม 6**. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 225 หน้า.

แสงระวี แก้วเมืองฝาง. 2543. **การตรวจหาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราในสมุนไพร 12 ชนิด**. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 58 หน้า.

สุกัญดา ไมตรีแก้ว. 2549. **ยา-สารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ บทความและงานวิจัยของกรมประมง**. [Online], available: http://www.nicaonline.com/ (Accessed 10 September 2007).

สุธรรม อารีกุล. 2534. **พืชยาฆ่าแมลงของไทย**. วารสารราชบัณฑิตยสถาน. 16(4): 45-67.

สุธรรม อารีกุล, จำรัส อินทร, สุวรรณ ทาเขียว, และ อ่องเต็ง นันทแก้ว. 2547. **องค์ความรู้เรื่องพืชป่าที่ชาวเขาใช้ประโยชน์ทางภาคเหนือของไทย เล่ม 1**. มูลนิธิโครงการหลวง. กรุงเทพฯ. 596 หน้า.

สุธรรม อารีกุล, จำรัส อินทร, สุวรรณ ทาเขียว, และ อ่องเต็ง นันทแก้ว. 2548. **องค์ความรู้เรื่องพืชป่าที่ชาวเขาใช้ประโยชน์ทางภาคเหนือของไทย เล่ม 2**. มูลนิธิโครงการหลวง. กรุงเทพฯ. 659 หน้า.

สุธรรม อารีกุล, จำรัส อินทร, สุวรรณ ทาเขียว, และ อ่องเต็ง นันทแก้ว. 2550. **องค์ความรู้เรื่องพืชป่าที่ชาวเขาใช้ประโยชน์ทางภาคเหนือของไทย เล่ม 3.** มูลนิธิโครงการหลวง. กรุงเทพฯ. 663 หน้า.

สุพรรณี มณีเลิศ และ อำนวยพร ลัทะรรมพงศา. 2521. **การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากผลมะระโดยทางจุลชีววิทยา.** คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดลกรุงเทพฯ. 16 หน้า.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545 **จุลชีววิทยาทางอาหาร.** เอส.บี. บิซิเนส. นนทบุรี. 454 หน้า.

สุมาลี นันทวุฒิกุล และ จุฑามาศ พักประไพ. 2542. **การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชสมุนไพร.** คณะเภสัชศาสตร์ สาขาวิจัยและพัฒนาเภสัชภัณฑ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 42 หน้า.

สุรวิทย์ สิมะรักษ์อำไพ. 2545. **วิทยาแบคทีเรีย.** คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏสุรินทร์. สุรินทร์. 600 หน้า.

อัญชัน ชุณหะหิรัณย์ และอดิศักดิ์ เอกโสวรรณ. 2545. **การประเมินสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ของของเหลวสกัดที่ได้จากใบสะระแหน่.** วารสารมหาวิทยาลัยหอการค้าไทย. 22(2). 64 – 72 หน้า.

อาภา หวังเกียรติ. 2538. **ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช.** วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 60 หน้า.

อุไร จิรมงคลการ, 2547. **ผักพื้นบ้าน 1.** สำนักพิมพ์บ้านและสวน. กรุงเทพฯ. 224 หน้า.

อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. 2536. **การสกัดและตรวจสอบสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ.** ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพฯ. 248 หน้า.

Alzoreky, N.S. and Nakahara, K. 2003. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. International Journal of Food Microbiology. 80: 223– 230.

Burt, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. International Journal of Food Microbiology. 94(3): 223-253.

Camporese, A., Balick, M.J., Arvigo, R., Esposito, R.G., Morsellino, N., De Simone, F. and Tubaro, A. 2003. Screening of anti-bacterial activity of medicinal plants from Belize (Central America). Journal of Ethnopharmacology. 87 :103–107.

Duffy, C.F. and Power, R.F. 2001. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plants extracts. International Journal of Antimicrobial Agents. 17: 527-529.

Dupont, S., Caffin, N., Bhandari, B. and Dykes, G.A. 2005. In vitro antibacterial activity of Australian herb extracts against food- related bacteria. Food Control. Accepted 11 June 2005.

Gopakumar, B., Ambika B. and Prabhu, V.K. 1979. Juvenomimetic activity in some south Indian plants and the probable cause of this activity in *Morus alba*. Entomon. 2: 259-261.

Haraguchi, H. 1998. Mode of action of antimicrobial substances in plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2: 259–268.

Kongcharoensuntorn, W., Chomosot, N., Jindamol, J., Arrayasillapathon, J., Charadram, P., Ounarom, S. and Pittayaphasertgul, A. 2005. Screening of some Thai medicinal plants for antimicrobial activity and antioxidant activity against microorganisms. 31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology. 4 p.

Krasaekoopt, W. and Kongkarnchanatip, A. 2005. Anti-microbial properties of Thai traditional flower vegetable extracts. Assumption University Journal of Technology. 9(2): 71-74.

Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P.J., and Nychas, G.J.E. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Journal of Applied Microbiology. 91(3): 453-462.

Lee, M.H., Kwon, H.A., Yeul Kwon, D., Park, H., Hwan, S. D., Chul, K. Y., Kug, E. S., Young, K. H., Kim, S.W. and Lee, J. H. 2006. Antibacterial activity of medicinal herb extracts against Salmonella. International Journal of Food Microbiology. 111: 270-275.

Lemmens, R.H.M.J. and Bungapraphatsara, N. (Editors). 2003. Plant resources of south east Asia No. 12(3): Medicinal and poisonous plants 3. Prosea Foundation. Bogor. Indonesia. pp 664.

Lin, C.M., Preston, J.F. and Wei, C.I. 2000. Antibacterial mechanism of allyl isothiocyanate. Journal of Food Protection. 63(6):727-34.

Mau, J., Chen, C. and Hsieh, P. 2001. Antimicrobial effect of extracts from Chinese chive, cinnamon, and corni fructus. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49(1): 183-188.

Nanasombat, S. and Lohasupthawee, P. 2005. Antimicrobial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against salmonellae and other enterobacteria. KMITL Science Technology Journal. 5: 527-538.

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), 1999. Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents; Approved Guideline. NCCLS document M26-A [ISBN 1-56238-384-1]. Pennsylvania. USA. 29 p.

Oliveira, D.F., Pereira A.C., Figueiredo, H. C.P, Carvalho, D. A., Silva, G., Nunes, A. S., Alves, D. S. and Carvalho, H.W.P. 2007. Antibacterial activity of plant extracts from Brazilian southeast region. Fitoterapia. 78 : 142–145.

Oonmetta-aree, J., Suzuki, T., Gasaluck, P. and Eumkeb, G. 2006. Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. LWT-Food Science and Technology. 39: 1214-1220.

Padua de, L.S., Bunyapraphatsara, N. and Lemmens, R.H.M.J. (Editors). 1999. Plant Resources of South-East Asia No. 12(1) : Medicinal and poisonous plants I. Backhuys Publishers, Leiden, the Netherlands, pp 782.

Pandey, D.K., Chandra, H. and Tripathi, N.N. 1982. Volatile fungitoxic activity of som higher plants with special reference to that of *Callistemon lanceolatus* DC. Phytopayh. 105: 175-182.

Palmer, S. A., Stewart, J. and Fyfe, L. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important foodborne pathogens. Letters in Applied Microbiology. 26: 118-112.

Palombo, E.A. and Semple, S.J. 2001. Antibacterial activity of traditional Australian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology. 77: 151-157.

Pattaratanawadee, E., Rachtanapun, C., Wanchaitanawong, P. and Mahakarnchanakul, W. 2006. Antimicrobial activity of spice extracts against pathogenic and spoilage microorganisms. Kasetsart Journal (Natural Science). 40: 159 – 165.

Prapaitrakul, S. 2001. Biological properties and toxicity of the proteins from *Momordica* spp. cultivated in Thailand. Thesis (M.Sc. (Biopharmaceutical Sciences)) Mahidol University. Bangkok. 131 p.

Rabe, T. and Van Staden, J. 2000. Isolation of an antibacterial sesquiterpenoid from Warburgia salut. Journal of Ethnopharmacology. 73(1): 171-174.

Rauha, J-P., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kähkönen, M., Kujala, T., Pihlaja, K., Vuorela, H., Vuorela, P. 2000. Antimicrobial effects of Finnish plants extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. International Journal of Food Microbiology. 56(1): 3-12.

Ray, P.G. and Majumdar, S.K. 1976. Antimicrobial activity of some Indian plants. Economic Botany. 30 : 317 – 20.

Rojas, J.J., Ochoa, V.J., Ocampo, S.A. and Munoz, F.J. 2006. Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections. BMC Complementary and Alternative Medicine. Colombian. 6(2): 1-6.

Sagdic, O. and Ozcan, M. 2003. Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. Food Control. 14(3): 141-143.

Sahin, F., Karaman, I., Gulluce, M., Ogutcu, H., Sengul, M., Adisuzel, A., Ozturk, S. and Kotan, R. 2003. Evaluation of antibacterial activites of *Satureja hortensis* L. Journal of Ethnopharmacology. 87: 61-65.

Sankaranarayanan, J. and Jolly, C.I. 1993. Phytochemical, antibacterial and pharmacological investigations on Momordica charantia Linn. Emblica officinalis Gaertn. and Curcuma longa Linn. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences 55(1): 6-13.

Schinor, E.C., Salvador, M.J., Pral, E.M.F., Alfieri, S.C., Albuquerque, S. and Diones, D.A . 2007. Effect of extracts and isolated compunds from Chresta scapigera on viability of Leishmania amazonensis and Trypanosoma cruzi. RBCF. Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas. 43: 295-300.

Siemonsma, J.S. and Piluek, K. (Editors). 1994. Plant Resources of South-East Asia No.8 : Vegetables Bogor, Indonesia. 412.

Summanen J, Ihantola-Vormisto A, Kankaanranta H, Vuorela H, Asmawi ZM and Moilanen E. 1997. Anti-inflammatory activity of extracts from leaves of *Phyllanthus emblica* . Planta Medica. 63 : 518-24.

Thakong, K. 1999. A study on the antimalarial constituents and chemical composition of eupatorium odoratum (L.). Thesis (M.Sc. (Pharmaceutical chemistry and phytochemistry) Mahidol University. Bangkok. 120 p.

Tereschuk, M.L., Riera, M.V., Castro, G.R., Abdala, L.R. 1997. Antimicrobial activity of flavonoids from leaves of Tagetes minuta. Journal of Ethnopharmacology. 56(3): 227-232.

Tisserand, R. and Balacs, T., 1995. Essential oil safety : a guide for health care professionals. Edinburgh : Churchill Livingstone. London. 279 p.

Urzua, A., Caroli, M., Vasquez, L., Mendoza, L., Wilkens, M., Tojo, E. 1998. Antimicrobial study of the resinous exudate and of diterpenoids isolated from Eupatorium salvia (Asteraceae). Journal of Ethnopharmacology. 62(3): 251-254.

Vuddhakula, V., Bhooponga, P., Hayeebilana, F. and Subhadhirasakulb, S. 2007. Inhibitory activity of Thai condiments on pandemic strain of Vibrio parahaemolyticus. Food Microbiology. 24: 413–418.

Watt, E.,Van Der, and Pretorius, J.C. 2001. Purification and identification of active antibacterial components in *Carpobrotus edulis* L. Journal of Ethnopharmacology.76: 87–91.

Watthanachaiyingcharoen, R. 2002. Purification and characterization of pharmacologically active proteins from plants in the genus of *Momordica*. Thesis (Ph.D. (Biopharmaceutical Sciences)) Mahidol University. Bangkok. 164 p.

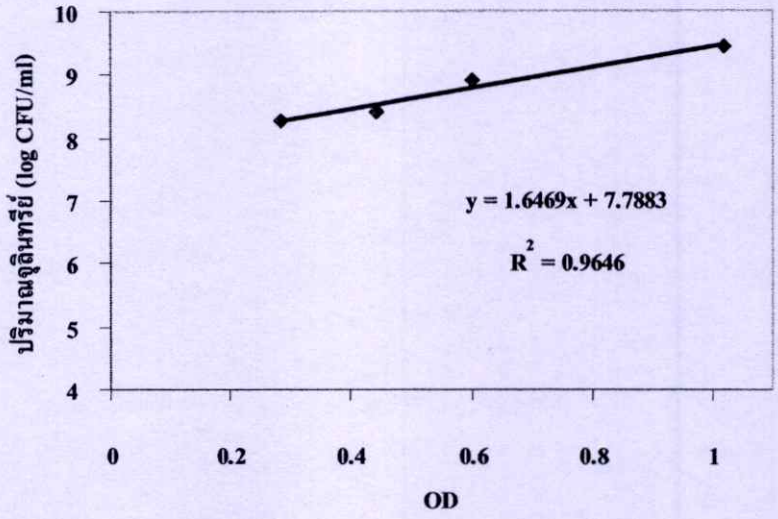
Yff, B.T.S, Lindsey, Kerry, L., Taylor, Maureen, B., Erasmus, Doreen, G., Jager and Anna, K. 2002. The pharmacological screening of Pentanisia prunelloides and the isolation of the antibacterial compound palmitic acid. Journal of Ethnopharmacology. 79(1): 101-107.

ภาคผนวก

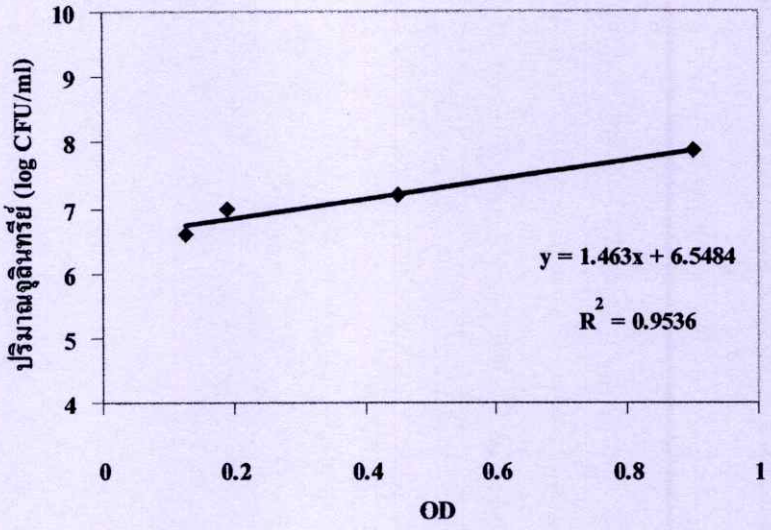
ภาคผนวก ก

กราฟและตารางการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

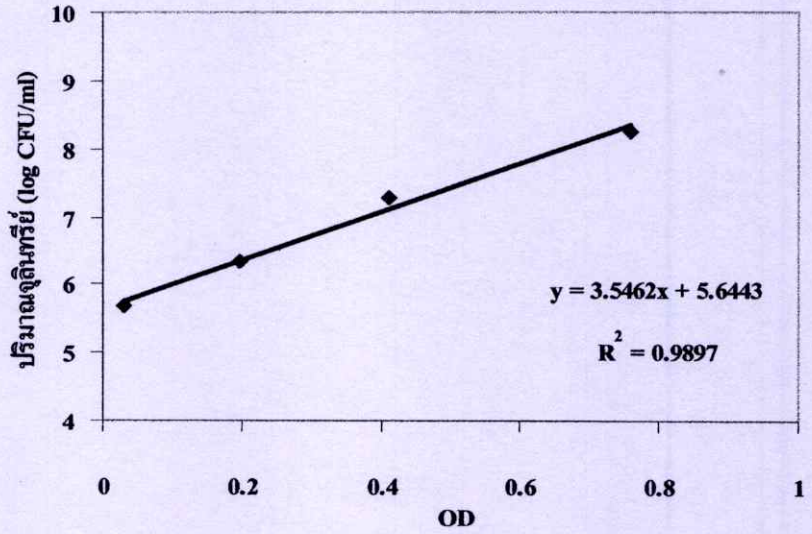
1. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ กับค่าความขุ่น (optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร



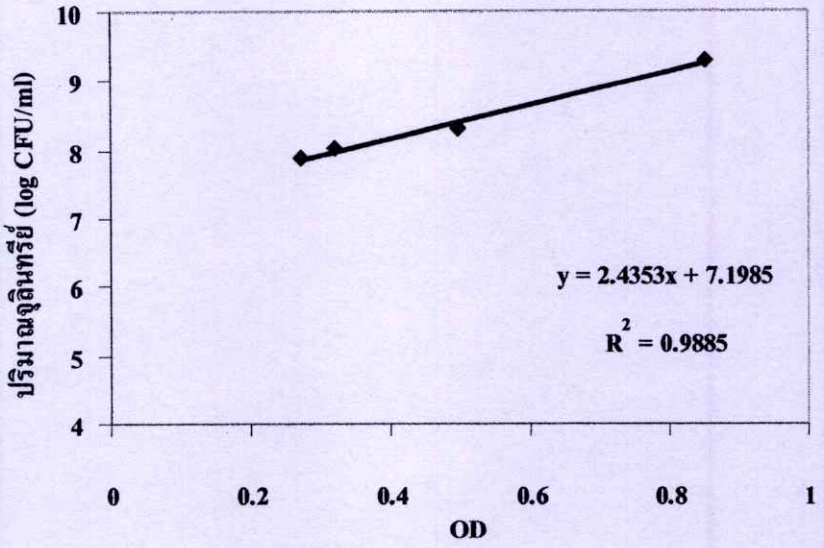
ภาพที่ ก 1.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S. aureus* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) ได้สมการแสดงความสัมพันธ์ เป็นสมการเส้นตรง (y = 1.6469x + 7.7883)



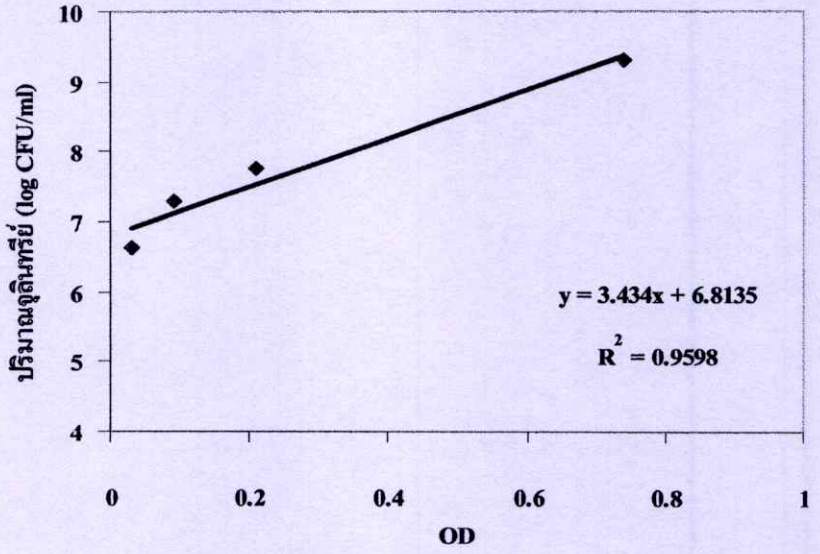
ภาพที่ ก 1.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *B. subtilis* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) ได้สมการแสดงความสัมพันธ์ เป็นสมการเส้นตรง (y = 1.463x + 6.5484)



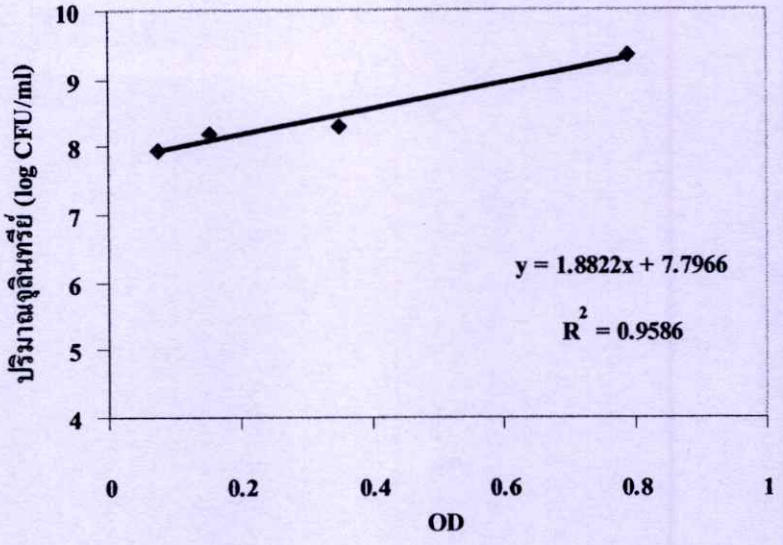
ภาพที่ ก 1.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *L. innocua* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) ได้สมการแสดงความสัมพันธ์ เป็นสมการเส้นตรง (y = 3.5462x + 5.6443)



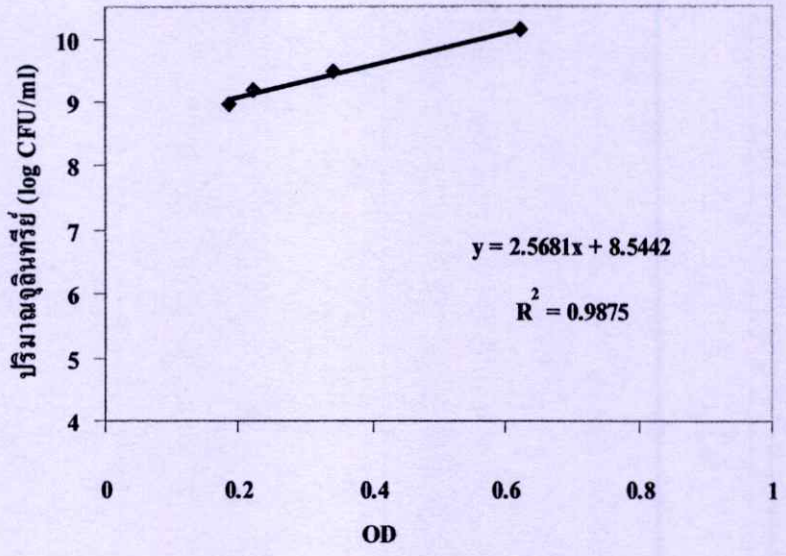
ภาพที่ ก 1.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *E. coli* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) ได้สมการแสดงความสัมพันธ์ เป็นสมการเส้นตรง (y = 2.4353x + 7.1985)



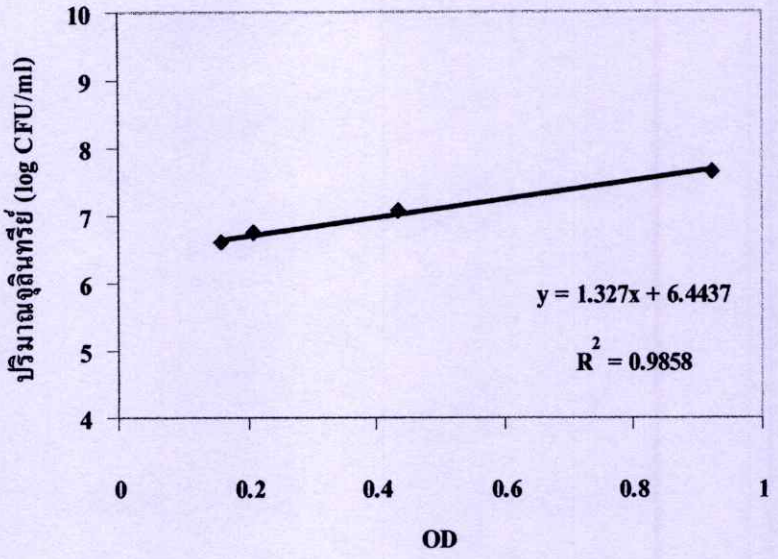
ภาพที่ ก 1.5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Sa.* Anatum (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) ได้สมการแสดงความสัมพันธ์ เป็นสมการเส้นตรง (y = 3.434x + 6.8135)



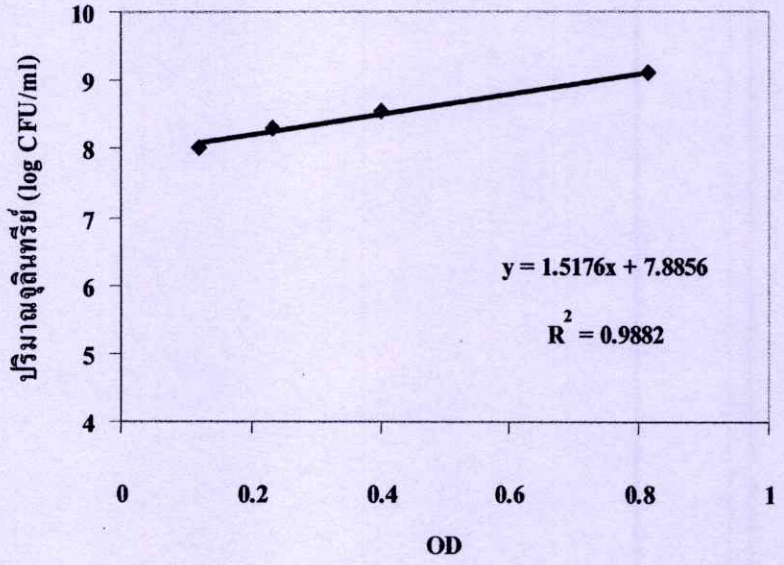
ภาพที่ ก 1.6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Ps. aeruginosa* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) ได้สมการแสดงความสัมพันธ์ เป็นสมการเส้นตรง (y = 1.8822x + 7.7966)



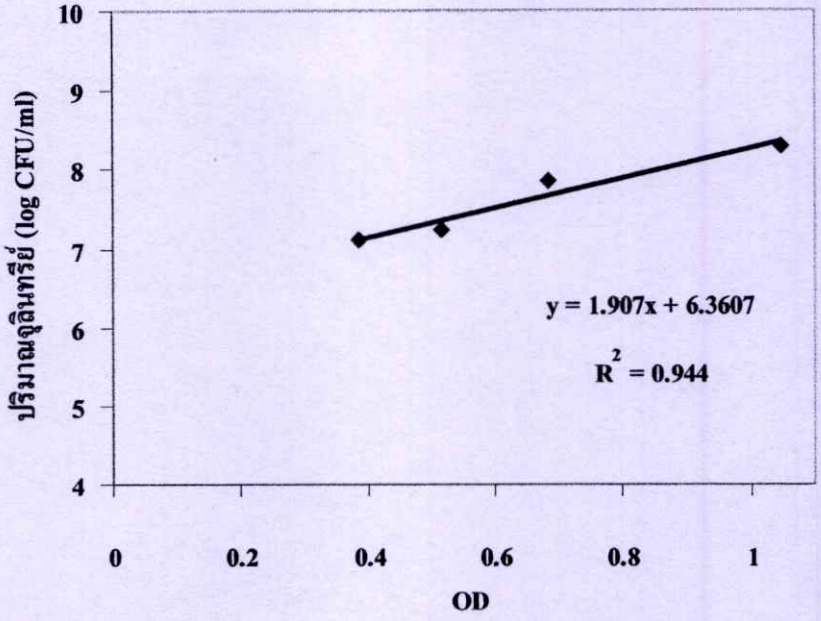
ภาพที่ ก 1.7 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Pr. mirabilis* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) ได้สมการแสดงความสัมพันธ์ เป็นสมการเส้นตรง (y = 2.5681x + 8.5442)



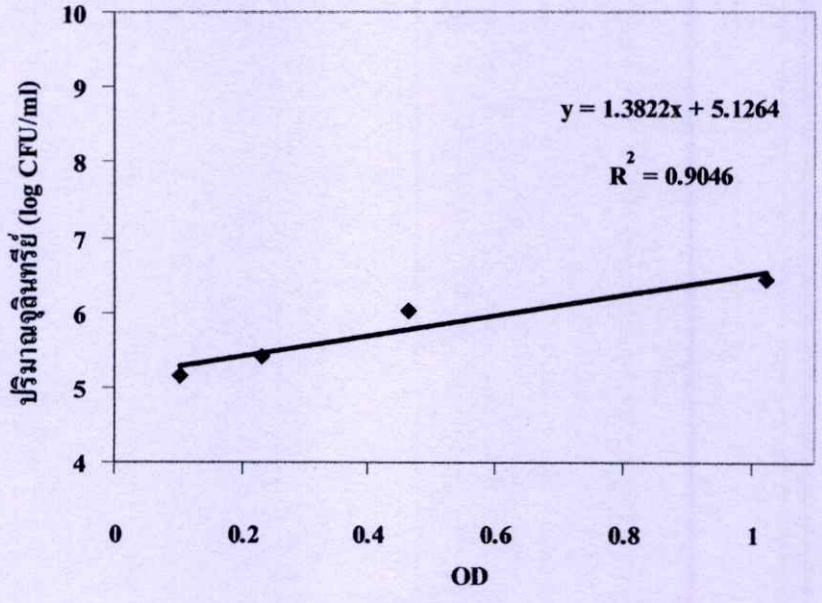
ภาพที่ ก 1.8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Lc. lactis* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) ได้สมการแสดงความสัมพันธ์ เป็นสมการเส้นตรง (y = 1.327x + 6.4437)



ภาพที่ ก 1.9 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Lb. acidophilus* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) ได้สมการแสดงความสัมพันธ์ เป็นสมการเส้นตรง (y = 1.5357x + 7.497)



ภาพที่ ก 1.10 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Pi. anomala* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) ได้สมการแสดงความสัมพันธ์ เป็นสมการเส้นตรง (y = 1.907x + 6.3607)



ภาพที่ ก 1.11 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Sac. cerevisiae* (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD) ได้สมการแสดงความสัมพันธ์ เป็นสมการเส้นตรง (y = 1.3822x + 5.1264)

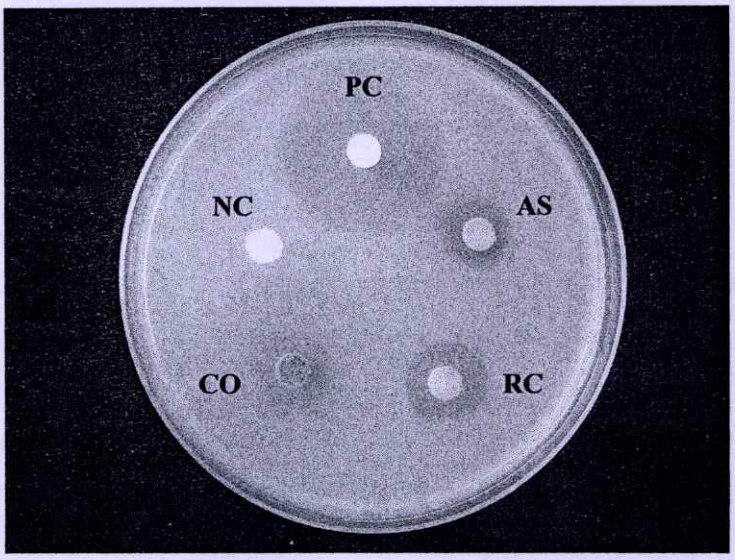
2. ตารางแสดงสมการความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ กับค่าความขุ่น (optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

ตารางที่ ก1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (log CFU/ml) กับค่าความขุ่น (OD)

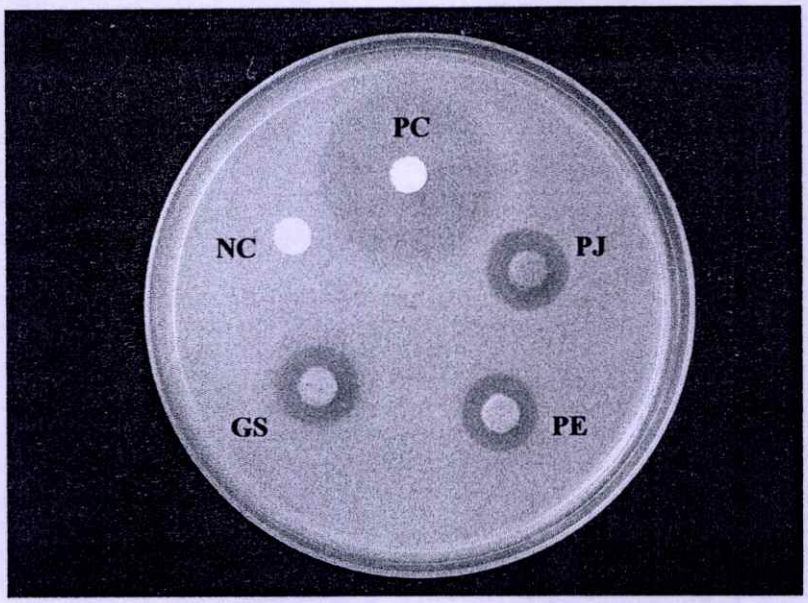
เชื้อจุลินทรีย์	สมการ	สหสัมพันธ์ (R^2)
S. aureus	y = 1.6469x + 7.7883	0.9646
B. subtilis	y = 1.463x + 6.5484	0.9536
L. innocua	y = 3.5462x + 5.6443	0.9897
E. coli	y = 2.4353x + 7.1985	0.9885
Sa. Anatum	y = 3.434x + 6.8135	0.9598
Ps. aeruginosa	y = 1.8822x + 7.7966	0.9586
Pr. mirabilis	y = 2.5681x + 8.5442	0.9875
Lc. lactis	y = 1.327x + 6.4437	0.9858
Lb. acidophilus	y = 1.5357x + 7.497	0.9882
Pi. anomala	y = 1.907x + 6.3607	0.944
Sac. cerevisiae	y = 1.3822x + 5.1264	0.9046

ภาคผนวก ข

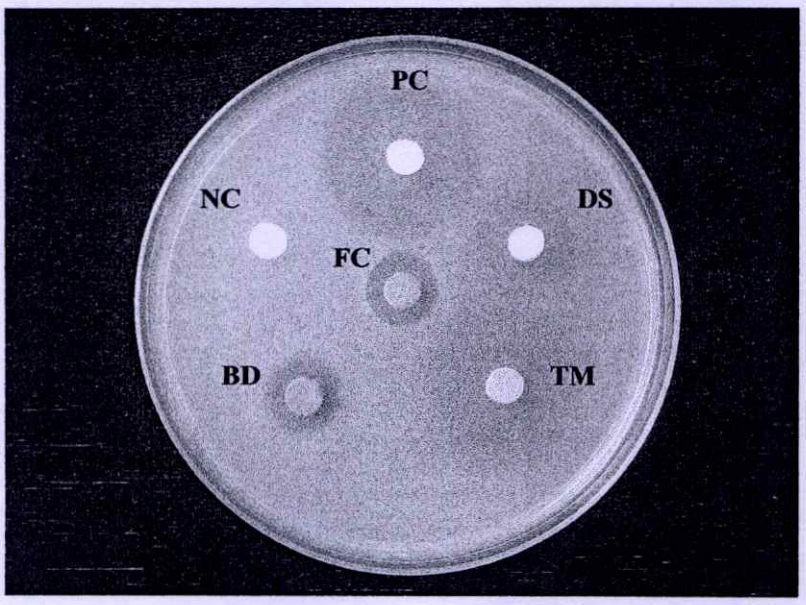
ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชป่า



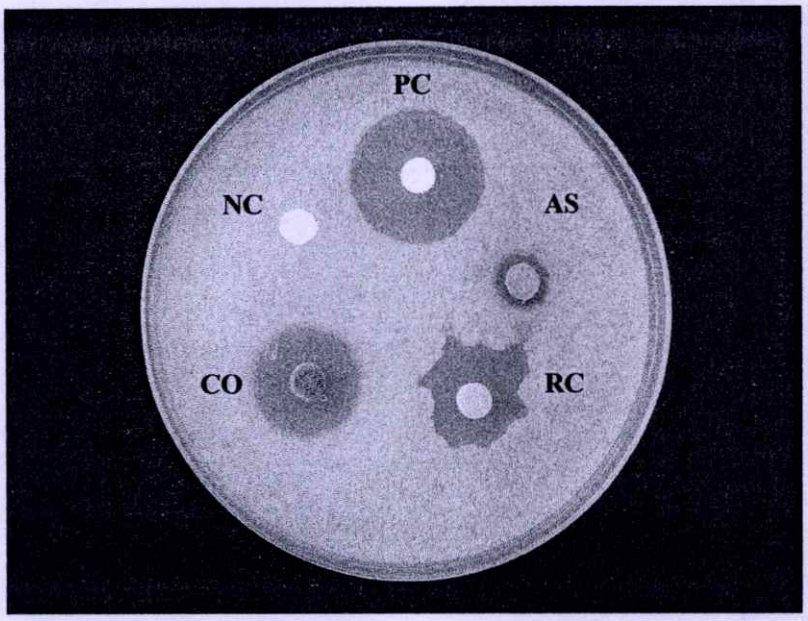
ภาพที่ ข1 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากพืชป่าด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ (CO = สาบเสือ, RC = ดอกหมากฮอด, AS = ส้มกำปัง, PC = Positive control (คลอแรมฟีนิคอล), NC = Solvent control (เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์))



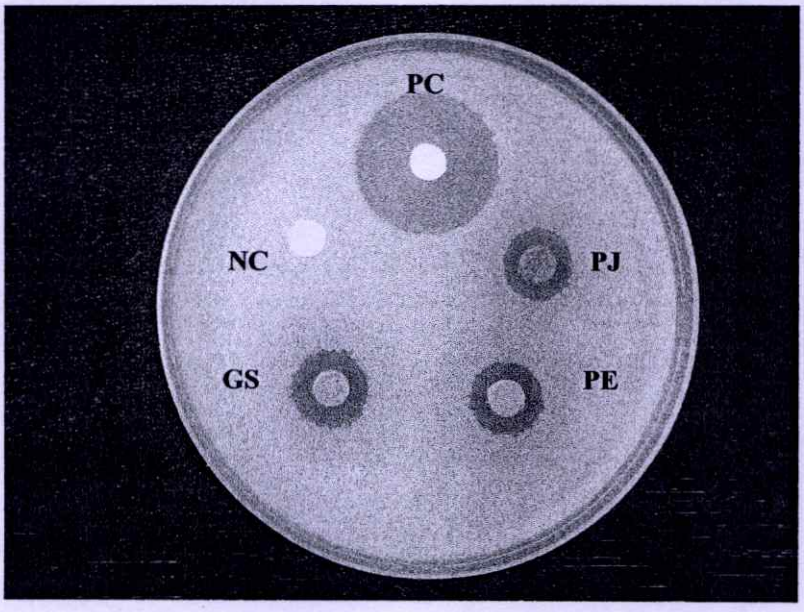
ภาพที่ ข2 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากพืชป่าด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ (PJ = กอมขม, GS = มันปลา, PE = มะขามป้อม, PC = Positive control (คลอแรมฟีนิคอล), NC = Solvent control (เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์))



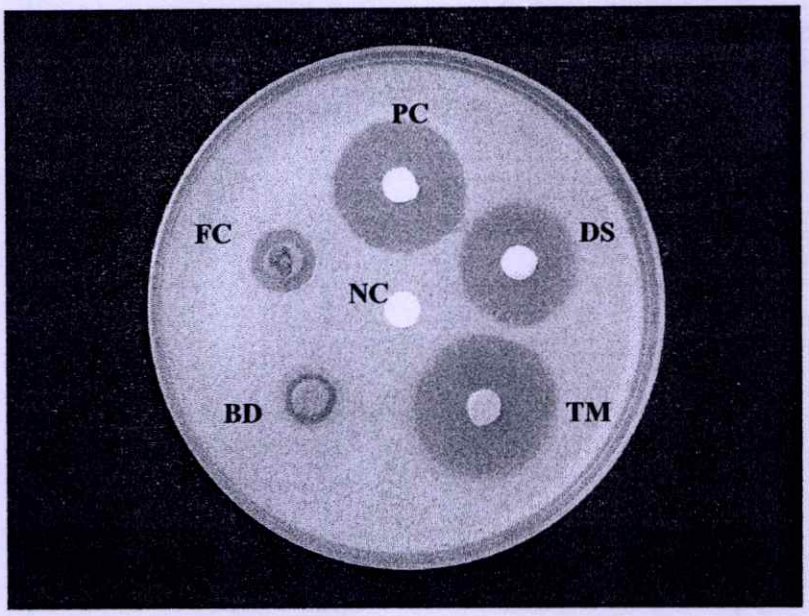
ภาพที่ ข3 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากพืชป่าด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ (DS = ผลหมากม่วงเครือ, FC = มะเดื่อกวาง, BD = หญ้าแหลมนกไส้, TM = ผลสะเรียมดง, PC = Positive control (คลอแรมฟีนิคอล), NC = Solvent control (เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์))



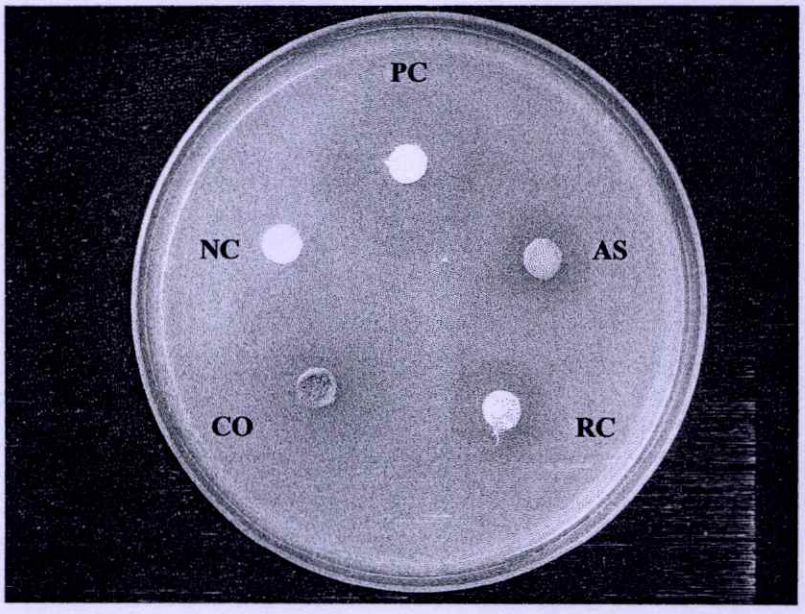
ภาพที่ ข4 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ของสารสกัดจากพืชป่าด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ (CO = สาบเสือ, RC = ดอกหมากฮอด, AS = ส้มกำปัง, PC = Positive control (คลอแรมฟีนิคอล), NC = Solvent control (เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์))



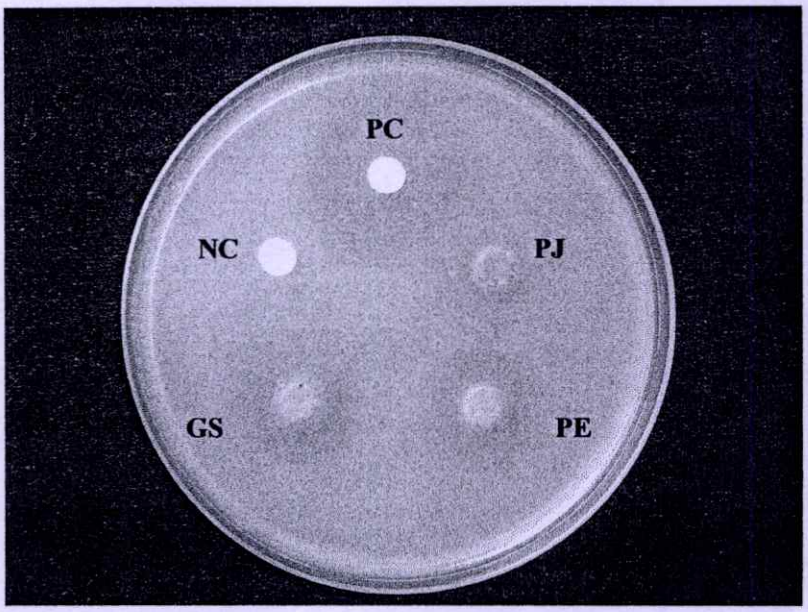
ภาพที่ ข5 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ของสารสกัดจากพืชป่าด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ (PJ = กอมขม, GS = มันปลา, PE = มะขามป้อม, PC = Positive control (คลอแรมฟีนิคอล), NC = Solvent control (เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์))



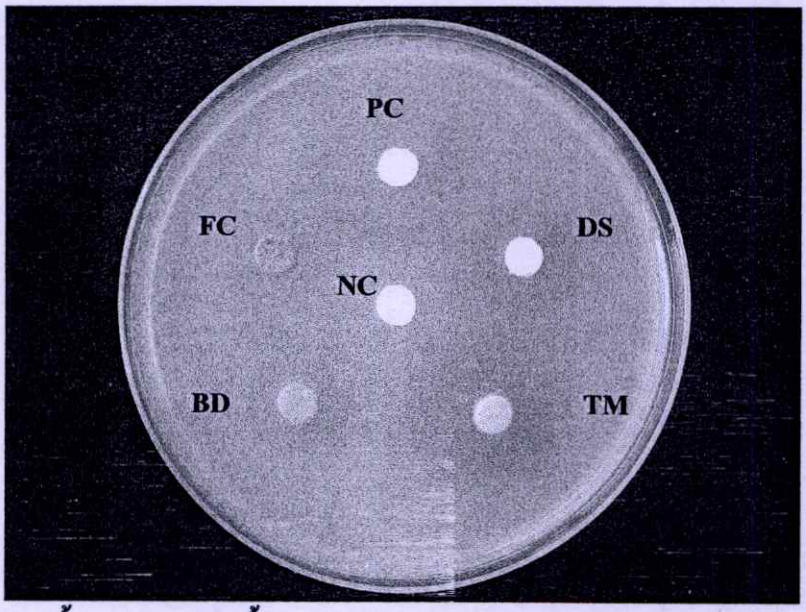
ภาพที่ ข6 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ของสารสกัดจากพืชป่าด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ (DS = ผลหมากม่วงเครือ, FC = มะเดื่อกวาง, BD = หญ้าแหลมนกไส้, TM = ผลสะเรียมดง, PC = Positive control (คลอแรมฟีนิคอล), NC = Solvent control (เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์))



ภาพที่ ข7 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. innocua* ของสารสกัดจากพืชป่าด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ (CO = สาบเสือ, RC = ดอกหมากฮอด, AS = ส้มกำปัง, PC = Positive control (คลอแรมฟีนิคอล), NC = Solvent control (เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์))



ภาพที่ ข8 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. innocua* ของสารสกัดจากพืชป่าด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ (PJ = กอมขม, GS = มันปลา, PE = มะขามป้อม, PC = Positive control (คลอแรมฟินิคอล), NC = Solvent control (เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์))



ภาพที่ ข9 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. innocua* ของสารสกัดจากพืชป่าด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ (DS = ผลหมากม่วงเครือ, FC = มะเดื่อกวาง, BD = หญ้าแหลมนกไส้, TM = ผลสะเรียมดง, PC = Positive control (คลอแรมฟินิคอล), NC = Solvent control (เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์))

ภาคผนวก ค

ตาราง MIC ของสารสกัดจากพืชต่อเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar disc diffusion และ Broth dilution method

1. ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Agar disc diffusion

ตารางที่ ค1 ผลของสารสกัดจากกอมขมด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion

เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสารสกัด (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (mm.) *		
	S. aureus	*B. subtilis*	*L. innocua*
7.52	14.25 ± 0.12^{d}	10.30 ± 0.47^{d}	-
3.76	9.95 ± 0.68^{c}	8.50 ± 0.05^{c}	-
1.88	8.57 ± 0.28^{b}	7.65 ± 0.02^{b}	-
0.94	7.30 ± 0.05^{a}	6.97 ± 0.05^{a}	-
0.47	-	-	-
0.24	-	-	-
0.12	-	-	-
เอทานอล 80%	-	-	-
Chloramphenicol	9.73 ± 0.14	10.20 ± 0.00	8.07 ± 0.21

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a-d ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค2 ผลของสารสกัดจากมะขามป้อมด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion

เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสารสกัด (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (mm.) *		
	S .aureus	*B. subtilis*	*L.innocua*
8.49	13.65 ± 0.26^{d}	11.17 ± 0.47^{d}	-
4.25	11.62 ± 0.02^{c}	10.40 ± 0.52^{c}	-
2.12	8.72 ± 0.26^{b}	8.52 ± 0.31^{b}	-
1.06	7.25 ± 0.12^{a}	7.67 ± 0.33^{a}	-
0.53	-	-	-
0.27	-	-	-
0.13	-	-	-
เอทานอล 80%	-	-	-
Chloramphenicol	9.73 ± 0.14	10.20 ± 0.00	8.07 ± 0.21

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a-d ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค3 ผลของสารสกัดจากส้มกำปังด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion

เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสารสกัด (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (mm.) *		
	S .aureus	*B. subtilis*	*L.innocua*
6.57	13.27 ± 0.05^{c}	9.50 ± 0.19^{d}	-
3.29	9.93 ± 0.38^{b}	8.22 ± 0.07^{c}	-
1.64	7.97 ± 0.38^{a}	7.55 ± 0.02^{b}	-
0.82	-	6.98 ± 0.12^{a}	-
0.41	-	-	-
0.20	-	-	-
0.10	-	-	-
เอทานอล 80%	-	-	-
Chloramphenicol	9.73 ± 0.14	10.20 ± 0.00	8.07 ± 0.21

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a-d ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค4 ผลของสารสกัดจากสาบเสือด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion

เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสารสกัด (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (mm.) *		
	S .aureus	*B. subtilis*	*L.innocua*
6.26	12.75 ± 0.26^{d}	15.03 ± 0.94^{d}	8.32 ± 0.26^{b}
3.13	10.27 ± 0.00^{c}	13.15 ± 0.49^{c}	7.40 ± 0.24^{a}
1.57	8.93 ± 0.05^{b}	10.23 ± 0.33^{b}	-
0.78	8.03 ± 0.14^{a}	7.88 ± 0.35^{a}	-
0.39	-	-	-
0.19	-	-	-
0.10	-	-	-
เอทานอล 80%	-	-	-
Chloramphenicol	9.73 ± 0.14	10.20 ± 0.00	8.07 ± 0.21

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a-d ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค5 ผลของสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion

เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสารสกัด (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (mm.) *		
	S .aureus	*B. subtilis*	*L.innocua*
8.95	13.03 ± 0.80^{c}	14.67 ± 0.61^{d}	15.03 ± 0.09^{d}
4.48	11.27 ± 0.24^{b}	10.80 ± 0.00^{c}	13.98 ± 0.02^{c}
2.24	10.95 ± 0.16^{b}	9.52 ± 0.40^{b}	10.85 ± 0.12^{b}
1.12	10.55 ± 0.21^{b}	7.52 ± 0.12^{a}	8.70 ± 0.33^{a}
0.56	7.07 ± 0.09^{a}	-	-
0.28	-	-	-
0.14	-	-	-
เอทานอล 80%	-	-	-
Chloramphenicol	9.73 ± 0.14	10.20 ± 0.00	8.07 ± 0.21

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a-d ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค6 ผลของสารสกัดจากมันปลาด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion

เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสารสกัด (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (mm.) *		
	S.aureus	*B. subtilis*	*L.innocua*
11.48	12.58 ± 0.26^{d}	11.42 ± 0.12^{d}	10.85 ± 0.07^{c}
5.74	11.37 ± 0.05^{c}	10.02 ± 0.78^{c}	8.88 ± 0.07^{b}
2.87	8.72 ± 0.31^{b}	8.57 ± 0.61^{b}	7.43 ± 0.38^{a}
1.44	7.28 ± 0.21^{a}	7.53 ± 0.09^{a}	-
0.72	-	-	-
0.36	-	-	-
0.18	-	-	-
เอทานอล 80%	-	-	-
Chloramphenicol	9.73 ± 0.14	10.20 ± 0.00	8.07 ± 0.21

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a-d ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค7 ผลของสารสกัดจากมะเดื่อกวางด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Agar disc diffusion

เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสารสกัด (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (mm.) *		
	S.aureus	*B. subtilis*	*L.innocua*
4.57	11.85 ± 0.07^{d}	11.57 ± 0.19^{e}	8.05 ± 0.02^{b}
2.29	10.07 ± 0.66^{c}	10.10 ± 0.14^{d}	6.97 ± 0.28^{a}
1.14	8.95 ± 0.59^{b}	8.88 ± 0.02^{c}	-
0.57	7.55 ± 0.54^{a}	8.08 ± 0.12^{b}	-
0.28	-	7.20 ± 0.05^{a}	-
0.14	-	-	-
0.07	-	-	-
เอทานอล 80%	-	-	-
Chloramphenicol	9.73 ± 0.14	10.20 ± 0.00	8.07 ± 0.21

หมายเหตุ : (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a-e ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2. ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Broth dilution method

ตารางที่ ค8 ผลของสารสกัดจากกอมขมต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	6	3	1.5	0.75
ชุดควบคุม	1.609 ± 0.013^{f}	1.167 ± 0.039^{e}	0.679 ± 0.012^{c}	0.311 ± 0.007^{a}
ชุดสารสกัด	1.613 ± 0.006^{f}	1.172 ± 0.032^{e}	0.724 ± 0.006^{d}	0.545 ± 0.007^{b}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

พิจารณาอักษร a-f แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค9 ผลของสารสกัดจากกอมขมต่อเชื้อ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	6	3	1.5	0.75
ชุดควบคุม	1.609 ± 0.013^{e}	1.167 ± 0.039^{d}	0.679 ± 0.012^{c}	0.311 ± 0.007^{a}
ชุดสารสกัด	1.617 ± 0.039^{e}	1.168 ± 0.033^{d}	0.670 ± 0.018^{c}	0.438 ± 0.006^{b}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

พิจารณาอักษร a-e แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค10 ผลของสารสกัดจากหญ้าแหลมนกไส้ต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	6	3	1.5	0.75
ชุดควบคุม	1.016 ± 0.037^{e}	0.671 ± 0.053^{c}	0.393 ± 0.014^{b}	0.203 ± 0.009^{a}
ชุดสารสกัด	0.991 ± 0.035^{e}	0.700 ± 0.017^{c}	0.911 ± 0.074^{d}	0.685 ± 0.141^{c}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

พิจารณาอักษร a-e แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค11 ผลของสารสกัดจากหญ้าแหลมนกไส้ต่อเชื้อ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	6	3	1.5	0.75
ชุดควบคุม	1.016 ± 0.037^{f}	0.671 ± 0.053^{e}	0.393 ± 0.014^{b}	0.203 ± 0.009^{d}
ชุดสารสกัด	1.018 ± 0.017^{f}	0.679 ± 0.017^{e}	0.456 ± 0.007^{c}	0.622 ± 0.047^{a}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

พิจารณาอักษร a-f แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค12 ผลของสารสกัดจากหญ้าแหลมนกไส้ต่อเชื้อ *L. innocua* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	6	3	1.5	0.75
ชุดควบคุม	1.016 ± 0.037^{f}	0.671 ± 0.053^{d}	0.393 ± 0.014^{b}	0.203 ± 0.009^{a}
ชุดสารสกัด	0.992 ± 0.004^{f}	0.766 ± 0.032^{e}	0.547 ± 0.006^{c}	0.425 ± 0.054^{b}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

พิจารณาอักษร a-f แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค13 ผลของสารสกัดจากมะขามป้อมต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	6	3	1.5	0.75
ชุดควบคุม	1.677 ± 0.014^{e}	1.323 ± 0.036^{d}	0.770 ± 0.025^{b}	0.442 ± 0.046^{a}
ชุดสารสกัด	1.683 ± 0.021^{e}	1.443 ± 0.268^{d}	1.070 ± 0.146^{c}	0.702 ± 0.024^{b}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

พิจารณาอักษร a-e แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค14 ผลของสารสกัดจากมะขามป้อมต่อเชื้อ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	6	3	1.5	0.75
ชุดควบคุม	1.677 ± 0.014^{e}	1.323 ± 0.036^{d}	0.770 ± 0.025^{c}	0.442 ± 0.046^{a}
ชุดสารสกัด	1.677 ± 0.052^{e}	1.320 ± 0.015^{d}	0.768 ± 0.038^{c}	0.598 ± 0.030^{b}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

พิจารณาอักษร a-e แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค15 ผลของสารสกัดจากส้มกำปังต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	6	3	1.5	0.75
ชุดควบคุม	1.761 ± 0.033^{e}	1.332 ± 0.018^{d}	1.051 ± 0.075^{c}	0.568 ± 0.046^{a}
ชุดสารสกัด	1.763 ± 0.009^{e}	1.329 ± 0.013^{d}	1.047 ± 0.034^{c}	0.878 ± 0.068^{b}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

พิจารณาอักษร a-e แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค16 ผลของสารสกัดจากส้มกำปังต่อเชื้อ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	6	3	1.5	0.75
ชุดควบคุม	1.761 ± 0.033^{e}	1.332 ± 0.018^{d}	1.051 ± 0.075^{c}	0.568 ± 0.046^{a}
ชุดสารสกัด	1.760 ± 0.019^{e}	1.344 ± 0.013^{d}	1.017 ± 0.089^{c}	0.823 ± 0.053^{b}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

พิจารณาอักษร a-e แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค17 ผลของสารสกัดจากสาบเสือต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	12	6	3	1.5
ชุดควบคุม	0.248 ± 0.005^{c}	0.225 ± 0.003^{c}	0.104 ± 0.003^{b}	0.072 ± 0.003^{a}
ชุดสารสกัด	0.243 ± 0.004^{c}	0.220 ± 0.010^{c}	0.541 ± 0.030^{d}	0.643 ± 0.065^{e}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

พิจารณาอักษร a-e แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค18 ผลของสารสกัดจากสาบเสือต่อเชื้อ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	12	6	3	1.5
ชุดควบคุม	0.248 ± 0.005^{c}	0.225 ± 0.003^{c}	0.104 ± 0.003^{b}	0.072 ± 0.003^{a}
ชุดสารสกัด	0.249 ± 0.004^{c}	0.236 ± 0.007^{c}	0.644 ± 0.060^{e}	0.471 ± 0.037^{d}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

พิจารณาอักษร a-e แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค19 ผลของสารสกัดจากสาบเสือต่อเชื้อ *L. innocua* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	12	6	3	1.5
ชุดควบคุม	0.248 ± 0.005^{b}	0.225 ± 0.003^{b}	0.104 ± 0.003^{a}	0.072 ± 0.003^{a}
ชุดสารสกัด	0.267 ± 0.008^{b}	0.323 ± 0.037^{c}	0.435 ± 0.058^{d}	0.450 ± 0.069^{d}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

พิจารณาอักษร a-d แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค20 ผลของสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	45	40	35	30
ชุดควบคุม	0.122±0.005 [b]	0.100±0.009 [a]	0.101±0.004 [a]	0.098±0.006 [a]
ชุดสารสกัด	0.122±0.011 [b]	0.102±0.004 [a]	0.099±0.003 [a]	0.127±0.009 [b]

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

พิจารณาอักษร a-d แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค21 ผลของสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือต่อเชื้อ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วย วิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	12	10	8	6
ชุดควบคุม	0.102±0.005 [b]	0.097±0.007 [a]	0.095±0.005 [a]	0.086±0.008 [a]
ชุดสารสกัด	0.101±0.004 [b]	0.095±0.005 [a]	0.108±0.006 [b]	0.114±0.004 [c]

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

พิจารณาอักษร a-c แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค22 ผลของสารสกัดจากผลหมากม่วงเครือต่อเชื้อ *L. innocua* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วย วิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	21	18	15	12
ชุดควบคุม	0.096±0.005 [a]	0.095±0.005 [a]	0.095±0.006 [a]	0.099±0.006 [a]
ชุดสารสกัด	0.097±0.007 [a]	0.097±0.006 [a]	0.097±0.003 [a]	0.113±0.006 [b]

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

พิจารณาอักษร a-e แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค23 ผลของสารสกัดจากมะเดื่อกวางต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	6	3	1.5	0.75
ชุดควบคุม	1.496 ± 0.017^{e}	1.044 ± 0.031^{d}	0.721 ± 0.032^{b}	0.450 ± 0.007^{a}
ชุดสารสกัด	1.497 ± 0.055^{e}	1.048 ± 0.006^{d}	0.961 ± 0.115^{c}	0.668 ± 0.027^{b}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

พิจารณาอักษร a-e แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค24 ผลของสารสกัดจากมะเดื่อกวางต่อเชื้อ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	6	3	1.5	0.75
ชุดควบคุม	1.496 ± 0.017^{e}	1.044 ± 0.031^{d}	0.721 ± 0.032^{c}	0.450 ± 0.007^{a}
ชุดสารสกัด	1.501 ± 0.019^{e}	1.050 ± 0.040^{d}	0.711 ± 0.030^{c}	0.579 ± 0.008^{b}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

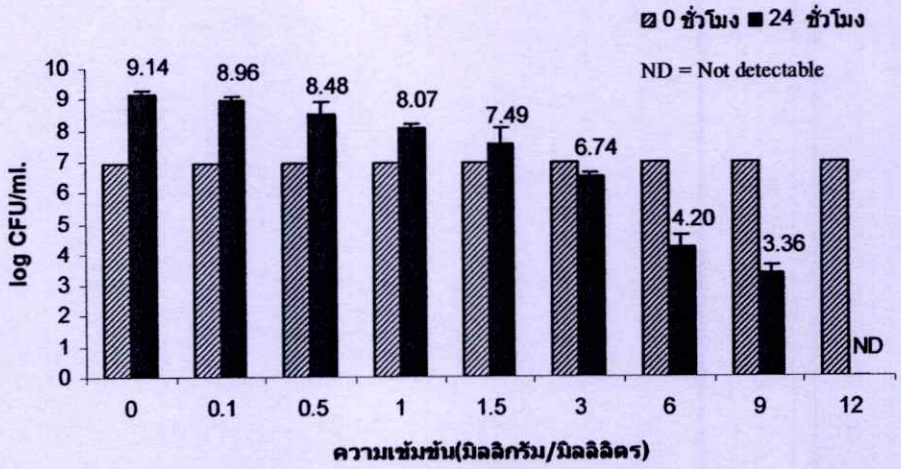
พิจารณาอักษร a-e แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค25 ผลของสารสกัดจากมะเดื่อกวางต่อเชื้อ *L. innocua* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี Broth dilution method

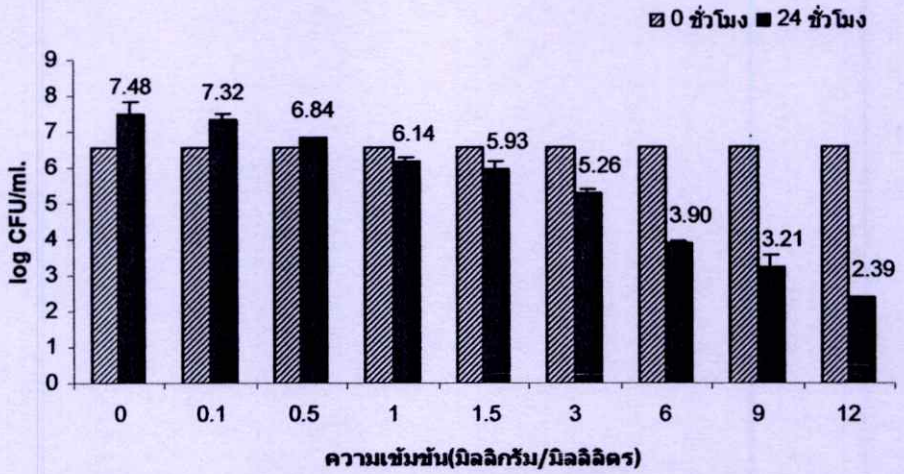
ชุดทดสอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	12	6	3	1.5
ชุดควบคุม	1.614 ± 0.076^{e}	1.496 ± 0.017^{d}	1.044 ± 0.031^{b}	0.721 ± 0.032^{a}
ชุดสารสกัด	1.585 ± 0.025^{e}	1.506 ± 0.071^{d}	1.103 ± 0.016^{c}	1.134 ± 0.057^{c}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

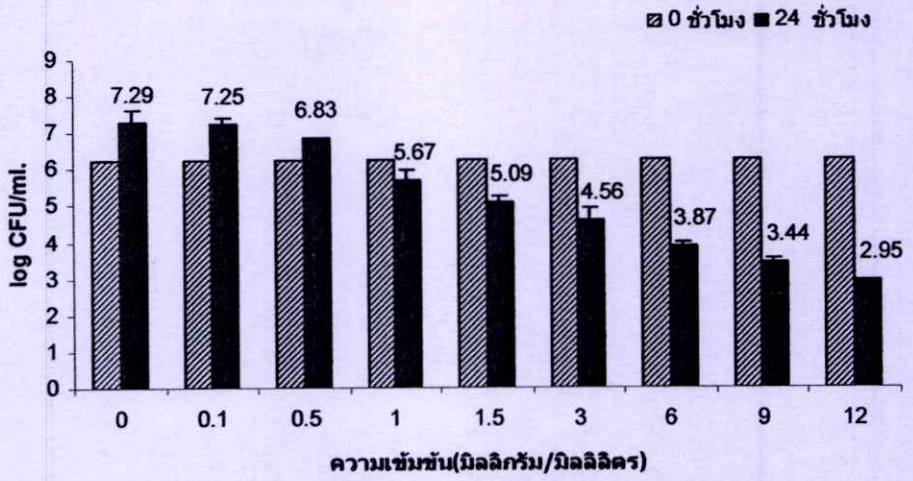
พิจารณาอักษร a-e แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



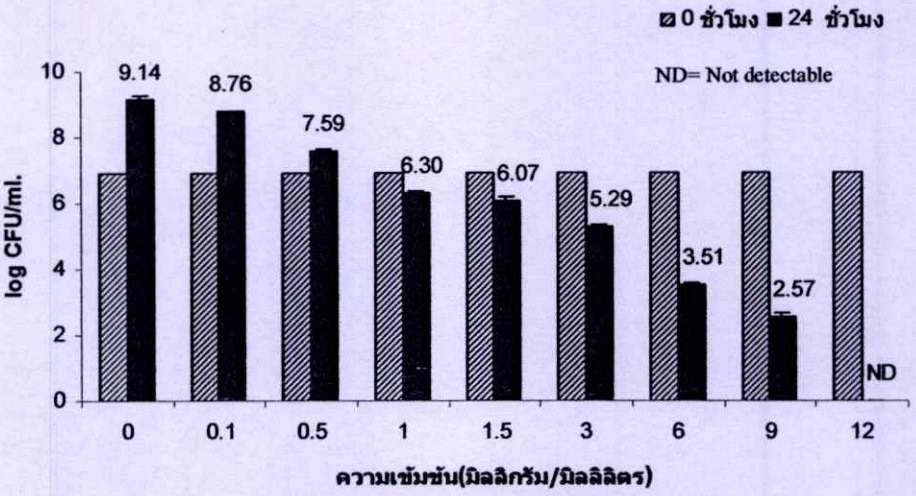
ภาพที่ ค1 ผลการยับยั้งเชื้อ *S .aureus* ของสารสกัดจากมันปลาที่ความเข้มข้น 0.1 -12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เชื้อ *S. aureus* เริ่มต้น 6.90±0.05 log CFU)



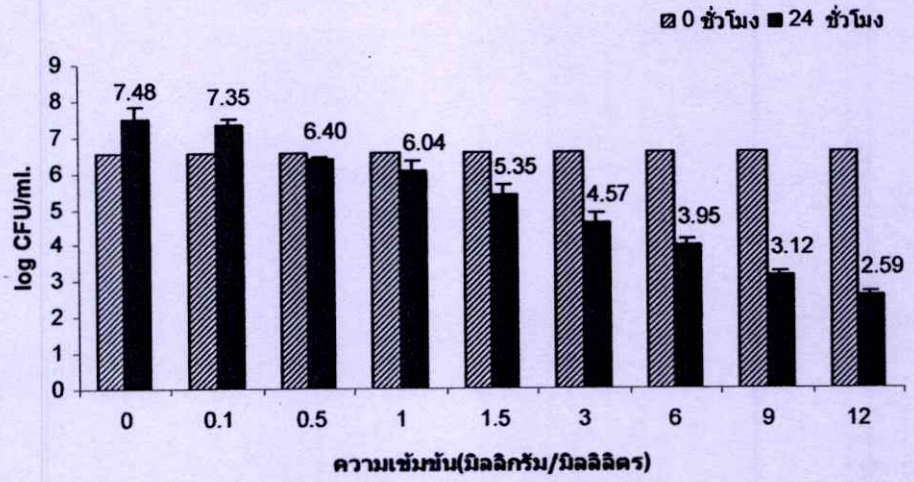
ภาพที่ ค2 ผลการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ของสารสกัดจากมันปลาที่ความเข้มข้น 0.1 -12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เชื้อ *B. subtilis* เริ่มต้น 6.56±0.09 log CFU)



ภาพที่ ค3 ผลการยับยั้งเชื้อ *L. innocua* ของสารสกัดจากมันปลาที่ความเข้มข้น 0.1 -12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เชื้อ *L. innocua* เริ่มต้น 6.23±0.21 log CFU)



ภาพที่ ค4 ผลการยับยั้งเชื้อ *S .aureus* ของสารสกัดจากดอกหมากฮอดที่ความเข้มข้น 0.1 -12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เชื้อ *S. aureus* เริ่มต้น 6.90±0.05 log CFU)



ภาพที่ ค5 ผลการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ของสารสกัดจากดอกหมากฮอดที่ความเข้มข้น 0.1 -12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (เชื้อ *B. subtilis* เริ่มต้น 6.56±0.09 log CFU)

ตารางที่ ค26 วิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

ตัวอย่างพืช	*S. aureus*		*B. subtilis*		*L. innocua*	
	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาณเชื้อ (log CFU/มล.)	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาณเชื้อ (log CFU/มล.)	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาณเชื้อ (log CFU/มล.)
ผลสะเรียมดง	1	6.61^{d-e}	0.5	5.51^{d}	0.5	6.00^{d}
	3	2.65^{b}	1	4.74^{c}	1	5.35^{c-d}
	6	ND^{a}	3	4.19^{b}	3	2.31^{a}
ดอกหมากฮอด	1	6.30^{d}	0.5	6.40^{e-f}	-	-
	1.5	6.07^{d}	1	6.04^{e}	-	-
	3	5.29^{c-d}	1.5	5.35^{d}	-	-
กอมขม	3	6.86^{d-e}	1.5	6.48^{e-f}	-	-
	6	ND^{a}	3	5.62^{d}	-	-
	9	ND^{a}	6	4.12^{b}	-	-
หญ้าแหลมนกไส้	3	6.61^{d-e}	3	6.30^{e-f}	6	6.23^{d}
	6	ND^{a}	6	5.11^{c}	9	ND
	9	ND^{a}	9	3.95^{b}	12	ND
มะขามป้อม	3	6.24^{d}	1.5	6.31^{e}	-	-
	6	4.78^{c}	3	5.22^{d}	-	-
	9	ND^{a}	6	3.96^{b}	-	-

หมายเหตุ : ND (Not detectable) ไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a-f ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ค26 (ต่อ)

ตัวอย่างพืช	*S. aureus*		*B. subtilis*		*L. innocua*	
	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาณเชื้อ (log CFU/มล.)	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาณเชื้อ (log CFU/มล.)	ความเข้มข้นสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาณเชื้อ (log CFU/มล.)
ส้มกำปัง	1.5	6.38^{d}	1.5	6.19^{e}	-	-
	3	5.36^{c-d}	3	4.98^{c}	-	-
	6	3.10^{b}	6	3.25^{a}	-	-
สาบเสือ	6	6.71^{d-e}	6	6.17^{e}	12	5.97^{d}
	9	5.03^{c-d}	9	5.25^{d}	15	ND
	12	2.94^{b}	12	4.50^{c}	18	ND
ผลหมากม่วงเครือ	35	6.46^{d-e}	8	6.16^{e}	15	5.93^{d}
	40	5.08^{c-d}	10	5.14^{d}	20	ND
	45	2.91^{b}	12	4.51^{c}	25	ND
มันปลา	1.5	7.49^{e}	0.5	6.84^{f}	1	5.67^{d}
	3	6.74^{d-e}	1	6.14^{e}	1.5	5.09^{c}
	6	4.20^{c}	1.5	5.93^{e}	3	4.56^{b}
มะเดื่อกวาง	3	6.48^{d}	1.5	6.18^{e}	6	5.93^{d}
	6	5.20^{c-d}	3	4.88^{c}	9	ND
	9	4.36^{c}	6	4.06^{b}	12	ND

หมายเหตุ : ND (Not detectable) ไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a-f ตามแนวคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภาคผนวก ง

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Trypticase soy broth – yeast extract

Trypticase soy broth	30	g
Yeast extract	6	g
น้ำกลั่น	1000	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. Trypticase soy agar - yeast extract

Trypticase soy broth	30	g
Yeast extract	6	g
Agar	10	g
น้ำกลั่น	1000	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ต้มให้เดือดจนวุ้นละลาย นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. MRS agar

MRS broth	52	g
Agar	10	g
น้ำกลั่น	1000	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ต้มให้เดือดจนวุ้นละลาย นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. Sabouraud Dextrose Broth

Sabouraud Dextrose Broth	10	g
น้ำกลั่น	1000	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

5. Sabouraud Dextrose Agar

Sabouraud Dextrose Broth	10	g
Agar	15	g
น้ำกลั่น	1000	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ต้มให้เดือดจนวุ้นละลาย นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

6. Mueller-Hinton Broth

Mueller-Hinton Broth	10	g
น้ำกลั่น	1000	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

7. Mueller-Hinton Agar

Mueller-Hinton Broth	21	g
Agar	10	g
น้ำกลั่น	1000	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ต้มให้เดือดจนวุ้นละลาย นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ประวัติผู้แต่ง

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวสิริวรรณ พละจิตต์
วัน เดือน ปีเกิด	27 ตุลาคม พ.ศ. 2525 ที่ จ. สกลนคร
ที่อยู่	16/17 หมู่บ้านสุทธาทร ถ.ประชาร่วมใจ แขวงมีนบุรี เขตมีนบุรี กรุงเทพฯ 10510 โทร.0-2184-7037
ประวัติการศึกษา	2548 : จบการศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
	พ.ศ. 2548- ปัจจุบัน : เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาลอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง