การประเมินศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านบางชนิด

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL POTENTIAL IN SOME INDIGENOUS PLANT EXTRACTS

พสุดา เจี่ยปิ่ยชสกุล
PHASUDA JIAPIYASAKUL

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
พ.ศ. 2550

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การประเมินศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านบางชนิด

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL POTENTIAL IN SOME INDIGENOUS PLANT EXTRACTS

พสุดา เจี่ยปิยะสกุล

PHASUDA JIAPIYASAKUL

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2550

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL POTENTIAL IN SOME INDIGENOUS PLANT EXTRACTS

PHASUDA JIAPIYASAKUL

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FOOD SANITAION

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2007

COPYRIGHT 2007

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การประเมินศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านบางชนิด
นักศึกษา	นางสาวพสุดา เจี่ยปิยะสกุล
รหัสประจำตัว	46067910
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2550
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร.วริพัสย์ อารีกุล

บทคัดย่อ

การประเมินศักยภาพของสารสกัดจากพืชพื้นบ้าน 15 ชนิด สกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ น้ำกลั่น เอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 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 plantarum* ATCC 14917, *Lactococcus lactis* JCM 7638) ยีสต์ 2 สายพันธุ์ (*Pichia anomala* TISTR 5285, *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5051) และรา 2 สายพันธุ์ (*Aspergillus niger* TISTR 3245, *Penicillium pinophilum* TISTR 3386) โดยวิธีการ Agar disc diffusion พบว่า พืชสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ มะระขี้นก (*Momordica charantia* Linn.) หมีเหม็น (*Litsea glutinosa* (Lour.) C.B. Rob.) ปีนนกไส้ (*Bidens pilosa* Linn.) และอบเชย (*Cinnamomum zeylanicum* Breyn) โดยสารสกัดจากมะระขี้นกด้วยเอธานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staph. aureus*, *L. innocua*, *B. subtilis*, *Lb. plantarum* และ *Lc. lactis* แต่ไม่มีผลในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์และรา และสารสกัดมะระขี้นกด้วยเอธานอลมีฤทธิ์เทียบเท่ายาปฏิชีวนะคลอแรมฟินิคอลที่ความเข้มข้น 0.25 และมากกว่า 0.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในการยับยั้ง *B. subtilis* และ *Staph. aureus* ตามลำดับ และน้อยกว่า 0.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในการยับยั้ง *L. innocua*, *Lb. plantarum* และ *Lc. lactis* เมื่อศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดมะระขี้นกด้วยเอธานอล โดยวิธี broth dilution พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis*, *Lc. lactis*, *L. innocua* และ *Staph. aureus* เท่ากับ 0.39, 2.35, 3.52 และ 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยแสดงสมบัติการออกฤทธิ์แบบฆ่าทำลายต่อ *B. subtilis* และ *Lc. lactis* ซึ่งมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดการในฆ่าทำลาย เท่ากับ 0.48 และ 2.73 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่แสดงสมบัติแบบยับยั้งต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบชนิดอื่น

Thesis Title	Evaluation of Antimicrobial Potential in Some Indigenous Plant Extracts
Student	Miss Phasuda Jiapiyasakul
Student ID	46067910
Degree	Master of Science
Program	Food Sanitation
Year	2007
Thesis Advisor	Dr. Varipat Areekul

ABSTRACT

Evaluation of antimicrobial potential in fifteen indigenous plant extracts using 4 different solvents; distilled water, 80% ethanol, ethyl acetate and hexane, were tasted 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 plantarum* ATCC 14917, *Lactococcus lactis* JCM 7638) two yeasts (*Pichia anomala* TISTR 5285, *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5051) and two molds (*Aspergillus niger* TISTR 3245, *Penicillium pinophilum* TISTR 3386) using agar disc diffusion method. Only four indigenous plants; *Momordica charantia* Linn, *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B. Rob., *Bidens pilosa* Linn. and *Cinnamomum zeylanicum* Breyn showed antimicrobial activity. Crude ethanolic extracts of *M. charantia* Linn was the most effective inhibitory against gram-positive bacteria such as *Staph. aureus*, *L.innocua*, *B. subtilis*, *Lb. plantarum*, *Lc. lactis* and uninhibited on gram-negative bacteria, yeast and mold. It showed its effectiveness as 0.25 and > 0.125 mg chloramphenicol/ml on *B. subtilis* and *Staph. aureus* and less than 0.125 mg chloramphenicol /ml on *L. innocua*, *Lb. plantarum* and *Lc. lactis*. The minimal inhibitory concentrations (MIC) of ethanolic extract of *M. charantia* Linn. were determined using broth dilution methods. The MIC values of 0.39, 2.35, 3.52 and 25 mg/ml against *B. subtilis*, *Lc. lactis*, *L. innocua* and *Staph. aureus* were determined. Among them, the bactericidal effect was found in *B. subtilis* and *Lc. lactis* with the minimum bactericidal concentration (MBC) of 0.48 and 2.73 mg/ml while the others showed inhibitory effectiveness.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณที่ได้รับความกรุณาจาก ดร. วริพัสย์ อารีกุล ที่ให้เกียรติเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ผู้ซึ่งให้ความรู้ คำแนะนำ และตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ให้เสร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี และขอขอบพระคุณ รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ ผศ.ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ และคุณเพ็ญศรี รอดมา ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รวมทั้งให้คำแนะนำเพิ่มเติมในการศึกษาและทำการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณโครงการวิจัยและพัฒนาพืชป่าบางชนิดเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศ สกว. ที่กรุณาให้ทุนสนับหนุนการทำวิจัยนี้

ขอกราบขอบพระคุณคุณแม่ และครอบครัวที่เป็นกำลังใจและส่งเสริมการศึกษาของข้าพเจ้าให้สำเร็จได้จนถึงบัดนี้

ขอขอบคุณสำหรับกำลังใจและความช่วยเหลือของพี่ เพื่อน และน้องนักศึกษาปริญญาโท สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร และสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารที่มีให้มาตลอด รวมทั้งเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ควบคุมห้องปฏิบัติการทุกท่าน ที่ให้คำปรึกษาและอำนวยความสะดวกในการศึกษาเป็นอย่างดี

สุดท้ายนี้คุณค่าและประโยชน์อันเนื่องจากวิยานิพนธ์เล่มนี้จะพึงมีเพียงใด ขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน ที่ได้อบรมสั่งสอนให้มีความรู้และมีกำลังใจให้สำเร็จได้จนถึงปัจจุบัน

พสุดา เจี่ยปิยะสกุล

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษอังกฤษ... II

กิตติกรรมประกาศ.....III

สารบัญ.....IV

สารบัญตาราง..... VI

สารบัญภาพ.....VII

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความสำคัญและที่มา.....1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....2

บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....3

2.1 พืชพื้นบ้านและพืชสมุนไพร.....3

2.2 สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในพืชบางชนิด.....16

2.3 สารสกัดจากพืชพื้นบ้านต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์.....27

2.4 การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารปฏิชีวนะ.....34

2.5 การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์.....35

2.6 การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์.....36

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....37

3.1 วัตถุดิบ.....37

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์.....39

3.3 สถานที่ดำเนินงาน.....39

3.4 วิธีการทดลอง.....39

3.5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....47

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....48

4.1 การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์.....48

4.2 เปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดกับปริมาณความเข้มข้นของคลอแรมฟีนิคอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย.....69

4.3 ความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 71

4.4 การศึกษาสมบัติและวิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดพืชพื้นบ้านในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์.....81

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 86

5.1 สรุปผลการทดลอง.....86

5.2 ข้อเสนอแนะ.....87

บรรณานุกรม.....89

ภาคผนวก.....97

ภาคผนวก ก 98

ภาคผนวก ข.....104

ภาคผนวก ค.....107

ภาคผนวก ง.....112

ประวัติผู้เขียน.....114

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	คุณค่าทางอาหารของผลมะระขี้นก 100 กรัม	3
2.2	องค์ประกอบทางเคมีสำคัญที่พบในส่วนต่างๆของมะระขี้นก	4
2.3	สารประกอบเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากผลหมีเหม็น	6
2.4	องค์ประกอบทางเคมีของใบและเมล็ดผักชีลาว	9
2.5	องค์ประกอบทางเคมีของใบและรากเสนียด	13
2.6	สารประกอบเคมีในน้ำมันหอมระเหยจากใบตะไคร้ต้น	15
2.7	ความสามารถในการละลายของสารพฤกษเคมีในตัวทำละลายชนิดต่างๆ	23
2.8	สารประกอบเคมีสำคัญในพืชที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	26
4.1	ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดพืชชนิดต่างๆ ด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์	51
4.2	ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และราของสารสกัดพืชชนิดต่างๆ ด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์	53
4.3	ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชชนิดต่างๆด้วยเอทิลอะซิเตท	55
4.4	ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และราของสารสกัดพืชชนิดต่างๆ ด้วยเอทิลอะซิเตท	58
4.5	ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชชนิดต่างๆด้วยเฮกเซน	59
4.6	ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และราของสารสกัดพืชชนิดต่างๆ ด้วยเฮกเซน	61
4.7	ผลเปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียระหว่างสารสกัดจากพืชด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ กับสารสกัดจากพืชด้วยเอทิลอะซิเตท	68
4.8	ผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบต่อปริมาณคลอแรมฟีนิคอลที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับการยับยั้งของสารสกัดจากต้นมะระขี้นก	70
4.9	แสดงค่า MIC ของสารสกัดจากมะระขี้นกด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ต่อเชื้อแบคทีเรียต่างชนิด ด้วยวิธี Agar disc diffusion	72

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ความมีขั้วของตัวทำละลายที่เรียงจากมีขั้วต่ำไปตัวทำละลายที่มีขั้วสูง	22
3.1	แผนภูมิภาพวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียลงในอาหารแข็งด้วยวิธี Double layer ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar disc diffusion	44
4.1	ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 3.125-100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้น 6.36±0.03 log CFU	73
4.2	ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 3.125-100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อปริมาณเชื้อ *L. innocua* เริ่มต้น 6.94±0.06 log CFU	74
4.3	ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 0.195-1.56 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อปริมาณเชื้อ *B. subtilis* เริ่มต้น 6.51±0.20 log CFU	75
4.4	ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 0.195-1.56 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อปริมาณเชื้อ *Lc. lactis* เริ่มต้น 6.53±0.35 log CFU	76
4.5	ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 25-50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้น 6.22±0.06 log CFU	77
4.6	ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น1.56-3.91 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อปริมาณเชื้อ *L. innocua* เริ่มต้น 6.67±0.39 log CFU	78
4.7	ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 0.39-0.78 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อปริมาณเชื้อ *B. subtilis* เริ่มต้น 6.36±0.35 log CFU	79
4.8	ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น1.56-3.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อปริมาณเชื้อ *Lc. lactis* เริ่มต้น 6.62±0.01 log CFU	80
4.9	การออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกต่ออัตราการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* ในเวลา 24 ชั่วโมง	81
4.10	การออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกต่ออัตราการเจริญของเชื้อ *L. innocua* ในเวลา 24 ชั่วโมง	82
4.11	การออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกต่ออัตราการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ในเวลา 24 ชั่วโมง	83
4.12	การออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกต่ออัตราการเจริญของเชื้อ *Lc. lactis* ในเวลา 24 ชั่วโมง	84

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันประชากรทั่วโลกกำลังตื่นตัวในเรื่องการดูแลสุขภาพของตนเองโดยให้ความสำคัญกับการออกกำลังกาย และการใช้ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่างๆจากธรรมชาติ เพื่อเสริมสร้างความแข็งแรงของร่างกาย จากผลการสำรวจของกระทรวงสาธารณสุข ในปี 2548 เกี่ยวกับการใช้สมุนไพรของคนไทยในรูปแบบผลิตภัณฑ์ต่างๆ อาทิ เช่น ผลิตภัณฑ์ยา เครื่องสำอาง อาหาร และเครื่องดื่ม พบว่าตลาดสมุนไพรของไทยในรูปผลิตภัณฑ์ต่างๆทั้งที่จำหน่ายภายในและต่างประเทศ มีมูลค่ากว่า 48,000 ล้านบาท (www.trf.or.th/news.htm., 2005) ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในรูปเครื่องเทศและสมุนไพรเพื่อการประกอบอาหาร ดังนั้นประเทศไทยซึ่งมีภูมิประเทศในเขตร้อนชื้นมีความหลากหลายของทรัพยากรพรรณพืช โดยเฉพาะพืชชั้นสูงที่มีมากกว่า 15,000 ชนิด ทั้งที่มีและไม่มีการศึกษาค้นคว้า หรือมีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ (www. qsbg. org/background_th. asp.htm, 2005) จึงเป็นมูลเหตุจูงใจในการศึกษาค้นคว้าหาสมบัติที่จะนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ทั้งทางด้านโภชนาการ และ/หรือโภชนเภสัช หรือที่เป็นยาในพืชแล้วนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร อาหารเสริมสุขภาพ และยาชนิดใหม่ที่ใช้ทดแทนยาแผนปัจจุบัน หรือทดแทนยาปฏิชีวนะต่างๆได้ เช่น การใช้สารสกัดจากบัวบก (*Centella asiatica* L.) จะเร่งกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ ช่วยสมานบาดแผลที่เกิดจากความร้อนตามผิวหนังให้หายเร็วขึ้น (Coldren และคณะ, 2003)

ทั้งนี้ในอุตสาหกรรมอาหารได้พัฒนาการใช้สมุนไพรหรือเครื่องเทศที่มีสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ในการเก็บรักษาอาหารมาเป็นเวลานานแล้ว เพื่อให้เกิดความปลอดภัยจากการตกค้างของสารเคมีสังเคราะห์บางประเภทจากวัตถุเจือปนที่เติมลงในผลิตภัณฑ์อาหาร (Duffy และ Power, 2001) รวมถึงการศึกษาสารที่เป็นองค์ประกอบของพืชในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และการเน่าเสียของอาหารก็มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องและรวดเร็วทั้งในและต่างประเทศ โดยมีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับความสามารถของสารสกัดจากเครื่องเทศและผักจากประเทศจีน ญี่ปุ่น ไทย และเยอรมัน ในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Alzoreky และ Nakahara, 2003) และจากการศึกษาของ Arora และ Kaur (1999) ยังพบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศบางชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารกันเสียในอาหาร

อย่างไรก็ตามรายงานการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้าน และพืชสมุนไพรในประเทศไทยนั้นมีอยู่น้อย ยากแก่การสืบค้นและมักไม่เป็นที่เปิดเผย อีกทั้งความ

แตกต่างทางด้านสายพันธุ์ ลักษณะดิน ลักษณะภูมิอากาศและภูมิประเทศก็อาจเป็นปัจจัยที่ส่งผลถึงความแตกต่างในองค์ประกอบและความเข้มข้นของสารพฤกษเคมีในพืช การศึกษาศักยภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านอาจเป็นข้อมูลพื้นฐานในการประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านบางชนิดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ยีสต์ และราบางชนิดที่ปนเปื้อนในอาหาร

1.2.2 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของพืชพื้นบ้านบางชนิดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด

1.2.3 ศึกษาสมบัติและวิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ เป็นการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านจำนวน 15 ชนิด และหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์ และราบางชนิดที่ปนเปื้อนในอาหาร ซึ่งจะเป็นองค์ความรู้ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร และอุตสาหกรรมยา ทั้งยังส่งเสริมการใช้ประโยชน์ของทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่ เพื่อพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศ รวมทั้งเป็นอีกแนวทางเลือกในการบริโภคผลิตภัณฑ์ที่มาจากธรรมชาติเพื่อสุขภาพร่างกายที่ดีของประชากรไทยต่อไป

บทที่ 2

ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 พืชพื้นบ้านและพืชสมุนไพร

เมื่อกล่าวถึงพืชที่นำมาใช้เป็นยาส่วนมากมักนึกถึงสมุนไพรที่ถูกดัดแปลงในรูปต่าง ๆ เช่น หั่นเป็นชิ้นเล็กลง บดเป็นผงละเอียด หรืออัดเป็นแท่ง และมีการนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคบางชนิดเท่านั้น ซึ่ง สมุนไพร หมายถึง พืชหรือชิ้นส่วนของพืชที่ยังไม่ได้ผ่านการแปรรูป ซึ่งอาจอยู่ในสภาพสดหรือแห้งที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ทั้งที่ใช้เป็นอาหาร และยารักษาโรคต่างๆและบำรุงร่างกายได้ (ศูนย์ประสานงานพัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์สุขภาพชุมชน สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

2.1.1 มะระขี้นก

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Momordica charantia* Linn. อยู่ในพืชวงศ์ Cucurbitaceae ลักษณะเป็นพืชล้มลุก คนไทยนิยมบริโภคผลและยอดอ่อน เนื่องจากเป็นพืชพื้นบ้านที่มีวิตามิน แร่ธาตุและคุณค่าทางอาหารสูง (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2540) และจากการศึกษาคุณค่าทางอาหารของผลมะระขี้นกของทศพร (2531) พบว่า ผลมะระขี้นก 100 กรัมให้พลังงานต่อร่างกาย 17 กิโลแคลอรี่ ประกอบด้วยคุณค่าทางอาหาร ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางอาหารของผลมะระขี้นก 100 กรัม

คุณค่าทางอาหาร	ปริมาณ	หน่วย	คุณค่าทางอาหาร	ปริมาณ	หน่วย
ความชื้น	83.2	กรัม	เหล็ก	9.4	มิลลิกรัม
ไขมัน	1	กรัม	วิตามินเอ	2924	IU
เส้นใย	12	กรัม	วิตามินบี 1	0.09	มิลลิกรัม
คาร์โบไฮเดรต	9.8	กรัม	วิตามินบี 2	0.05	มิลลิกรัม
แคลเซียม	3	มิลลิกรัม	วิตามินซี	0.4	มิลลิกรัม
โปรตีน	2.9	กรัม	ไทอามีน	0.07	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	140	มิลลิกรัม	ไนอาซีน	190	มิลลิกรัม

ที่มา : ทศพร (2531)

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ได้แก่ ใช้ผลตำพอกฝี แก้บวม แก้ปวด เป็นยาระบาย เป็นยาขับพยาธิในท้อง มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ แก้ไข้ เป็นต้น (นันทวันและอรนุช, 2542)

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ ได้แก่ momordicoside เป็นสารกลุ่มไตรเทอร์ปีน (triterpenes) สารประกอบ charantia และ โปรตีนที่มีชื่อว่า MAP30 (Momordica anti-human immunodeficiency virus [HIV] protein; molecular weight, 30 kDa) โดยพบสารประกอบเคมีที่สำคัญในส่วนต่างๆของมะระขี้นกได้ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีสำคัญที่พบในส่วนต่างๆของมะระขี้นก

มะระขี้นก	องค์ประกอบทางเคมี
เมล็ด	MAP 30 31.0 % Butyric acid 1.8 % Palmitic acid 2.8 % Stearic acid 21.7 % Oleic acid 30 % -Elaeostearic acid 43.7 % Momordicine Triterpene
ผล	Alkaloids Saponin Amino acid (citrulline) Polypeptide (p-insulin) 5-Hydroxytryptamine (sterols) (charantin b-sitosterol stigmasterol acylglucosyl sterols) Triterpine (cucurbitacin glycosides, momordicoside F1, F2, G, I, K และ L)
ใบ	Triterpenes (momordicine , momordicine I, II, III cucurbitan-triterpenes (III, IV, V))
ราก	Alkaloids (momordicine) Saponin

ที่มา : พาริชา และอัญญารัตน์ (2543)

นันทวัน (2536) ทำการวิจัยในสัตว์ทดลองโดยใช้สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ น้ำ น้ำคั้น และสารสกัดน้ำจากการแช่ผงสมุนไพรของผลของมะระขี้นก พบว่าสารประกอบ p-insulin และ charantin มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดได้

นาฏศจี (2540) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากผลดิบของมะระขี้นก ด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปคโตรสโคปี และแมสสเปคโตรเมตรี พบว่ามีสารสำคัญประกอบด้วยโพแตสเซียม และ สารไฟโตสเตียรอล ได้แก่ $C_{29}H_{48}O$ (24β -ethyl-cholesta-5,25(27)-diene-3β-ol) และ $C_{29}H_{50}O$ (24α -ethyl-cholesta-5-ene-3β-ol) สาร charantin ซึ่งเป็นสารไฟโตสเตียรีลกลัยโคไซด์ (photosteryl glycosides) ได้แก่ $C_{35}H_{60}O_6$ (3β -O-D-glucopyranosyl-24ξ -ethyl-cholesta-5-ene)

และ $C_{35}H_{58}O_6$ (3β -O-D-glucopyranosyl-24β -ethyl-cholesta-5,25(27)-diene) รวมถึงการแยกสารประเภทโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 30kDa (MAP30) จากเมล็ดของผลมะระขี้นกสุก ด้วยวิธี cation-exchange และgel filtration chromatography พบว่าลำดับของกรดอะมิโนที่ได้มีจำนวน 20 ตัวซึ่งตรงกับโปรตีน momordin a และ α - momorcharin

มลฤดี (2545) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสาร charantin จากเถา รากและผลมะระขี้นก พบว่ามีปริมาณสาร charantin ในเถา 0.0417 เปอร์เซ็นต์ ผล 0.0301 เปอร์เซ็นต์ และราก 0.0301 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำสาร charantin จากรากและเถามาวิเคราะห์หาปริมาณสาร phytosteryl glycosides ที่เป็นองค์ประกอบ จะได้สาร phytosteryl glycosides ในปริมาณ 0.0216 เปอร์เซ็นต์จากส่วนเถา และ 0.0139 เปอร์เซ็นต์จากส่วนราก

อรุณี และคณะ (2528) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัด acidified water-chloroform extract จากผลมะระขี้นก พบว่ามีผลในการต้านเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และเมื่อนำสารสกัดมาแยกองค์ประกอบเคมีด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC) พบว่าน่าจะเป็นสารประกอบเคมีในกลุ่ม steroidal glycoside ต่อมา ชาลี (2543) ศึกษาความสามารถของมะระขี้นกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ จากรากของมะระขี้นกสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้ โดยสารที่มีผลต้านเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว คือ สารในกลุ่มแอลคาลอยด์ (alkaloids)

Jiratchariyakul และคณะ (2001) รายงานความสามารถในการต้านเชื้อไวรัสโรคเอดส์ หรือไวรัส HIV ของน้ำคั้นจากผลอ่อนของมะระขี้นก โดยมีสาระสำคัญ คือ โปรตีน MAP30 มีฤทธิ์ต้านไวรัส HIV ในหลอดทดลอง ซึ่งมีกลไกลการออกฤทธิ์ยังยับยั้งเอนไซม์รีเวอร์ทรานสคริปเทส (HIV-1 reverse transcriptase) และ integrase ที่มีผลต่อการเจริญของไวรัส HIV

2.1.2 หมีเหม็น

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Litsea glutinosa* (Lour) C.B.Robinson อยู่ในพืชวงศ์ Lauraceae มีลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ประเทศไทยพบได้ในป่าเบญจพรรณและป่าดิบแล้งทั่วไป หมีเหม็นมีสรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา คือ รากแก้ปวดกล้ามเนื้อ และช่วยบำรุงร่างกาย เปลือกของต้นแก้บิด แก้ปวดมดลูก แก้คัน ใบและเมล็ดแก้ฝี แก้ถอนพิษร้อน หรือพิษอักเสบ แก้คัน แก้แสบตามผิวหนัง ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา แก้ท้องเดิน (นันทวันและอรนุช, 2543)

นันทวันและอรนุช (2543) รายงานสารประกอบที่สำคัญ ได้แก่ actinodaphnine, boldine laurotetanine, laurelliptine, litsea arabinoxylan PPS, litseferine, polysaccharide และ reticuline ต่อมา Mandal และคณะ (2000) ได้วิเคราะห์สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญจากสารสกัดจาก

เปลือกของต้นหมีเหม็นด้วยเมธานอล พบว่าประกอบด้วย แอลคาลอยด์, สเตียรอยด์ (steroids), ไตรเทอร์ปีนอยด์ (triterpenoids), ซาโปนิน (saponins) และแทนนิน (tannins) เป็นองค์ประกอบหลัก

ชมกมล และคณะ (2541) ได้ทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำจากผลหมีเหม็น โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี - แมสสเปกโทรมิเตอร์ (GC/MS) พบว่ามีสารสำคัญหลายชนิด (ตารางที่ 2.3) และมีองค์ประกอบหลัก ได้แก่ *E*- β - ocimene 45.13 เปอร์เซ็นต์, *cis* – verbenyl acetate 4.40 เปอร์เซ็นต์, *9- epi*- E –caryophyllene 4.30 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยจากผลหมีเหม็นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ps. aeruginosa* ได้

ตารางที่ 2.3 สารประกอบเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากผลหมีเหม็น

Composition	% Area	Composition	% Area
Monoterpene		**Oxygenated monoterpene**	
tricyclene	3.75	*1,8* cineole	1.00
camphene	0.60	verbenone	2.08
sabinene	0.55	camphor	0.19
δ- 3 –carene	3.94	*4*- terpineol	0.12
myrcene	0.44	α - terpineol	0.12
o- 2- carene	0.11	*cis* – verbenyl acetate	4.40
o- myrcene	0.29	cumin aldehyde	0.96
limonene	1.18	**Sesquiterpene**	
(z)- β - ocimene	1.00	α - copaene	0.46
(E)- β - ocimene	45.13	β - selinene	0.18
Oxygenated Sesquiterpene		*9- epi*-(*E*) –caryophyllene	4.30
Caryophyllene oxide	2.05	(z)-α - bisabolene	0.78
Miscellaneous			
Unknown	26.39		

ที่มา : ชมกมล และคณะ (2541)

2.1.3 ปืนนกไส้

ปืนนกไส้มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Bidens pilosa* (Linn.) อยู่ในพืชวงศ์ Asteraceae มีลักษณะเป็นไม้ล้มลุกฤดูเดียว ลำต้นตั้งตรง แตกกิ่งก้านมาก ใบประกอบแบบขนนก เรียงตรงข้าม ใบย่อยรูปไข่แกมขอบขนาน ปืนนกไส้มีสรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา คือ ใช้รากมาต้มน้ำดื่มแก้หวัด ยาต้านมาลาเลีย ต้านเชื้อแบคทีเรีย (นันทวันและอรนุช, 2541)

สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญ ได้แก่ phenylpropanoid glucosides, polyacetylenes, diterpene, flavonoids และ flavone glycosides (Chiang และคณะ, 2004) และจากงานวิจัยของ Brandao และคณะ (1997) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคมาเลเรียของสารสกัดจาก *Bidens pilosa* และพืชในตระกูล *Bidens* (Asteraceae) พบว่าสารสกัดหยาบเอธานอลจากส่วนต้น รากและใบของ *B. pilosa* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Plamodium falciparum* ได้ 90 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อวิเคราะห์สารที่เป็นองค์ประกอบ พบว่ามีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ สารประกอบ phenyl acetylene และ l- phenyl-l , 3-diyn-5-en-7-ol-acetate เป็นองค์ประกอบ

Khan และคณะ (2001) พบว่าสารพฤกษเคมีกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และ phenylacetylenes ของสารสกัดเอธานอลจากต้นปืนนกไส้ มีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและโปรโตซัวบางชนิด และเมื่อนำมาแยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยตัวทำละลายต่างๆ ได้แก่ เอทิลอะซิเตท เพทโทรล (petrol) และ ไดคลอโรมีเทน พบสารที่เป็นองค์ประกอบในส่วนที่สกัดด้วยเพทโทรลมีปริมาณ 3.21 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งประกอบด้วย แอลคาลอยด์ สเตียรอยด์ และไตรเทอร์ปีนอยด์ ส่วนที่แยกได้ในสารไดคลอโรมีเทนมีปริมาณ 1.41 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วย แอลคาลอยด์ สเตียรอยด์ และไตรเทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และแทนิน และสารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทมีปริมาณ 3.31 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วย แอลคาลอยด์ สเตียรอยด์ และไตรเทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และแทนิน

2.1.4 อบเชย

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cinnamomum* spp. อยู่ในพืชวงศ์ Lauraceae เป็นไม้ยืนต้นเปลือกและใบมีกลิ่นหอม สามารถนำเปลือกด้านในของใบและกิ่งก้านมาเป็นเครื่องเทศในการปรุงอาหาร ซึ่งอบเชยแบ่งออกเป็นประเภทตามถิ่นกำเนิด (พรทิพย์และคณะ, 2543) ดังนี้

- อบเชยเทศหรืออบเชยลังกา มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Cinnamomum zeylanicum* พบในประเทศศรีลังกาและอินเดียตอนใต้
- อบเชยจีน มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Cinnamomum cassia* พบได้ทางตอนใต้ของจีน พม่าและเวียดนาม
- อบเชยญวน มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Cinnamomum loureirii* พบในประเทศเวียดนาม

กัมพูชา และลาว

- อบเชยชวา มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Cinnamomum burmannii* พบในประเทศอินโดนีเซีย และบริเวณเกาะสุมาตรา
- อบเชยไทย มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Cinnamomum iners* Blume พบในประเทศไทย

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ได้แก่ ช่วยขับเหงื่อ ให้ความสดชื่น แก้อาการอ่อนเพลีย น้ำมันอบเชยเทศใช้เป็นส่วนผสมในยาขับลม แก้อาการท้องอืดท้องเฟ้อ มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อรา และเชื้อจุลินทรีย์ แต่มีผลข้างเคียง คือ ก่อให้เกิดความระคายเคือง (พรทิพย์และคณะ, 2543)

สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในอบเชย จากการรายงานของ ฐิติพร และวิจิตร (2525) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในผงอบเชยเทศที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม และเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธี soxhlet extraction เมื่อนำสารสกัดตรวจผลทางเคมีเบื้องต้น พบว่าสารสกัดจากปิโตรเลียมอีเทอร์ประกอบด้วยสารในกลุ่ม cardiac glycosides และ coumarins ส่วนสารสกัดจากคลอโรฟอร์ม พบเพียงสารประกอบกลุ่ม coumarins และสารสกัดจากเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วยสารกลุ่มแทนนิน เมื่อนำไปทดสอบด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี - แมสสเปกโทรมิเตอร์สเปคโตสโคปีส์ (GC/MS) ปรากฏว่าได้ผลที่สอดคล้องกัน คือ สารสกัดจากผงอบเชยเทศจะประกอบด้วยสารในกลุ่ม carbonyl group

Bruneton (1995) พบว่าอบเชยเทศ (*Cinnamomum zeylanicum*) จากทางตอนใต้ของประเทศอินเดียและศรีลังกาที่สกัดด้วยน้ำ และแอลกอฮอล์ ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย (volatile oils) 1–4 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ cinnamaldehyde, eugenol, *trans*-cinnamic acid กลุ่มของสารประกอบฟีนอล 4–10 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ แทนนิน, คาทิชิน (catechins) และส่วนที่เหลือเป็นสารประกอบในกลุ่ม โปรแอนโทไซยานิดิน(proanthocyanidins), monoterpenes, sesquiterpenes (pinene), calcium-monoterpenes, oxalate, กัม (gum), เรซิน (resin), แป้ง (starch) และ น้ำตาล (sugars) เป็นต้น ต่อมา Chang และคณะ (2001) ได้สกัดอบเชยเทศด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ พบว่ามีปริมาณน้ำมันหอมระเหยประมาณ 0.5-1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในน้ำมันอบเชยเทศจะประกอบด้วยสารหลายชนิด เช่น eugenol, eugenol acetate, cinnamyl acetate, cinnamyl alcohol, benzaldehyde และ linalool เป็นต้น โดยในองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจะพบ cinnamaldehyde ปริมาณมากที่สุด 65-70 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ eugenol 10-12 เปอร์เซ็นต์

2.1.5 ผักชีลาว

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Foeniculum vulgare* Mill. อยู่ในพืชวงศ์ Umbelliferae ลักษณะเป็นพืชล้มลุกตระกูลเดียวกับผักชีแต่มีลำต้นสูงกว่า ลำต้นมีสีเขียวสด กิ่งก้านแตกแขนงมากมาย ใบเป็นเส้นฝอยมีสีฟ้าอมเขียว ดอกมีสีเหลืองออกเป็นช่อ ก้านดอกมีลักษณะคล้ายซี่ร่ม ผักชีลาวมีสรรพคุณ

ทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา คือ ต้นและใบสดมีฤทธิ์ขับปัสสาวะ ส่วนรากมีฤทธิ์ช่วยให้ระบาย รักษาอาการคลื่นไส้อาเจียน ช่วยขับลม เป็นต้น (นันทวันและอรนุช, 2541)

สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญ ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยและน้ำมันระเหยยาก คือ ทราลอะนีโทล (tralanetol) ซึ่งสารชนิดนี้จะมีปริมาณที่ต่างกันตามแหล่งเพาะปลูก พันธุ์ และการเก็บเกี่ยว นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารสำคัญอื่นๆ เช่น esthragole, camphene, limonene และสารประเภท monoterpenoids hydrocarbon เป็นต้น (นันทวันและอรนุช, 2541) และจากการศึกษาของ Dukic'(2001) พบว่าสารประกอบในเมล็ด *Foeniculum vulgare* Mill. ด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ ประกอบด้วยสาร *E*-anethole 72.27-74.18 เปอร์เซ็นต์, fenchone 11.32-16.35 เปอร์เซ็นต์ และ methyl chavicol 3.78-5.29 เปอร์เซ็นต์ ต่อมาในปี 2005 Gulfraz ได้ทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบหลักในใบและเมล็ดของ *Foeniculum vulgare* Mill. จากแหล่งเพาะปลูกต่างๆ ในประเทศปากีสถาน โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี – แมสสเปกโทร (GC/MS) พบว่าทั้งสองส่วนของพืชประกอบด้วยสารกลุ่มฟลาโวนอยด์, ซาโปนิน (saponins), โปรตีน (กรดอะมิโน) และไขมันในปริมาณสูง (ตารางที่ 2.4)

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบทางเคมีของใบและเมล็ดผักชีลาว

องค์ประกอบทางเคมี	เมล็ด (%)	ใบ (%)	องค์ประกอบทางเคมี	เมล็ด (%)	ใบ (%)
ไขมัน	13.25	7.5	ไกลซีน	0.55	0.65
เส้นใย	5.1	6.2	ลิวซีน	0.63	0.59
แร่ธาตุ	5.2	4.1	ไอโซลิวซีน	0.73	0.71
ความชื้น	18.5	25.5	โพลีน	0.53	0.5
ซาโปนิน	16.5	12.3	ฟีนิลอะลานีน	0.45	0.47
ฟลาโวนอยด์	9.5	21.6	ทริปโตเฟน	0.53	0.52
โปรตีน	16.5	8.5			

ที่มา : Gulfraz (2005)

Kwon และคณะ (2002) ศึกษาความสามารถของสารประกอบที่พบในต้นผักชีลาว พบว่าสารประกอบกลุ่ม phenyl propanoid คือ dillapional สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* และ *Cladosporium cladosporioides* โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเท่ากับ 125, 250 และ 125 ไมโครกรัม/ ไมโครลิตร ตามลำดับ แต่ไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อ *E. coli*

2.1.6 บัวบก

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Centella asiatica* (Linn.) Urban. อยู่ในพืชวงศ์ Umbelliferae ลักษณะเป็นพืชล้มลุก ลำต้นเลื้อยยาวไปตามพื้นดิน แตกรากและใบตามข้อออกเป็นกระจุก ใบมีลักษณะคล้ายรูปไตและขอบใบจักเล็กน้อย (นันทวันและอรนุช, 2541) บัวบกมีคุณค่าทางโภชนาการ โดยบัวบก 100 กรัม ให้พลังงานแก่ร่างกาย 44 กิโลแคลอรี่ ประกอบด้วยโปรตีน 1.8 กรัม ไขมัน 0.9 กรัม คาร์โบไฮเดรต 7.1 กรัม แคลเซียม 146 มิลลิกรัม โพแทสเซียม 30 มิลลิกรัม เหล็ก 3.9 มิลลิกรัม วิตามินบี 0.24 มิลลิกรัม เบต้าแคโรทีน 238.23 มิลลิกรัม และวิตามินซี 4 มิลลิกรัม (ธวัช, 2542)

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ลดการอักเสบ แก้ปวด สมานแผล นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส ขยายหลอดเลือด คลายกล้ามเนื้อเรียบ เป็นต้น บัวบกมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ ได้แก่ asiaticoside, madecassic acid, madecassosid และ asiatic acid ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของไตรเทอปีนอยด์ และยังมีสารประกอบอื่นๆอีก เช่น น้ำมันหอมระเหย เช่น sitosterol, tannins และ rasin สารที่มีรสขมได้แก่ vallarine, pectic acid, betulinic acid, indocentonic และ isobrahmic acid เป็นต้น (นันทวันและอรนุช, 2541)

Coldren และคณะ (2003) ได้ศึกษาฤทธิ์ในการรักษาแผลของบัวบก พบว่าในบัวบกมีสารประกอบไตรเทอปีนอยด์ (triterpenoid) ได้แก่ asiaticoside, madecassic acid และ madecassic acid ที่ช่วยให้แผลหายเร็วโดยการเร่งกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อใหม่

นอกจากนี้สารสกัดจากใบบัวบกมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย ซึ่งสารสกัดด้วยน้ำร้อนและเอธานอลจากส่วนเหนือดิน หรือพืชทั้งต้นของบัวบกสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการทำให้บาดแผลอุกลาม ได้แก่ *Staph. aureus* และมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *B. subtillis* แต่ไม่มีผลต่อเชื้อ *E. coli* (Leungsakul, 1987) การศึกษาฤทธิ์ในการต้านไวรัส โดยวิธี Plaque reduction assay พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากบัวบกมีผลในการยับยั้ง Herpes siplex virus โดยสารในกลุ่มที่ออกฤทธิ์ได้แก่ asiaticoside (Yoosook และคณะ, 2000)

2.1.7 กระชายดำ

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker อยู่ในพืชวงศ์ Zingiberaceae มีลักษณะเป็นพืชล้มลุก มีกาบใบหุ้มลำต้น มีรากเก็บอาหาร แยกเป็นกระเปาะจากเหง้า เรียกว่ากระโปกหรือนมกระชาย กระชายดำจะมีเนื้อในของหัว หรือเหง้า เป็นสีม่วงเข้มจนเกือบดำ มีสรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา คือ แก้โรคบิด ปวดท้อง ลดการหดเกร็งของลำไส้เล็กส่วนปลาย รักษาโรคลำไส้อักเสบ ช่วยระบบการหมุนเวียนของโลหิต ใช้รักษาโรคตกขาวในสตรี และรักษาโรคริดสีดวงทวารหนักได้ (เต็ม, 2544)

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ ได้แก่ น้ำมันหอมระเหย (volatile oils), d-thujene, d-penene, camphene, myrcene, limonene, 1, 8-cineol, trans-ocimene, p-cymenelinalool, neral, d-terpineol, borneol, geraneol, benzyl, acetone, methyl cinnamate, geranial, camphor และสารอื่นๆอีกหลายชนิด เช่น pinostrobin, alpinein, chalcone, boesenbergin A เป็นต้น และสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบที่แยกได้จากเหง้ากระชายดำ คือ 5,7 –dimethoxyflavone (5,7-DMF) มีฤทธิ์เทียบเท่ายาแก้อักเสบมาตรฐานหลายชนิด คือ แอสไพริน อินโดเมธาซิน ไฮโดรคอร์ติโซน และเพรดนิโซโลน (ณาตยา และคณะ, 2540)

สารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ 5,7,4'-trimethoxyflavone และ 5,7,3',4' –tetramethoxyflavone มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Plasmodium falciparum* อันเป็นสาเหตุของโรคมาลาเรีย ส่วนสาร 3,5,7,4'-tetramethoxyflavone และ 5,7,4'-trimethoxyflavone มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Candida albicans* ได้ดี แต่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ Mycobacterium ได้น้อย (ณาตยา และคณะ, 2540)

การทดสอบความเป็นพิษแบบเรื้อรังระยะเวลา 6 เดือน ของผงกระชายดำในหนูขาวที่ให้ในปริมาณ 20, 200, 1000 และ 2,000 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม/วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำแทน พบว่าหนูที่ได้รับกระชายดำทุกระดับมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นจากเดิม สำหรับผลการตรวจสุขภาพของหนูที่ได้รับกระชายทุกระดับไม่แตกต่างจากหนูขาวในกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำ รวมทั้งผลการตรวจอวัยวะทางจุลพยาธิวิทยานั้นไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่บ่งชี้ว่าเกิดจากความเป็นพิษของกระชายดำที่ระดับใดๆ (ทรงพลและคณะ, 2547)

2.1.8 ผักปลาบขอบใบเรียว

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Commelina diffusa* Burm.f. อยู่ในพืชวงศ์ Commelinaceae ลักษณะเป็นพืชล้มลุก ลำต้นอวบน้ำไม่มีขน แตกกิ่งก้านเลื้อยแผ่ไปตามพื้นดิน ใบเดี่ยวเรียงสลับ หน้าใบไม่มีขน ผิวหน้าใบสากมือ ขอบใบเป็นจักฟันเลื่อย (นันทวันและอรนุช, 2542)

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ได้แก่ แก้ไอ ใช้ใบและต้นตำคั้นน้ำทาแก้โรคผิวหนังผื่นคัน หูด รักษาแผลสด แผลถลอก ห้ามเลือด แก้พิษฝีเรื้อรัง และแก้พิษฝีฝวดแสบ (นันทวันและอรนุช, 2542) และสารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ โปรตีน 16.8 - 19.6 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัส 0.31 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียม 4.4 เปอร์เซ็นต์ แคลเซียม 1.6 – 6.5 เปอร์เซ็นต์ ลิกนิน 8.1 - 9.8 เปอร์เซ็นต์ Acid Detergent Fiber (สารที่ไม่ละลายจากการนำตัวอย่างพืชไปย่อยด้วยสารละลาย Cetyl trimethylammonium bromide และ acetone ซึ่งสารที่อยู่ในส่วนนี้ประกอบด้วย lignin, cutin, cellulose และ acid insoluble ash) 31.5 - 3 5.4 เปอร์เซ็นต์ Neutral Detergent Fiber (กลุ่มของสารเคมีต่างๆที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของพืช ซึ่งส่วนใหญ่ ได้แก่ lignin และ cellulose hemicellulose รวมทั้ง cutin, silica และ tannin) 42 - 51.1 เปอร์เซ็นต์ Dry matter

degradability (DMD) 59.7 - 68.3 เปอร์เซ็นต์ ธาตุเหล็ก 587 ppm ไนเตรท 136 ppm และกรดออกซาลิก 913 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ (www. dld.go.th, 2006) สำหรับองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต และ lactin (นันทวันและอรนุช, 2542)

2.1.9 ราชาวดีป่า

ราชาวดีป่าชื่อวิทยาศาสตร์ *Buddleja asiatica* Lour. อยู่ในพืชวงศ์ Buddlejaceae มีลักษณะเป็นไม้พุ่ม ใบจะออกเป็นคู่ตรงข้ามกัน ลักษณะใบเป็นรูปหอก ขอบใบเรียบ หรือเป็นหยักเล็กน้อย ตรงปลายใบจะเรียวแหลม ส่วนโคนใบจะสอบ ด้านล่างจะมีขนดอก เป็นพรรณไม้ที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของเอเชีย สามารถขึ้นได้ทั่วไปในประเทศไทย ราชาวดีป่ามีสรรพคุณทางยาและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ใบและลำต้นต้มน้ำล้างช่องคลอด แก้หนอง ลำต้นและรากผสมสมุนไพรชนิดอื่นต้มน้ำดื่มแก้ไข้ และเป็นยารักษาโรคผิวหนัง ส่วนที่เป็นพิษใช้เบื่อปลา และถ้าบริโภคในปริมาณมากจะทำให้แท้งลูกได้ (www. samunpri.com, 2006)

สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญที่พบใน *Buddleja* spp. ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ เทอร์พีนอยด์ ซาโปนิน ลิกแนน (lignans) และ buddlin (Chen, 2005) ซึ่งจากการทดลองของ Houghton (2003) พบว่าสารเทอร์พีนอยด์ที่แยกได้จากสารสกัดของเปลือกต้นราชาวดีป่า ได้แก่ buddledin A28 ซึ่งสารดังกล่าวสามารถยับยั้งเชื้อรา *Epidermophyton flocossum*, *Trichyophton interdigitale*, *Fusarium culmorum* และ *Sordari fimicola* โดยความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งของสาร buddledin A28 เท่ากับ 12.5 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร และสารสกัดหยาบจากราชาวดีป่าด้วยคลอโรฟอร์มมีความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์สูงกว่า 1,000 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร

2.1.10 เสนียด

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Justicia adhatoda* L. อยู่ในพืชวงศ์ Acanthaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มใหญ่ แตกกิ่งก้าน ใบเดี่ยวขนาดใหญ่ ใบรูปแหลมหัวแหลมท้าย ใบจัดตรงข้ามกันเป็นคู่ ๆ เสนียดมีสรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ได้แก่ รากบำรุงโลหิต บำรุงน้ำนม แก้เสมหะ แก้ลม รักษาหลอดลมอักเสบ เปลือกต้นแก้ไข้ ทำให้อาเจียน ทำให้ท้องเดิน ใบรักษาแผลในปากและลำคอ และมีสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญ ได้แก่ adhatodine, vasicine glycoside และ vasicinone glycoside (นันทวันและอรนุช, 2543) ในส่วนรากและใบ ประกอบด้วยสาร quinoline alkaloid เรียกว่า vasicine กรดอินทรีย์ได้แก่ dadhatodic acid และน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ betane (Council of Scientific and Industrial Research, 1989) ต่อมา Gulfraz (2005) ได้วิเคราะห์หาองค์ประกอบหลักในใบและรากของเสนียดจากแหล่งเพาะปลูกต่างๆในประเทศปากีสถาน โดยใช้เทคนิคแก๊ส

โครมาโทกราฟี - แมสสเปกโทรมิเตอร์ (GC/MS) พบว่าประกอบด้วยฟลาโวนอยด์ น้ำมันหอมระเหย และสารประกอบกลุ่มแอลคาลอยด์ ได้แก่ vasicine และ vasicinone (ตารางที่ 2.5)

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบทางเคมีของใบและรากเสนียด

องค์ประกอบทางเคมี	ราก (%)	ใบ (%)
โปรตีน	8.5	6.6
ไขมัน	3.5	2.5
น้ำตาล	2.1	4.5
เส้นใย	3.5	2,5
Vasicine	5.5	1.8
Vasicinone	3.8	0.5
Sulphur	2.1	0.4
แคลเซียม	1.6	1.7
วิตามินซี	1.1	3.4

ที่มา : Gulfraz (2005)

2.1.11 หมีห้ง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Litsea salicifolia* Nees EX Roxb. อยู่ในพืชวงศ์ Lauraceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้น มีกลิ่นแรง ใบมีสีน้ำตาลหรือสีน้ำตาลคล้ำ ในประเทศไทยพบได้ในป่าดิบเขา และพบได้ในอีกหลายประเทศ เช่น อินเดีย เนปาล และจีน เป็นต้น คนท้องถิ่นนิยมนำผลสุกมารับประทาน หมีห้งมีสรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา คือ เปลือกต้นแก้บิด แก้ปวดมดลูก แก้คัน ใบและเมล็ดแก้ฝี แก้ปวด ช่วยถอนพิษร้อน หรือพิษอักเสบ แก้คัน แก้แสบตามผิวหนัง ต้านเชื้อแบคทีเรีย และเป็นยาฆ่าแมลง (www. mcgill.ca/ files/ cine/ Nayakrishi_Datatables _fruits. pdf, 2006)

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ คือ น้ำมันหอมระเหย เทอร์พีนอยด์ และสารประกอบกรดเบนโซอิก (benzoic acid) (Choudhury และคณะ, 1997) โดยผลหมีห้งปริมาณ 100 กรัม ประกอบด้วยสารอาหาร ได้แก่ พลังงาน 65 กิโลแคลอรี่ โปรตีน 2.5 กรัม ไขมัน 0.9 กรัม เส้นใย 0.6 กรัม วิตามินซี 15 มิลลิกรัม ธาตุเหล็ก 0.8 มิลลิกรัม และแคลเซียม 84 มิลลิกรัม (www. mcgill .ca/ files/ cine/ Nayakrishi_Datatables _fruits. pdf, 2006)

2.1.12 สะเดา

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Azadirachta indica* A. Juss อยู่ในพืชวงศ์ Lauraceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้น พบได้ในประเทศที่มีภูมิอากาศร้อนทั่วไป มีลักษณะรูปร่างขนาดปานกลางถึงขนาดใหญ่ ลำต้นตั้งตรง เปลือกสีน้ำตาล ใบสีเขียวหนาทึบ สะเดาที่พบมากในประเทศไทย คือ สะเดาไทย นอกจากนั้นยังพบสะเดาอินเดีย และสะเดาช้างหรือสะเดาต้น สะเดามีสรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา คือ แก้ไข โรคหัด แก้อักเสบ ต้านเชื้อรา ลดอาการคัน แก้หวัดและหอบหืด ผล เมล็ด และเนื้อสะเดามีรสหวานใช้เป็นอาหารของนก ยาฆ่าเชื้อโรค ส่วนน้ำมันสะเดาที่สกัดจากเมล็ดในสามารถนำไปใช้กับอุตสาหกรรมผลิตสบู่ และยาสีฟัน (ขวัญชัย, 2537)

สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญ ได้แก่ nimbin, nimbinene, nimbandiol, nimbolide, 6-desacetyl nimbinene และ quercetin (ขวัญชัย, 2537) นอกจากนี้ในเมล็ดสะเดายังพบสารออกฤทธิ์สำคัญหลายชนิดที่มีผลในการป้องกันและกำจัดแมลง เช่น azadirachin, salannin, nimbidin เป็นต้น แต่สารออกฤทธิ์ที่ใช้กำหนดคุณภาพของสารสกัดจากสะเดา ได้แก่ สารกลุ่ม azadirachin ที่ประกอบด้วยสาร tetranortriterpenoids ซึ่งสลายตัวได้ง่ายและมีประสิทธิภาพในการป้องกันแมลงได้ดีที่สุด (อัญชลี, 2543)

2.1.13 ตะไคร้ต้น

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Litsea cubeba* Pers. อยู่ในพืชวงศ์ Lauraceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้น มีกลิ่นแรง ในประเทศไทยพบได้ในป่าดิบเขา และพบได้ในหลายประเทศ เช่น อินเดีย มาเลเซีย และไต้หวัน เป็นต้น คนท้องถิ่นนิยมนำผลมาเป็นเครื่องเทศในการปรุงอาหาร (สำนักวิชาการป่าไม้, 2531)

สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญ คือ น้ำมันหอมระเหย ซึ่งประกอบด้วย geranial, neral, limonene, myrece, linalyl acetate, caryophyllene, citronellal (สำนักวิชาการป่าไม้, 2531) และจากการศึกษาของชมกมล และคณะ (2541) ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์จากน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีกลั่นด้วยไอน้ำจากใบของตะไคร้ต้น พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis, E. coli,* และ *Staph. aureus* และเมื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบพบว่ามีสารสำคัญอย่างน้อย 27 ชนิด (ตารางที่ 2.6) โดยมีองค์ประกอบหลัก คือ sabinene 42.69 เปอร์เซ็นต์, *1,8* cineole 18.32 เปอร์เซ็นต์ และ β - pinene 6.51 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผลสดพบน้ำมันหอมระเหยประมาณ 3.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งประกอบด้วย citral 55 เปอร์เซ็นต์, limonene 22 เปอร์เซ็นต์ และ methyl heptenone 6.8 เปอร์เซ็นต์ (เบญจวรรณ, 2542)

ตารางที่ 2.6 สารประกอบเคมีในน้ำมันหอมระเหยจากใบตะไคร้ต้น

Composition	% Area	Composition	% Area
Monoterpene		**Oxygenated monoterpene**	
α - thujene	0.82	*1,8* cineole	18.32
tricyclene	5.39	linalool acetate	1.75
camphene	0.11	*4*- terpineol	4.24
sabinene	42.69	*meta*-γ - terpinene	2.57
β - pinene	6.51	geraniol	5.16
myrcene	1.67	**Sesquiterpene**	
δ - 2 –carene	0.53	(*E*) –caryophyllene	0.07
o- cymene	0.21	**Long chain hydrocarbon**	
limonene	2.56	6- methyl-5- heptene-2 –one	0.05
***δ* - 3 –carene**	0.18	**Miscellaneous**	
(E)- *β* - ocimene	0.67	Unknown	3.94
γ - terpinene	1.08		
β - phellamdrene	0.69		
terpinolene	0.22		
citronellal	0.47		

ที่มา : ชมกมล และคณะ(2541)

2.1.14 ส้มจี๊

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Embelia ribes* Burm อยู่ในพืชวงศ์ Myrsinaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มเตี้ย ลำต้นแตกกิ่งก้านสาขา พบได้ในป่าผลัดใบที่มีอากาศชื้น เช่น ในประเทศอินเดีย ศรีรังกา มาเลเซีย หรือทางตอนใต้ของจีน ส้มจี๊มีสรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิยา คือ ช่วยขับพยาธิ แก้ท้องผูก เป็นยาระบาย ขับปัสสาวะ ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ช่วยลดน้ำตาลในเลือด ต้านการอักเสบ ผลและเมล็ด แก้โรคผิวหนัง และช่วยต้านอนุมูลอิสระ (Chitra และคณะ, 2003)

สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญจากรายงานของ Haq และคณะ (2005) ศึกษาและแยกองค์ประกอบสำคัญของสารในเมล็ดส้มจี๊ พบว่ามีสาร embelinol (3-(4"-hydroxyoctadecanyloxy)-

p-quinonyl-5-methylene-8-(10-pentanyloxy)-p-quinone), embeliaribyl ester (n-pentacosanyl-n-nonadeca-7'-en-9'-a-ol-1'-oate), embeliol (1,2,4,5-tetrahydroxy 3-ndecanyl benzene) และ embelin (2,5-dihydroxy-3-undecyl-2,5-cyclohexadiene-1,4-dione) เป็นองค์ประกอบ และนอกจากนี้ยังพบสารประกอบ embelin (quinone), christembine (alkaloid), quercitol, vilangin และ 2,5-dihyroxy-4-undecyl-3 และ 6-benzoquinone (volatile oil) (Swamy และคณะ, 2007)

Chitra และคณะ (2003) พบว่าสาร embelin ที่แยกได้จากสารสกัดหยาบของส้มจี้ในประเทศอินเดียที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/ disc สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 10 สายพันธุ์ คือ *Staph. aureus, Streptococcus faecalis, Strep. pyogenes, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Shigella boydii, Vibrio cholerae, Salmonella* Typhi, *Proteus mirabilis* และ *Ps. aeruginosa* โดยสามารถยับยั้งเชื้อ *Shigella* spp. ได้ดีที่สุด

2.1.15 ส้มกุ่ย

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Embelia sessiliflora* Kurtz อยู่ในพืชวงศ์ Myrsinaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มเตี้ย ลำต้นแตกกิ่งก้านสาขา ใบมีขนาดเล็กเรียวแหลม ขึ้นได้กระจัดกระจายในป่าแบบผสมหรือที่โล่งตามแถมชายเขา เช่น ประเทศไทย อินเดีย หรือทางตอนใต้ของจีน (www. efloras.org, 2006)

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ลำต้นสามารถนำมาต้มน้ำหยอดแก้ตาแดง รากมีสรรพคุณแก้ท้องเสีย และสำหรับสตรีมีครรภ์ช่วยบำรุงน้ำนม ส่วนใบใช้ชงดื่มช่วยบำรุงกำลัง คนท้องถิ่นจะนำส่วนของยอดอ่อน ดอกอ่อนและใบมารับประทานเป็นอาหารประเภทผัก (สุธรรม, 2547) สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญนั้นยังไม่พบการรายงาน

2.2 สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในพืชบางชนิด

2.2.1 สารพฤกษเคมี (Phytochemicals)

พืชประกอบด้วยสารพฤกษเคมีหลายประเภท ซึ่งสามารถพบเฉพาะในพืชบางชนิด โดยสารพฤกษเคมีในพืชนั้นอาจมีคุณสมบัติเป็นสารที่ให้สี กลิ่น หรือรสชาติที่เป็นลักษณะเฉพาะตัวของพืชชนิดนั้นๆ ซึ่งชนิดและปริมาณของสารพฤกษเคมีในเซลล์พืชย่อมแตกต่างกันไปตามชนิด ตำแหน่งของพืช อายุ และสภาพแวดล้อมของพืช เป็นต้น (รัตนา, 2547) สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของพืชสามารถแบ่งได้หลายประเภท เช่น การจำแนกตามการเกิดสารประกอบจะสามารถแบ่งพืชเป็น primary constituents ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน เป็นต้น และ secondary constituents ซึ่งมีประมาณ 12,000 กลุ่มหรือประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของสารประกอบทั้งหมด ได้แก่ แอลคาลอยด์

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

(alkaloid), ไกลโคไซด์ (glycosides) และฟลาโวนอล (flavonols) นอกจากนี้สามารถจำแนกตามฤทธิ์ของสารในรักษาโรคได้เป็นสารสำคัญที่แสดงฤทธิ์รักษาโรคโดยตรง (ฤทธิ์ทางยา) และสารองค์ประกอบที่ไม่แสดงฤทธิ์รักษาโดยตรงที่อาจมีคุณสมบัติเสริมฤทธิ์หรือต้านฤทธิ์ของสารที่แสดงฤทธิ์รักษาโรคโดยตรง (นิจศิริและพยอม, 2534) ทั้งนี้สารประกอบเคมีในพืชสมุนไพรที่สำคัญแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ (รัตนา, 2547) ดังนี้

2.2.1.1 แอลคาลอยด์ (alkaloids)

เป็นสารประกอบกลุ่มใหญ่ที่พบในพืชชั้นสูง และเป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ คุณสมบัติของแอลคาลอยด์ คือ เป็นสารที่มีรสขม ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในสารละลายอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม และอีเทอร์ ส่วนแอลคาลอยด์ที่รวมอยู่ในรูปกรดเกลือ โดยในธรรมชาติพบรูปเกลือของกรดอินทรีย์จะละลายได้ในน้ำ การสะสมของปริมาณแอลคาลอยด์ในพืชจะเปลี่ยนแปลงอยู่เสมอ โดยส่วนใหญ่จะสังเคราะห์ขณะพืชเจริญเติบโตแล้วจะย้ายไปยังส่วนต่างๆ ทำให้ปริมาณแอลคาลอยด์ตามส่วนต่างๆของพืชไม่คงที่ และจะไม่พบในพืชที่ตายแล้ว (วันดี, 2536) แอลคาลอยด์จัดเป็นเภสัชธรรมชาติกลุ่มใหญ่สุดที่นำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และประโยชน์ทางเภสัชวิทยา เช่น ควินิน (quinine) จากเปลือกต้นซิงโคนา มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อมาลาเรีย และอะโทรพีน (atropine) จากใบ *Atropa belladonna* L. มีฤทธิ์ในการลดการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบในระบบทางเดินอาหาร เป็นต้น การจำแนกแอลคาลอยด์สามารถแบ่งได้ตามสูตรโครงสร้าง (รัตนา, 2547) ดังนี้

- แอลคาลอยด์แบบอย่างหรือแอลคาลอยด์แท้จริง (typical or true alkaloids) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างซับซ้อน โดยมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอย่างน้อย 1 อะตอมภายใน heterocyclic ring เนื่องจากการสังเคราะห์ส่วนใหญ่พบในขั้นทุติยภูมิ (secondary metabolites) โดยสารเริ่มต้น ได้แก่ กรดอะมิโนอันเป็นแหล่งไนโตรเจน เช่น pyrrolidine alkaloids (แอลคาลอยด์ที่ประกอบด้วย pyrrolidine ring) quinoline alkaloids (แอลคาลอยด์ที่ประกอบด้วย quinoline ring) หรือ indole alkaloids (แอลคาลอยด์ที่ประกอบด้วย indole ring) เป็นต้น
- โพรโทแอลคาลอยด์ (proto - alkaloids) เป็นแอลคาลอยด์ที่มีไนโตรเจนในสูตรโครงสร้างบริเวณโซ่แขนง (side chain) เช่น mescaline ที่ได้จากส่วนยอดของต้นกระบองเพชร
- ซูโดแอลคาลอยด์ (pseudo-alkaloids) เป็นแอลคาลอยด์ไม่ได้จากกระบวนการชีวสังเคราะห์มาจากกรดอะมิโนโดยตรง ได้แก่ กลุ่มสเตียรอยด์ และกลุ่มเทอร์พีนอยด์

2.2.1.2 ไกลโคไซด์ (glycosides)

เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่เกิดจาก agycone (หรือ genin) จับกับน้ำตาลเรียกว่า glycone คุณสมบัติของสารกลุ่มนี้สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายมีขั้วโดยขึ้นอยู่กับโครงสร้าง

74571

ของ glycone และมีประโยชน์เป็นยาหรือเป็นสารพิษที่มีโทษต่อร่างกาย นอกจากนี้โครงสร้างของ agycone จะใช้ในการจำแนกไกลโคไซด์ ตามสูตรโครงสร้าง ซึ่งแบ่งได้หลายกลุ่ม ดังนี้

- คาร์ดิเอ็กไกลโคไซด์ (cardiac glycosides) เป็น agycone ของกลุ่มสเตียรอยด์นิวเคลียส (steroid nucleus) เช่น oleandrin ที่พบในใบยี่โถ มีฤทธิ์ต่อระบบกล้ามเนื้อหัวใจที่มีการเต้นผิดปกติของหัวใจ

- ซาโปนินไกลโคไซด์ (saponin glycosides) เป็น agycone ของกลุ่มสเตียรอยด์หรือไทรเทอร์พีนอยด์ (terpenoids) เช่น asiaticoside และ madecassoside ซึ่งเป็นไทรเทอพีนอยด์ของซาโปนิน (triterpenoid saponins) ที่ได้จากต้นบัวบก มีฤทธิ์เป็นทำให้แผลหายเร็ว เป็นต้น

- แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ (antrawquinone glycosides) agycone เป็นอนุพันธ์ของแอนทราซีน (anthracene) เช่น sennoside-B ที่พบในใบและฝักของต้นมะขามแขก มีฤทธิ์ในการระบาย

- ไซยาโนเจนาติกไกลโคไซด์ (cyanogenatic glycosides) ส่วนใหญ่พบในธรรมชาติอยู่ในรูปของไกลโคไซด์ สารกลุ่มนี้เมื่อถูกย่อยจะได้สารจำพวกไซยาไนด์-ไอโซไทโอไซยาเนทไกลโคไซด์ (isothiocyanate glycosides) เป็นสารประกอบไกลโคไซด์ที่เมื่อถูกไฮโดรไลซิสทำให้เกิดสารประกอบ isothiocyanate น้ำตาลกลูโคส และสารประกอบซัลเฟต เช่น pterygospermin ที่พบในมะรุม มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและราได้

- ฟลาโวนอลไกลโคไซด์ (favonol glycosides) เป็น agycone ของสารประกอบฟลาโวนอยด์เชื่อมต่อกับ glycone ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารประกอบพอลิฟีนอลิก ที่พบในส่วนต่างๆของพืช และมีสูตรโครงสร้างพื้นฐานเป็นหมู่ C_6 จำนวน 2 หมู่เชื่อมต่อกันด้วยลูกโซ่ของอะตอมคาร์บอน 3 อะตอม (C_6-C_3-C_6) หรือมีหมู่ไฮดรอกซิลในตำแหน่งต่างๆกัน ทำให้สามารถแบ่งสารประกอบฟลาโวนอยด์ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ สารประกอบที่มีโครงสร้างเป็นฟลาโวนอยด์แท้ เช่น ฟลาโวน (flavones), ฟลาโวนอล (flavonols) เป็นต้น และประกอบฟลาโวนอยด์ที่มีโครงสร้างสัมพันธ์ เช่น ไอโซฟลาโวน (isoflavones) เป็นต้น สารประกอบฟลาโวนอลไกลโคไซด์มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น luteolin จากต้นหมอน้อยยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้

- คูมารินไกลโคไซด์ (coumarin glycosides) เป็นสารประกอบไกลโคไซด์ที่มีโมเลกุลประกอบด้วยโครงสร้าง benzo-α-pyrone และมีคุณสมบัติเฉพาะ คือ เป็นสารประกอบที่ให้กลิ่นหอม

- อิริดอยด์ไกลโคไซด์ (iridoid glycosides) เป็นสารประกอบไกลโคไซด์ที่มีส่วนประกอบโครงสร้างเป็น cyclopentane

- แซนโทนไกลโคไซด์ (xanthone glycosides) มีโครงสร้างของนิวเคลียสแซนโทนอยู่ในโมเลกุล เป็น agycone เชื่อมต่อกับน้ำตาล

- สทีลบีนไกลโคไซด์ (stilbene glycosides) มีโครงสร้างของสทีลบีน เป็น agycone เชื่อมต่อกับน้ำตาล

2.2.1.3 น้ำมันหอมระเหย (volatile oil หรือ essential oil)

พบได้ในส่วนต่างๆในพืช มีลักษณะเป็นน้ำมัน มีกลิ่นและรสเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายในอุณหภูมิห้อง และมีองค์ประกอบทางเคมีที่ซับซ้อน น้ำมันหอมระเหยสามารถสกัดออกมาจากส่วนของพืชได้ด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) หรือการบีบอัด (expression) เป็นต้น มีคุณสมบัติในการขับลม ฆ่าเชื้อที่ทำให้เกิดโรค และส่วนใหญ่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ น้ำมันหอมระเหยในพืชสมุนไพรบางชนิดสามารถจำแนกสารเคมีที่สำคัญได้หลายกลุ่มตามองค์ประกอบหลัก ได้แก่

- ไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) จะมีสาร acyclic เช่น heptane และ myrcene ส่วน isocyclic ได้แก่ pinene, camphene และ limonene
- แอลกอฮอล์ (alcohol) จะพบในรูปอิสระหรืออยู่รวมตัวกับกรดได้เป็นเอสเทอร์ (ester) ได้แก่ linalool, geraneol เป็นต้น
- อัลดีไฮด์ (aldehyde) ได้แก่ benzaldehyde และ cinnamic aldehyde
- คีโตน (ketone) ได้แก่ camphor, carvone และ menthone
- ฟีนอล (phenol) ได้แก่ anethol, eugenol และ carvecrol

2.2.1.4 แทนนิน (tannins)

พบในพืชหลายชนิด มีโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน สารประกอบกลุ่มแทนนินเป็นสารประกอบจำพวกฟีนอลที่ละลายน้ำ (water-soluble phenolics) ที่มีหมู่ hydroxyl เป็นจำนวนมาก เมื่อละลายน้ำจะได้เป็นสารละลายคอลลอยด์ (colloidal solution) โดยมีความคงตัวขึ้นอยู่กับโครงสร้าง ส่วนความสามารถในการละลายขึ้นกับความสามารถในการเกิดโพลีเมอร์หรือขนาดของโพลีเมอร์ แทนนินสามารถละลายได้ในแอลกอฮอล์ และอะซิโตน และละลายได้น้อยในตัวทำละลายชนิดอื่น (วันดี, 2536) นอกจากนี้แทนนินยังเป็นสารที่มีรสขมและฝาดในพืชที่นำมาใช้เป็นยาแก้ท้องเสียหรือท้องเดิน (antidiarrheals) โดยแทนนินมีกลไกการจับกับโปรตีนของรา แบคทีเรียหรือไวรัส (fungal protein, bacteria protein หรือ viral protein) หรือสารประกอบที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ (macromolecules) อื่น ๆ ของเชื้อจุลินทรีย์ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถทำอันตรายกับร่างกายได้ (ชวลิต, 2539) สารประกอบแทนนินที่พบในพืชสมุนไพร เช่น เปลือกทับทิม เปลือกอบเชย ใบฝรั่ง ใบ/เปลือกสีเสียด เป็นต้น

2.2.1.5 เรซิน และบาลซัม (resins and balsums)

สารกลุ่มนี้จะมีเรซินเป็นองค์ประกอบ หรือสารประกอบเรซิน ได้แก่ oleoresins และ oleo-gum-resins เป็นต้น เรซินเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ประกอบด้วยสารประกอบหลายชนิด มีลักษณะแข็งเป็นก้อน หรือเมื่อให้ความร้อนจะหลอมเหลวได้สารที่มีลักษณะใสข้น และเหนียว เช่น ชันสน เป็นต้น ส่วนบาลซัมเป็นสาร resinous mixture ซึ่งประกอบด้วยกรดซินนามิก (cinnamic acid) หรือเอสเทอร์ของกรดสองชนิด เช่น กำยาน เป็นต้น

2.2.1.6 ไขมัน (lipids)

เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) และเมื่อทำปฏิกิริยากับด่างจะกลายเป็นสบู่ น้ำมันในพืชหลายชนิดเป็นยาสมุนไพร เช่น น้ำมันละหุ่ง เป็นต้น

2.2.1.7 คาร์โบไฮเดรต (carbohydrates)

เป็นสารอินทรีย์ที่ประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน คาร์โบไฮเดรตเป็นกลุ่มสารที่พบมากทั้งในพืช และสัตว์ สารที่เป็นคาร์โบไฮเดรตและอนุพันธ์ที่นำมาใช้ประโยชน์ทางเภสัช เช่น แป้ง น้ำตาล กัม (gum) วุ้น (agar) น้ำผึ้ง และเปคติน (pectin)

2.2.1.8 เทอร์พีนอยด์ (terpenoids)

เป็นสารประกอบด้วยหน่วยไอโซโพรพีน ซึ่งเป็นโซ่แขนงของคาร์บอน 5 ตัว และมีพันธะไม่อิ่มตัว 2 พันธะ โดยสารประกอบในกลุ่มนี้จะลงท้ายชื่อด้วย –oid เช่น เทอร์พีนอยด์ และส่วนการลงท้ายชื่อด้วย –ene จะใช้กับไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว เช่น เทอร์พีน โดยสารประกอบกลุ่มนี้จะพบทั่วไปในพืชชั้นสูง สร้างเพื่อป้องกันอันตรายหรือเมื่อพืชอยู่ในสภาวะเครียด ประเภทของสารประกอบเทอร์พีนอยด์สามารถแบ่งตามหน่วยไอโซโพรพีนที่เชื่อมเข้าด้วยกัน ได้แก่ monoterpenoids ($C_{10}H_6$), sesquiterpenoids ($C_{15}H_{24}$), diterpenoids ($C_{20}H_{32}$), triterpenoids ($C_{30}H_{48}$) เป็นต้น

2.2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืช

การสกัดสารสำคัญของพืชสมุนไพรสามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งเบื้องต้นการสกัดไม่ว่าโดยวิธีการใดจะได้สารพฤกษเคมีที่เป็นสารผสมหรือสารสกัดหยาบ (crude extract) ที่มีชนิดและสัดส่วนขององค์ประกอบในสารสกัดแตกต่างกันไปตามสภาพของสมุนไพรและสภาวะที่ใช้ในการสกัด ทั้งนี้การแยกสารสำคัญนั้นขึ้นกับวัตถุประสงค์ ได้แก่ เพื่อแยกเอาสารสำคัญ เพื่อให้มีปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญสูง หรือเพื่อลดปริมาณ (dose) ในการใช้สมุนไพรให้เหมาะสม (รัตนา,

2547) ซึ่งการแยกสารสำคัญดังกล่าวควรมีวิธีการสกัดหรือแยกสารออกจากพืชที่เหมาะสมด้วย ดังรายงานการศึกษาของ Vagi และคณะ (2005) ทำการสกัดสารประกอบของน้ำมันหอมระเหยจาก Marjoram (*Origanum majorana* L.) โดยวิธีต่างๆ 3 วิธี คือ การกลั่นด้วยไอน้ำ (hydrodistillation) การสกัดด้วยเอธานอลโดยใช้ซอกเลท (soxhlet) และการสกัดด้วยวิธี supercritical fluid extraction (SFE) เมื่อนำไปทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในอาหาร พบว่าสารที่สกัดด้วยวิธี SFE มีองค์ประกอบของปริมาณสารพฤกษเคมีในน้ำมันหอมระเหยมากกว่า และสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดด้วยเอธานอล โดยมีสารพฤกษเคมีด้วยวิธีการสกัดแบบการกลั่นด้วยไอน้ำเป็นชุดควบคุม

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าวิธีการสกัดสารพฤกษเคมีที่เหมาะสมและดีที่สุดของพืชแต่ละชนิดมักจะได้มาจากการทดลองสกัดขั้นต้น ซึ่งในปัจจุบันการสกัดสารในพืชสมุนไพรมีหลายวิธี (รัตนา, 2547) ดังต่อไปนี้

2.2.2.1 maceration เป็นวิธีการสกัดสารโดยการแช่พืชกับตัวทำละลายจนเนื้อเยื่อพืชอ่อนนุ่ม ทำให้ตัวทำละลายสามารถแทรกเข้าไปละลายสารพฤกษเคมีภายในเซลล์พืชได้ การสกัดด้วยวิธีการนี้เหมาะสำหรับพืชที่มีโครงสร้างเนื้อเยื่อไม่แข็งแรงมาก เช่น ส่วนของใบ และดอกเป็นต้น และเหมาะสมกับการสกัดสารพฤกษเคมีที่ไม่ทนความร้อน แต่มีข้อจำกัด คือ การสกัดจะไม่สมบูรณ์ เนื่องจากการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายมีน้อย ดังนั้นปริมาณสารที่ละลายออกมาจะได้ในระดับหนึ่ง และเมื่อถึงจุดสมดุลของสารภายในสมุนไพรและตัวทำละลายอัตราเร็วในการสกัดจะน้อยลง จึงไม่เหมาะสมในการใช้สกัดสารสำคัญที่ต้องการจากสมุนไพรจนสมบูรณ์

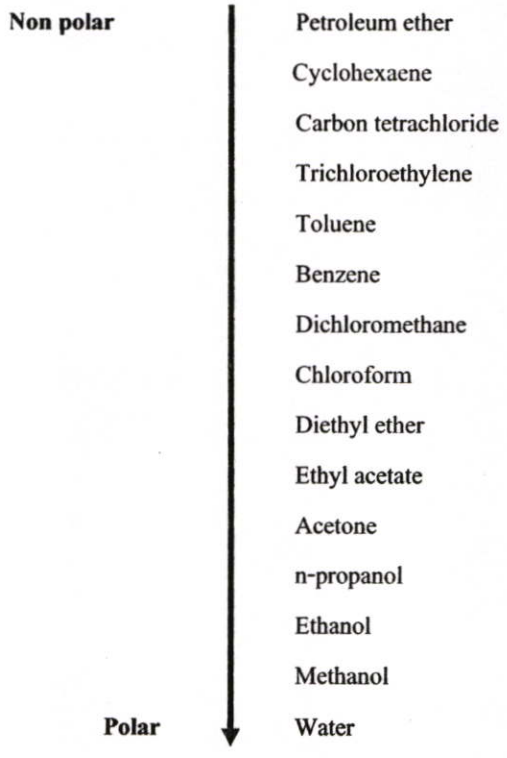
2.2.2.2 percolation เป็นวิธีการสกัดสารโดยปล่อยตัวทำละลายไหลผ่านผงพืชที่อยู่ในเครื่อง percolator อย่างช้าๆ ซึ่งตัวทำละลายจะละลายสารสำคัญออกมาจากพืช การสกัดแบบนี้เหมาะกับการสกัดสารพฤกษเคมีที่ไม่ทนความร้อนและการสกัดจะเป็นแบบสมบูรณ์ แต่มีข้อจำกัด คือ เปลืองตัวทำละลาย และใช้เวลานานในการสกัด

2.2.2.3 การสกัดแบบต่อเนื่อง (continuous extraction) เป็นการสกัดสารพฤกษเคมีที่คล้ายกับวิธี percolation แต่ใช้ความร้อนช่วยในการสกัด และอาศัยตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำ เช่น การใช้ซอกเลท (soxhlet extraction) เป็นต้น การสกัดนี้เหมาะสมกับการสกัดสารพฤกษเคมีที่ทนความร้อน และใช้ตัวทำละลายน้อย

2.2.2.4 การสกัดน้ำมันหอมระเหย (extraction of volatile oil) มีหลายวิธี ได้แก่ การกลั่นด้วยน้ำ (water distillation) การกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) การกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (water and steam distillation) หรือการใช้ตัวทำละลาย เช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์ เป็นต้น

2.2.3 การเลือกใช้ตัวทำละลาย

การแยกสารพฤกษเคมีมักใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วต่างๆกัน ไม่ว่าจะเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำจนไปถึงตัวทำละลายที่มีขั้วสูง (ภาพที่ 2.1) หรือบางกรณีอาจสกัดเฉพาะสารพฤกษเคมีบางชนิดที่ต้องการ ดังนั้นการเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกสารพฤกษเคมีจึงควรทราบคุณสมบัติในการละลายสารพฤกษเคมีที่ต้องการ ซึ่งสารละลายและตัวทำละลายจะต้องมีคุณสมบัติของขั้วที่คล้ายคลึงกันจึงจะมีแรง (force) ที่เกี่ยวข้องในการละลาย ซึ่ง Cowan (1999) ได้แสดงความสามารถของตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในการละลายของสารพฤกษเคมีในตารางที่ 2.7



ภาพที่ 2.1 ความมีขั้วของตัวทำละลายที่เรียงจากมีขั้วต่ำไปตัวทำละลายที่มีขั้วสูง
ที่มา : รัตนา (2547)

ตารางที่ 2.7 ความสามารถในการละลายของสารพฤกษเคมีในตัวทำละลายชนิดต่างๆ

น้ำ	เอธานอล	เมทานอล	คลอโรฟอร์ม	ไดคลอโร-เมทานอล	อีเทอร์	อะซิโตน
Anthocyanins	Tanins	Anthocyanins	Terpenoids	Terpenoids	Alkaloids	Flavonols
Starches	Polyphenols	Terpenoids	Flavonoids		Terpenoids	
Tanins	Polyacetylenes	Saponins			Coumarins	
Saponins	Flavonols	Tanins			Fatty acids	
Terpenoids	Terpenoids	Xanthoxyllines				
Polypeptides	Sterols	Totarol				
Lectins	Alkaloids	Quassinoids				
	Propolis	Lactones				
		Flavones				
		Phenones				
		Polyphenols				

ที่มา : Cowan (1999)

ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสาร ได้แก่ น้ำ และแอลกอฮอล์ หรือสารผสมน้ำกับแอลกอฮอล์หรือตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น อีเทอร์ เฮกเซน เป็นต้น และคุณสมบัติของตัวทำละลายที่นิยมนำมาใช้ในการสกัดสารพฤกษเคมี (รัตนา, 2547) มีดังนี้

2.2.3.1 น้ำ จัดว่าเป็นตัวทำละลายที่ดี ราคาถูก แต่มีข้อจำกัด คือ น้ำเป็นตัวทำละลายที่ละลายสารมีขั้วออกมาได้มาก เช่น น้ำตาลและแป้ง เป็นต้น ดังนั้นสารสกัดที่ได้จึงเป็นสารผสมที่มีองค์ประกอบของสารที่ไม่ต้องการปะปนมาด้วย และเมื่อตั้งทิ้งไว้ บางครั้งอาจเกิดการแยกตัวของสารสกัด

2.2.3.2 แอลกอฮอล์ เป็นตัวทำละลายที่มีความจำเพาะในการทำละลายได้ดีกว่าน้ำ และสามารถระเหยได้ง่ายเมื่อต้องการทำให้สารสกัดที่ได้เข้มข้นขึ้น

2.2.3.3 สารละลายแอลกอฮอล์ (hydroalcoholic mixture) มีความสามารถในการทำละลายใกล้เคียงกับแอลกอฮอล์ แต่ราคาถูกกว่า และยังสามารถป้องการการแยกตัวของสารสกัดเมื่อตั้งทิ้งไว้

2.2.3.4 คลอโรฟอร์ม (chloroform) จัดเป็นตัวทำละลายที่ดีสามารถใช้สกัดสารประกอบที่ไม่มีขั้ว และสารที่มีขั้วปานกลาง

2.2.3.5 อีเทอร์(ether) มีสามารถในการทำละลายน้อยกว่าคลอโรฟอร์ม ระเหยได้ง่าย และเกิดระเบิดได้ง่าย (วันดี, 2536)

2.2.3.6 เมทานอล (methanol) เป็นตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารประกอบที่มีขั้ว เช่นเดียวกับแอลกอฮอล์ แต่นิยมใช้เนื่องจากมีราคาถูกกว่า

2.2.4 กลไกการออกฤทธิ์ของสารพฤกษเคมีต่อคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ (Mechanism of action or mode of action)

สารประกอบเคมีในพืชนอกเหนือจากคุณสมบัติในการเป็นยารักษาโรค ยังสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ และมีกลไกในการยับยั้งแตกต่างกันไป สารประกอบเคมีในพืชที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์แบ่งเป็นกลุ่มสำคัญ ๆ (Cowan, 1999) ได้แก่ ฟีนอลิค โพลิฟีนอล เทอร์พีนอยด์ น้ำมันหอมระเหย แอลคาลอยด์ แลคติน และโพลิเปปไทด์ (ตารางที่ 2.8) นอกจากนี้การแบ่งประเภทตามวิถีการออกฤทธิ์ของสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ในการทำลายจุลินทรีย์เป็น 2 แบบ ได้แก่ สารที่มีผลในการฆ่าทำลายเชื้อ (bactericidal) และสารที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทำให้ไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ (bacteriostatic) (Tortora และคณะ, 1992) ซึ่งสารดังกล่าวจะมีสมบัติคล้ายสารปฏิชีวนะ และมีกลไกการออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม (Todar, 2001) คือ

2.2.4.1 สารออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ (Cell wall synthesis inhibitors)

ผนังเซลล์ของแบคทีเรียประกอบด้วยโครงสร้างร่างแหของ macromolecular network ของสารประกอบ peptidoglycan ซึ่งสารดังกล่าวพบเฉพาะที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียเท่านั้น โดยสารปฏิชีวนะจะมีผลต่อผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่กำลังอยู่ในสภาวะการแบ่งเซลล์ สารดังกล่าวจะป้องกันการเกิดการเชื่อมต่อ (crosslink) ของ peptidoglycan และ/หรือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ peptidoglycan synthetase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่สร้างพันธะของ peptidoglycan ดังนั้นจึงทำให้โครงสร้างของผนังเซลล์อ่อนแอและไม่สมบูรณ์ เซลล์จึงถูกย่อยสลายและแตกได้ในที่สุด

2.2.4.2 สารออกฤทธิ์ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane inhibitors)

เยื่อหุ้มเซลล์เป็นชั้นที่อยู่ถัดจากชั้นของผนังเซลล์แบคทีเรีย สารปฏิชีวนะจะมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการนำสารเข้าออกของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย เช่น ทำให้เกิดการรั่วไหลของสารออกจากเซลล์ หรือทำให้คุณสมบัติการป้องกันสารเข้าออกของเยื้อหุ้มเซลล์ (osmotic barrier) เสียไป

2.2.4.3 สารออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน (Protein synthesis inhibitors)

สารปฏิชีวนะมีผลในการยับยั้งการสร้างพันธะเปปไทด์ (peptide bond) ของกรดอะมิโนทำให้กรดอะมิโนไม่สามารถต่อกันเป็นโพลีเปปไทด์ในการสังเคราะห์โปรตีนภายในเซลล์ได้ หรือทำให้รูปร่างของไรโบโซม (ribosome) เปลี่ยนแปลง ทำให้การอ่านรหัสของยีนบน mRNA ไม่ถูกต้องมีผลทำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีนที่ผิดปกติ

2.2.4.4 สารออกฤทธิ์ต่อกรดนิวคลีอิก (Effects on Nucleic Acids)

สารปฏิชีวนะมีผลในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ DNA และ RNA หรือยับยั้งการทำงานของ DNA ทำให้ไม่สามารถอ่านข้อมูลทางพันธุกรรม ที่ควบคุมการพัฒนาและกิจกรรมเมตาโบลิซึมของเซลล์

2.2.4.5 สารออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์สารเมตาโบไลท์ (Competitive Inhibitors)

การออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์สารเมตาบอไลท์ (metabolites) ที่จำเป็นสำหรับจุลินทรีย์ต่อการเจริญและการอยู่รอดของเซลล์ ซึ่งสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่มีกลไกการออกฤทธิ์แบบการแย่งจับ (competitive inhibition) โดยอาศัยสูตรโครงสร้างที่คล้ายกันในการแทนที่สารเริ่มต้นที่ใช้สังเคราะห์สารเมตาบอไลท์

ตารางที่ 2.8 สารประกอบเคมีสำคัญในพืชที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

สารประกอบเคมี	ตัวอย่าง		กลไกลการยับยังจุลินทรีย์
ฟีนอลิค	Simple phenols	Catechol	Substrate deprivation
		Epicatechin	Membrane disruption
	Phenolic acids	Cinnamic acid	
	Quinones	Hypericin	Bind to adhesins,complex with cell wall, inactivate enzymes
	Flavonoids	Chrysin	Bind to adhesins
			Complex with cell wall
	Flavones	Abyssinone	Inactivate enzymes
			Inhibit HIV reverse transcriptase
	Flavonols	Totarol	
	Tannins	Ellagitannin	Bind to proteins
			Bind to adhesins
			Enzyme inhibition
			Substrate deprivation
			Complex with cell wall
			Membrane disruption
			Metal ion complexation
เทอร์พีนอยด์ น้ำมันหอมระเหย		Capsaicin	Membrane disruption
แอลคาลอยด์		Berberine	Intercalate into cell wall and/or DNA
		Piperine	
แลกตินและโพลิเปปไทด์		Mannose-specific agglutinin	Block viral fusion or adsorption
		Fabatin	Form disulfide bridges
โพลิอะเซทิลีน		8S-Heptadeca-2(*Z*), 9(*Z*)-diene-4,6-diyne-1,8-diol	

ที่มา : Cowan (1999)

2.3 สารสกัดจากพืชพื้นบ้านต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

Bullermam และคณะ (1977) ได้ทดสอบผลของน้ำมันหอมระเหยของอบเชยและกานพลู ที่ประกอบด้วยสารประกอบ cinnamic aldehyde และ eugenol ต่อการเติบโตและการผลิตสารอะฟลาท็อกซินของเชื้อ *Aspergillus parasiticus* พบว่า น้ำมันหอมระเหยของอบเชยและกานพลู ที่ความเข้มข้น 200-250 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตและการผลิตสารอะฟลาท็อกซินของ *A. parasiticus* ได้เช่นเดียวกับสารประกอบ cinnamic aldehyde และ eugenol ที่เข้มข้น 150 และ 125 ppm ตามลำดับ ซึ่งสารประกอบ cinnamic aldehyde และ eugenol เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยของอบเชย และกานพลู ต่อมา Chang และคณะ (2001) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบของต้นอบเชย ซึ่งประกอบด้วย cinnamic aldehyde เป็นส่วนประกอบสำคัญ มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย 9 สายพันธุ์ ได้แก่ *Ps. aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staph. aureus* 2 สายพันธุ์, *Staph. epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp., *E. coli* และ *Vibrio parahemolyticus* โดยความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง *E. faecalis*, *Staph. aureus* 2 สายพันธุ์ *Staph. epidermidis* และ *V. parphemolyticus* คือ 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วน *E. coli* และ *Salmonella* spp ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่ *Ps. aeruginosa* และ *K. pneumoniae* ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในปีเดียวกัน Hsieh และคณะ (2001) รายงานว่าสารสกัดจาก Corni fructus (*Cornus officinalis*), Cinnamomun (*Cinnamomum cassia*), Chinese chive (*Allium tuberosum*) สามารถยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารจำนวน 15 ชนิด เช่น *B. subtilis*, *E. coli* และ *L. monocytogenes* เป็นต้น และยังรายงานว่าการผสมสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่อัตราส่วน Corni fructus : Cinnamomun : Chinese chive เท่ากับ 8:1:1 (v/v/v) ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ จะให้ประสิทธิภาพการยับยั้งได้ดีกว่าการใช้โพแทสเซียมซอร์เบท (potassium sorbate) ที่ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้สารผสมดังกล่าวยังคงตัวต่อความร้อน และพีเอช (pH) ในการเก็บรักษาอีกด้วย

Farag และคณะ (1989) ได้ทดสอบประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศในประเทศอียิปต์ ได้แก่ ขมิ้น, กานพลู, sage, rosemary, caraway และ thyme ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ 3 สายพันธุ์ แบคทีเรียแกรมบวก 4 สายพันธุ์ แบคทีเรียชนิด acid fast 1 สายพันธุ์ และยีสต์ 1 สายพันธุ์ พบว่าแบคทีเรียแกรมลบจะทนต่อการยับยั้งด้วยเครื่องเทศได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก และน้ำมันหอมระเหยจาก thyme และขมิ้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดอื่นๆ ทั้งนี้พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของสารประกอบที่มีในน้ำมันหอมระเหยมีผลทำให้ thyme และขมิ้นมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ต่อมา Reuter (1991) ศึกษาผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของพืชสมุนไพรจำนวน 86 ชนิด ในประเทศ

ฟิลิปปินส์ พบว่า สารสกัดจากเมล็ด *Ipomoea muricata* มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *Staph. aureus* ได้สูงสุด ซึ่งสารสกัดดังกล่าวประกอบด้วยสารแอลคาลอยด์ และสเตียรอยด์

Rabe และ Staden (1997) ทำการวิจัยสารสกัดหยาบของพืชในแอฟริกาใต้ที่สกัดด้วยน้ำและเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 21 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staph. aureus, Staph. epidermis, B. subtilis, E. coli* และ *K. pneumoniae* ด้วยวิธี disc diffusion method พบว่าสารสกัดหยาบของใบปืนนกไส้ด้วยเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ *B. subtilis* และ *Staph. epidermis* แต่ไม่มีผลต่อเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus*, *B. subtilis* และ *Staph. epidermis* เท่ากับ 2, 4 และ 8 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดน้ำจากใบปืนนกไส้ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อทุกสายพันธุ์ นอกจากนั้น Khan และคณะ (2001) ศึกษาสารองค์ประกอบของสารสกัดหยาบจากเอธานอลของ *Bidens pilosa* (ต้นปืนนกไส้), *Bischofia javanica* (ใบของต้นประดู่น้ำ), *Elmerillia papuana* (ราก) และ *Siegesbekia orientalis* (ต้นสะพ้านก็น) ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย รา และโปรโตซัวจำนวนทั้งหมด 26 สายพันธุ์ พบว่าสารสกัดหยาบจากเอธานอลของ *Bidens pilosa* (ต้นปืนนกไส้) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus, B. subtilis, Micrococcus rosus*, *E. coli, S.* Typhi และ *S.* Typhimurium และเมื่อนำสารสกัดหยาบจากเอธานอลไปแยกหาองค์ประกอบด้วยตัวทำละลายเพทโทรล เอทิลอะซิเตท และไดคลอโรมีเทน พบว่าสารเคมีที่แยกได้ในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทสามารถยับยั้งเชื้อดีที่สุด

Mandal และคณะ (2000) ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดด้วยเมทานอลจากเปลือกหมีเหม็น (*Litsea glutinosa* Lour.) จากประเทศอินเดียในการยับยั้งจุลินทรีย์ 16 สายพันธุ์ ด้วยวิธี agar diffusion พบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้น 50 – 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus, Staph. pneumoniae, B. subtilis, B. pumilus , B. cereus, Latobacillus arabinosus, K. pneumoniae, Sarcina lutea, Shigella dysenteriae, Shigella sonnei, V. cholerae, S.* Typhimurium, *Proteus mirabilis* และ *E. coli* ซึ่งสารประกอบเคมีในหมีเหม็นที่สกัดด้วยเมทานอลส่วนมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ ไตรเทอร์พีนอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน จากรายงานวิจัยเกี่ยวกับความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยในพืชตระกูล *Litsea* ได้แก่ ผลหมีเหม็น ใบตะไคร้ต้น (*Litsea cubeba* Pers.) ใบและเปลือกของ *Litsea petiolata* Hoof f. พบว่า น้ำมันหอมระเหยของใบตะไคร้ต้นมีสาร sabinene เป็นองค์ประกอบในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ATCC 29213 ส่วนในน้ำมันหอมระเหยจากหมีเหม็นที่ประกอบด้วย E-(-ocimene) ใบและเปลือกของ *Litsea petiolata* Hoof f. ที่ประกอบด้วย E-(-cinnamaldehye) E-(-nerolidol) สามารถยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* ได้ (ชมกมลและคณะ, 2543)

Cos และคณะ (2002) การวิจัยการต้านเชื้อแบคทีเรียและรา จากพืชสมุนไพรนิยมที่นำมาใช้ทางเภสัชวิทยาทั้งหมด 37 ชนิด ด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี broth dilution พบว่าสารสกัดใบของปีนนกไส้จากเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ในรูปผงด้วยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (lyophilization) เมื่อนำมาละลายในน้ำกลั่นที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staph. aureus, B. cereus, E. coli, Enterobacter cloacae, S.* Typhimurium, *Ps. aeruginosa, Pr. vulgaris, K. pneumonia, Streptococcus pyogenes, Mycobacterium fortuitum* และเชื้อรา *Epidermophyton floccosum, Microsporum canis, Candida albicans* และ *Trichophyton rubrum* โดยสามารถยับยั้งเชื้อ *Strep. pyogenes* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *Staph. aureus* ซึ่งมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อเท่ากับ 37.5 และ 75 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนเชื้อแบคทีเรียทดสอบชนิดอื่นมีค่ามากกว่า 75 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารยับยั้งเชื้อยีสต์และราทั้ง 4 สายพันธุ์ เท่ากับ 75 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

Alzoreky และ Nakahara (2003) ศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus Staph. aureus, L. monocytogenes, E. coli* และ *S.* Infantis ของพืชผักในประเทศจีน ญี่ปุ่น ไทย และเยอรมัน จำนวน 26 ชนิด ที่สกัดด้วย Buffered methanol (80% methanol + 20% 5 mMsodium phosphate buffered saline) และอะซิโตน พบว่าสารสกัดจาก *Cinnamomum cassia* ที่สกัดด้วย Buffered methanol สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีกว่าอะซิโตน และสารสกัดจากตัวทำละลายทั้งสองชนิดให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้ดีที่สุด ซึ่งสารสกัดด้วย Buffered methanol ความเข้มข้น 180 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus, Staph. aureus, Listeria monocytogenes* และสารสกัดจากอะซิโตน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* ได้ และการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S.* Infantis นั้น ต้องใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจาก *Cinnamomum cassia* จากตัวทำละลาย Buffered methanol ในปริมาณสูงถึง 2,640 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

การวิจัยของ Thakare (2004) ที่ศึกษาศักยภาพของสารสกัดจากพืช ได้แก่ ขมิ้นชัน (Turmeric), ขิง (Ginger), พริกไทยดำ (Black pepper), อบเชย (Cinnamon), Thyme, Bay leaf และ Clove ที่ใช้ทางเภสัชวิทยา ด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในสัตว์ปีก ได้แก่ *E. coli, S.* Typhimurium, *E. faecalis* และ *E. faecium* ด้วยวิธี disc diffusion method จากผลการวิจัยพบว่า อบเชยที่ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli, S.* Typhimurium, *E. faecalis* และเมื่อนำมาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญด้วยเครื่อง 96- well microplates พบว่ามีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli, S.* Typhimurium, *E. faecalis* เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้น Voravuthikunchai และคณะ (2004) ทำการทดสอบความสามารถของสารสกัดน้ำและเอธานอลจาก

พืชที่ใช้เป็นยาในประเทศไทย 38 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *E. coli* O157:H7, *E. coli* O26:H11, *E. coli* O111:NM, *E. coli* O22, *E. coli* ATCC25922 และ เชื้อ *E. coli* จำนวน 5 สายพันธุ์ ที่แยกจากได้วัว พบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัม/disc ของสารสกัดน้ำและเอธานอลจากต้นมะระขี้นกและใบบัวบก ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ มีเพียงสารสกัดน้ำและเอธานอลจาก *Acacia catechu* (สีเสียด), *Holarrhena antidysenterica* (นมเสือ), *Peltophorum pterocarpum* (นนทรี), *psidium guajava* (ฝรั่ง), *punica granatum* (ทับทิม), *Quercus infectoria* (เบญกานี), *Uncaria gambir* (โงบ) และ *Walsura robusta* (ขี้อ้าย) สามารถยับยั้งเชื้อได้ โดยมีขนาดของโซนใสอยู่ในช่วง 7-17 มิลลิเมตร

Rojas และคณะ (2006) ศึกษาศักยภาพเบื้องต้นในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้เป็นยารักษาโรคในโคลัมเบียจำนวน 10 ชนิด ที่สกัดด้วยน้ำกลั่น เอธานอล 98 เปอร์เซ็นต์ และเฮกเซน 99 เปอร์เซ็นต์ ในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus*, *Strep.* β *hemolitic*, *B. cereus*, *Ps. aeruginosa*, *E. coli*, *C. albicans* ด้วยวิธี agar diffusion method ผลปรากฏว่าสารสกัดจากทั้งต้นและรากปืนนกไส้ที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ให้ผลยับยั้งแตกต่างกันไป โดยสารสกัดด้วยเอธานอล 98 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งเชื้อได้มีจำนวนมากที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดด้วยเฮกเซน และด้วยน้ำกลั่น ตามลำดับ โดยสารสกัดจากทั้งต้นและรากปืนนกไส้ด้วยเอธานอล 98 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* ได้ ส่วนสารสกัดด้วยเฮกเซนสามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus*, *E. coli* และ *C. albicans* และสารสกัดด้วยน้ำสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้เพียงชนิดเดียวเท่านั้น ทั้งนี้เมื่อวิเคราะห์สารประกอบในต้นและรากของปืนนกไส้พบว่าประกอบด้วยสารกลุ่มแอลคาลอยด์ กรดอะมิโน แอนโทไซยานิน ฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีนอยด์ และฟีนอลลิก ส่วนการทดลองของ Oonmetta-aree และคณะ (2006) ที่ทำการทดสอบผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเอธานอลจากข่า (*Alpinia galanga* Linn.) ด้วยวิธี broth dilution พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ได้ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ คือ 0.325 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ คือ 1.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อทดสอบผลของสารสกัดต่อเซลล์ *Staph. aureus* ด้วยเทคนิค Transmission electron microscopy พบว่าสารสกัดเอธานอลจากข่า จะมีผลทำให้ผนังเซลล์ภายนอกและเยื่อหุ้มเซลล์แตก ทำให้องค์ประกอบที่อยู่ภายในเซลล์และไซโตร พลาสซึมไหลออกนอกเซลล์ ส่งผลให้เซลล์ของเชื้อ *Staph. aureus* เกิดอาการบาดเจ็บและตาย ซึ่งสารที่มีผลดังกล่าว ได้แก่ D,L-l–acetoxychavicol acetate

รายงานการวิจัยของฤทธิ์ของพืชสมุนไพรในการยับยั้งจุลินทรีย์ในประเทศไทยได้มีออกมาอย่างต่อเนื่อง ดังรายงานของ อรุณี และคณะ (2528) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของผลมะระขี้นกและผลมะระจีนที่มีต่อเชื้อ *Ps. aeruginosa* จำนวน 136 สายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วย และ *Ps. aeruginosa* ATCC 27853 จากสารสกัดส่วนที่เป็น acidified water-chloroform extract พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Ps. aeruginosa* ของสารสกัดมะระขี้นกเท่ากับ 5 มิลลิกรัม/

disc และมะระจีนเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัม/disc ต่อมา ธวัชชัยและพงษ์จักร (2534) ทำการศึกษาสารสกัดจากน้ำต้มสมุนไพรที่ใช้เป็นเครื่องดื่มจำนวน 13 ชนิด ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วง ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าสารสกัดจากบัวบกที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/disc ไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อทดสอบทุกชนิด ได้แก่ *Staph. aureus, Strep. faecalis, S.* Typhi., *Shigella flexneri, Plesimonas shigelloides, E. coli* และ *V. parahemolyticus*

ขจรศักดิ์ (2539) ศึกษาสารสกัดจากพืชสมุนไพร ได้แก่ กานพลู ว่านน้ำ โป๊ยกั๊ก คองดึง สารภี หนอนตายยาก ดีปลีและบัวบก ในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp., *Aspergillus niger, Epidermophyton floccosum, Microsporum gypseum, Trichophyton mentagrophytes* และ *Trichophyton rubrum* ด้วยวิธี agar dilution method โดยนำผงสมุนไพรแต่ละชนิดผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextose Agar ในอัตราส่วนความเข้มข้น 10,000, 20,000 40,000 และ 60,000 ppm เพื่อตรวจสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา พบว่า ผงบัวบกที่ความเข้มข้น 10,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. , *Alternaria* sp., *A. nige , E. floccosum, M. gypseum, T. mentagrophytes* และ *T. rubrum* ได้ โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอยู่ระหว่าง 9.8 - 39.13 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum* sp. ได้

ศรีกาญจนา (2541) ได้ทำการทดสอบสารสกัดหยาบของพืชสมุนไพร 39 ชนิด ด้วยเอธานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ต่อการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* และ *L. innocua* ด้วยวิธี Well assay พบว่ามีสมุนไพรเพียง 8 ชนิด ได้แก่ กระชาย แกนขนุน ดอกจันทร์เทศ เจตมูลเพลิงแดง ชะเอมเทศ ฝาง ฟ้าทะลายโจรและมะขามแขก ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ Listeria ทั้งสองชนิดได้ โดยแกนขนุนมีผลยับยั้งการเจริญที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่ดอกจันทร์เทศ และชะเอมเทศมีความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเท่ากับ 2000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

เมธิน (2542) ได้ศึกษาสารสกัดหยาบบัวบกต่อการยับยั้งของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังจำนวนสองชนิด คือ *Staph. aureus* และ *Strep. pyogenes* โดยวิธี disc diffusion method ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดหยาบด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองได้ดีกว่าสารสกัดด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดหยาบบัวบกด้วยน้ำที่อัตราส่วน 2:10 กรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* ได้เทียบเท่ากับยาปฏิชีวนะ Gentamicin 0.1 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งได้ดีกว่ายาปฏิชีวนะ Chloramphenicol 1 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดหยาบด้วยน้ำในอัตราส่วน 3:10 กรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Strep. pyogenes* ได้น้อยกว่า Gentamicin 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ Chloramphenicol 1 เปอร์เซ็นต์ และในปีเดียวกัน จิราภรณ์ (2542) ศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรจำนวน 23 ชนิด ที่สกัดโดยการแช่ในตัวทำละลาย 5 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น เอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เมทานอล อะซิโตน และเฮกเซน ต่อการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วง ได้แก่ *Staph. aureus, S.* Typhi, *Shigella boydii, E. coli* และ *B. cereus* พบว่า สารสกัดจากกระชายดำที่

สกัดจากตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้เลย และสารสกัดจากส้มป่อยที่สกัดด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์สูงสุด ให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ได้ดีที่สุด เมื่อนำสารสกัดมาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดด้วยวิธี disc diffusion method พบว่า มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดอยู่ในช่วง 1:4 - 1:32 และสารเคมีที่เป็นองค์ ประกอบในพืชที่มีผลการยับยั้งเชื้อได้แก่ แทนนิน

วัชรี (2543) ได้ตรวจหาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 9 สายพันธุ์ ในสมุนไพร 12 ชนิด ได้แก่ ผักคาวตอง เสลดพังพอนตัวเมีย ขมิ้นชัน มะระขี้นก กระชาย กระเทียม ฟ้าทะลายโจร กล้วยน้ำว้า ชุมเห็ดเทศ ทองพันชั่ง บัวบก และบอระเพ็ด โดยการสกัดด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และไดคลอโรมีเทน ตามลำดับ พบว่าสารสกัดจากมะระขี้นก และบัวบก ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *E. coli* 2 สายพันธุ์ *Ps. aeruginosa* 2 สายพันธุ์ และ *S.* Enteritidis แต่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ คือ *Staph. aureus* 2 สายพันธุ์ และ *Strep. pneumonia* เมื่อนำสารสกัดทั้ง 2 ชนิด มาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งด้วยวิธี disc diffusion method พบว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* 2 สายพันธุ์ ของสารสกัดจากบัวบกดีกว่าสารสกัดมะระขี้นก และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเท่ากับ 0.25 และ 4 มิลลิกรัม/disc ตามลำดับ สำหรับเชื้อ *Strep. pneumonia* พบว่าสารสกัดจากมะระขี้นกสามารถยับยั้งได้ดีกว่าบัวบก โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเท่ากับ 2 และ 8 มิลลิกรัม/disc ตามลำดับ และในขณะเดียวกัน แสงระวี (2543) ได้ทำการศึกษาสมุนไพรชนิดเดียวกับของวัชรีในการตรวจหาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อยีสต์และราจำนวนทั้งสิ้น 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae, Candida albicans, Penicillium marneffie* และ *Cryptococcus neoformans* โดยการสกัดด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และไดคลอโรมีเทน ตามลำดับ พบว่าสารสกัดของมะระขี้นก มีผลยับยั้งเพียงเชื้อ *P. marneffie* เท่านั้น แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Sc. cerevisiae, C. albican* และ *Cryptococcus neoformans* ได้ โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *P. marneffie* เท่ากับ 1.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และเมื่อนำไปแยกหาสารสำคัญด้วยเทคนิค TLC-bioassay พบว่าสารสำคัญที่น่าจะมีผลในการยับยั้งเชื้อ ได้แก่ 2,6-dihydroxy-4-methoxy chalcone งานวิจัยของชาลี (2543) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของมะระขี้นก พบว่ากลุ่มสารสำคัญเบื้องต้นของสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลของรากเพาะเลี้ยงอายุ 3 เดือน ให้ผลทดสอบเป็นบวกกับสารทดสอบกลุ่มแอลคาลอยด์ และผลการต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของสารสกัดเอธานอลจากรากมะระขี้นกอายุ 3 เดือน ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยวิธี disc diffusion method พบว่าสามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staph. aureus* และ *E. coli* แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ *C. albicans*

นอกจากนี้ยังมีการนำสารสกัดไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ โดยณัฐพันธุ์ และ ตุลาภรณ์ (2543) ทำการวิจัยและพัฒนาสบู่เหลวจากสมุนไพรในการต้านเชื้อ *Staph. aureus* และ *Propionibacterium acnes* จากใบเหงือกปลาหมอดอกขาว ใบตำลึง ใบสำมะงา เปลือกผลมังคุด ใบ

เสม็ดขาว ใบและก้านบัวบก ด้วยน้ำและด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าที่ความเข้มข้น 2.7 เปอร์เซ็นต์ของสารสกัดน้ำจากใบสำมะงา และสารสกัดด้วยเอธานอลจากเปลือกผลมังคุด ใบเสม็ดขาว ใบและก้านบัวบกมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ได้ดี นอกจากนี้สารสกัดเอธานอลจากเปลือกผลมังคุด และจากใบเสม็ดขาวมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P. acnes* ได้ดีอีกด้วย ดังนั้นจึงเลือกสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด และใบเสม็ดขาวไปพัฒนาเป็นสูตรสบู่เหลวต่อไป

เผด็จ และคณะ (2545) ทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพร 15 ชนิดในการต้านฤทธิ์แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเต้านมอักเสบในโคนม ได้แก่ *Staph. aureus* และ *E. coli* โดยนำผงสมุนไพรแช่ด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และน้ำ พบว่าปริมาณเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดด้วยน้ำมีค่ามากที่สุด รองลงมา คือ เอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ คลอโรฟอร์ม และเฮกเซน ตามลำดับ แต่ทั้งนี้จำนวนสารสกัดจากพืชด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ได้มากที่สุด โดยคิดเป็น 13.33 เปอร์เซ็นต์ของสารสกัดทั้งหมด 60 ตัวอย่าง และพบว่าสารสกัดบัวบกด้วยทำละลาย 4 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ได้ แต่ไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ ซึ่งสารสกัดบัวบกด้วยเฮกเซนสามารถยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ได้ดีที่สุด และมีความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ (MBC) เท่ากับ 1.25 และ 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

สถาพร และคณะ (2546) ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพร 16 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. จำนวน 10 สายพันธุ์ที่ก่อโรคในกุ้งกุลาดำ พบว่ามีสมุนไพรอยู่ 11 ชนิดที่มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งกุลาดำได้ อย่างไรก็ตาม ใบฝรั่งและต้นมะระขี้นกสามารถยับยั้งเชื้อได้ที่ความเข้มข้นต่ำเพียง 0.625 และ 1.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ดังนั้นจึงมีศักยภาพในการนำไปใช้มากกว่าพืชสมุนไพรชนิดอื่นๆ

Nanasombat และ Lohasupthawee (2005) ศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 20 สายพันธุ์ และ Enterobacteria จำนวน 5 สายพันธุ์ จากสารสกัดหยาบเอธานอลและน้ำมันหอมระเหยของพืชจำนวน 14 ชนิดในประเทศไทย โดยวิธี disc diffusion method พบว่า มีสารสกัดหยาบเอธานอลของพืช 9 ชนิด และน้ำมันหอมระเหยของพืช 11 ชนิด ที่ให้ผลยับยั้งที่ดี ซึ่งสารสกัดหยาบเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ของอบเชยที่ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* spp. ได้ 19 สายพันธุ์ และเชื้อ Enterobacteria ได้ทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยมีขนาดวงใสในการยับยั้งเชื้อ *S.* Anatum DMST 7108 เท่ากับ 9 มิลลิเมตร และ *E. coli* DMST 4212 เท่ากับ 8 มิลลิเมตร เมื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งในเชื้อ *S.* Anatum DMST 7108 และ *E. coli* DMST 4212 มีค่าเท่ากับ 88.3 และมากกว่า 166.7 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ต่อมา สิริลักษณ์ (2548) ทำการทดสอบผลของสารสกัดบัวบกด้วยน้ำและเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ต่อเชื้อ *Staph. aureus, S.* Anatum, *Lactobacillus sakei* และ *Pediococcus pentosaceus* ในหลอดทดลอง พบว่าสารสกัดบัวบกด้วยน้ำยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีกว่าเอธานอล และที่ความเข้มข้น

ของสารสกัดบัวบกด้วยน้ำ 400 ppm เป็นเวลา 120 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อ *Staph. aureus* ได้ดีที่สุด (0.99 log reduction) สำหรับเชื้อ *S.* Anatum ความเข้มข้นของสารสกัดบัวบกด้วยน้ำ 400 ppm และสารสกัดบัวบกด้วยเอธานอล 800 ppm จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.* Anatum ส่วนสารสกัดบัวบกด้วยน้ำและเอธานอลไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการยับยั้งเชื้อ *Lb. sakei* และ *P. pentosaceus* ได้

คาราวรรณ และคณะ (2549) ทำการวิจัยเบื้องต้นเกี่ยวกับการต้านฤทธิ์จุลชีพของผักพื้นบ้านรสขมของไทย ซึ่งประกอบด้วยน้ำคั้นพืชสดและการสกัดน้ำมันด้วยเอธานอลโดยใช้วิธี soxhlet extraction จาก ชะอม กระถิน ใบยอ ขี้เหล็ก เนื้อมะระขี้นก และเมล็ดมะระขี้นก ต่อการยับยั้งเชื้อเชื้อก่อโรค 3 สายพันธุ์ คือ *Staph. aureus, S.* Typhi และ *B. cereus* ด้วยวิธี agar diffusion method ผลพบว่าสารสกัดน้ำคั้นสดและน้ำมันด้วยเอธานอลจากเนื้อมะระขี้นกมีศักยภาพสูงในการยับยั้งเชื้อ *S.* Typhi และ *Staph. aureus* และให้ผลยับยั้งได้ปานกลางกับเชื้อ *B. cereus* แต่สารสกัดสกัดน้ำคั้นสดและน้ำมันด้วยเอธานอลสจากเมล็ดมะระขี้นกนั้นไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้ง 3 ชนิด

2.4 การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารปฏิชีวนะ (Antibiotic susceptibility test)

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

2.4.1 การเจือจางยาในอาหารเหลว (Broth dilution method)

วิธีนี้สามารถทดสอบในหลอดทดลอง โดยนำสารที่ต้องการทดสอบเจือจางในอาหารเหลวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ลดลงความเข้มข้นลงทุกๆ 2 เท่า (Two-fold dilution) จากนั้นสังเกตการเจริญของเชื้อภายหลังการเพาะบ่ม โดยดูจากความขุ่นของอาหารและแปรผลการทดสอบ การทดสอบด้วยวิธีนี้สามารถรู้ผลได้เร็ว และใช้ทดสอบวิถีการออกฤทธิ์ของยาฆ่าเชื้อได้

2.4.2 การเจือจางยาในอาหารวุ้น (Agar dilution method)

นำสารที่ต้องการทดสอบเจือจางด้วยน้ำหรือตัวเจือจางที่เหมาะสมจนได้ระดับความเข้มข้นลดลง 10 เท่า แล้วผสมกับอาหารวุ้นตั้งทิ้งไว้ให้แข็ง หลังจากนั้นทำการเพาะเชื้อทดสอบลงบนอาหารวุ้นที่เตรียมไว้ สังเกตการเจริญของเชื้อบนอาหารหลังการเพาะบ่ม การทดสอบด้วยวิธีนี้สามารถใช้ทดสอบเชื้อหลายชนิดในเวลาเดียวกันและสามารถสังเกตการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นได้

2.4.3 การให้ยาซึมซ่านในอาหารวุ้น (Agar diffusion method)

วิธีนี้อาศัยหลักการแพร่ซึม โดยนำสารที่ต้องการทดสอบใส่ในสิ่งรองรับซึ่งอยู่บนหรือในอาหารวุ้นที่ได้เพาะเชื้อไว้แล้ว ภายหลังการเพาะบ่ม สังเกตรอบบริเวณสิ่งรองรับว่ามีการเกิดบริเวณใส (inhibition zone) ซึ่งไม่มีเชื้อเจริญหรือไม่ วิธีนี้สามารถทำได้หลายรูปแบบขึ้นกับสิ่งรองรับตัวยา เช่น หลุมที่เจาะลงในอาหารวุ้น (Agar-well diffusion method) ถ้วยโลหะทรงกระบอก (Cup diffusion method) หรือกระดาษซับกลมซึมซ่านในอาหารวุ้น (Agar–disc diffusion method) ทั้งนี้ปัจจุบันการใช้กระดาษซับกลมเป็นที่นิยม เนื่องจากสะดวกต่อการใช้งาน แต่การทดสอบแบบใช้สิ่งรองรับเป็นหลุมและถ้วยนั้นสามารถเห็นผลการทดสอบได้ชัดเจนกว่า จึงเหมาะกับสารทดสอบ ที่ซึมซ่านได้ยาก

2.5 การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC)

ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) เป็นระดับความเข้มข้นของสารทดสอบที่มีความเจือจางสูงสุด หรือความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ โดยมีเทคนิค 2 วิธี (มาลิน, 2542) คือ

2.5.1 Direct plate assay technique เป็นวิธีการตรวจหาสารยับยั้งจุลินทรีย์และค่า MIC ที่นิยม โดยเตรียมสารให้มีความเจือจางเพิ่มขึ้นทีละ 2 เท่า (Two-fold dilution) ตั้งแต่ 2 ไปถึง 4096 และใช้เทคนิคการให้สารซึมซ่านจากสิ่งรองรับซึ่งอยู่บนหรือในอาหารวุ้นที่ได้เพาะเชื้อไว้ ตรวจสอบความเจือจางสุดท้ายที่ให้วงใส ซึ่งจะเป็นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

2.5.2 Tube dilution turbidimetric technique เป็นวิธีการตรวจหาสารยับยั้งจุลินทรีย์และค่า MIC ที่นิยม โดยเตรียมสารให้มีความเจือจางเพิ่มขึ้นทีละ 2 เท่า หรือทีละ 10 เท่า ในหลอดทดลอง โดยเทคนิคการการเจือจางสารทดสอบในอาหารเหลว และตรวจสอบการเจริญของเชื้อในอาหารเหลว หลังการบ่มเป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง โดยความเจือจางสุดท้ายที่เชื้อไม่สามารถเจริญคือค่า MIC

2.6 การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Bactericidal Concentration, MBC)

จากเทคนิคในการหาค่า MIC ดังกล่าวสามารถทดสอบและเปรียบเทียบความไวของเชื้อหนึ่งเชื้อใดต่อสารยับยั้งจุลินทรีย์หรือนำไปประยุกต์ใช้เพื่อตรวจสอบสารใดๆ ที่คาดว่ามีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแล้ว ยังสามารถศึกษาถึงลักษณะวิถีการออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อของสารนั้นด้วย ซึ่งความเข้มข้นต่ำสุดของสารในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Bactericidal Concentration, MBC) หมายความถึงความเข้มข้นต่ำสุดที่จะทำลายจุลินทรีย์ลงได้ 99.9 เปอร์เซ็นต์ สามารถประเมินจากความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) โดยการนำอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของสารยับยั้งจุลินทรีย์ตั้งแต่ MIC ขึ้นไป มาตรวจสอบการเจริญของเชื้อบนอาหารวุ้น ความเข้มข้นใดที่ทำให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลง 99.9 เปอร์เซ็นต์ หรือเหลือรอดต่ำกว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์จากเชื้อเริ่มต้น คือ ค่า MBC เช่น เชื้อเริ่มต้นที่ใช้ทดสอบเท่ากับ 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร ความเข้มข้นใดที่ทำให้มีเชื้อเหลือรอดไม่เกิน 1,000 โคโลนี/มิลลิลิตร จะเป็นค่า MBC นอกจากนี้ยังต้องพิจารณาถึงระยะเวลาที่สามารถฆ่าทำลายเชื้อได้ (มาลิน, 2542) โดยทำการศึกษากราฟอัตราการฆ่าเชื้อหรือปริมาณเชื้อที่เหลือรอดต่อช่วงเวลาในการออกฤทธิ์ของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) ซึ่งปัจจัยทั้ง 3 อันได้แก่ ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่มีฤทธิ์ในฆ่าทำลายเชื้อจุลินทรีย์ ระยะเวลา และปริมาณเชื้อเหลือรอด จะใช้ในการประเมินคุณสมบัติของสารนั้นๆว่าเป็นชนิดยับยั้ง (bacteriostatic) คือ สารที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อไม่ให้เจริญเติบโตหรือเพิ่มจำนวนตลอดระยะเวลาการเพาะบ่ม 24 ชั่วโมง หรือชนิดฆ่าทำลาย (bactericidal) สารที่มีฤทธิ์ในการฆ่าทำลายเชื้อหรือลดจำนวนเชื้อได้เชื้อลดลง 99.9 เปอร์เซ็นต์จากเชื้อเริ่มต้น และไม่มีการเจริญเติบโตหรือเพิ่มจำนวนของเชื้อขึ้นในระยะเวลาการเพาะบ่ม 24 ชั่วโมง ซึ่งการแปรผลวิถีการออกฤทธิ์ของสารว่าเป็นแบบยับยั้งจะมีค่า MIC ต่ำกว่าค่า MBC อย่างมากในหลายๆ เท่าของการเจือจางความเข้มข้นของสารทดสอบ ในขณะที่สารมีวิถีการออกฤทธิ์เป็นแบบฆ่าจะมีค่า MIC และค่า MBC เท่ากันหรือใกล้เคียงกันโดยมีความแตกต่างของค่าไม่เกินหนึ่งหรือสองเท่าของการเจือจางความเข้มข้นของสารทดสอบ (Pfaller และคณะ, 2004)

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 พืช

ตัวอย่างพืช จากมูลนิธิโครงการหลวงดอยอ่างขาง อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่

- ปืนนกไส้ (ทั้งต้น) (*Bidens pilosa* Linn.)
- ราชาวดีป่า (ทั้งต้น) (*Buddieia asiatica* Lour)
- เสนียด (ใบ) (*Justicia adhatoda* L.)
- ตะไคร้ต้น (ใบ) (*Litsea cubeba* Pers.)
- ผักปลาบขอบใบเรียว (ทั้งต้น) (*Commelina diffusa* Burm.f.)
- หมีท้ง (ใบ) (*Litsea salicifolia* Nees EX Roxb.)
- หมีเหม็น (ใบ) (*Litsea glutinosa* (Lour.) C.B. Rob.)
- ส้มจี้ (ใบ) (*Embelia ribes* Burm.f.)
- ส้มกุ่ย (ใบ) (*Embelia sessiliflora* Kurtz)

ตัวอย่างพืช จากจังหวัดปทุมธานี

- มะระขี้นก (ทั้งต้น และลูก) (*Momordica charantia* Linn.)
- สะเดา (เมล็ด) (*Azadirachta indica* A. Juss)
- ผักชีลาว (ทั้งต้น) (*Foeniculum vulgare* Mill.)
- บัวบก (ทั้งต้น) (*Centella asiatica* Linn.)
- กระชายดำ (เหง้า) (*Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker)

ตัวอย่างพืช จากตลาดหัวตะเข้ เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ

- อบเชย (เปลือก) (*Cinnamomum zeylanicum* Breyn)

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ แบ่งเป็น

<u>เชื้อแบคทีเรีย 9 สายพันธุ์</u>

- *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 plantarum* ATCC 14917
- *Lactococcus lactis* JCM 7638

<u>เชื้อยีสต์ 2 สายพันธุ์</u>

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

<u>เชื้อรา 2 สายพันธุ์</u>

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

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

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

3.1.4 สารเคมี

- เอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์
- เอทิลอะซิเตท
- เฮกเซน

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

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotavapor BUCHI R-114, Switzerland)
- เครื่องชั่งชนิดละเอียด (Mettler PE 3000, Switzerland)
- ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ (Memmert, Germany)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, Memmert, Germany)
- เครื่องบด (Blender)
- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave, Tomy SS-245, Japan)
- ตู้บ่มเชื้อ (Memmert, Germany)
- ตู้เขี่ยเชื้อแบบ Larminar flow
- กระดาษซับกลม (Paper disc) ขนาด 6 มิลลิเมตร
- Autopipette
- Haemacytometer
- เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer, Labomed, inc., USA.)

3.3 สถานที่ดำเนินงาน

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์

- เชื้อแบคทีเรีย ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB-YE (Trypticase Soy Broth + 0.6% Yeast Extracts) ประมาณ 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอด Lyophilized cultured ด้วยหลอดหยดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ดูดอาหารเลี้ยงเชื้อขึ้นลงเพื่อละลายผงเชื้อ จากนั้นดูดสารละลายเชื้อแบคทีเรียมาเพาะเลี้ยงในหลอดอาหาร TSB-YE และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง ทำการทดสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อ โดยนำเชื้อที่เจริญในอาหารเหลว TSB-YE ทำการ streak ลงในผิวหน้าอาหาร TSA-YE (Trypticase Soy Agar + 0.6% Yeast Extracts) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-

24 ชั่วโมง สังเกตว่าโคโลนีของเชื้อที่เจริญมีลักษณะเหมือนกันทั้งจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำโคโลนีเดี่ยวของเชื้อที่แยกได้ไปย้อมแกรมเพื่อตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา เมื่อทดสอบได้ว่าเป็นเชื้อบริสุทธิ์ นำเชื้อดังกล่าวเพาะบ่มลงบน TSA-YE slant และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ (stock culture) สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

สำหรับเชื้อแบคทีเรียแลคติกใช้วิธีการเตรียมและทดสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อเช่นเดียวกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น โดยใช้อาหาร MRS broth และ MRS agar และเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง และนำเชื้อแบคทีเรียแลคติกบริสุทธิ์ที่ได้เพาะบ่มลงใน MRS agar และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ (stock culture) สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

- **เชื้อยีสต์** ใช้วิธีเช่นเดียวกับการเตรียมและทดสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้อาหาร YM broth และ YM agar และเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง และนำเชื้อยีสต์ที่ทดสอบได้ว่าบริสุทธิ์ เพาะบ่มลงใน YM agar slant และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเชื้อยีสต์บริสุทธิ์ (stock culture) สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

- **เชื้อรา** ใส่น้ำกลั่นปลอดเชื้อ (น้ำกลั่น + 2% Tween 80) ประมาณ 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอด Lyophilized cultured ด้วยหลอดหยดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ดูดอาหารเลี้ยงเชื้อขึ้นลงเพื่อละลายผงเชื้อ จากนั้นดูดสารละลายเชื้อราหยดลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จำนวน 1-2 หยด streak plate และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน ทำการทดสอบความบริสุทธิ์โดยดูว่าโคโลนีของเชื้อที่เจริญมีลักษณะเหมือนกันทั้งจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำโคโลนีเดี่ยวของเชื้อราที่แยกได้ไปทำ slide culture เพื่อตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา เมื่อทดสอบได้ว่าเชื้อบริสุทธิ์ นำเชื้อดังกล่าวเพาะบ่มลงบน PDA slant และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเชื้อราบริสุทธิ์ (stock culture) สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

3.4.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบในอาหารเหลว

- **เชื้อแบคทีเรีย** ถ่ายเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์จากหลอดเก็บเชื้อ (stock culture) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยห่วงเขี่ยเชื้อ (loop) จำนวน 1 ลูป ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB-YE 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง ได้สารแขวนลอยของเซลล์ (cell suspension) แบ่งสารละลายแขวนลอยของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ไปเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่างๆด้วยอาหารเหลว TSB-YE และนำสารละลายแขวนลอยของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ที่ระดับความเจือจางต่างๆ ไปวัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และแบ่งตรวจสอบจำนวนเชื้อโดยวิธีเกลี่ยบนผิวหน้าอาหารแข็ง (spread plate) ที่ระดับความเจือจางต่างๆของสารละลายแขวนลอยของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ นำผลที่ได้เขียนกราฟมาตรฐาน (standard curve) ระหว่าง

ค่าความขุ่น (OD) กับจำนวนเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ (log CFU/ml) ที่ทำการทดสอบ จากนั้นทำการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเหลว และเจือจางให้มีระดับความเข้มข้นประมาณ 3×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร โดยเทียบค่าความขุ่นของจำนวนเซลล์ (นาโนเมตร) ให้อยู่ในช่วงที่ต้องการ (ภาคผนวก ก)

สำหรับเชื้อแบคทีเรียแลคติก ใช้วิธีการเตรียมเชื้อเช่นเดียวกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น โดยใช้อาหาร GYP broth และเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง และนำไปเจือจางให้มีระดับความเข้มข้นประมาณ 3×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร เทียบค่าความขุ่นของจำนวนเซลล์ (นาโนเมตร) ให้อยู่ในช่วงที่ต้องการ (ภาคผนวก ก)

- **เชื้อยีสต์** ถ่ายเชื้อยีสต์บริสุทธิ์จากหลอดเก็บเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จำนวน 1 ลูป ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SDB 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง ทำการเตรียมเชื้อเช่นเดียวกับแบคทีเรีย และเจือจางให้มีระดับความเข้มข้นประมาณ 3×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร เทียบค่าความขุ่นของจำนวนเซลล์ (นาโนเมตร) ให้อยู่ในช่วงที่ต้องการ (ภาคผนวก ก)

- **เชื้อรา** ถ่ายเชื้อราจากบริสุทธิ์จากหลอดเก็บเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อเขี่ยสปอร์ของเชื้อราเจาะลงกลาง slant บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 4-7 วัน จนเกิดสปอร์เต็มผิวหน้าของอาหาร จากนั้นเตรียมสปอร์แขวนลอย (spore suspension) โดยเติมน้ำเกลือปลอดเชื้อ (0.85 %น้ำเกลือ + 0.05% Tween80) เท่ากับ 5 มิลลิลิตรลงใน slant แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อขูดสปอร์ออกจากผิวหน้าอาหารให้แขวนลอยในน้ำเกลือ และกรองเส้นใยของเชื้อราที่ปนเปื้อนออกจากสปอร์แขวนลอยด้วยใยแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จึงตรวจนับจำนวนสปอร์ด้วย Haemacytometer ทำการเจือจางให้ความเข้มข้นของสปอร์ประมาณ 5×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร

3.4.3 ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านบางชนิดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ยีสต์ และราบางชนิดที่ปนเปื้อนในอาหาร

เป็นการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ โดยนำสารสกัดจากพืชด้วยตัวทำละลายต่างๆ ไปทำการทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 13 ชนิด ด้วยวิธี Agar disc diffusion ร่วมกับตัวควบคุมที่ให้ผลเชิงลบ (negative control) และตัวควบคุมให้ผลเชิงบวก (positive control) โดยการวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD

3.4.3.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

นำตัวอย่างพืชสด ล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งจนแห้ง และนำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตัดเป็นชิ้นขนาดเล็กประมาณ 1- 2 เซนติเมตร แล้วนำมาบดละเอียดให้มีขนาดเล็กกว่า 0.8 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องบดแห้งเพื่อใช้สกัดต่อไป

3.4.3.2 การสกัดสารจากตัวอย่างพืช

การสกัดสารจากพืช ดัดแปลงจากวิธีของ Dupont และคณะ (2006) โดยมีวิธีการดังนี้ ชั่งตัวอย่างพืชบดละเอียดใส่ขวดลูกชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นในอัตราส่วนพืชต่อน้ำกลั่น เท่ากับ 1 : 5 คนผสมให้เข้ากัน ปิดปากขวดด้วยจุกยางและปิดฟอยล์ให้รอบขวด นำเข้าเครื่องเขย่าเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที ณ อุณหภูมิห้อง นำสารสกัดที่ได้กรองผ่านกรวยกรองบุชเนอร์ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No.1) และกรองให้ปลอดเชื้อด้วยกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมครอน (ยี่ห้อ Sartorius; Germany) เก็บตัวอย่างสารที่สกัดได้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส และแบ่งสารสกัดบางส่วนหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้

การสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน ทำเช่นเดียวกับการสกัดด้วยน้ำกลั่นโดยใช้อัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลายดังนี้ เอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ใช้อัตราส่วน 1:4 เอทิลอะซิเตท ใช้อัตราส่วน 1:2 และเฮกเซน ใช้อัตราส่วน 1:2

3.4.3.3 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

- **แบคทีเรีย** เพาะเลี้ยงเชื้อลงในอาหารแข็งด้วยวิธี Double layer (ดัดแปลงจากวิธีของ Oonmetta-aree และคณะ, 2006) โดยเทอาหารแข็ง TSA-YE เตรียมไว้ 15 มิลลิลิตรต่อจานเพาะเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ให้แข็ง เป็นอาหารส่วนที่ 1 จากนั้นปิเปตสารแขวนลอยของเซลล์เชื้อประมาณ 3×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงในอาหารแข็ง TSA-YE ที่หลอมเหลวอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ปริมาณ 5 มิลลิลิตร จะได้ปริมาณเชื้อทดสอบเริ่มต้นที่ 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร เป็นอาหารส่วนที่ 2 เทอาหารส่วนที่ 2 ลงบนผิวหน้าอาหารแข็งส่วนที่ 1 เขย่าให้อาหารส่วนที่ 2 ซึ่งอยู่ชั้นบนกระจายทั่วจานอาหาร ตั้งจนอาหารแข็งจากนั้นนำสารสกัดจากพืชข้อ 3.4.3.2 ปริมาณ 20 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษซับกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ตั้งให้แห้ง นำไปวางลงบนผิวหน้าอาหารที่มีเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ตั้งไว้นานประมาณ 30 นาที เพื่อให้สารแพร่ในชั้นอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง การแปรผลทดสอบใช้เวอร์เนียวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (inhibition zone) รอบกระดาษซับกลม และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยของโซนใสโดยมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร (ดังภาพที่ 3.1)

สำหรับเชื้อแบคทีเรียแลคติก ใช้วิธีการเช่นเดียวกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น โดยมีปริมาณเชื้อทดสอบเริ่มต้นที่ 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร ในอาหาร GYP agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยของโซนใสโดยมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

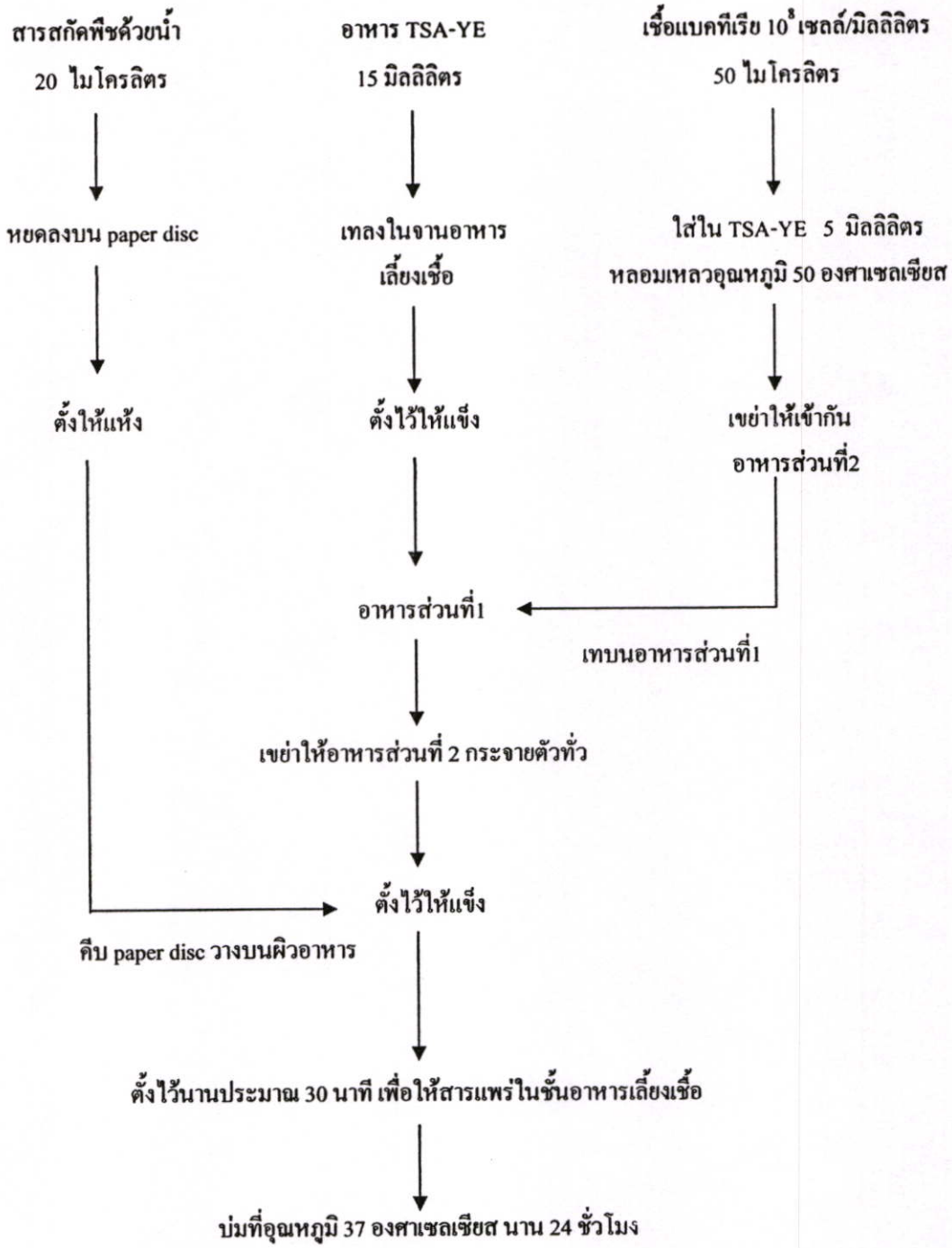
- **เชื้อยีสต์** ใช้วิธีการเดียวกับเชื้อแบคทีเรีย โดยมีปริมาณเชื้อทดสอบเริ่มต้นที่ 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยของโซนใสโดยมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

- **เชื้อรา** ปิเปตสารแขวนลอยของสปอร์เชื้อราประมาณ 5×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาณ 50 ไมโครลิตร เพาะเลี้ยงลงในอาหารแข็ง SDA หลอมเหลวอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ได้ปริมาณเชื้อทดสอบที่ 10^4 เซลล์/มิลลิลิตร ใช้วิธีการเพาะเชื้อเช่นเดียวกับเชื้อแบคทีเรีย และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยของโซนใสโดยมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ โดยนำสารสกัดจากพืชที่ทำการสกัดด้วยน้ำ เอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน ไปทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และรา ด้วยวิธี Agar disc diffusion (ดัดแปลงจากวิธีของ แสงระวี, 2543)

วิธีการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดพืชด้วยน้ำกลั่น ใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นชุดควบคุมให้ผลเชิงลบ (negative control) และใช้โดยใช้คลอแรมฟีนิคอล (Chloramphenicol) ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ชุดควบคุมให้ผลเชิงบวก (positive control) ส่วนการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดพืชด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน ใช้ชุดควบคุมให้ผลเชิงลบ (negative control) เป็นตัวทำละลายนั้นๆแทนการใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อ ตามลำดับ

สำหรับการทดสอบการยับยั้งเชื้อราและเชื้อยีสต์ทำเช่นเดียวกับการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้นัยสเตติน (Nystatin) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมให้ผลเชิงบวก (positive control) แทนการใช้คลอแรมฟีนิคอล



ภาพที่ 3.1 แผนภูมิภาพวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียลงในอาหารแข็งด้วยวิธี Double layer ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar disc diffusion

3.4.4 เปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดกับปริมาณความเข้มข้นของคลอแรมฟินิคอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

นำชนิดของสารสกัดจากพืชที่ให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ดีสูงสุด 1 ตัวอย่าง จากข้อ 3.4.3 เปรียบเทียบกับความเข้มข้นของคลอแรมฟินิคอลที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.125, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เช่นเดียวกับวิธีการในข้อ 3.4.3.3 การแปรผลทดสอบโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (inhibition zone) รอบกระดาษซับกลม และรายงานผลเปรียบเทียบขนาดโซนใสของสารสกัดกับขนาดโซนใสของคลอแรมฟินิคอล

3.4.5 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Agar disc diffusion

นำสารสกัดจากพืชที่ให้ผลการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์สูงสุดจำนวน 1 ตัวอย่าง มาหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ให้ผลการยับยั้ง 4 สายพันธุ์ โดยการเจือจางสารสกัดด้วยตัวทำละลายเดียวกัน จากความเข้มข้นเริ่มต้น (stock solution) เจือจางไปอีก 5 ลำดับ ในอัตราส่วน 1:2 (Two-fold dilution) นำสารละลายที่ความเข้มข้นต่างๆไปทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.4.3.3 เพื่อหาปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเกิดโซนใสของจุลินทรีย์รอบกระดาษซับกลม แปรผลโดยความเข้มข้นน้อยสุดของสารสกัดพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ เป็นค่า MIC ของสารสกัดที่มีต่อจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆ

3.4.6 ศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธีเจือจางในอาหารเหลว (Broth dilution method)

นำชนิดของพืชและตัวทำละลายเดียวกับข้อ 3.4.5 ทำการทดสอบด้วยวิธีเจือจางในอาหารเหลว (ทำตามวิธีของ Sahin และคณะ, 2003) โดยมีวิธีการเตรียมตัวอย่างและขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.4.6.1 การเตรียมสารสกัดจากพืช

ชั่งตัวอย่างพืชที่บดละเอียดปริมาณ 50 กรัม ใส่ลงในขวดลูกชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายที่เหมาะสม 200 มิลลิลิตร คนผสมให้เข้ากัน ปิดปากขวดด้วยจุกยางและห่อฟอยล์ให้รอบขวด นำเข้าเครื่องเขย่าเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที ณ อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปกรองผ่านกรวยกรองบุชเนอร์ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จะได้สารสกัด

จากพืชส่วนที่ 1 ซึ่งนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส ส่วนของกากจะนำมาสกัดซ้ำอีกครั้งโดยเติมตัวทำละลาย 200 มิลลิลิตร แช่ค้างเป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง และกรอง จะได้สารสกัดจากพืชส่วนที่สอง จากนั้นนำสารสกัดส่วนที่ 1 และ 2 ผสมกัน นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศที่ 200 มิลลิบาร์ (mbar) อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 30 นาที จากนั้นนำสารสกัดที่ระเหยตัวทำละลายบางส่วนออกซึ่งจะได้สารสกัดที่เข้มข้นขึ้น ทำแห้งด้วยวิธีไลโอฟิไลซ์ (Lyophilization) โดยใส่สารสกัดเข้มข้น100 มิลลิลิตรในบิกเกอร์สำหรับใส่ตัวอย่าง นำไปทำให้สารสกัดแข็งตัวโดยแช่ด้วยน้ำแข็งแห้ง แล้วทำให้แห้งด้วยเครื่อง Lyophilizer เก็บตัวอย่างสารที่สกัดที่ได้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส

นำตัวอย่างสารสกัดมาละลายด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ได้ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้วจึงกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมครอนเพื่อทำให้ปราศจากเชื้ออีกครั้ง

3.4.6.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์จะทำเช่นเดียวกับข้อ 3.4.2 ยกเว้นแบคทีเรียแลคติค ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ในการทดสอบ สารแขวนลอยของเซลล์จุลินทรีย์เริ่มต้นมีความเข้มข้น 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร

3.4.6.3 ทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Broth dilution method

- เชื้อแบคทีเรีย นำสารสกัดจากข้อ 3.4.6.1 ที่มีความเข้มเริ่มต้น 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยอาหารเหลว TSB-YE ในอัตราส่วน 1:2 (Two-fold dilution) โดยปิเปตสารสกัดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ใสในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB-YE ความเข้มข้นสองเท่าที่มีปริมาณ 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เป็นสารสกัดหลอดที่ 1 มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารสกัดจากหลอดที่ 1 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB-YE ที่มีปริมาณ 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเป็นสารสกัดหลอดที่ 2 มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทำเช่นนี้ไปเรื่อยๆจนได้ความเข้มข้นที่กำหนดในหลอดทดลอง จากนั้นปิเปตสารสกัดในแต่ละหลอดออกให้มีปริมาตรเหลือเท่ากับ 2 มิลลิลิตร ปิเปตเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบที่ได้จากข้อ 4.4.6.2 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทั้งนี้มีชุดควบคุม (control) ดังต่อไปนี้

- หลอดอาหารเหลว TSB-YE (negative control)
- อาหารเหลว TSB-YE ผสมสารสกัดแต่ละระดับความเข้มข้น (negative control)
- หลอดอาหารเหลว TSB-YE ผสมเชื้อจุลินทรีย์ (negative control)

ตรวจผลการออกฤทธิ์ใช้วิธีการนับจำนวนเชื้อที่เกลี่ยบนผิวหน้าอาหารแข็ง (log CFU/ml.) เนื่องจากสีของสารสกัดเมื่อนำมาละลายด้วยอาหารเหลวแล้วยังคงมีสีเข้ม ไม่สามารถสังเกตเห็นการเจริญของเชื้อได้ ดังนั้นระดับความเข้มข้นน้อยสุดของสารสกัดพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ จะมีปริมาณเชื้อที่นับได้บนผิวหน้าอาหารแข็งภายหลังการบ่ม 24 ชั่วโมง ไม่มากกว่าจำนวนเชื้อเริ่มต้น คือ ค่า MIC ของสารสกัดที่มีต่อจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆ

สำหรับเชื้อแบคทีเรียแลคติค ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ในการทดสอบ และบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.4.7 ศึกษาสมบัติและวิธีการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

ทำการทดสอบประเภทของสารออกฤทธิ์ว่าเป็นแบบชนิดต้านจุลินทรีย์ (bacteriostatic) หรือ ทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (bactericidal) ด้วยวิธีการเดียวกับข้อ 3.4.6 โดยทดสอบที่ระดับความเจือจางตั้งแต่ช่วงค่า MIC ขึ้นไป และทำการตรวจผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดต่อจำนวนจุลินทรีย์ทดสอบ ทุกๆ 4 ชั่วโมงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยวิธีนับจำนวนเชื้อที่เกลี่ยบนผิวหน้าอาหารแข็ง

นำผลการทดลองมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ (log CFU/ml) กับระยะเวลา (ชั่วโมง) ถ้าสารสกัดออกฤทธิ์เป็นแบบชนิดต้านจุลินทรีย์ (bacteriostatic) เส้นกราฟปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลือรอดจะมีลักษณะลดลงและคงที่ แต่กรณีเส้นกราฟปริมาณเชื้อที่เหลือรอดมีลักษณะลดลงจนไม่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในระยะเวลาการบ่ม 24 ชั่วโมง สารสกัดนั้นมีการออกฤทธิ์เป็นแบบทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (bactericidal) และถ้ากราฟปริมาณเชื้อจุลินทรีย์มีลักษณะเพิ่มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาการบ่ม 24 ชั่วโมง แสดงว่าสารสกัดนั้นไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้

3.5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองตามวิธีการข้อ 3.4.3 วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปแกรมสำเร็จรูป (SPSS Version 11) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยข้อมูลโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การทดลองตามวิธีการข้อ 3.4.6 วางแผนการทดลองแบบ CRD นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปแกรมสำเร็จรูป (SPSS Version 11) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยข้อมูลโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ผลการศึกษาสารสกัดจากพืชพื้นบ้าน ได้แก่ ต้นและลูกมะระขี้นก เปลือกต้นอบเชย ต้นผักชีลาว ต้นราชาวดีป่า ใบเสนียด ใบส้มกุ่ย ใบส้มจี้ ต้นปืนนกไส้ ใบตะไคร้ต้น ใบหมีเหม็น ใบหมีห้าง ต้นผักปลาบขอบใบเรียว ต้นบัวบก เมล็ดสะเดา เหง้ากระชายดำ ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ น้ำ เอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เอทิลอะซิเตท และ เฮกเซน ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งสิ้น 13 สายพันธุ์ ได้แก่ *E. coli, S.* Anatum, *Staph. aureus, Ps. aeruginosa, Pr. mirabilis, L. innocua, B. subtilis, Lb. plantarum, Lc. Lactis, Pi. anomala, Sc. cerevisiae, A. niger* และ *P. pinophilum* ด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่าพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ คือ ส่วนต้นและลูกของมะระขี้นก ใบหมีเหม็น ต้นปืนนกไส้ และเปลือกต้นอบเชย โดยให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกันไป (ภาพในภาคผนวก ค) สารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญจะต้องทำให้เกิดโซนใสที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 6 มิลลิเมตร หรือเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc ส่วนผักชีลาว ราชาวดีป่า เสนียด ส้มกุ่ย ส้มจี้ ตะไคร้ต้น หมีห้าง ผักปลาบ ขอบใบเรียว เมล็ดสะเดา บัวบก กระชายดำ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบทุกสายพันธุ์

จากผลการทดลองเมื่อพิจารณาความสามารถในการละลายสารที่มีอยู่ในพืช และประสิทธิภาพของสารสกัดพืชในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด พบว่าตัวทำละลายที่มีผลทำให้สารสกัดพืชสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรย์ทดสอบมีเพียง 3 ชนิด คือ เอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด รองลงมาคือเอทิลอะซิเตท และเฮกเซน ตามลำดับ ส่วนสารสกัดพืชด้วยน้ำไม่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทุกสายพันธุ์

4.1.1 ฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านด้วยน้ำ

ผลการทดสอบ พบว่าสารสกัดจากพืชด้วยน้ำ 16 ชนิด ได้แก่ ส่วนต้นและลูกของมะระขี้นก ใบหมีเหม็น ต้นปืนนกไส้ และเปลือกต้นอบเชย ผักชีลาว ราชาวดีป่า เสนียด ส้มกุ่ย ส้มจี้ ตะไคร้ต้น หมีห้าง ผักปลาบขอบใบเรียว เมล็ดสะเดา บัวบก และ กระชายดำ ไม่เกิดโซนใสรอบ paper disc ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 6 มิลลิเมตร กับเชื้อที่นำมาทดสอบทุกสายพันธุ์

(ตารางในภาคผนวก ก) ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าตัวทำละลายน้ำที่ใช้ในการสกัดสารนั้นไม่ศักยภาพเพียงพอในการละลายสารประกอบเคมีในพืชที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ เนื่องจากน้ำเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสูงจึงละลายสารประกอบเคมีในพืชในกลุ่มมีขั้ว หรือสารเคมีกลุ่ม primary constituents ออกมา ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน เป็นต้น (รัตนา, 2547) ซึ่งสารในกลุ่มดังกล่าวมีโมเลกุลขนาดใหญ่เมื่อปะปนออกมากับสารเคมีชนิดอื่น อาจไปรบกวนหรือต้านฤทธิ์ของสารที่แสดงผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

4.1.2 ฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์

สารสกัดพืชด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้มี 5 ชนิด โดยเปลือกของต้นอบเชยให้ผลการยับยั้งที่ดีที่สุด รองลงมา คือ ต้นมะระขี้นก หมีเหม็น ปีนนกไส้ และลูกมะระขี้นก ตามลำดับ (ภาพในภาคผนวก ค)

สารสกัดจากอบเชยมีความเข้มข้น 12.83 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก 5 ชนิด ได้แก่ *Staph. aureus, B. subtilis, L. innocua, Lb. plantarum, Lc. lactis* ยับยั้งเชื้อยีสต์และรา ได้แก่ *Pi. anomala, Sc. cerevisiae, A. niger* และ *P. pinophilum* ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบขนาดโซนใส (ตารางที่ 4.1 และ 4.2) พบว่าอบเชยมีผลในการยับยั้งเชื้อยีสต์และราได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรีย โดยมีขนาดวงใสอยู่ระหว่าง 15.10±0.64 ถึง 29.82±0.28 มิลลิเมตร และระหว่าง 9.34 ±0.24 ถึง 12.33±0.86 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสามารถยับยั้งเชื้อรา *A. niger* ได้ดีที่สุด (29.82 ±0.28 มิลลิเมตร)

สารสกัดจากส่วนของต้นมะระขี้นกมีความเข้มข้น 5.89 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้หลายชนิด ได้แก่ *B. subtilis, Staph. aureus, L. innocua, Lb. plantarum, Lc. lactis* และมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาดวงใส 10.77±0.63 มิลลิเมตร ซึ่งใหญ่กว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของเชื้อแบคทีเรียทดสอบอื่นๆที่มีขนาดวงใสอยู่ระหว่าง 8.79 ±0.23 ถึง 9.99 ± 0.52 มิลลิเมตร และไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อยีสต์และราได้ ในส่วนผลของมะระขี้นกมีความเข้มข้นของสารสกัด 7.61 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เพียง 2 ชนิด คือ *B. subtilis* และ *L. innocua* โดยมีขนาดของวงใสเท่ากับ 9.30 ± 0.58 และ 7.44 ± 0.43 มิลลิเมตร ตามลำดับ ทั้งนี้พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้ง *B. subtilis* และ *L. innocua* ของสารสกัดจากต้นของมะระขี้นกสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 2 ชนิด ได้ดีกว่าผลมะระขี้นก ใบหมีเหม็น และต้นปีนนกไส้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

สารสกัดจากใบหมีเหม็น และปีนนกไส้มีความเข้มข้น 6.97 และ 5.91 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ตามลำดับ สารสกัดทั้ง 2 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแกรมบวกบางสายพันธุ์ ได้แก่

B. subtilis, Staph. aureus และ *L. innocua* ซึ่งสารสกัดจากหมีเหม็นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ได้ดีที่สุด (9.73 ± 0.53 มิลลิเมตร) และมีผลในการยับยั้ง *L. innocua* ได้ดีแตกต่างจากต้นปีนนกไส้ และลูกมะระขี้นก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยสารสกัดจากหมีเหม็นมีขนาดวงใสเท่ากับ 8.40 ± 0.26 มิลลิเมตร ซึ่งใหญ่กว่าของกว่าต้นปีนนกไส้ และลูกมะระขี้นกที่มีขนาดของวงใส 7.62 ± 0.18 และ 7.44 ± 0.43 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่ทั้งนี้ไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อยีสต์และรา ส่วนต้นปีนนกไส้นอกจากมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียดังกล่าวแล้ว ยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ *Sc. cerevisiae* ได้ (8.79±0.52 มิลลิเมตร) แต่ยังคงมีประสิทธิภาพดีที่สุดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย คือ *Staph. aureus* และมีขนาดวงใส 9.98 ± 0.52 มิลลิเมตร ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *Staph. aureus* ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าต้นปีนนกไส้ให้ผลการยับยั้งเชื้อไม่แตกต่างจากต้นมะระขี้นกอย่างมีนัยสำคัญ และยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ได้ดีกว่าใบหมีเหม็นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สำหรับสารสกัดด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ จากต้นผักชีลาว ต้นราชาวดีป่า ใบเสนียด ใบส้มกุ่ย ใบส้มจี้ ต้นปีนนกไส้ ใบตะไคร้ต้น ใบหมีห้าง ต้นผักปลาบขอบใบเรียว ต้นบัวบก เมล็ดสะเดา และเหง้ากระชายดำ พบว่าไม่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทุกสายพันธุ์

จากผลการทดลองสารสกัดพืชด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีได้หลายชนิด เนื่องจากเป็นสารละลายเอธานนอลผสมน้ำ มีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสามารถละลายสารเคมีกลุ่มที่มีขั้วในพืชใกล้เคียงกับน้ำแต่มีความจำเพาะในการทำละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดีกว่าน้ำ (รัตนา, 2547) ได้แก่ สารประกอบเคมีในกลุ่มแทนนิน โพลิฟีนอล โพลิอะเซทธิลีน ฟลาวโวนอยด์ เทอร์ปีนอยด์ สเตรียรอย แอลคาลอยด์ และโพรพอลีส ซึ่งส่วนใหญ่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (Cowan, 1999) ดังนั้นจึงทำให้พืชที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้มากกว่าตัวทำละลายชนิดอื่นที่ใช้ทดสอบ

ตารางที่ 4.1 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดพืชชนิดต่างๆ ด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์

ตัวอย่างพืช	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)								
		แบคทีเรียแกรมบวก					แบคทีเรียแกรมลบ			
		Staph. aureus	*L. innocua*	*B. subtilis*	*Lb. plantarum*	*Lc. lactis*	*Pr. mirabilis*	*Ps. aeruginosa*	*E. coli*	*S.* Anatum
อบเชย	12.83	11.79±0.65[a]	10.03±0.33[a]	12.33±0.86[a]	9.34 ±0.24[a]	11.02±0.70[a]	-	-	-	-
มะระขี้นก	5.89	9.99 ± 0.52[b]	9.33 ± 0.54[b]	10.77±0.63[b]	8.79 ±0.23[b]	9.41 ± 0.24[b]	-	-	-	-
ปีนนกไส้	5.91	9.98 ± 0.52[b]	7.62 ± 0.18[d]	7.12 ± 0.56[d]	-	-	-	-	-	-
หมีเหม็น	6.97	8.78 ± 0.83[c]	8.40 ± 0.26[c]	9.73 ± 0.53[c]	-	-	-	-	-	-
ลูกมะระขี้นก	7.61	-	7.44 ± 0.43[d]	9.30 ± 0.58[c]	-	-	-	-	-	-
ตระไคร้ต้น1	8.19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ตระไคร้ต้น 2	4.44	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เสนียด	5.34	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ราชาวดีป่า	7.37	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

ตัวอย่างพืช	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)								
		แบคทีเรียแกรมบวก					แบคทีเรียแกรมลบ			
		Staph. aureus	*L. innocua*	*B. subtilis*	*Lb. plantarum*	*Lc. lactis*	*Pr. mirabilis*	*Ps. aeruginosa*	*E. coli*	*S.* Anatum
ส้มจี๊	6.08	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ส้มกุ่ย	7.26	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ผักชีลาว	7.26	-	-	-	-	-	-	-	-	-
บัวบก	7.62	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ผักปราบใบเรียว	2.35	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เมล็ดสะเดา	7.24	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระชายดำ	2.78	-	-	-	-	-	-	-	-	-
แอลกอฮอล์ 80%	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chloramphenicol	*	21.34±0.31	28.90±0.49	19.40±0.78	23.81±0.68	20.50±0.36	21.37±0.59	18.93±0.71	19.96±0.72	22.33±0.70

หมายเหตุ : รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

(*) ไม่ทำการทดสอบ

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.2 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และราของสารสกัดพืชชนิดต่างๆ ด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์

ตัวอย่างพืช	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)			
	ยีสต์		รา	
	Pi. anomala	*Sc. cerevisiae*	*A. niger*	*P. pinophilum*
อบเชย	22.21±0.65[a]	15.10±0.64[a]	29.82±0.28[a]	25.68±0.68[a]
มะระขี้นก	-	-	-	-
ปีนนกไส้	-	8.79±0.52[b]	-	-
หมีเหม็น	-	-	-	-
ลูกมะระขี้นก	-	-	-	-
ตระไคร้ต้น1	-	-	-	-
ตระไคร้ต้น 2	-	-	-	-
เสนียด	-	-	-	-
ราชาวดีป่า	-	-	-	-
ส้มจี้	-	-	-	-
ส้มกุ่ย	-	-	-	-
ผักชีลาว	-	-	-	-
บัวบก	-	-	-	-
ผักปราบใบเรียว	-	-	-	-
เมล็ดสะเดา	-	-	-	-
กระชายดำ	-	-	-	-
แอลกอฮอล์ 80%	-	-	-	-
Nystatin	9.84 ±0.40	19.84±0.49	19.49±0.66	12.44 ±0.52

หมายเหตุ : รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.1.3 ฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านด้วยเอทิลอะซิเตท

สารสกัดพืชด้วยเอทิลอะซิเตทที่มีผลในยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ ต้นมะระขี้นก หมีเหม็น และอบเชย เมื่อเปรียบเทียบชนิดของจุลินทรีย์ที่สามารถยับยั้งได้ และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (ตารางที่ 4.3 และ 4.4) พบว่าอบเชยที่ความเข้มข้น 2.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ให้ผลการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด รองลงมา ได้แก่ หมีเหม็น และต้นมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 2.89 และ 2.91 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ตามลำดับ (ภาพในภาคผนวก ค)

สารสกัดจากอบเชย สามารถยับยั้งการเจริญได้ทั้งแบคทีเรีย ได้แก่ *Staph. aureus, B. subtilis, L. innocua, Lb. plantarum* และ *Lc. lactis* โดยมีช่วงการยับยั้งอยู่ระหว่าง 8.93±0.63 ถึง 13.04±0.49 มิลลิเมตร อีกทั้งสามารถยับยั้งเชื้อยีสต์และราทดสอบทุกสายพันธุ์ ได้แก่ *Pi. anomala, Sc. cerevisiae, A. niger* และ *P. pinophilum* ในช่วงระหว่าง 18.29±0.27 ถึง 38.63±0.59 มิลลิเมตร โดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *A. niger* และ *P. pinophilum* ได้ดีที่สุด และมีขนาดของวงใสเท่ากับ 37.16±0.71 และ 38.63±0.59 มิลลิเมตร ตามลำดับ

สารสกัดจากใบหมีเหม็น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis, Staph. aureus* และ *L. innocua* ได้ และสามารถยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดในเชื้อ *L. innocua* (8.58 ± 0.39 มิลลิเมตร) สำหรับสารสกัดจากต้นมะระขี้นกพืชสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรย์ทดสอบได้เพียง 2 ชนิด คือ *B. subtilis* (7.61±0.43 มิลลิเมตร) และ *L. innocua* (7.65 ± 0.33 มิลลิเมตร) โดยประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* จากหมีเหม็นให้ผลไม่แตกต่างจากต้นมะระขี้นกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยพิจารณาจากขนาดวงใสที่ใกล้เคียงกันของสารสกัดจากหมีเหม็นและต้นมะระขี้นกที่ให้ผลในการยับยั้งเชื้อเท่ากับ 7.79±0.36 และ 7.61±0.43 มิลลิเมตร ตามลำดับ และพบว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *L. innocua* ของสารสกัดจากหมีเหม็นดีกว่าต้นมะระขี้นก เนื่องจากขนาดวงใสของสารสกัดหมีเหม็นใหญ่กว่าของต้นมะระขี้นก และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากต้นผักชีลาว ต้นราชาวดีป่า ใบเสนียด ใบส้มกุ่ย ใบส้มจี้ ต้นปืนนกไส้ ใบตะไคร้ต้น ใบหมีห้าง ต้นผักปลาบขอบใบเรียว ต้นบัวบก เมล็ดสะเดา เหง้ากระชายดำ ปืนนกไส้ และลูกมะระขี้นก พบว่าไม่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทุกสายพันธุ์

ตารางที่ 4.3 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชชนิดต่างๆด้วยเอทิลอะซิเตท

ตัวอย่างพืช	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)								
		แบคทีเรียแกรมบวก					แบคทีเรียแกรมลบ			
		Staph. aureus	*L. innocua*	*B. subtilis*	*Lb. plantarum*	*Lc. lactis*	*Pr. mirabilis*	*Ps. aeruginosa*	*E. coli*	*S.* Anatum
อบเชย	2.05	8.93±0.63[a]	12.01±0.63[a]	13.04±0.49[a]	10.99 ±0.50[a]	10.10±0.60[a]	-	-	-	-
มะระขี้นก	2.91	-	7.65 ± 0.33[c]	7.61±0.43[b]	-	-	-	-	-	-
ปีนนกไส้	2.80	-	-	-	-	-	-	-	-	-
หมีเหม็น	2.89	7.21 ±0.48[b]	8.58 ± 0.39[b]	7.79 ± 0.36[b]	-	-	-	-	-	-
ลูกมะระขี้นก	4.83	-	-	-	-		-	-	-	-
ตระไคร้ต้น1	6.08	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ตระไคร้ต้น 2	1.96	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เสนียด	4.08	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ราชาวดีป่า	1.21	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

ตัวอย่างพืช	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)								
		แบคทีเรียแกรมบวก					แบคทีเรียแกรมลบ			
		Staph. aureus	*L. innocua*	*B. subtilis*	*Lb. plantarum*	*Lc. lactis*	*Pr. mirabilis*	*Ps. aeruginosa*	*E. coli*	*S.* Anatum
ส้มจี๊	6.01	-	-	-	-		-	-	-	-
ส้มกุ่ย	7.66	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ผักชีลาว	4.90	-	-	-	-	-	-	-	-	-
บัวบก	1.15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ผักปราบใบเรียว	0.83	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เมล็ดสะเดา	17.17	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระชายดำ	3.30	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เอทิลอะซิเตท	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chloramphenicol	*	21.34±0.31	28.90±0.49	19.40±0.78	23.81±0.68	20.50±0.36	21.37±0.59	18.93±0.71	19.96±0.72	22.33±0.70

หมายเหตุ : รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.4 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และราของสารสกัดพืชชนิดต่างๆ ด้วยเอทิลอะซิเตท

ตัวอย่างสารสกัด	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)			
	ยีสต์		รา	
	Pi. anomala	*Sc. cerevisiae*	*A. niger*	*P. pinophilum*
อบเชย	25.05±0.94[a]	18.29±0.27[a]	37.16±0.71[a]	38.63±0.59[a]
มะระขี้นก	-	-	-	-
ปีนนกไส้	-	-	-	-
หมีเหม็น	-	-	-	-
ลูกมะระขี้นก	-	-	-	-
ตระไคร้ต้น1	-	-	-	-
ตระไคร้ต้น 2	-	-	-	-
เสนียด	-	-	-	-
ราชาวดีป่า	-	-	-	-
ส้มจี้	-	-	-	-
ส้มกุ่ย	-	-	-	-
ผักชีลาว	-	-	-	-
บัวบก	-	-	-	-
ผักปราบใบเรียว	-	-	-	-
เมล็ดสะเดา	-	-	-	-
กระชายดำ	-	-	-	-
เอทิลอะซิเตท	-	-	-	-
Nystatin	9.84 ±0.40	19.84±0.49	19.49±0.66	12.44 ±0.52

หมายเหตุ : รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากผลการทดลองตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทที่ใช้ในการสกัดสารสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิดเช่นเดียวกับตัวทำละลายเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ แต่มีฤทธิ์ในการยับยั้งได้น้อยกว่า เนื่องจากเอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลางสามารถละลายสารประกอบเคมีในพืชในกลุ่มที่ขั้วบางชนิดที่มีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และสารไม่มีขั้วปะปนออกมากับสารสกัด รวมทั้งความสามารถในการละลายสารของเอทิลอะซิเตทต่ำกว่าเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบจากเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้จากการทดลอง (ตารางที่ 4.1 และ 4.3) จึงอาจมีผลให้สารที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ต่ำกว่าตัวทำละลายเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์

4.1.4 ฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านด้วยเฮกเซน

สารสกัดพืชด้วยเฮกเซน พบเพียงสารสกัดจากอบเชยที่มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยสารสกัดอบเชยความเข้มข้น 0.33 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และราทดสอบได้ทุกสายพันธุ์ ซึ่งยับยั้งได้ดีที่สุดกับเชื้อ *A. niger* (29.82±0.28 มิลลิเมตร) (ภาพในภาคผนวก ค) และไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ (ตารางที่ 4.5 และ 4.6) ทั้งนี้เนื่องจากเฮกเซนเป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว จึงละลายสารประกอบเคมีในกลุ่มไม่มีขั้วของพืชออกมากับสารสกัด (รัตนา, 2547) และสารในกลุ่มไม่มีขั้วซึ่งให้ผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์อาจมีปริมาณน้อยในพืชบางชนิด ในการทดลองเมื่อพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายเฮกเซนมีปริมาณน้อยกว่าการใช้ตัวทำละลายเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ จึงทำให้ไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด

จากผลการทดลองข้อ 4.1.1-4.1.4 สารสกัดทั้งหมด 64 ชนิด พบว่าประสิทธิภาพของสารที่สกัดด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์นั้นสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด ผลที่ได้คล้ายคลึงกับการทดลองของเผด็จ และคณะ (2545) พบว่าการสกัดพืชด้วยน้ำมีปริมาณเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดมากที่สุด รองลงมา คือ เอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ คลอโรฟอร์ม และเฮกเซน ตามลำดับ แต่จำนวนสารสกัดจากพืชด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติในการทำละลายของน้ำจัดว่าเป็นตัวทำละลายที่ดีละลายสารออกมาได้มาก ทำให้สารละลายที่ได้อาจมีองค์ประกอบของสารที่ละลายน้ำได้ แต่ไม่มีสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ เช่น น้ำตาล แป้ง เป็นต้น (รัตนา, 2547) ทั้งนี้ตัวทำละลายเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ หรือเอธานนอลผสมน้ำเป็นตัวทำละลายที่มีความจำเพาะในการทำละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดีกว่าน้ำ (รัตนา, 2547) ซึ่งมีคุณสมบัติในการนำหรือละลายสารเคมีในพืชที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ให้ออกมาละลายในสารละลายได้ดีกว่าและมีความหลากหลายชนิดมากกว่า (Cowan, 1999)

ตารางที่ 4.5 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชชนิดต่างๆด้วยเฮกเซน

ตัวอย่างพืช	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)								
		แบคทีเรียแกรมบวก					แบคทีเรียแกรมลบ			
		Staph. aureus	*L. innocua*	*B. subtilis*	*Lb. plantarum*	*Lc. lactis*	*Pr. mirabilis*	*Ps. aeruginosa*	*E. coli*	*S.* Anatum
อบเชย	0.33	-	-	-	-		-	-	-	-
มะระขี้นก	0.69	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ปีนนกไส้	2.01	-	-	-	-	-	-	-	-	-
หมีเหม็น	1.73	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ลูกมะระขี้นก	4.61	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ตระไคร้ต้น1	2.33	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ตระไคร้ต้น 2	2.54	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เสนียด	2.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ราชาวดีป่า	0.83	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตัวอย่างพืช	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)								
		แบคทีเรียแกรมบวก					แบคทีเรียแกรมลบ			
		Staph. aureus	*L. innocua*	*B. subtilis*	*Lb. plantarum*	*Lc. lactis*	*Pr. mirabilis*	*Ps. aeruginosa*	*E. coli*	*S.* Anatum
ส้มจี้	2.17	-	-	-	-		-	-	-	-
ส้มกุ่ย	2.88	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ผักชีลาว	2.95	-	-	-	-	-	-	-	-	-
บัวบก	1.38	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ผักปราบใบเรียว	0.18	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เมล็ดสะเดา	25.18	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระชายดำ	1.56	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เฮกเซน	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chloramphenicol	*	21.34±0.31	28.90±0.49	19.40±0.78	23.81±0.68	20.50±0.36	21.37±0.59	18.93±0.71	19.96±0.72	22.33±0.70

หมายเหตุ : รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

(*) ไม่ทำการทดสอบ

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.6 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และราของสารสกัดพืชชนิดต่างๆ ด้วยเฮกเซน

	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)			
	ยีสต์		รา	
ตัวอย่างสารสกัด	*Pi. anomala*	*Sc. cerevisiae*	*A. niger*	*P. pinophilum*
อบเชย	22.21±0.65[a]	15.10±0.64[a]	29.82±0.28[a]	25.68±0.68[a]
มะระขี้นก	-	-	-	-
ปีนนกไส้	-	-	-	-
หมีเหม็น	-	-	-	-
ลูกมะระขี้นก	-	-	-	-
ตระไคร้ต้น1	-	-	-	-
ตระไคร้ต้น 2	-	-	-	-
เสนียด	-	-	-	-
ราชาวดีป่า	-	-	-	-
ส้มจี้	-	-	-	-
ส้มกุ่ย	-	-	-	-
ผักชีลาว	-	-	-	-
บัวบก	-	-	-	-
ผักปราบใบเรียว	-	-	-	-
เมล็ดสะเดา	-	-	-	-
กระชายดำ	-	-	-	-
เฮกเซน	-	-	-	-
Nystatin	9.84 ±0.40	19.84±0.49	19.49±0.66	12.44 ±0.52

หมายเหตุ : รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.1.5 ฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากพืชพื้นบ้านส่วนใหญ่มีผลการต้านทานการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (ตารางที่ 4.1-4.3) ซึ่งผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกับงานวิจัยของวัชรี (2543) ทดสอบสารสกัดด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ จากสมุนไพร พบว่าไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ และมีความสามารถยับยั้งได้ดีในแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staph. aureus* 2 สายพันธุ์ และ *Streptocuccus pneumoniae* ทั้งนี้เนื่องจากคุณสมบัติเฉพาะทางด้านสรีระวิทยาของแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียแกรมลบมีโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ที่ซับซ้อน ซึ่งตรงข้ามกับแบคทีเรียแกรมบวกที่มีเยื่อหุ้มเซลล์เพียงชั้นเดียวทำให้แบคทีเรียแกรมลบทนทานต่อสารยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดี (Vardar-Unlu และคณะ, 2003) ดังนั้นเมื่อสารยับยั้งจากพืชแพร่ผ่านเข้าสู่ผนังเซลล์จะทำให้เกิดความเสียหาย เป็นเหตุให้เกิดการสูญเสียคุณสมบัติในการเป็นเยื่อเลือกผ่านของสารและเกิดการเสียสมดุลภายในเซลล์ เป็นผลทำให้เกิดการแตกของเซลล์ ดังการทดลองของ Oonmetta-aree และคณะ (2006) ที่ทำการทดสอบผลของสารสกัดเอธานอลจากพืช *Alpinia galanga* Linn. ที่มีต่อเซลล์เชื้อ *Staph. aureus* และใช้ใช้เทคนิค Transmission electron microscopy พบว่าสารสกัดเอธานอลจากพืชดังกล่าว ได้แก่ D,L-l–acetoxychavicol acetate ทำให้ผนังเซลล์ภายนอก และเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียแตก ส่งผลให้องค์ประกอบที่อยู่ภายในเซลล์และไซโตรพลาสซึมไหลออกนอกเซลล์ ทำให้เซลล์ของเชื้อ *Staph. aureus* เกิดการบาดเจ็บ และตายในที่สุด

จากตารางที่ 4.1 พบว่าสารสกัดจากต้นมะระขี้นกด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staph. aureus* และไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* และยีสต์ *Sc. cerevisiae* ซึ่งสอดคล้องรายงานของวัชรี (2543) ที่พบว่าสารสกัดมะระขี้นกด้วยเอธานอล ตามด้วยไดคลอโรมีเทน สามารถยับยั้งการเจริญของ *Staph. aureus* แต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli* นอกจากนี้ แสงระวี (2543) พบว่าสารสกัดมะระขี้นกด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์และไดคลอโรมีเทน ตามลำดับ ไม่สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ *Sc. cerevisiae* และผลการทดลองยังสอดคล้องกับ Voravuthikunchai และคณะ (2004) ที่รายงานว่าสารสกัดน้ำ และเอธานอลจากต้นมะระขี้นกไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ทั้ง 6 สายพันธุ์ ในขณะที่ ชาลี (2543) พบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลจากรากเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุ 3 เดือนของมะระขี้นกสามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staph. aureus* และ *E. coli* ได้ และไม่มีผลในการต้านเชื้อยีสต์ *Sc. cerevisia* ได้ การที่สารสกัดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของรากมะระขี้นกสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* อาจเนื่องมาจากรากเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุ 3 เดือน มีชนิดสารองค์ประกอบต่างๆ และปริมาณของสารพฤกษเคมีในเซลล์พืชที่แตกต่างในส่วนของต้นมะระขี้นกที่ใช้ในการทดลองไปตามสายพันธุ์ ตำแหน่งของพืช อายุ และสภาพแวดล้อมของพืช เป็นต้น จึงอาจทำให้ความสามารถในการ

ยับยั้งจุลินทรีย์แตกต่างกัน (รัตนา, 2547) โดยสารสกัดจากมะระขี้นกที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ อาจมาจากมีสารประกอบกลุ่มไตรเทอร์ปีนที่มีรสขม ได้แก่ momordicoside (พาริชาและอัญญารัตน์, 2543) สารประกอบแอลคาลอยด์ (ชาลี, 2543) และสาร charantin ที่เป็นองค์ประกอบของ phytosteryl glycosides (มลฤดี, 2545)

สารสกัดจากใบหมีเหม็นมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, Staph. aureus* และ *L. innocua* แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์และราได้ (ตารางที่ 4.1) ทั้งนี้ผลในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* และ *Staph. aureus* สอดคล้องกับการทดลองของ Mandal และคณะ (2000) ที่ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ในสารสกัดด้วยเมทานอลจากเปลือกหมีเหม็น (*Litsea glutinosa* Lour.) ในประเทศอินเดีย ด้วยวิธี agar diffusion พบว่าความเข้มข้น 50 – 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *S.* Ttyphimurium, *Pr. mirabilis* และ *E. coli* ซึ่งขัดแย้งกับผลการทดลองนี้ ทั้งนี้เนื่องจากสารสำคัญในเปลือกหมีเหม็นที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ ไตรเทอร์ปีนอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน อาจมีความสามารถในการละลายของสารในเมทานอลมีได้สูงกว่าเอธานอล ซึ่ง Cowan (1999) แสดงให้เห็นว่าเมทานอลจัดเป็นตัวทำละลายของสารพฤกษเคมีที่ดีกว่าตัวทำละลายเอธานอล โดยเฉพาะสารซาโปนินที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์

สารสกัดจากต้นปืนนกไส้ด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staph. aureus, B. subtilis, L. innocua* จากมากไปน้อย ตามลำดับ และยังสามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ *Sc. cerevisiae* (ตารางที่ 4.2) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Rabe และ Staden (1997) ที่ทำการวิจัยการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบของใบปืนนกไส้ในน้ำ และเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่าที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (น้ำ) ไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อทุกสายพันธุ์ ส่วนสารสกัดในเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ *B. subtilis* นอกจากนี้ยังได้ผลการทดลองเช่นเดียวกับ Khan และคณะ (2001) ที่รายงานว่าสารสกัดจากปืนนกไส้ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิดได้แก่ *Staph. aureus, B. subtilis* จากนั้น Cos และคณะ (2002) ทำแห้งแบบเยือกแข็งของสารสกัดใบของปืนนกไส้ด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความเข้มข้น 150 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (น้ำกลั่น) สามารถยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus, B. cereus* รวมทั้งการทดลองของ Rojas และคณะ (2006) พบว่าสารสกัดหยาบจากทั้งส่วนต้นและรากของปืนนกไส้ด้วยเอธานอล 98 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus, B. cereus* และจากข้อมูลการวิจัยของ Cos และคณะ (2002) และ Rojas และคณะ (2006) ทำให้ทราบความสามารถของต้นปืนนกไส้ต่อการยับยั้งเชื้อยีสต์ จากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าต้นปืนนกไส้มีสารประกอบเคมีที่มีผลต้านของเชื้อยีสต์บางสายพันธุ์ได้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองนี้ที่สารสกัดจากต้นปืนนกไส้สามารถยับยั้งเชื้อ *Sc. cerevisiae* ได้

จากผลการทดลองต้นปืนนกไส้ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้นั้นไม่สอดคล้องกับผู้ที่ทำการวิจัยข้างต้น ที่มีผลในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* (Khan และคณะ, 2001; Cos และคณะ, 2002; Rojas และคณะ, 2006), *S.* Anatum (Khan และคณะ, 2001; Cos และคณะ, 2002), *Ps. aeruginosa* และ *Pr. mirabilis* (Cos และคณะ, 2002) รวมทั้งความสามารถจากต้นและรากปืนนกไส้ที่สกัดด้วยเฮกเซน และน้ำกลั่น มีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Rojas และคณะ, 2006) ซึ่งผลดังกล่าวแตกต่างจากการทดลองนี้ อาจเนื่องจากความเข้มข้นของสารสกัดปืนนกไส้ที่ใช้ทดสอบเชื้อ *E. coli*, *S.* Anatum, *Ps. aeruginosa* และ *Pr. mirabilis* ในการทดลองมีความเข้มข้น 5.91 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) หรือ 59.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งต่ำกว่าของผู้วิจัยข้างต้นที่ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดอยู่ระหว่าง 100-200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รวมทั้งองค์ประกอบและปริมาณสารสกัดที่ใช้ทดสอบที่ได้จากต้นและใบของปืนนกไส้ในการทดลองนี้อาจแตกต่างจากการทดลองของ Rojas และคณะ (2006) ที่สกัดสารจากต้นและรากของต้นปืนนกไส้ด้วยเฮกเซนและน้ำกลั่น นาน 72 ชั่วโมง ซึ่งใช้ระเวลาการสกัดมากกว่าและสารที่ได้จากส่วนรากอาจเป็นสารประกอบที่แตกต่างกัน

การทดลองสารสกัดจากอบเชยสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก ยีสต์และราทดสอบ (ตารางที่ 4.1-4.6) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาสารสกัดจากอบเชยด้วย Buffered methanol สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus, Staph. aureus, L. monocytogenes* และสารสกัดจาก acetone ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* ได้ชนิดเดียว (Alzoreky และ Nakahara, 2003) และการวิจัยของ Bullermam และคณะ (1977) ผลของน้ำมันหอมระเหยของอบเชย 200-250 ppm สามารถยับยั้งการเติบโตและการผลิตสารอะฟลาท็อกซินของ *Aspergillus parasiticus* ได้ และการศึกษาของ Chao และคณะ (2000) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Staph. aureus* และ *E. coli* ได้

สารสกัดจากอบเชยไม่สามารถยับยั้งเจริญของ *E. coli* และ *S.* Anatum ซึ่งแตกต่างไปจากการศึกษาของ Thakare (2004) พบว่าสารสกัดอบเชยด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S.* Typhimurium นอกจากนี้พบว่าสารสกัดหยาบเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ของอบเชยที่ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Anatum (DMST 7108) และ *E. coli* (DMST 4212) (Nanasombat และ Lohasupthawee, 2005) และน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยมีผลการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ (Chao และคณะ, 2000) เนื่องจากความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ทดสอบมีปริมาณน้อยและสารสกัดที่อยู่ในลักษณะของน้ำมันหอมระเหยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่า (Tepe และคณะ, 2004)

ความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารประกอบเคมีของอบเชย มักพบในส่วนเปลือกของต้นอบเชย ที่นอกจากสารประกอบของน้ำมันหอมระเหย (1–4%) แล้ว ยังมีองค์ประกอบของสารฟีนอล (4–10%) ได้แก่ แทนนิน, คาทิชิน, proanthocyanidins และสาร monoterpenes,

sesquiterpenes (pinene), calcium-monoterpenes (Bruneton, 1995) นอกจากนั้น ฐิติพร และวิจิตร (2525) พบว่าองค์ประกอบทางเคมีในผงอบเชยเทศที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มีสารประกอบในกลุ่ม carbonyl group และแทนนินเป็นองค์ประกอบ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของจิราภรณ์ (2542) ที่พบว่าแทนนินเป็นสารที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในการต้านเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดจากส้มป่อย พะยอม สายน้ำผึ้ง มะขามป้อม ลูกใต้ใบ และหญ้าใต้ใบ ที่สกัดด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์

สำหรับสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีนั้น เนื่องจากองค์ประกอบเคมีในน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกของต้นอบเชยส่วนใหญ่ จะพบสาร cinnamaldehyde, eugenol, *trans*-cinnamic acid (Bullermam และคณะ, 1977) ที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ โดย eugenol จะทำลายโปรตีนในเซลล์และทำให้ผนังเซลล์ฉีกขาด ทำให้สารต่างๆ ภายในสามารถไหลออกสู่นอกเซลล์ได้ เซลล์จึงถูกทำลาย

สารสกัดจากผลมะระขี้นกสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* (ตารางที่4.1) ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานวิจัยของ ดาราวรรณ และคณะ (2549) ที่สารสกัดน้ำจากการคั้นสด และน้ำมันด้วยเอธานอลจากเนื้อผลมะระขี้นกสามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus, S.* Typhi และ *Staph. aureus* และสารสกัดจากวิธีทั้งสองจากเมล็ดมะระขี้นกที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบทั้ง 3 ชนิดได้ แต่จากการทดลองพบว่าขัดแย้งกับฤทธิ์ของสารสกัดที่ได้จากน้ำคั้นเนื้อมะระขี้นกที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Typhi และ *Staph. aureus* (ดาราวรรณ และคณะ, 2549) และ *Ps. aeruginosa* (อรุณี และคณะ, 2528) ทั้งนี้ในการทดลองใช้สารสกัดของผลมะระขี้นกทั้งส่วนของเนื้อและเมล็ด ดังนั้นองค์ประกอบจากเมล็ดของมะระขี้นกอาจมีสารเคมีที่ไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ หรือมีผลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดลดลง ทำให้สารสกัดจากลูกมะระขี้นกในการทดลองนี้ไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อบางสายพันธุ์ได้ และจากการทดลองของ อรุณี และคณะ (2528) วิธีการสกัดสารส่วนที่เป็น acidified water-chloroform extract จากผงของผลมะระขี้นกที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Ps. aeruginosa* จะทำการกำจัดไขมันด้วย petroleum ก่อนจะทำการสกัดสารต่อไป ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาณไขมันที่ปนอยู่ในสารสกัดจากเมล็ดมะระขี้นกจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดลดลง และทั้งนี้สารองค์ประกอบที่มีผลยับยั้งเชื้อของเนื้อมะระขี้นกน่าจะเป็นสารประกอบกลุ่มแอลคาลอยด์ และไกลโคไซด์ ได้แก่ สารประกอบ steroidal glycoside (อรุณี และคณะ, 2528) และ charantin ที่เป็นองค์ประกอบของ phytosteryl glycosides (มลฤดี, 2545)

สารสกัดจากพืชชนิดอื่นในการทดลองที่ไม่แสดงผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทุกสายพันธุ์ ได้แก่ ผักชีลาว ราชาวดีป่า เสนียด ส้มกุ่ย ส้มจี๊ ตะไคร้ต้น หมีห้าง เมล็ดสะเดา ผักปลาบขอบใบเรียว กระชายดำ และบัวบก ซึ่งผลจากการทดลองพบว่าพืชบางชนิดให้ผลทั้งขัดแย้งและสอดคล้องกับการทดลองนักวิจัยบางท่าน

จากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดผักชีลาวไม่มีผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทุกสายพันธุ์ ซึ่งขัดแย้งกับผลการวิจัยของ Kwon และคณะ (2002) ที่สรุปว่าความสามารถของสารองค์ประกอบเคมี phenyl propanoid ที่ได้จากต้นผักชีลาว (*Foeniculum vulgare*) สามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis*, *A. niger* และผลของสารสกัดจากราชาวดีป่าไม่สอดคล้องกับการทดลองของ Houghton (2003) สาร buddledin A28 ที่สกัดได้จากเปลือกต้นราชาวดีป่าสามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium culmorum* และสารสกัดจากส้มจี้ในการยับยั้งจุลินทรีย์แตกต่างจากการศึกษาของ Chitra และคณะ (2003) ที่พบว่าสาร embelin ที่แยกได้จากสารสกัดหยาบของส้มจี้ในประเทศอินเดีย *Staph. aureus*, *S.* Typhi, *Pr. mirabilis* และ *Ps. aeruginosa* เนื่องมาจากสารสกัดที่นำมาทดสอบเป็นสารสกัดหยาบยังไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ มีปริมาณของสารประกอบชนิดอื่นที่ปะปนอยู่ในสารประกอบที่สกัดได้จึงอาจให้ผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ไม่ดีเท่าสารสกัดที่ผ่านการแยกองค์ประกอบและทำให้บริสุทธิ์

ผลของสารสกัดจากตะไคร้ต้นนั้นมีความแตกต่างจากการศึกษาของ ชมกมล และคณะ (2541) ที่ทำการทดสอบน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำจากใบของตะไคร้ต้น พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtili*, *E. coli*, และ *Staph. aureus* ทั้งนี้อาจเนื่องจากวิธีการสกัดสารมีความแตกต่างกัน ซึ่งในการทดลองนี้ใช้ตัวทำละลายเฮกเซนในการสกัดสารเคมีในกลุ่มไม่มีขั้วหรือน้ำมันที่เป็นองค์ประกอบในพืชไม่ได้สกัดสารในรูปของน้ำมันหอมระเหย อีกทั้งตะไคร้ต้นที่มีองค์ประกอบของน้ำมันของระเหยเป็นสารสำคัญจึงทำให้มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อได้

สารสกัดจากกระชายดำไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ ซึ่งสอดคล้องกับ จิราภรณ์ (2542) ที่ศึกษาสารสกัดจากกระชายดำและสมุนไพรอื่นๆ จำนวน 22 ชนิด ที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น เอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เมทานอล อะซิโตน และเฮกเซน ในการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วง พบว่าสารสกัดจากกระชายดำไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus*, *S.* Typhi, *E. coli* และ *B. cereus*

ผลการทดสอบของสารสกัดจากบัวบก พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบนั้นสอดคล้องกับการทดลองของ ธวัชชัย และพงษ์จักร (2534) รายงานว่าสารสกัดจากน้ำต้มบัวบกไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus*, *S.* Typhi, *E. coli* รวมทั้งสารสกัดบัวบกด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *E. coli* (Voravuthikunchai และคณะ, 2004) เชื้อยีสต์และรา ได้แก่ *Sc. cerevisiae* และ *Penicillium marneffie* (แสงระวี, 2543) แต่อย่างไรก็ตามผลในการยับยั้งเชื้อรา *A. niger* ขัดแย้งกับการวิจัยของขจรศักดิ์ (2539) ที่ทำการทดลองผสมผงบัวบกในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *Fusarium* sp. และ *A. niger* และยังมีรายงานความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staph. aureus*, (เมธิน, 2542; วัชรี, 2543; ฉัฐพันธุ์ และ ตุลาภรณ์, 2543; เผด็จ และคณะ, 2545; สิริลักษณ์, 2548) *E. coli* (เผด็จ และคณะ, 2545) และ *S.* Anatum

(สิริลักษณ์, 2548) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างขององค์ประกอบ และปริมาณสารที่ได้จากพืชมีความแตกต่างของแหล่งเพาะปลูก พันธุ์และอายุของพืช (Gill และคณะ, 2002) ดังการทดลองของ อักษร และคณะ (2542) ในการตรวจหาปริมาณสาร asiaticoside ในบัวบกสายพันธุ์ต่างๆ และจากแหล่งเพาะปลูกต่างๆ จะมีปริมาณสาร asiaticoside แตกต่างต่างกัน หรืออาจเนื่องจากคุณสมบัติเฉพาะของตัวทำละลาย หรือวิธีการสกัดที่ใช้แตกต่างกันทำให้ไม่มีประสิทธิภาพในการละลายสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ในพืชออกมาได้ หรือออกมาในปริมาณน้อย ทำให้สารสกัดจากพืชนั้นๆไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งการเลือกใช้ตัวทำละลาย และวิธีการสกัดเป็นขั้นตอนสำคัญในการแยกสารสำคัญในพืช ต้องสามารถแยกเอาสารสำคัญออกมาได้หรือให้มีปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญสูง หรือเพื่อลดขนาด (dose) ในการใช้สมุนไพรในปริมาณที่เหมาะสม (รัตนา, 2547) ดังรายงานการศึกษาของ Vagi และคณะ (2005) สารสกัดของน้ำมันหอมระเหยจาก Marjoram (*Origanum majorana* L.) โดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ เอธานอล โดยใช้ซอกเลท และวิธี supercritical fluid extraction (SFE) เมื่อนำไปทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าสารที่สกัดด้วยวิธี SFE มีองค์ประกอบของปริมาณสารเคมีในน้ำมันหอมระเหยมากสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดเอธานอลโดยวิธี ซอกเลท

ดังนั้นจากผลการทดลอง 4.1.1-4.1.5 สามารถสรุปได้ว่าสารสกัดจากอบเชยด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายสายพันธุ์ และมีขนาดวงใสใหญ่กว่าพืชชนิดอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดจากอบเชยมีความเข้มข้น 12.83 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าสารสกัดจากต้นมะระขี้นก หมีเหม็น ปีนนกไส้ และลูกมะระขี้นก ที่มีปริมาณความเข้มข้น 5.89, 6.97, 5.91 และ 7.61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีความเข้มข้นสารสูงกว่า 2 เท่าของสารสกัดจากต้นมะระขี้นกที่มีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 5 สายพันธุ์เท่ากัน แต่สารสกัดจากอบเชยมีขนาดวงใสใหญ่ไม่ถึง 2 เท่าของสารสกัดมะระขี้นก คือ สารสกัดจากต้นมะระขี้นกมีขนาดวงใส 8.79 ±0.23 ถึง 10.77 ± 0.63 มิลลิเมตร และสารสกัดจากอบเชยมีขนาดวงใสอยู่ระหว่าง 9.34 ±0.24 ถึง 12.33±0.86 มิลลิเมตร นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดจากต้นมะระขี้นกมีค่าต่ำที่สุดในพืชที่ให้ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้

จากผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชทั้ง 64 ชนิด พบว่าสารสกัดด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ของต้นมะระขี้นกมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด จึงนำมาเปรียบเทียบหาอัตราส่วนที่เท่ากันของการสกัดสารจากตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทและเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus*, *L. innocua*, *B. subtilis*, *Lb. plantarum* และ *Lc. lactis* เนื่องจากผลการทดสอบข้อ 4.1.2 และ 4.1.3 พบว่าพืชบางชนิดที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตทให้ผลยับยั้งเชื้อมากว่า หรือใกล้เคียงสารสกัดจากพืชด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ แต่อัตราส่วนของตัวทำละลายในการสกัดแตกต่างกัน โดยมีอัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลายของการสกัดด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 1:4 และเอทิลอะซิเตทมีอัตราส่วนเท่ากับ 1:2 ดังนั้นจึงนำพืชที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตทซึ่งมีผล

ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในข้อ 4.1.3 ได้แก่ อบเชย ต้นมะระขี้นก และใบหมีเหม็น ทำการสกัดในอัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลายเท่า 1:4 ตามวิธีในข้อ 3.4.1.2 ซึ่งแสดงผลในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ผลเปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียระหว่างสารสกัดจากพืชด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ กับสารสกัดจากพืชด้วยเอทิลอะซิเตท

ตัวอย่าง	ตัวทำละลาย	ความเข้มข้น (%น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (มิลลิเมตร)				
			Staph. aureus	*L. innocua*	*B. subtilis*	*Lb. plantarum*	*Lc. lactis*
อบเชย	E	12.83	11.79±0.65	10.03±0.33	12.33±0.86	9.34 ±0.24	11.02±0.70
	A	0.99	7.19±0.53	7.60±0.43	9.82±0.47	7.19±0.43	7.31±0.18
มะระขี้นก	E	5.89	9.99 ± 0.52	9.33 ± 0.54	10.77±0.63	8.79 ±0.23	9.41 ± 0.24
	A	0.73	-	7.07±0.41	7.53±0.47	-	-
หมีเหม็น	E	6.97	8.78 ± 0.83	8.40 ± 0.26	9.73 ± 0.53	-	-
	A	1.11	6.53±0.33	6.89±0.39	7.23±0.83	-	-
แอลกอฮอล์ 80%	*	*	-	-	-	-	-
เอทิลอะซิเตท	*	*	-	-	-	-	-
Chloramphenicol	*	*	21.34±0.31	28.90±0.49	19.40±0.78	23.81±0.68	20.50±0.36

หมายเหตุ : (E) หมายถึง เอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ (A) หมายถึง เอทิลอะซิเตท
รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร
(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์
(*) ไม่ทำการทดสอบ

ซึ่งจากการทดลองเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทจาก 1:2 เป็น 1:4 เท่ากับอัตราส่วนในการสกัดพืชด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากอบเชย ต้นมะระขี้นก และหมีเหม็น ที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตทในอัตราส่วน1:4 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบลดลงจากการสกัดด้วยตัวทำละลายในอัตราส่วน 1:2 และเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียกับสารสกัดด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารสกัดด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ของพืชทั้ง 3 ชนิด มีความเข้มข้นของสารสกัด 5.89 – 12.83 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) และขนาดวงใสในการยับยั้งเชื้อทุกสายพันธุ์อยู่

ในช่วง 8.40 ± 0.26 ถึง 12.33±0.86 มิลลิเมตร ซึ่งกว้างกว่าของสารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทที่มีขนาดวงใสอยู่ในช่วง 6.53±0.33 ถึง 9.82 ± 0.47 มิลลิเมตร และมีความเข้มข้นของสารสกัด 0.73 – 1.11 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ตารางที่ 4.7) ทั้งนี้เป็นที่สังเกตได้ชัดเจนว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากพืชด้วยเอทิลอะซิเตทลดลงและต่ำกว่าสารสกัดเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทมีความสามารถในการละลายสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในพืชได้น้อยกว่าตัวทำละลายเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ โดยพิจารณาจากจากเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารสกัดพืชด้วยเอทิลอะซิเตทต่ำกว่าของเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงเลือกสารสกัดจากต้นมะระขี้นกด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ไปทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียที่ให้ยับยั้งที่ดีในขั้นตอนต่อไป

4.2 เปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดกับปริมาณความเข้มข้นของคลอแรมฟีนิคอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

การเปรียบเทียบขนาดของวงใสที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่างๆ ด้วยสารสกัดมะระขี้นกจากเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ กับขนาดวงใสที่เกิดจากสารปฏิชีวนะคลอแรมฟีนิคอลที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0.125, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เพื่อหาประสิทธิภาพของสารสกัดในรูปของความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะคลอแรมฟีนิคอล สามารถแสดงผลดังตารางที่ 4.8

เมื่อเปรียบเทียบขนาดวงใสซึ่งแสดงถึงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะคลอแรมฟีนิคอลที่ความเข้มข้นต่างๆที่ทำการทดสอบ (ตารางที่ 4.8) พบว่าเชื้อ *L. innocua*, *Lb. plantarum* และ *Lc. lactis* มีความไวต่อคลอแรมฟีนิคอลใกล้เคียงกันและมากกว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่ทำการทดสอบ รองลงมา คือ *Staph. aureus* และ *B. subtilis* ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ ระหว่างสารสกัดมะระขี้นกที่มีเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น 5.89 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) กับความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะคลอแรมฟีนิคอล พบว่าให้ผลการทดสอบดังนี้

ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ของสารสกัดจากต้นมะระขี้นกมีขนาดวงใสเท่ากับ 9.99 ± 0.52 มิลลิเมตร ซึ่งมีขนาดวงใสอยู่ระหว่างวงใสที่ได้จากการยับยั้งด้วยคลอแรมฟีนิคอลเข้มข้น 0.125 และ 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรที่มีขนาดวงใสเท่ากับ 7.58 ± 0.08 และ 11.37 ± 0.08 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8) ดังนั้นสารสกัดมะระขี้นกด้วยเอธานอลในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* จึงมีฤทธิ์เทียบเท่ายาปฏิชีวนะคลอแรมฟีนิคอลที่ความเข้มข้นมากกว่า 0.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

สารสกัดมะระขี้นกมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* เทียบเท่าคลอแรมฟีนิคอลที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยสารสกัดมะระขี้นกขนาดวงใส 10.77±0.63 มิลลิเมตร ซึ่งใกล้เคียงกับขนาดวงใสของคลอแรมฟีนิคอลที่มีขนาดเท่ากับ 10.70 ± 0.66 มิลลิเมตร ส่วนความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *L. innocua*, *Lb. plantarum* และ *Lc. lactis* ของสารสกัดมะระขี้นกพบว่าขนาดความกว้างวงใสเท่ากับ 9.33 ± 0.54, 8.79 ±0.23 และ 9.41 ± 0.24 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าคลอแรมฟีนิคอลที่ความเข้มข้น 0.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่มีขนาดวงใสในการยับยั้งเชื้อ *L. innocua*, *Lb. plantarum* และ *Lc. lactis* เท่ากับ 13.43 ± 0.12, 13.59 ± 0.10 และ 13.32 ± 0.18 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นความสามารถในการยับยั้งเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ ของสารสกัดมะระขี้นกน้อยกว่าคลอแรมฟีนิคอลที่ความเข้มข้น 0.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ตารางที่ 4.8 ผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบต่อปริมาณคลอแรมฟีนิคอลที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับการยับยั้งของสารสกัดจากต้นมะระขี้นก

แบคทีเรีย	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)					
	คลอแรมฟีนิคอล (มิลลิกรัม / มิลลิลิตร)					สารสกัดมะระขี้นก
	1.5	0.75	0.5	0.25	0.125	
Staph. aureus	20.56 ± 0.17	16.53 ± 0.27	15.36 ± 0.20	11.37 ± 0.08	7.58 ± 0.08	9.99 ± 0.52
L. innocua	25.49 ± 0.11	22.19 ± 0.18	20.04 ± 0.14	18.23 ± 0.20	13.43 ± 0.12	9.33 ± 0.54
B. subtilis	17.32 ± 0.27	14.87 ± 0.54	13.18 ± 0.44	10.70 ± 0.66	7.77 ± 0.41	10.77±0.63
Lb. plantarum	23.19 ± 0.17	20.44 ± 0.22	19.13 ± 0.23	16.69 ± 0.14	13.59 ± 0.10	8.79 ±0.23
Lc. lactis	23.58 ± 0.30	21.13 ± 0.13	18.26 ± 0.07	16.21 ± 0.10	13.32 ± 0.18	9.41 ± 0.24

4.3 ความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

4.3.1 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Agar disc diffusion

การทดสอบความไวของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น สารสกัดของต้นมะระขี้นกด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ มีผลการยับยั้งกับเชื้อแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ แต่เมื่อพิจารณาจากขนาดความกว้างและความชัดเจนของวงใส (ขนาดความกว้างมากกว่า 9 มิลลิเมตร) จึงเลือกเชื้อที่นำมาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในขั้นตอนนี้ ได้แก่ *B. subtilis, Staph. aureus, L. innocua* และ *Lc. lactis* สำหรับเชื้อ *Lb. plantarum* ที่มีขนาดของวงใส 8.79 ±0.23 มิลลิเมตร ซึ่งมีขนาดเล็กและเห็นความชัดเจนของวงใสน้อยกว่าเชื้อชนิดอื่น ทั้งนี้แสดงว่าสารสกัดมะระขี้นกมีความไวในการยับยั้งเชื้อ *Lb. plantarum* ได้น้อยจึงไม่เลือกนำมาทดสอบ ดังนั้นจากการหาความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเอธานอลของต้นมะระขี้นก ด้วยวิธี Agar disc diffusion ทำโดยการเจือจางสารสกัดในอัตราส่วน 1:2 (Two-fold dilution) ด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ให้มีความเข้มข้นของสารสกัด 5 ลำดับ ดังนี้ 5.89 (undiluted), 2.95 (1:2) , 1.47 (1:4), 0.74 (1:8), 0.37 (1:16) และ 0.18 (1:32) เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) จากนั้นทำการทดสอบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียบนอาหารแข็ง ผลการทดสอบสามารถแสดงดังตารางที่ 4.9

จากผลการทดลองเมื่อพิจารณาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากต้นมะระขี้นกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่าการลดความเข้มข้นของสารสกัดลงทุกๆ 2 เท่า จะทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสลดลงตามลำดับในเชื้อทดสอบทุกสายพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ภาพในภาคผนวก ค) และเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดมะระขี้นกเท่ากับ 0.74 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) จะไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ จากผลการทดสอบพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะระขี้นกในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. subtilis, Staph. aureus, L. innocua* มีค่าเท่ากับ 1.47 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยมีขนาดวงใสเท่ากับ 6.96±0.56, 7.02±0.05 และ 7.04±0.35 มิลลิเมตร ตามลำดับ สำหรับเชื้อ *Lc. lactis* พบว่าขนาดของวงใสได้ที่ระดับความเข้มข้น 5.89 และ 2.95 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) เท่านั้นที่เห็นชัดเจน ส่วนที่ความเข้มข้น 1.47 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีลักษณะของวงใสรอบ paper disc ไม่ชัดเจน เมื่อสังเกตยังพบว่ามีเชื้อบางส่วนเจริญขึ้นบางๆรอบ paper disc ดังนั้นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lc. lactis* เท่ากับ 2.95 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ตารางที่ 4.9) ซึ่งเมื่อพิจารณาจากค่าเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะระขี้นกในการยับยั้งเชื้อด้วยวิธี Agar disc diffusion

พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis, Staph. aureus* และ *L. innocua* ใกล้เคียงกัน และประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Lc. lactis* น้อยที่สุด

ตารางที่4.9 แสดงค่า MIC ของสารสกัดจากต้นมะระขี้นก ด้วยวิธี Agar disc diffusion

ความเข้มข้น (%น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (มิลลิเมตร)			
	Staph. aureus	*L. innocua*	*B. subtilis*	*Lc. lactis*
5.89	10.27±0.40[a]	10.03±0.42[a]	10.45±0.24[a]	9.91±0.32[a]
2.95	8.53±0.22[b]	8.51±0.32[b]	8.54±0.24[b]	6.91±0.33[b]
1.47	7.02±0.05[c]	7.04±0.35[c]	6.96±0.56[c]	-
0.74	-	-	-	-
0.37	-	-	-	-
0.18	-	-	-	-
แอลกอฮอล์ 80%	-	-	-	-
Chloramphenicol	21.08±0.57	25.76±0.46	18.54±0.40	20.79±0.32

หมายเหตุ : รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร

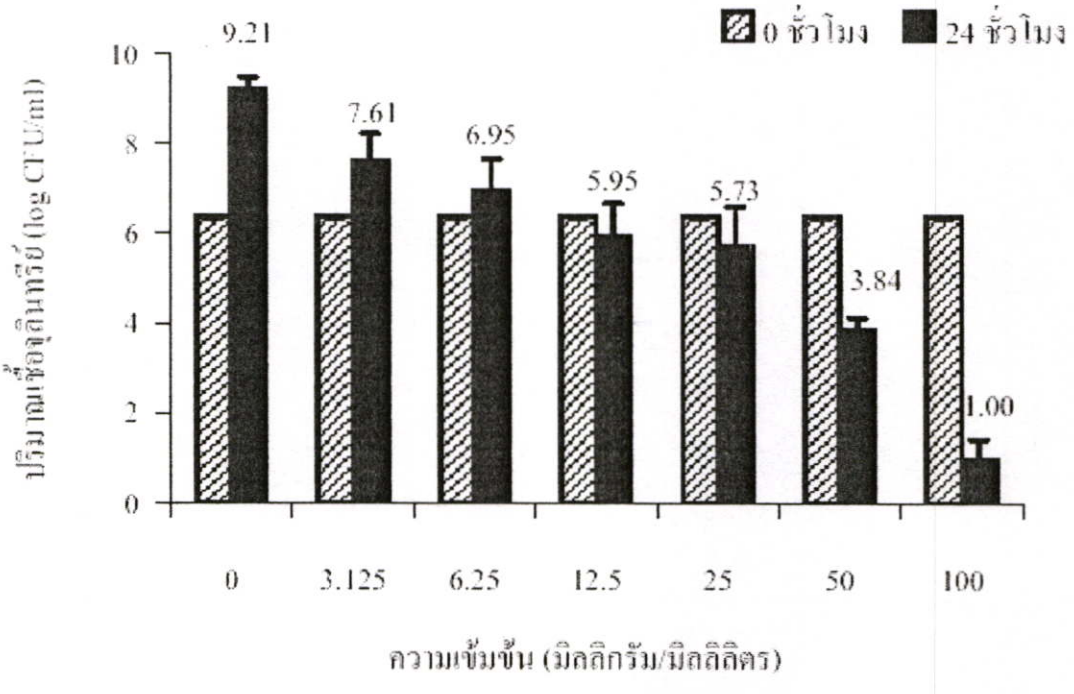
(-) ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.3.2 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Broth dilution method

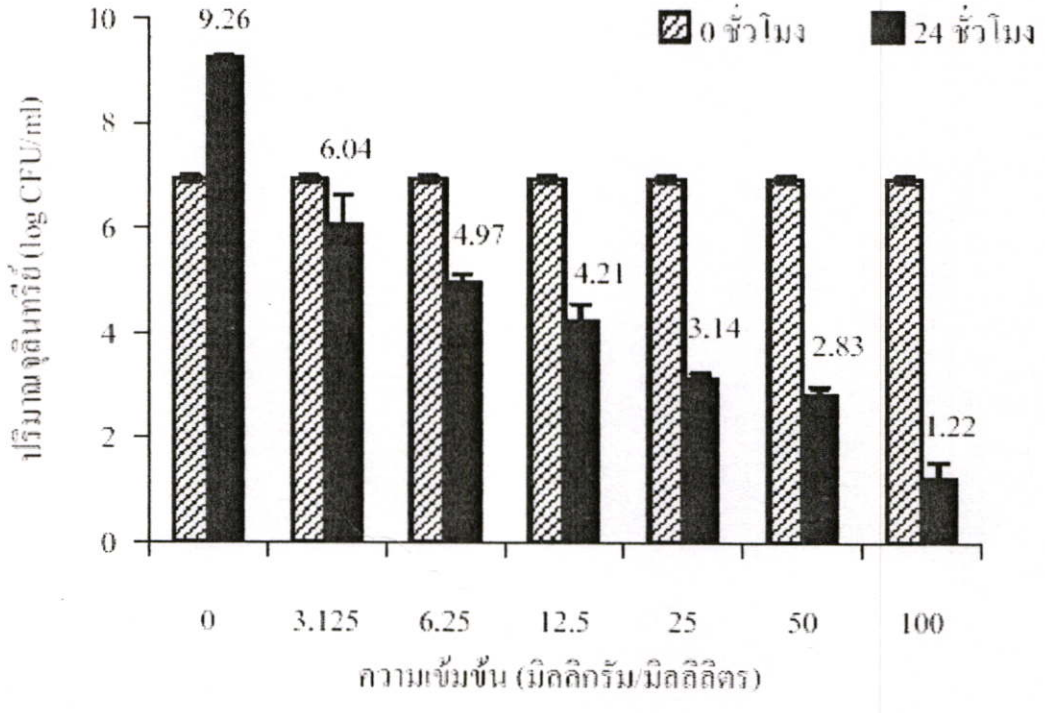
การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะระขี้นก ทำโดยการเจือจางผงสกัดต้นมะระขี้นกด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อให้มีความเข้มข้น 200 มิลลิลิกรัม/มิลลิลิตร และเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวในอัตราส่วน 1:2 จนได้ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis, Staph. aureus, L. innocua* และ *Lc. lactis* ที่ทำการทดสอบ ตรวจผลการออกฤทธิ์หลังการบ่ม 24 ชั่วโมง ด้วยการนับจำนวนเชื้อบนผิวหน้าอาหารแข็ง เนื่องจากสารสกัดมะระขี้นกหลังการเจือจางมีสีเขียวเข้มและภายหลังการบ่มจะตกตะกอนสีเข้มที่ก้นหลอด ซึ่งไม่สามารถตรวจผลการเจริญของเชื้อด้วยสายตา หรือวัดความขุ่นการเจริญของเชื้อได้ ดังนั้นค่า MIC ของสารสกัดมะระขี้นก คือ ค่าความเข้มข้นใดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อบนผิวหน้าอาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อเริ่มต้น ณ เวลาที่ 0 ชั่วโมง (control) และเป็นค่าที่ต่ำสุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นอื่นๆ ดังภาพที่ 4.1 - 4.4

ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ณ เวลา 0 ชั่วโมงของ *Staph. aureus* มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.36±0.03 log CFU และหลังการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 9.21±0.27 log CFU ดังนั้นการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดมะระขี้นกจาก 3.125 เป็น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีผลในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับหลอดควบคุม (ภาพที่ 4.1) จากกราฟแสดงให้เห็นว่าการใช้สารสกัดมะระขี้นกเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จะลดจำนวนจุลินทรีย์ลง 2.52 และ 5.36 log CFU ของจุลินทรีย์เริ่มต้นตามลำดับ และมีจุลินทรีย์เหลือรอด 3.84±0.28 และ 1.00±0.43 log CFU ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 2 ความเข้มข้นมีปริมาณจุลินทรีย์เหลือรอดน้อยกว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้น ที่เวลา 0 ชั่วโมง ดังนั้นค่าเข้มข้นต่ำสุดสามารถยับยั้งการเจริญจึงอยู่ในระดับความเข้มข้น 25-50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนจำนวนเชื้อภายหลังการบ่ม 24 ชั่วโมง ของสารสกัดที่ความเข้มข้น 12.5 และ 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างกับจำนวนเชื้อเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และที่ความเข้มข้น 3.125 และ 6.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถชะลอการเจริญของ *Staph. aureus* เมื่อเปรียบเทียบกับหลอดควบคุม



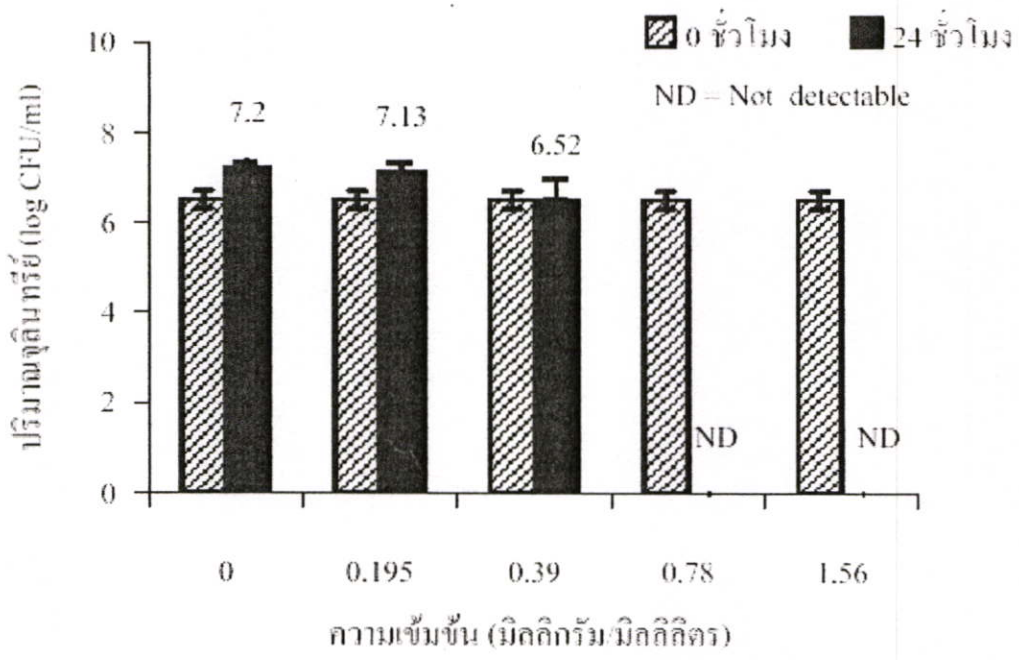
ภาพที่ 4.1 ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 3.125-100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้น 6.36±0.03 log CFU

เชื้อ *L. innocua* เริ่มต้น ณ เวลา 0 ชั่วโมงเฉลี่ยเท่ากับ 6.94±0.06 log CFU และภายหลังการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 9.26±0.03 log CFU โดยเมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดมะระขี้นกเป็น 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับหลอดควบคุม (ภาพที่ 4.2) และเห็นได้ว่าสารสกัดมะระขี้นกความเข้มข้นต่ำสุด 3.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีปริมาณจุลินทรีย์เหลือรอด 6.04±0.60 log CFU ซึ่งน้อยกว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้น ที่เวลา 0 ชั่วโมง โดยสามารถลดจำนวนเชื้อลงได้ 0.90 log CFU ดังนั้นความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะระขี้นกที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. innocua* ได้ จึงมีค่าน้อยกว่า 3.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



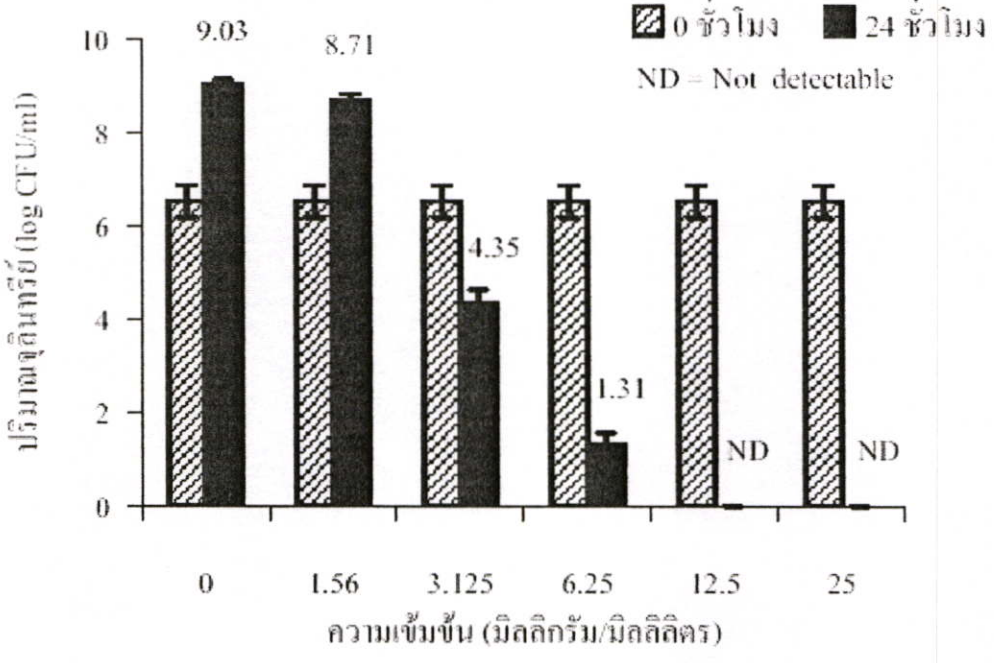
ภาพที่ 4.2 ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 3.125-100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อปริมาณเชื้อ *L. innocua* เริ่มต้น 6.94±0.06 log CFU

ปริมาณเชื้อ *B. subtilis* เริ่มต้น ณ เวลา 0 ชั่วโมงมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.51±0.20 log CFU และมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 7.21 log CFU ภายหลังจากการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทั้งนี้การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดมะระขี้นกจาก 0.39 เป็น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับหลอดควบคุม (ภาพที่ 4.3) จากกราฟการใช้สารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 0.78, 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่พบการเหลือรอดของเชื้อจุลินทรีย์ ส่วนปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดมะระขี้นก 0.39 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังการบ่ม 24 ชั่วโมง มีปริมาณจุลินทรีย์เหลือรอดเท่ากับ 6.52±0.49 log CFU ซึ่งไม่แตกต่างกับปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ 0 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตจึงอยู่ในระดับความ เข้มข้น 0.39-0.78 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



ภาพที่ 4.3 ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 0.195-1.56 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อปริมาณเชื้อ *B. subtilis* เริ่มต้น 6.51±0.20 log CFU

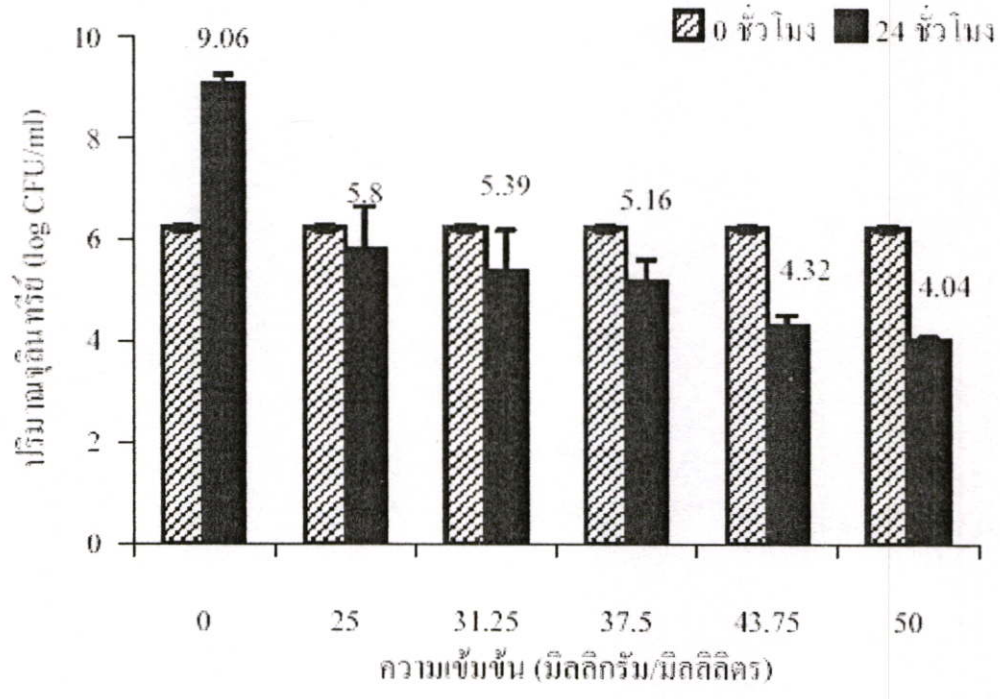
ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ณ เวลา 0 ชั่วโมงของ *Lc. lactis* มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.53±0.35 log CFU และภายหลังการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 9.03±0.12 log CFU ซึ่งการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดมะระขี้นกจาก 3.125 เป็น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีผลในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับหลอดควบคุม (ภาพที่ 4.4) นอกจากนี้จากกราฟเมื่อใช้สารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ลง 2.18 log CFU ของจุลินทรีย์เริ่มต้น และมีจำนวนจุลินทรีย์เหลือรอด 4.35±0.29 log CFU ซึ่งมีปริมาณจุลินทรีย์เหลือรอดน้อยกว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 ชั่วโมง โดยที่จำนวนเชื้อภายหลังการบ่ม 24 ชั่วโมง ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 1.56 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีจำนวนเชื้อเหลือรอดสูงกว่าจำนวนเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 ชั่วโมง และไม่มีความแตกกับหลอดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นช่วงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะระขี้นกในการยับยั้งเชื้อ *Lc. lactis* จึงมีค่า 1.56 –3.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



ภาพที่ 4.4 ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 0.195-1.56 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อปริมาณเชื้อ *Lc. lactis* เริ่มต้น 6.53±0.35 log CFU

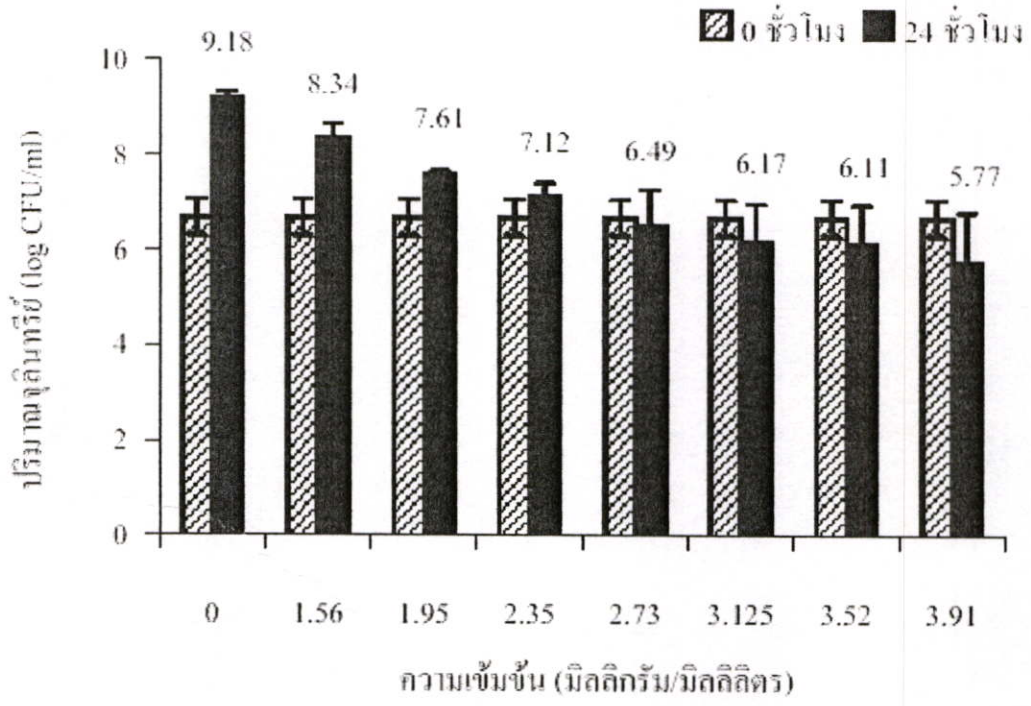
จากการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเบื่องต้นทำให้ทราบถึงช่วงความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ที่ทำการทดสอบ และเพื่อให้ได้ค่าที่ใกล้เคียงยิ่งขึ้น จึงเจือจางสารสกัดจากมะระขี้นกในช่วงความเข้มข้นดังกล่าวแล้วทำการทดสอบหาค่าต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ภายหลังการบ่ม 24 ชั่วโมง ซึ่งผลการทดสอบแสดงดังภาพที่ 4.5 ถึง 4.8

ปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้น ณ เวลา 0 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 6.22±0.06 log CFU และภายหลังการบ่ม 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.5) พบว่าหลอดควบคุมมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 9.06 log CFU การใช้สารสกัดมะระขี้นกเข้มข้น 25, 31.25 และ 37.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีปริมาณจุลินทรีย์ภายหลังการบ่มเท่ากับ 5.80±0.84, 5.39±0.79 และ 5.16±0.44 log CFU ตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างกับปริมาณจุลินทรีย์เชื้อเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะระขี้นกที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staph. aureus* หรือ MIC จึงมีค่าเท่ากับ 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



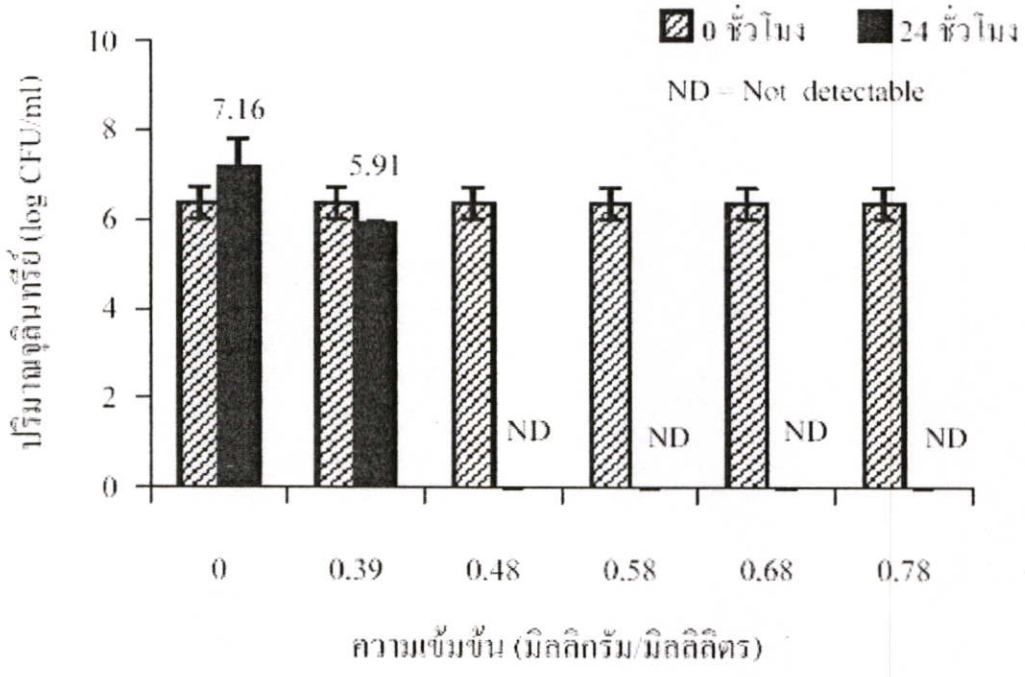
ภาพที่ 4.5 ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 25- 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้น 6.22±0.06 log CFU

ปริมาณเชื้อ *L.innocua* เริ่มต้น ณ เวลา 0 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.67±0.39 log CFU และมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 9.18±0.14 log CFU ภายหลังจากการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.6) ทั้งนี้พบว่าการใช้สารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 2.73, 3.125 และ 3.52 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังการบ่มมีปริมาณจุลินทรีย์เหลือรอดเท่ากับ 6.49±0.78, 6.17±0.80 และ 6.11±0.84 log CFU ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกับปริมาณจุลินทรีย์เชื้อเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งยังมีปริมาณมีเชื้อจุลินทรีย์ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้สารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 2.35 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และมีปริมาณเชื้อเหลือรอดเท่ากับ 7.12±0.29 log CFU ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นที่มีเชื้อเหลือรอดสูงกว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้น 0.46 log CFU ดังนั้นความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะระขี้นกที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *L.innocua* หรือ MIC จึงมีค่าเท่ากับ 3.52 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นค่าที่สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้มากกว่า 3.125 และ 2.73 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



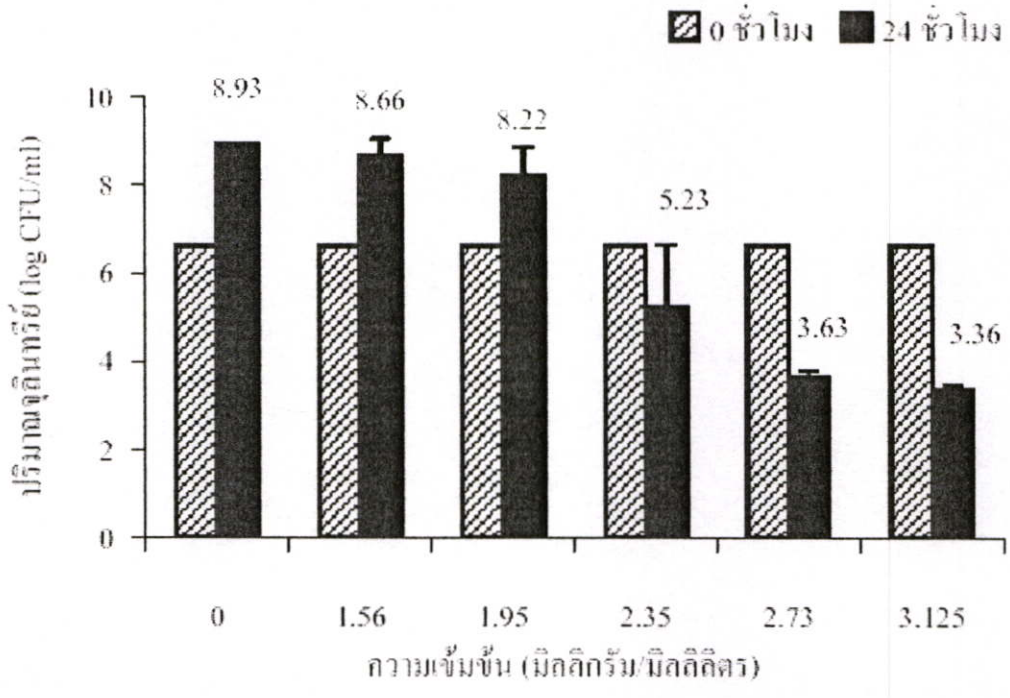
ภาพที่ 4.6 ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 1.56-3.91 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อปริมาณเชื้อ *L. innocua* เริ่มต้น 6.67±0.39 log CFU

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น ณ เวลา 0 ชั่วโมงของ *B. subtilis* มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.36±0.35 log CFU ภายหลังจากการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 7.16 ±0.09 log CFU (ภาพที่ 4.7) ซึ่งเมื่อใช้สารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 0.48, 0.58, 0.68 และ 0.78 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังการบ่ม พบว่าไม่มีปริมาณจุลินทรีย์เหลือรอด ส่วนการใช้สารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 0.39 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ได้ 0.45 log CFU ของจุลินทรีย์เริ่มต้น และมีปริมาณเชื้อเหลือรอดเท่ากับ 5.91±0.02 log CFU ซึ่งไม่มีความแตกต่างกับปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะระขี้นกที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. subtilis* หรือ MIC จึงมีค่าเท่ากับ 0.39 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



ภาพที่ 4.7 ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 0.39 -0.78 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อปริมาณเชื้อ *B. subtilis* เริ่มต้น 6.36±0.35 log CFU

ในขณะที่เชื้อ *Lc. lactis* เมื่อพิจารณาจากภาพที่ 4.8 มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น ณ เวลา 0 ชั่วโมงเท่ากับ 6.62±0.01 log CFU ภายหลังจากการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 8.93±0.01 log CFU และพบว่าการใช้สารสกัดมะระขี้นกเข้มข้น 2.35 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีผลในการลดปริมาณจุลินทรีย์ได้ 1.39 log CFU ของจุลินทรีย์เริ่มต้น โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ภายหลังการบ่มเท่ากับ 5.23±1.41 log CFU และมีความแตกต่างกับปริมาณจุลินทรีย์เชื้อเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ สำหรับความเข้มข้นของสารสกัดมะระขี้นกที่ 1.95 และ 1.56 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ภายหลังการบ่มมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นมากกว่าจำนวนเชื้อเริ่มต้น ณ เวลา 0 ชั่วโมง ดังนั้นความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะระขี้นกที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lc. lactis* หรือ MIC จึงมีค่าเท่ากับ 2.35 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

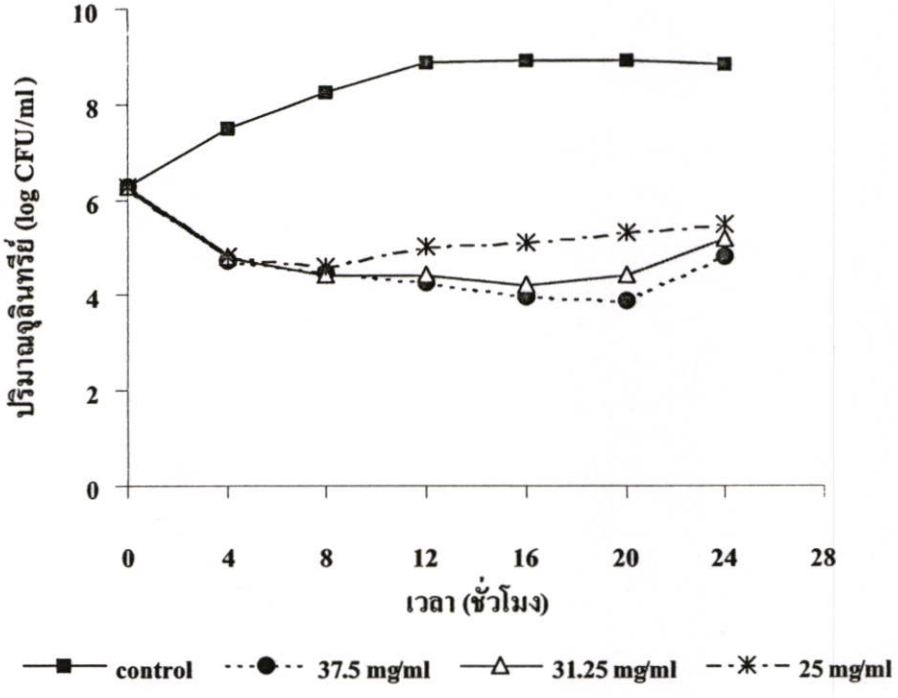


ภาพที่ 4.8 ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 1.56-3.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อปริมาณเชื้อ *Lc. lactis* เริ่มต้น 6.62±0.01 log CFU

จากการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. subtilis*, *Staph. aureus*, *L. innocua* และ *Lc. lactis* จะเห็นได้ว่าสารสกัดมะระขี้นกมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. subtilis* ได้ดีที่สุด เนื่องจากความเข้มข้นต่ำสุดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (bacteriocidal) มีค่าต่ำกว่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staph. aureus*, *L. innocua* และ *Lc. lactis*

4.4 การศึกษาสมบัติและวิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดพืชพื้นบ้านในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

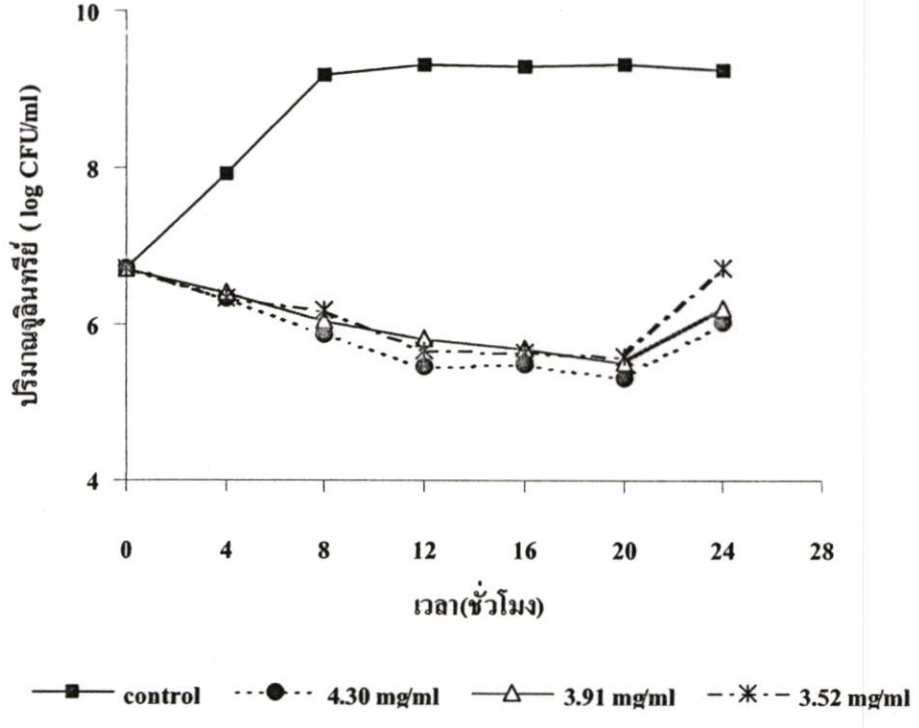
จากการศึกษาข้อ 4.3.2 ทำให้ทราบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะระขี้นกที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis*, *Staph. aureus*, *L. innocua* และ *Lc. lactis* จึงตรวจสอบสมบัติการออกฤทธิ์ของสารสกัดว่าเป็นแบบชนิดยับยั้ง (bacteriostatic) หรือฆ่าทำลาย (bactericidal) และประเมินค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าทำลายเชื้อจุลิทรีย์ (MBC) พิจารณาจากวิถีของเส้นกราฟปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลือรอด (log CFU/ml) กับระยะเวลา (ชั่วโมง) ซึ่งแสดงดังภาพที่ 4.9 - 4.12



ภาพที่ 4.9 การออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกต่ออัตราการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* ในเวลา 24 ชั่วโมง

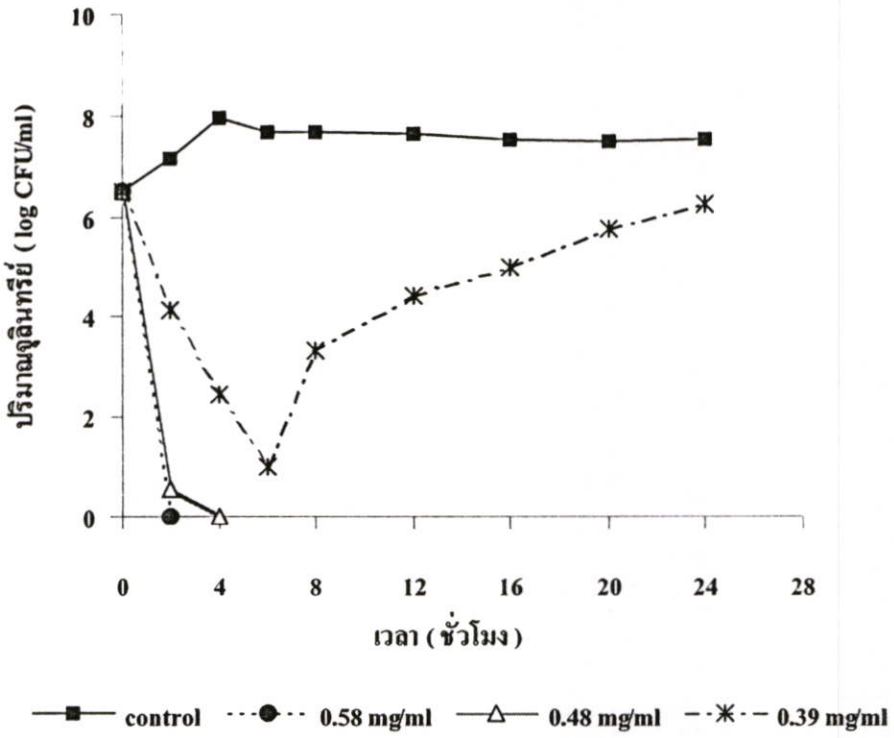
ความเข้มข้นของสารสกัดมะระขี้นกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* ที่ความเข้มข้น 25, 37.5 และ 31.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 6.29±0.04 log CFU (ภาพที่ 4.9) พบว่า ที่ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เท่ากับ 1.71 log CFU ภายใน 8 ชั่วโมง และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างช้าๆ เมื่อบ่มครบ 24 ชั่วโมง ในขณะที่ความเข้มข้น 31.25 และ 37.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดจำนวนเชื้อได้ 2.05 log CFU และ 2.41 log CFU ภายใน 16 และ 20 ชั่วโมง ตามลำดับ และมีปริมาณเชื้อเพิ่มสูงขึ้นเมื่อบ่มครบ 24 ชั่วโมงเช่นกัน ดังนั้นสารสกัดมะระขี้นกจึงมีการออกฤทธิ์แบบยับยั้งการเจริญของเชื้อ

Staph. aureus เนื่องจากกราฟของเชื้อจุลินทรีย์มีลักษณะลงอย่างไม่คงที่ โดยมีการเพิ่มขึ้นของเชื้อภายใน 24 ชั่วโมงของระยะเวลาการบ่ม ซึ่งสารสกัดที่แสดงฤทธิ์แบบฆ่าทำลายเชื้อสามารถลดจำนวนเชื้อลงได้ 99.9 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีการเพิ่มขึ้นตลอดเวลาการบ่ม 24 ชั่วโมง (Pfaller และคณะ, 2004)



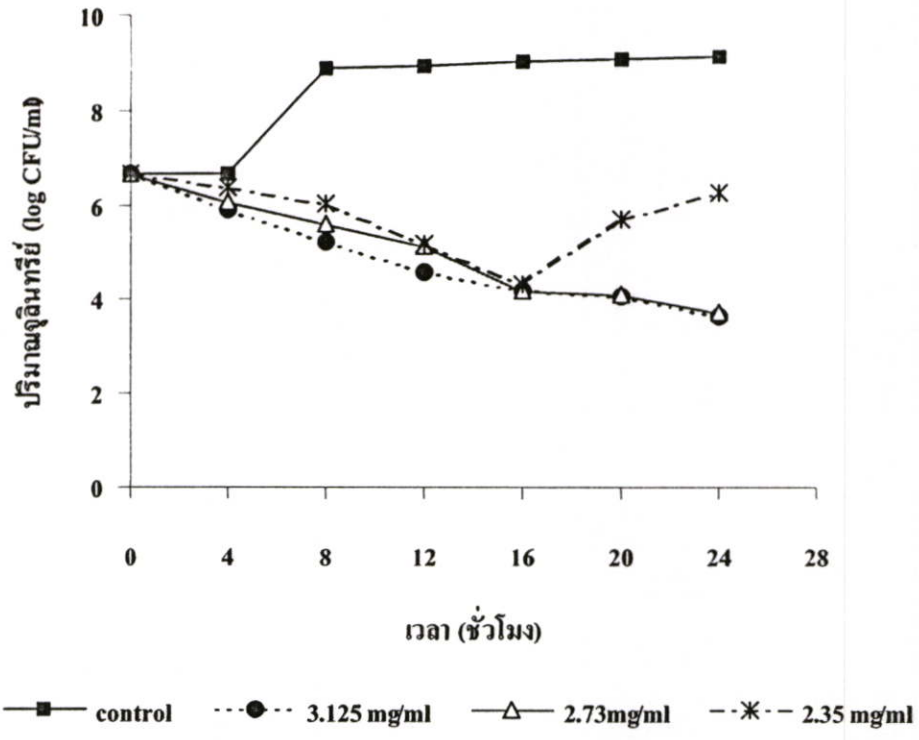
ภาพที่ 4.10 การออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกต่ออัตราการเจริญของเชื้อ *L.innocua* ในเวลา 24 ชั่วโมง

สารสกัดมะระขี้นกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. innocua* ที่ความเข้มข้น 3.52, 3.91 และ 4.30 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 6.73±0.13 log CFU (ภาพที่ 4.10) พบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *L. innocua* เท่ากับ 3.52 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และที่ความเข้มข้นสูงขึ้นอีก 2 ระดับ คือ 3.91 และ 4.30 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดจำนวนเชื้ออย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการบ่ม 20 ชั่วโมง เท่ากับ 1.13, 1.22 และ1.43 log CFU ตามลำดับ หลังจากนั้นพบการเจริญของเชื้ออย่างรวดเร็วจนมีปริมาณใกล้เคียงกับจำนวนเชื้อเริ่มต้น ดังนั้นสารสกัดมะระขี้นกจึงมีสมบัติการออกฤทธิ์แบบยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. innocua* เนื่องจากมีการเพิ่มขึ้นของเชื้อภายในระยะเวลาการบ่ม 24 ชั่วโมง และมีจำนวนเชื้อเหลือรอดมากกว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์จากเชื้อเริ่มต้น โดยสารสกัดที่แสดงฤทธิ์แบบฆ่าทำลายเชื้อจะสามารถลดจำนวนเชื้อลงได้ 99.9 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีการเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการบ่ม 24 ชั่วโมง (Pfaller และคณะ, 2004)



ภาพที่ 4.11 การออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกต่ออัตราการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ในเวลา 24 ชั่วโมง

สารสกัดมะระขี้นกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้น 0.39, 0.48 และ 0.58 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีจำนวนเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 6.50±0.06 log CFU พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อเท่ากับ 0.39 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดจำนวนเชื้อได้อย่างรวดเร็วภายในเวลา 6 ชั่วโมง ได้ 5.5 log CFU (ภาพที่ 4.11) แต่ทั้งนี้พบการเพิ่มขึ้นของเชื้อในชั่วโมงที่ 8 และมีแนวโน้ม เพิ่มสูงขึ้นเมื่อบ่มครบ 24 ชั่วโมง ในขณะที่การใช้สารสกัดมะระขี้นกที่ความเข้มข้น 0.48 และ 0.58 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดจำนวนเชื้อ *B. subtilis* ได้อย่างรวดเร็วภายในเวลา 2 ชั่วโมง และไม่สามารถตรวจนับจำนวนได้เมื่อเวลา 4 ชั่วโมง แสดงว่าสารสกัดมะระขี้นกมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *B. subtilis* และมีความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) เท่ากับ 0.39 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร ส่วนความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อของสารสกัดจากมะระขี้นก (MBC) เท่ากับ 0.48 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



ภาพที่ 4.12 การออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกต่ออัตราการเจริญของเชื้อ *Lc. lactis* ในเวลา 24 ชั่วโมง

ในการหาความเข้มข้นของเชื้อต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของ *Lc. lactis* ของสารสกัดจากมะระขี้นกที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.39, 0.58 และ 0.48 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยจำนวนเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 6.68±0.04 log CFU (ภาพที่ 4.12) พบว่า ความเข้มต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ คือ 2.35 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทำให้จำนวนเชื้อลดลง 2.73 log CFU ภายใน 16 ชั่วโมง ในขณะที่ความเข้มข้นของสารสกัดมะระขี้นก 2.73 และ 3.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดจำนวนเชื้อลง 2.96 และ 3.04 log CFU ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และยังมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อเพิ่มระยะเวลาการบ่มเป็น 24 ชั่วโมง ดังนั้นวิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกต่อการยับยั้งเชื้อ *Lc. lactis* จึงเป็นแบบชนิดทำลายเชื้อ โดยความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อของสารสกัดจากมะระขี้นกเท่ากับ 2.73 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เนื่องจากมีจำนวนเชื้อเหลือรอดน้อยกว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์จากเชื้อเริ่มต้น โดยสารสกัดที่แสดงฤทธิ์แบบที่ฆ่าทำลายเชื้อสามารถลดจำนวนเชื้อลงได้ 99.9 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีการเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการบ่ม 24 ชั่วโมง (Pfaller และคณะ, 2004)

จากการทดลองหาคุณสมบัติการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะระขี้นกต่อเชื้อ *B. subtilis*, *Staph. aureus*, *L. innocua* และ *Lc. lactis* จะเห็นได้ว่าสารสกัดมะระขี้นกมีสมบัติการออกฤทธิ์ของสารเป็นแบบฆ่าทำลายต่อเชื้อ *B. subtilis* ได้ดีกว่า *Lc. lactis* โดยพิจารณาจากค่าต่ำสุดที่สามารถฆ่าทำลายเชื้อ (MBC) เท่ากับ 0.48 และ 2.73 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และมีสมบัติการออกฤทธิ์ของสารเป็นแบบยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* และ *L. innocua*

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาชนิดของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านจำนวน 15 ชนิดในตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น เอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 9 ชนิด ยีสต์จำนวน 2 ชนิด และราจำนวน 2 ชนิด พบว่าสารสกัดพืชจากเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลการแสดงฤทธิ์ได้ดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แต่ไม่มีผลยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ รองลงมา คือ สารสกัดจากเอทิลอะซิเตท และสารสกัดด้วยเฮกเซนตามลำดับ ส่วนสารสกัดด้วยน้ำไม่มีผลในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทุกสายพันธุ์ นอกจากนี้ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อยีสต์และรา *Pi. anomala, Sc. cerevisiae, A. niger* และ *P. pinophilum* พบว่าสารสกัดอบเชยด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เอทิลอะซิเตท และเฮกเซนสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. niger* และ *P. pinophilum* ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ *Pi. anomala* และ *Sc. cerevisiae* ตามลำดับ และสารสกัดเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ จากปืนนกไส้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Sc. cerevisiae* ได้ พืชพื้นบ้านที่สกัดด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก คือ ต้นมะระขี้นก หมีเหม็น ปืนนกไส้ ลูกมะระขี้นก และอบเชย โดยต้นมะระขี้นกสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด โดยยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis, Staph. aureus, L. innocua, Lb. plantarum, Lc. lactis* หมีเหม็นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis, Staph. aureus* และ *L. innocua* ปืนนกไส้มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *B. subtilis, Staph. aureus, L. innocua* และสารสกัดจากลูกมะระขี้นกสามารยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ *L. innocua* สำหรับสารสกัดจากผักชีลาว ราชาวดีป่า เสนียด ส้มกุ่ย ส้มจี้ ตะไคร้ต้น หมีห้าง ผักปลาบขอบใบเรียว บัวบก และกระชายดำ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทุกสายพันธุ์

การเปรียบเทียบความสามารถของสารสกัดมะระขี้นกด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ กับปริมาณคลอแรมฟินิคลอลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดมะระขี้นกที่มีเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น 5.89 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) สามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* และ *Staph. aureus* เทียบเท่ากับคลอแรมฟินิคอลความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และดีกว่าคลอแรมฟินิคอลที่ความเข้มข้น 0.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ สำหรับเชื้อ *L. innocua, Lb. plantarum* และ *Lc. lactis* ยับยั้งได้น้อยกว่าคลอแรมฟินิคอลที่ความเข้มข้น 0.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากต้นมะระขี้นกด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. subtilis, Staph. aureus, L. innocua* และ *Lc. lactis* ด้วยวิธี Agar disc diffusion มีค่าเท่ากับ 1.47, 1.47, 1.47 และ 2.95 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ตามลำดับ และที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 0.74 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นต้นไปไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทดสอบทั้ง 4 สายพันธุ์ได้

การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของผงสกัดต้นมะระขี้นกที่ละลายด้วยน้ำกลั่นในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อด้วยวิธี Broth dilution พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus, B. subtilis, L. innocua* และ *Lc. lactis* มีค่าเท่ากับ 25, 0.39, 3.52 และ 2.35 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีวิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดแบบทำลายเชื้อ *B. subtilis* และ *Lc. lactis* โดยค่าความเข้มข้นต่ำสุดการฆ่าทำลายเท่ากับ 0.48 และ 2.73 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และให้ผลออกฤทธิ์แบบยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อ *Staph. aureus* และ *L. innocua*

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การนำพืชมาใช้ทดสอบควรตรวจสอบชื่อ ชนิด หรือพันธุ์พืชให้ถูกต้องชัดเจน เนื่องจากพืชมีชื่อพ้องกันมาก และบางชนิดยังมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์คล้ายคลึงกัน ทำให้เกิดการสับสนในการวิเคราะห์ รวมทั้งการนำพืชมาใช้ทดสอบควรให้ถูกส่วน เพราะแต่ละส่วนของพืชจะมีสารสำคัญอยู่ในปริมาณที่ไม่เท่ากันหรือมีอยู่เพียงบางส่วนของต้นพืชเท่านั้น เช่น จากรายงานของสำนักวิชาการป่าไม้ (2531) ในการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ต้นควรใช้ส่วนผล เนื่องจากมีน้ำมันหอมระเหยองค์เป็นประกอบ ซึ่งจะทำให้การออกฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชในการทดสอบอาจมีความแปรปรวนของข้อมูลได้ง่าย

5.2.2 การเลือกอาหารเลี้ยงที่ใช้ในการทดลองควรเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ และไม่ทำปฏิกิริยากับสารทดสอบและไม่เกิดการตกตะกอนกับสารทดสอบ เพื่อให้สามารถตรวจสอบวงใสในการยับยั้งเชื้อได้ชัดเจน หรืออาจนำสารสกัดที่ทดสอบและไม่สามารถสังเกตวงใสได้ชัดเจน มาตรวจสอบยืนยันผลการทดลองซ้ำด้วยวิธี Broth dilution และตรวจนับจำนวนเชื้อที่สารสกัดสามารถยับยั้งได้บนผิวหน้าอาหารแข็ง

5.2.3 การนำสารสกัดที่มีการระเหยตัวทำละลายออกเหลือเพียงส่วนของสารสกัดหยาบมาใช้ในการทดสอบ เมื่อนำสารสกัดดังกล่าวละลายกลับด้วยน้ำกลั่นที่ความเข้มข้นสูง เช่น 20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) อาจละลายได้ยาก และมีสารสกัดบางส่วนที่ไม่สามารถละลายน้ำได้หมด

ดังนั้นอาจนำสารสกัดทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Lyophilization) จะช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายได้ดีขึ้น

5.2.4 ควรมีการทดสอบด้านความเป็นพิษของสารสกัด หรือปริมาณการใช้ที่เหมาะสม เพื่อให้เกิดความปลอดภัยในการนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป

5.2.5 สารสกัดจากหมีเหม็น และปีนนกไส้ สามารถนำไปศึกษาการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก เช่น แหนม เนื่องจากสารสกัดดังกล่าวมีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดได้ แต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในอาหารหมักบางชนิด เช่น *Lb. plantarum* และ *Lc. lactis* เป็นต้น

บรรณานุกรม

กรมปศุสัตว์. 2549. **พืชอาหารสัตว์พื้นเมืองในประเทศไทย.** [Online]. Available: http// www. dld.go.th (Accessed 11 September 2006).

ขจรศักดิ์ ตระกูลพัว. 2539. " ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรแปดชนิดต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุ ของโรคพืชและโรคผิวหนัง." วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 217 หน้า.

ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2537. " **สะเดาและการใช้สารสกัดสะเดาป้องกันและกำจัดแมลง.** " เอกสารเผยแพร่สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 25 หน้า.

จิราภรณ์ เกินศักดิ์ไผ่. 2542. "ผลยับยั้งของพืชสมุนไพรบางชนิดที่ใช้โดยชาวเขาต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคท้องร่วง." วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 82 หน้า.

ชวลิต สิทธิสมบัติ. 2539. **Aromatic Compounds.** กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยศิลปากร. หน้า 12-21.

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

ชมกมล อุบลนุช นงลักษณ์ ศรีอุบลมาศ วันชัย ดีเอกนามกูล และ นิจศิริ เรืองรังศรี. 2541. "องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันระเหยจากใบตะไคร้ต้นและผลหมีเหม็น." หน้า 668-669. ใน **การประชุมทางวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 24.** คณะเภสัชศาสตร์. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ชมกมล อุบลนุช นงลักษณ์ ศรีอุบลมาศ วันชัย ดีเอกนามกูล และ นิจศิริ เรืองรังศรี. 2543. "องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันระเหยจากพืช *Litsea* spp." คณะเภสัชศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 1 หน้า.

ดาราวรรณ ทองบุตร สุชาดา ไชยสวัสดิ์ เปมิกา ผิวเหลือง มานิตา อาชศิวะนนท์ อาภา พฤกษาชาติกุล ณัฐพร ไชยสวัสดิ์ บุญยอด จุฬามณี และอรุณี นาคทัต. 2549. "การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพเบื้องต้นของผักพื้นบ้านรสขมของไทย." 3 หน้า. ใน **การประชุมทางวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 32.** กรุงเทพฯ. [Online]. Available: http//www. scisoc.or .th/stt/32 /sec_ g/ paper/stt32_G_G0032.pdf (Accessed 07 February 2007).

เต็ม สมิตินันทน์. 2544. **ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ :บริษัทประชาชน จำกัด. หน้า 303.

ณัฐพันธุ์ ตันตินฤพงษ์ และ ตุลาภรณ์ ม่วงแดง. 2543. "การพัฒนาสบู่เหลวจากสมุนไพรในการต้านเชื้อ *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus*." ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล. 51 หน้า.

ณาตยา ธนะศิริวัฒนา สุนิดา ณ ตะกั่วทุ่ง และ ธนนันต์ ฐานะจาโร. 2540. "องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ด้านจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยกระชายดำ เปราะหอม และเฒ่าหนังแห้ง." คณะเภสัชศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ฐิติพร รัตนโชติวงศ์กุล และ วิจิตร ชินบูรพา. 2525. "การศึกษาสารประกอบทางเคมีในอบเชยลังกา." ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล. 30 หน้า.

ทรงพล ชีวะพัฒน์ ณุฉัตรา จันทร์สุวาณิชย์ และปราณี ชวลิตธำรง. 2547. "การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรังของผงกระชายดำ." **วารสารกรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก.** [Online]. Available: http// **ittm.dtam.moph.go.th/ product_champion /herb1.htm.** (Accessed 11 September 2006).

ทศพร แจ้จรัส. 2531. **ผักฉุดูร้อน.** กรุงเทพฯ : เคยูบุ๊คเซ็นเตอร์. 206 หน้า.

ธวัช ลวะเปารยะ. 2542. "บัวบกพืชสมุนไพรของคนไทย นำมาปลูกเป็นผักสวนครัวในบ้าน." **ชีวจิต.** 1(49) : 76-77.

ธวัชชัย ค้าสุคนธ์ และพงจักร บูรณินทุ. 2534. "การต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคอุจาระร่วงของสารสกัดน้ำสมุนไพรที่นำมาปรุงเป็นเครื่องดื่มได้." ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล. 36 หน้า.

นิจศิริ เรืองรังศรี และพยอม ตันติวัฒน์. 2534. **พืชสมุนไพร.** กรุงเทพฯ : โอ. เอส. พริ้นติ้ง เฮ้าส์. 243 หน้า.

นันทวัน บุณยะประภัศร. 2536. "มะระกับการรักษาเบาหวาน." **จุลสารข้อมูลสมุนไพร.** 10 (2) : 1-7.

นันทวัน บุยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2541. **สมุนไพรไม้พื้นบ้าน เล่ม 2.** กรุงเทพฯ : บริษัทประชาชน. 640 หน้า.

นันทวัน บุณยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2542. **สมุนไพรไม้พื้นบ้าน เล่ม 3.** กรุงเทพฯ : บริษัทประชาชน. 823 หน้า.

นันทวัน บุณยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2543. **สมุนไพรไม้พื้นบ้าน เล่ม 4.** กรุงเทพฯ : บริษัทประชาชน. 740 หน้า.

นาฏศจี สุวรรณโรจน์. 2540. " การศึกษาองค์ประกอบเคมีจากผลมะระขี้นก." วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล. 172 หน้า.

เบญจวรรณ ซื่อสัตย์. 2542. "น้ำมันหอมระเหยของพืชสมุนไพรที่ปลูกจากภาคเหนือของไทย." วิทยานิพนธ์ มหาบัณฑิต สาขาวิชาการสอนเคมี คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 58 หน้า.

เผด็จ สังขไพฑูรย์ ปิยนันท์ สังขไพฑูรย์ และโสภา คำมี. 2544. "ศึกษาสารสกัดจากสมุนไพร 15 ชนิดในการต้านฤทธิ์แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเต้านมอักเสบในโคนม." หน้า 298-308.

พาริชา ชีรประชา และอัญญารัตน์ ศรีวิโรจน์. 2543. "รายงานเรื่องมะระขี้นก." คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. [Online]. Available : http://pcog.pharmacy.psu.ac.th/ virtual classroom/570-664. (Accessed 30 October 2006).

พรทิพย์ สุคนธสิงค์ เฉลิมเกียรติ โภคาวัฒนา ภาวนา อัศวประภา และวรพจน์ สุวจตตานนท. 2543. **คู่มือพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ ชุดที่ 3 : พืชสมุนไพรน้ำมันหอมระเหย.** กลุ่มพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร.

มลฤดี จันทร์ฉาย. 2545. "การวิเคราะห์สารคาแรนตินจากมะระขี้นก." วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล. 109 หน้า.

มาลิน จุลศิริ. 2542. **ยาต้านจุลชีพ : ความรู้พื้นฐานและประยุกต์.** นครปฐม : โรงพิมพ์สถาบันพัฒนาการสาธารณสุขอาเซียน. หน้า 6.1-6.31.

เมธิน ผดุงกิจ. 2542. "ผลของบัวบก (*Centella asiatica* (Linn.) Uran) ต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสองชนิดที่ก่อโรคผิวหนัง." บทคัดย่องานวิจัยสถาบันวิจัยวลัยรุกขเวช, มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. **การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร.** กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 215 หน้า.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2549. สมุนไพรไทย - ภูมิปัญญาไทย: ฐานข้อมูลสมุนไพร. [Online]. Available : http://www.samunpri.com. (Accessed 30 October 2006).

วัชรี สุภาอินทร์. 2543. "การตรวจหาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในพืชสมุนไพร 12 ชนิด." วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 76 หน้า.

วันดี กฤษณพันธุ์. 2536. **เภสัชวินิจฉัย : ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่ม 1.** กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล. 377 หน้า.

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

ศูนย์ประสานงานพัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์สุขภาพชุมชนสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. 2545. **คู่มือผลิตภัณฑ์ยาจากสมุนไพรเพื่อเศรษฐกิจชุมชน.** กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์สามเจริญพาณิชย์. หน้า 2.

สถาบันการแพทย์แผนไทย. 2540. **ผักพื้นบ้านความหมายและภูมิปัญญาของสามัญชนไทย.** พมพ ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. 266 หน้า.

สถาพร ดิเรกบุษราคม สมพร รุ่งก้าเนิดวงศ์ อังคณา หิรัญสาลี และลิลา เรืองแป้น. 2539. "ฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยบางชนิดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในกุ้งกุลาดำ." **เอกสารวิชาการ สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง.** ฉบับที่ 7. [Online]. Available : http:// www.pharmacy.mahidol.ac.th/medplantdatabase/dtl_research.asp. (Accessed 28 October 2006).

สิริลักษณ์ สำราญบำรุง. 2548. "ผลของสารสกัดบัวบกต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus, Salmonella* Anatum และเชื้อแบคทีเรียแลคติก (บางชนิด)ที่เกี่ยวข้องกับอาหารหมัก." วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาลอาหาร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 72 หน้า.

สุธรรม อารีกุล. 2547. **โครงการองค์ความรู้เรื่องพืชป่าที่ชาวเขาใช้ประโยชน์ทางภาคเหนือของไทย.** รายงานฉบับสมบูรณ์. 580 หน้า.

แสงระวี แก้วเมืองฝาง. 2543. "การตรวจหาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราในพืชสมุนไพร 12 ชนิด." วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 58 หน้า.

สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย. 2548. สมุนไพรไทย. [Online]. Available: http// www.trf.or.th/news.htm. (Accessed 05 September 2005).

สำนักวิชาการป่าไม้. 2531. **คุณสมบัติและการใช้ประโยชน์ของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ต้น.** กรุงเทพฯ.

อรุณี สาระยา มาลิน จุลศิริ และ จิตต์กวี ปวโร. 2528. "สารต้านเชื้อ *Pseudomona* ที่สกัดได้จากผลมะระ." **วารสารเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล.** 12(3) : 69-73.

องค์การสวนพฤกษศาสตร์ กระทรวงทัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2548. สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์. [Online], available: http//www.qsbg.org/background_th.asp.htm. (Accessed 05 September 2005).

อักษร ธรรมกุล แครียา ปวุตติกุล และ ชัชนี ผ่องจิตต์. 2542. "การวิเคราะห์หาปริมาณเอเชียติโคซัยด์ในบัวบกจากแหล่งต่างๆในประเทศไทย." ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อัญชลี สงวนพงษ์. 2543. **เทคโนโลยีการผลิตสารสกัดสะเดา.** กรุงเทพฯ : บริษัทซีเอ็ดยูเคชั่น จำกัด (มหาชน). 136 หน้า.

Alzoreky, N.S. and Nakahara, K. 2003. "Antibacterial activity of extracts from edible plants commonly consumed in Asia." **J. Food Microbiol.** 57 : 129-133.

Arora, D.S. and Kaur, J. 1999. "Antimicrobial activity of spices." **Int. J. Antimicrob. Agents.**

12(3) : 257-262.

Brandao, M.G.L., Krettli, A.U., Soares, L.S.R., Nery, C.G.C. and Marinuzzi, H.C. 1997. "Antimalarial activity of extracts and fraction from *Bidens pilosa* and other *Bidens* species (Asteraceae) correlated with the presence of acetylene and flavonoids compounds." **J. Ethnopharm.** 57(1) : 131-138.

Bruneton, J. 1995. *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants.* Paris: Lavoisier Publishing.

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

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

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

Chen, H., Xu, C., Liu, D.Q., An, S.Q. and Tan, R.X. 2005. "Buddlin , a new compound from *Buddleja asiatica.*" **Fitoterapia.** 76 : 588-589.

Chiang, Y.M., Chaung, D.Y., Wang, S.Y., Kuo, Y.H., Tsai, P.W. and Shyur, L.F. 2004. "Metabolite profiling and chemopreventive bioactivity of plant extracts from *Bidens pilosa* ." **J. Ethnopharm.** 95 : 409-419.

Chitra, M., Devi, C.S.S. and Sukumar, E. 2003. "Antibacterial activity of embelin." **Fitoterapia.** 74 : 401-403.

Choudhury, S. N., Choudhury, M., Ghosh, A. C. and Leclercq, P. A. 1997. "Essential oil of *Litsea salicifolia* Roxb. ex Wall. : A new report from Assam, India." **J. Séricologia.** 37(2) : 359-365.

Coldren, C.D., Hashim, P., Ali, J.M., Oh, S.K., Sinsky, A.J. and Rha, C. 2003. "Gene expression changes in the human fibroblast induced by *Centella asiatica* triterpenoinds." **Planta Med.** 69(8) : 725-732.

Cos, P., Hermans, N., Bruyne, T.D., Apers, S., Sindambiwe, J.B., Berghe, D.V., Pieter, L. and Vlietinck, A.J. 2002. "Further evaluation of Rwandan medicinal plant extracts for their antimicrobial and antiviral activities." **J. Ethnopharm.** 79 : 115-163.

Council of Scientific and Industrial Research. 1989. Wealth of India : Raw materials. New Delhi. India. 43-49.

Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. **Clin. Microbiol. Rev.** 12: 564-582.

Duffy, C.F. and Power, R.F. 2001. "Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts." **Letter. Inter. J. Antimicrobial Agent.** 17(6) : 527-529.

Dukić, M. N., Kujundžić, S., Soković, M. and Couladis, M. 2001. "Essential oil composition and antifungal activity of *Foeniculum vulgare* Mill. obtained by different distillation conditions." **Phytotherapy Res.** 17(4) : 368-371.

Dupont, S., Caffin, N., Bhandari, B. and Dykes, G.A. 2006. "In vitro antibacterial activity of Australian herb extracts against food- related bacteria." **Food Control.** 17(11) : 929-932.

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

Flora of China. 2006. Embelia sessiliflora in flora of China. [Online]. Available : http://www.efloras.org . (Accessed 30 October 2006).

Gill, A.O., Delaquis, P.J., Russo P. and Holley, R.A. 2002. "Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham." **Int. J. Food Microbiol.** 73 : 83-92.

Gulfraz,M., Waheed, A., Mehmood, S. and Ihtisham, M. 2005. **Extraction and Purification of Various Organic Compounds in selected Medicinal Plants of Kotli Sattian, District Rawalpindi, Pakistan.** Department of Biochemistry, Department of Botany University of Arid Agriculture, Rawalpindi, Pakistan. [Online], available: http//www.siu.edu/~ebl/leaflets/kotli. html (Accessed 15 February 2007).

Haq, K., Ali, M., and Siddiqui, A. W. 2005. "New compounds from the seeds of Embelia ribes." **Burm Pharmazie.** 60(1) : 69-71.

Houghton, P.J., Mensah, A.Y., Iessa, N. and Hong, L.Y. 2003. "Terpenoids in Buddleja : relevance to Chemosystematics, chemical ecology and biological activity." **Phytochemistry.** 64 : 385-393.

Hsieh, P.C., Mau, J.L., Chen, C.P. and Mau, J.L . 2001. "Antimicrobial effect of various combination of plant extracts." **J. Food Microbiol.** 18 : 35-43.

Jiratchariyakul, W., Wiwat, C., Vongsakul, M., Somanabundhu, A., Leelamamit, W. and Fujii, I. 2001. "HIV inhibitor from Thai Bitter Gourd." **Planta Medica.** 67 : 350-353.

Khan, M.R., Kihara, M. and Omoloso, A.D. 2001. "Anti – microbial activity of *Bidens pilosa*, *Bischofia javanica*, *Elmerillia papuana* and *Sigesbekia orientalis* ." **Fitoterapia.** 72 : 662-665.

Kwon, Y.S., Choi, W.G., Kim, W.K., Kim, M.J., Kang, W.H. and Kim, C.M. 2002. Abstract : Antimicrobial constituents of *Foeniculum vulgare*. **Arch Pharm Res.** 25(2) :154.

Leungsakul, S. 1987. "Antipyogenic bacterial activities of extracts from species of medicinal plants." **Symposium on Science and Technology of Thailand.** Songkhla Thailand.

Mandal, S.C., Ashok Kumar, C.K., Majumder, A., Majumder, R. and Maity, B.C. 2000. "Antibacterial activity of *Litsea glutinosa* bark." **Fitoterapia.** 71 : 439-441.

Nanasombat, S. and Lohasupthawee, P. 2005. "Antibacterial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against Salmonellae and other Enterobacteria ." **J. KMITL Sci. Tech.** 5(3) : 527-538.

Nayakrishi. 2006. Fruits: *Litsea salicifolia* Nees EX Roxb . [Online]. Available : http:// www. mcgill .ca/ files/ cine/ Nayakrishi_Datatables _fruits. pdf, 2006 (Accessed 30 October 2006).

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

Pfaller, M.A., Sheehan, D.J. and Rex, J.H. 2004. "Determination of Fungicidal Activities against Yeasts and Mold : Lessons Learned from Bactericidial Testing and the Need for Standardization." **Clin. Microbiol. Rev.** 17(2) : 268-280.

Rabe, T. and Staden, J. 1997. "Antibacterial activities of South African plants uased for mecdicinal purposes." **J. Ethnopharm.** 56 : 81-87.

Reuter, H.D. 1991. "What are the possibilities and limit of therapy with European native drugs in modern clinical medicine ?." **J. Ethnopharm.** 32 : 187-193.

Rojas, J.J., Ochoa, V.J., Ocampo, S.A. and Muñoz, 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.

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

Swamy, H.M.K., Krishna, V., Shankarmurthy, K., Rahiman, B.A., Mankani, K.L., Mahadevan, K.M., Harish, B.G. and Naika, H.R. 2007. "Wound healing activity embelin isolated from the ethanol extract of leave of *Embelia ribes* Burm." **J. Ethnopharm.** 109(3) : 529-534.

Tepe, B., Donmez, E., Unlu, M., Candan, F., Daferera, D., Vardar-Unlu, G., Polissiou, M. and Sokmen, A. 2004. "Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl)." **J. Food Chem.** 84 : 519-525.

Thakare M. 2004. "Pharmacological screening of some medicinal plants as antimicrobial and feed additives." Thesis . Master of science . Animal and Poultry science. Virginia Polytechnic Institute and State University, USA. 73 p.

Todar, K. 2001. **The control of microbial growth. Bacteriology.** University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology. 303 p.

Tortora, G. J., Funke, B., Funke, R. and Case, C.L. 1992. **Microbiology.** 4th edition. California : The enjamin / Cummings Publishing Company. Inc. 672 - 676.

Vagi, E., Simandi, B., Suhajda. and Hethelyi, E. 2005. "Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum majorana* L. extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide." **Food Res. Inter.** 38 : 51-57.

Vardar-Unlu, G., Candan, F., Sokmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, M., Donmez, E. and Tepe, B. 2003. "Antimicrobial and antitoxic activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. var. pectinatus (*Lamiaceae*)." **J. Agric. Food Chem.** 51 : 63–67.

Voravuthikunchai, S., Lortheeranuwat, A., Jeeju, W., Sririrak, T., Phongpaichit, S. and Supawita, T. 2004. "Effective medicinal plants against enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7." **J. Ethnopharm.** 94 : 49-54.

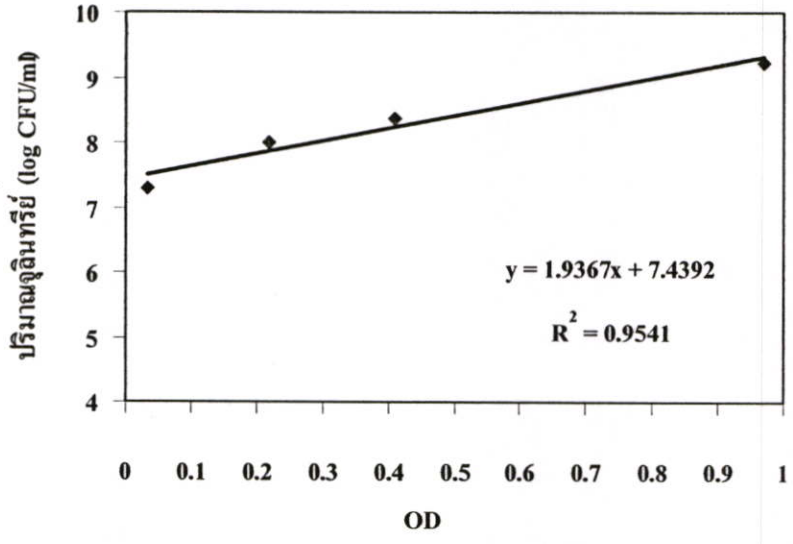
Yoosook, C., Bunyapraphatsara, N., Boonyakiat, Y. and Kantasuk, C. 2000. "Anti-herpes simplex virus activities of crude water extracts of Thai medicinal plants." **Phytomedicine.** 6(6) : 411-419.

ภาคผนวก

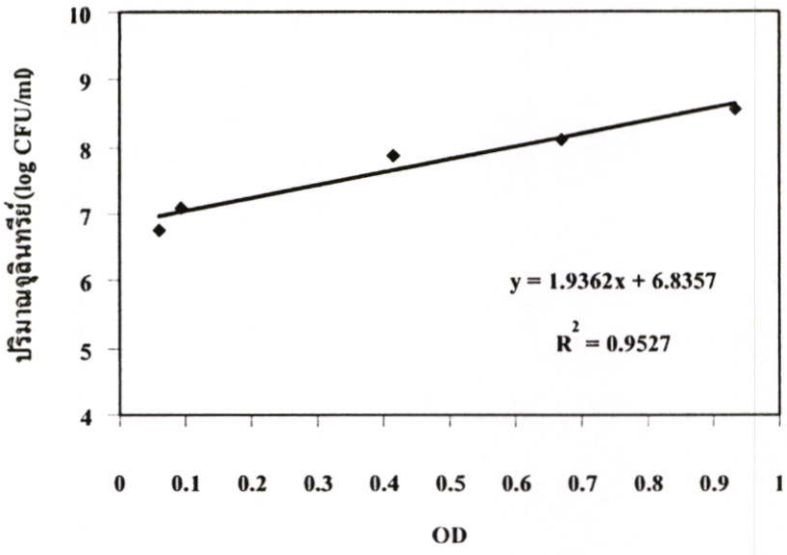
ภาคผนวก ก

กราฟการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

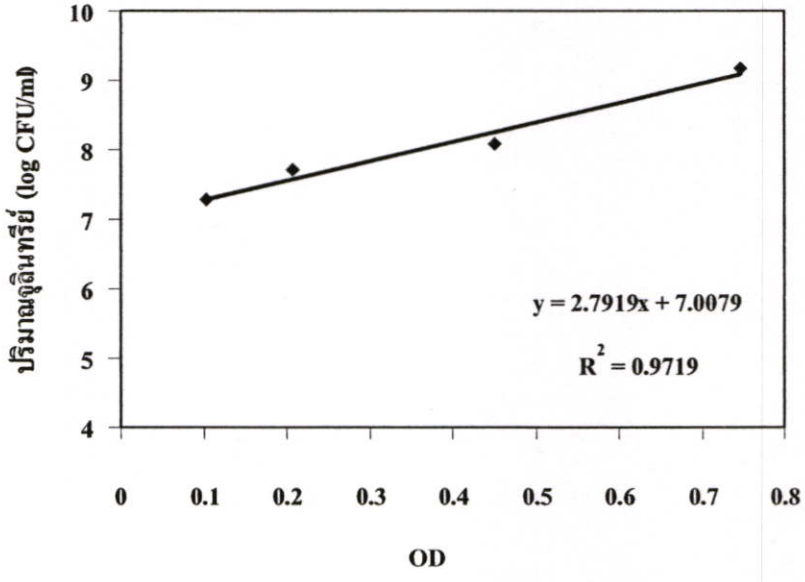
1. กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ กับค่าความขุ่น (optical density, OD) ที่ค่าดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร



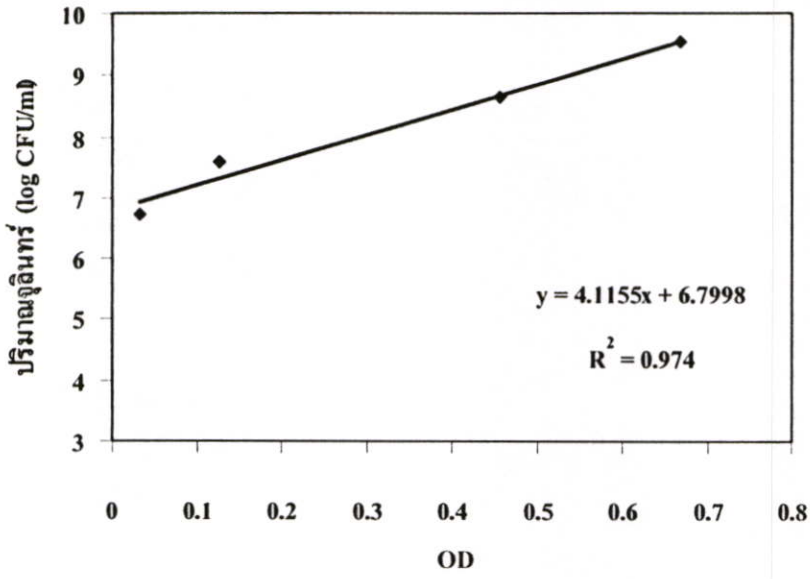
ภาพที่ ก 1.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* กับค่าความขุ่น (OD) สมการความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* y = 1.9367x + 7.4392 เชื้อ *Staph. aureus* เทียบค่าความขุ่นอยู่ระหว่าง 0.5-0.6 นาโนเมตร



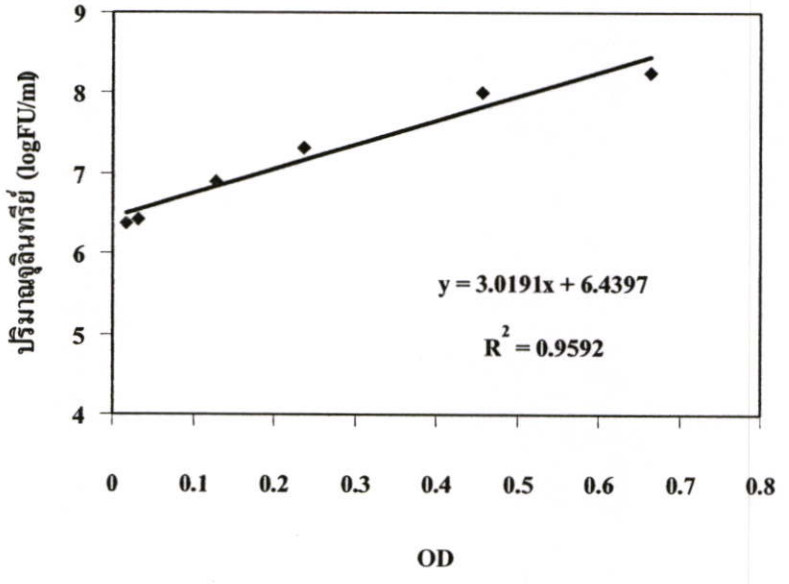
ภาพที่ ก 1.2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *B. subtilis* กับค่าความขุ่น (OD)
สมการความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อ *B. subtilis* y = 1.9362x + 6.8357
เชื้อ *B. subtilis* เทียบค่าความขุ่นอยู่ระหว่าง 0.8-0.9 นาโนเมตร



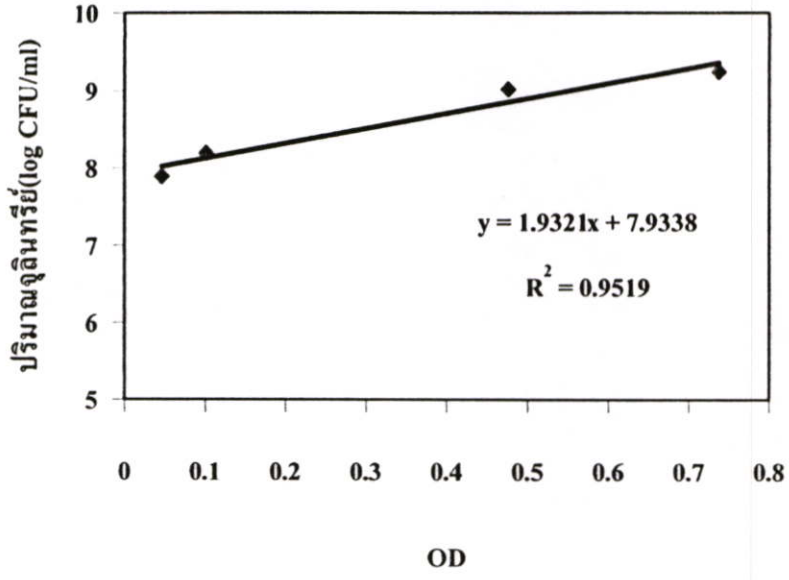
ภาพที่ ก 1.3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *L.innocua* กับค่าความขุ่น (OD)
สมการความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อ *L.innocua* y = 2.7919x + 7.0079
เชื้อ *L.innocua* เทียบค่าความขุ่นอยู่ระหว่าง 0.5-0.6 นาโนเมตร



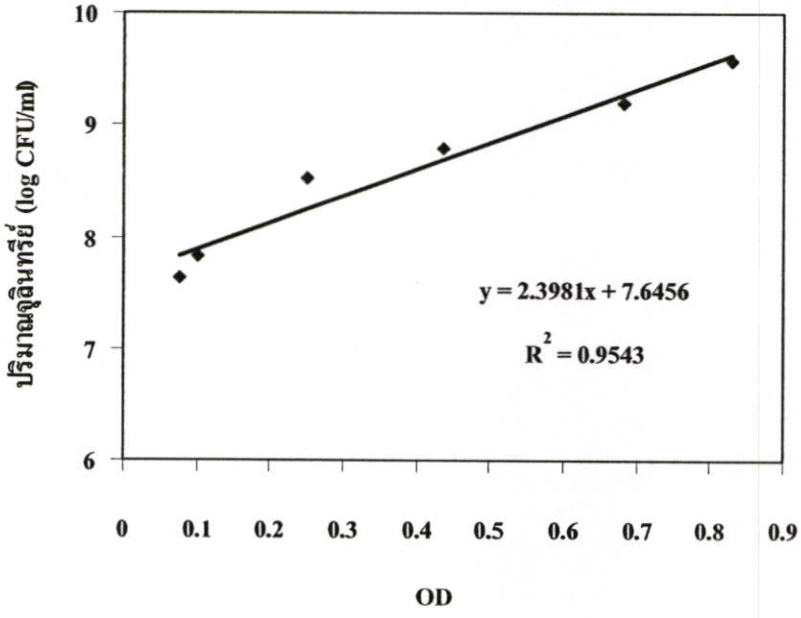
ภาพที่ ก 1.4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *E. coli* กับค่าความขุ่น (OD)
สมการความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อ *E. coli* y = 4.1155x + 6.7998
เชื้อ *E. coli* เทียบค่าความขุ่นอยู่ระหว่าง 0.4-0.5 นาโนเมตร



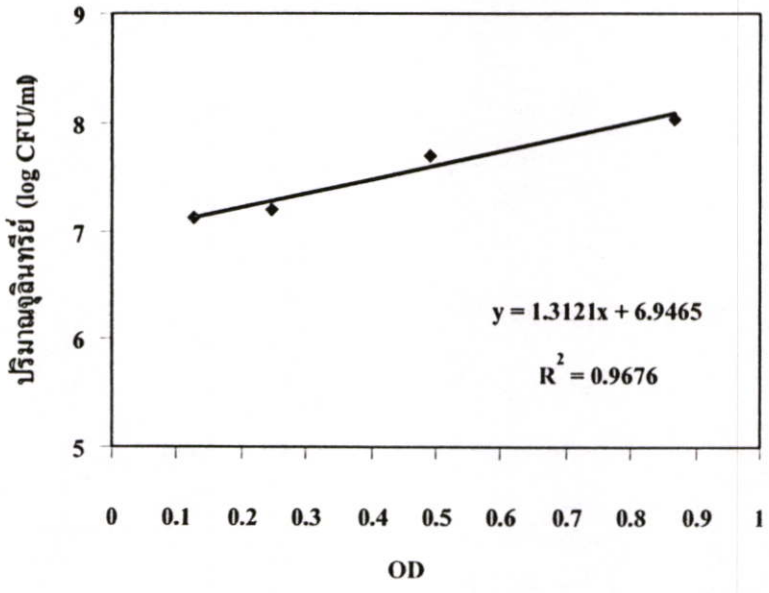
ภาพที่ ก 1.5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S.* Anatum กับค่าความขุ่น (OD)
สมการความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อ *S.* Anatum y = 3.0191x + 6.4397
เชื้อ *S.* Anatum เทียบค่าความขุ่นอยู่ระหว่าง 0.6-0.7 นาโนเมตร



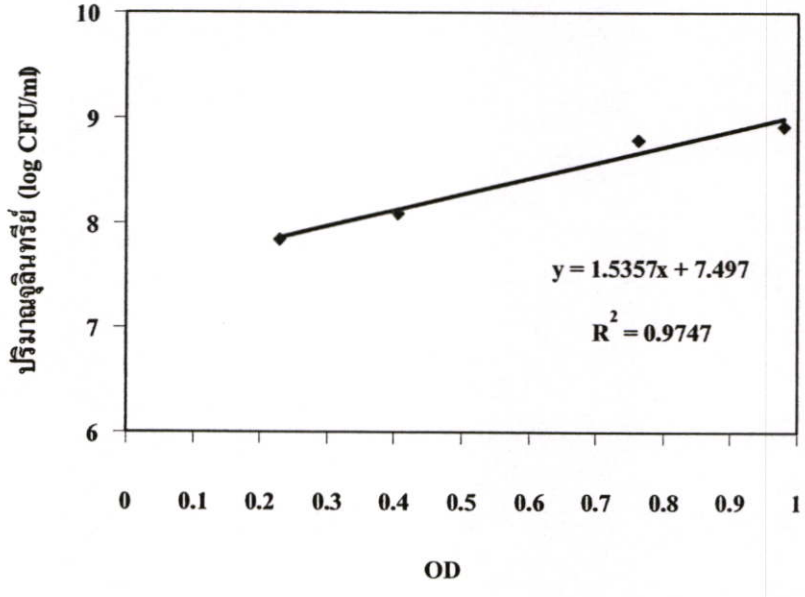
ภาพที่ ก 1.6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Ps. aeruginosa* กับค่าความขุ่น (OD)
สมการความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อ *Ps. aeruginosa* y = 1.9321x + 7.9338
เชื้อ *Ps. aeruginosa* เทียบค่าความขุ่นอยู่ระหว่าง 0.3-0.4 นาโนเมตร



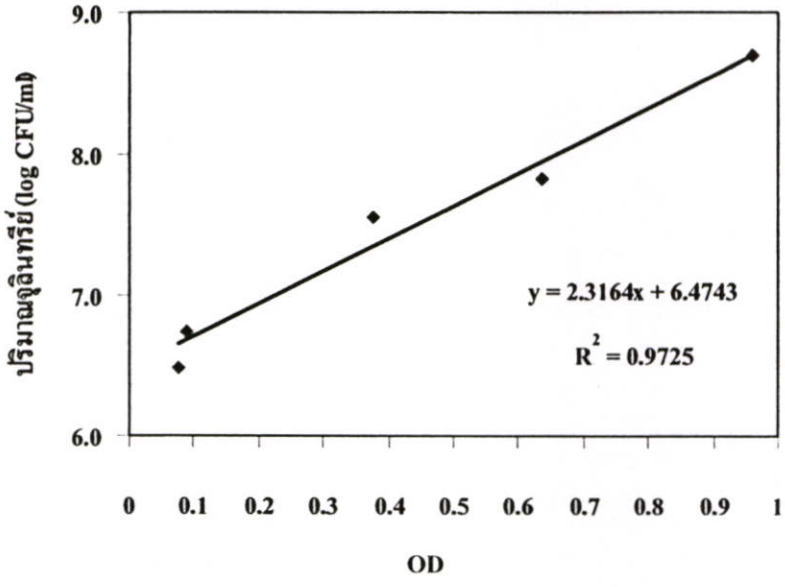
ภาพที่ ก 1.7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Pr. mirabilis* กับค่าความขุ่น (OD)
สมการความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อ *Pr. mirabilis* y = 2.3981x + 7.6456
เชื้อ *Pr. mirabilis* เทียบค่าความขุ่นอยู่ระหว่าง 0.3-0.4 นาโนเมตร



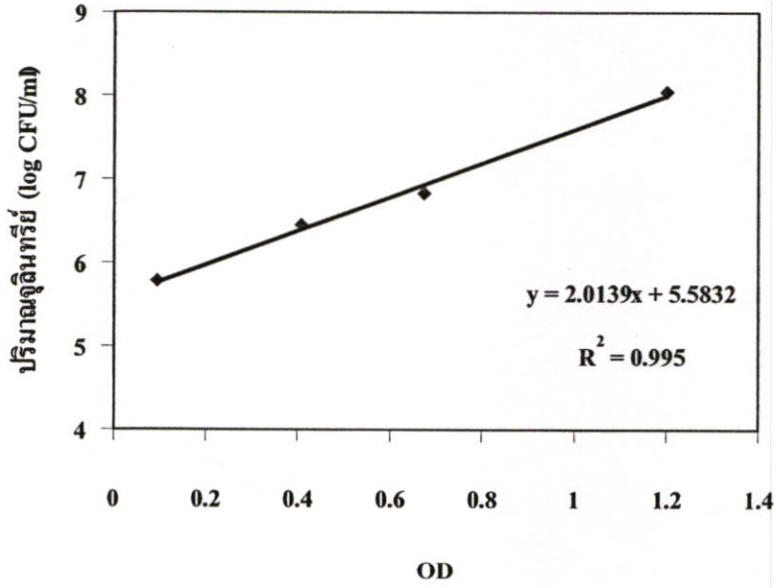
ภาพที่ ก 1.8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Lc. lactis* กับค่าความขุ่น (OD)
สมการความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อ *Lc. lactis* y = 1.3121x + 6.9465
เชื้อ *Lc. lactis* เทียบค่าความขุ่นอยู่ระหว่าง 0.9 –1.0 นาโนเมตร



ภาพที่ ก 1.9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Lb. plantarum* กับค่าความขุ่น (OD)
สมการความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อ *Lb. plantarum* y = 1.5357x + 7.497
เชื้อ *Lb. plantarum* เทียบค่าความขุ่นอยู่ระหว่าง 0.5 –0.6 นาโนเมตร



ภาพที่ ก 1.10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Pi. anomala* กับค่าความขุ่น (OD)
สมการความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อ *Pi. anomala* y = 2.3164x + 6.4743
เชื้อ *Pi. anomala* เทียบค่าความขุ่นอยู่ระหว่าง 0.8 –0.9 นาโนเมตร



ภาพที่ ก 1.11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Sc. cerevisiae* กับค่าความขุ่น (OD)
สมการความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อ *Sc. cerevisiae* y = 2.0139x + 5.5832
เชื้อ *Sc. cerevisiae* เทียบค่าความขุ่นอยู่ระหว่าง 1.2 –1.3 นาโนเมตร

ภาคผนวก ข

ตารางผลการทดลอง

ตารางที่ ข1 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดพืชด้วยน้ำกลั่น

ตัวอย่างสารสกัด	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)								
		แบคทีเรียแกรมบวก					แบคทีเรียแกรมลบ			
		Staph. aureus	*L. innocua*	*B. subtilis*	*Lb. plantarum*	*Lc. lactis*	*Pr. mirabilis*	*Ps. aeruginosa*	*E. coli*	*S.* Anatum
อบเชย	2.01	-	-	-	-	-	-	-	-	-
มะระขี้นก	4.68	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ปีนนกไส้	5.57	-	-	-	-	-	-	-	-	-
หมีเหม็น	2.24	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ลูกมะระขี้นก	5.11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
หมีห้ง	2.27	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ตระไคร้ต้น	1.90	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เสนียด	4.50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ราชาวดีป่า	3.75	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ข1 (ต่อ)

ตัวอย่างสารสกัด	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)								
		แบคทีเรียแกรมบวก					แบคทีเรียแกรมลบ			
		Staph. aureus	*L. innocua*	*B. subtilis*	*Lb. plantarum*	*Lc. lactis*	*Pr. mirabilis*	*Ps. aeruginosa*	*E. coli*	*S.* Anatum
ส้มจี๊	4.15	-	-	-	-		-	-	-	-
ส้มกุ่ย	8.01	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ผักชีลาว	7.37	-	-	-	-	-	-	-	-	-
บัวบก	5.78	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ผักปราบใบเรียว	2.83	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เมล็ดสะเดา	4.61	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระชายดำ	2.38	-	-	-	-	-	-	-	-	-
น้ำกลั่น	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chloramphenicol	*	21.34±0.31	28.90±0.49	19.40±0.78	23.81±0.68	20.50±0.36	21.37±0.59	18.93±0.71	19.96±0.72	22.33±0.70

หมายเหตุ : รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

(*) ไม่ทำการทดสอบ

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ข2 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และราจากสารสกัดพืชด้วยน้ำกลั่น

ตัวอย่างสารสกัด	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)			
	ยีสต์		รา	
	Pi. anomala	*Sc. cerevisiae*	*A. niger*	*P. pinophilum*
อบเชย	22.21±0.65[a]	15.10±0.64[a]	29.82±0.28[a]	25.68±0.68[a]
มะระขี้นก	-	-	-	-
ปีนนกไส้	-	-	-	-
หมีเหม็น	-	-	-	-
ลูกมะระขี้นก	-	-	-	-
ตระไคร้ต้น1	-	-	-	-
ตระไคร้ต้น 2	-	-	-	-
เสนียด	-	-	-	-
ราชาวดีป่า	-	-	-	-
ส้มจี้	-	-	-	-
ส้มกุ่ย	-	-	-	-
ผักชีลาว	-	-	-	-
บัวบก	-	-	-	-
ผักปราบใบเรียว	-	-	-	-
เมล็ดสะเดา	-	-	-	-
กระชายดำ	-	-	-	-
น้ำกลั่น	-	-	-	-
Nystatin	9.84 ±0.40	19.84±0.49	19.49±0.66	12.44 ±0.52

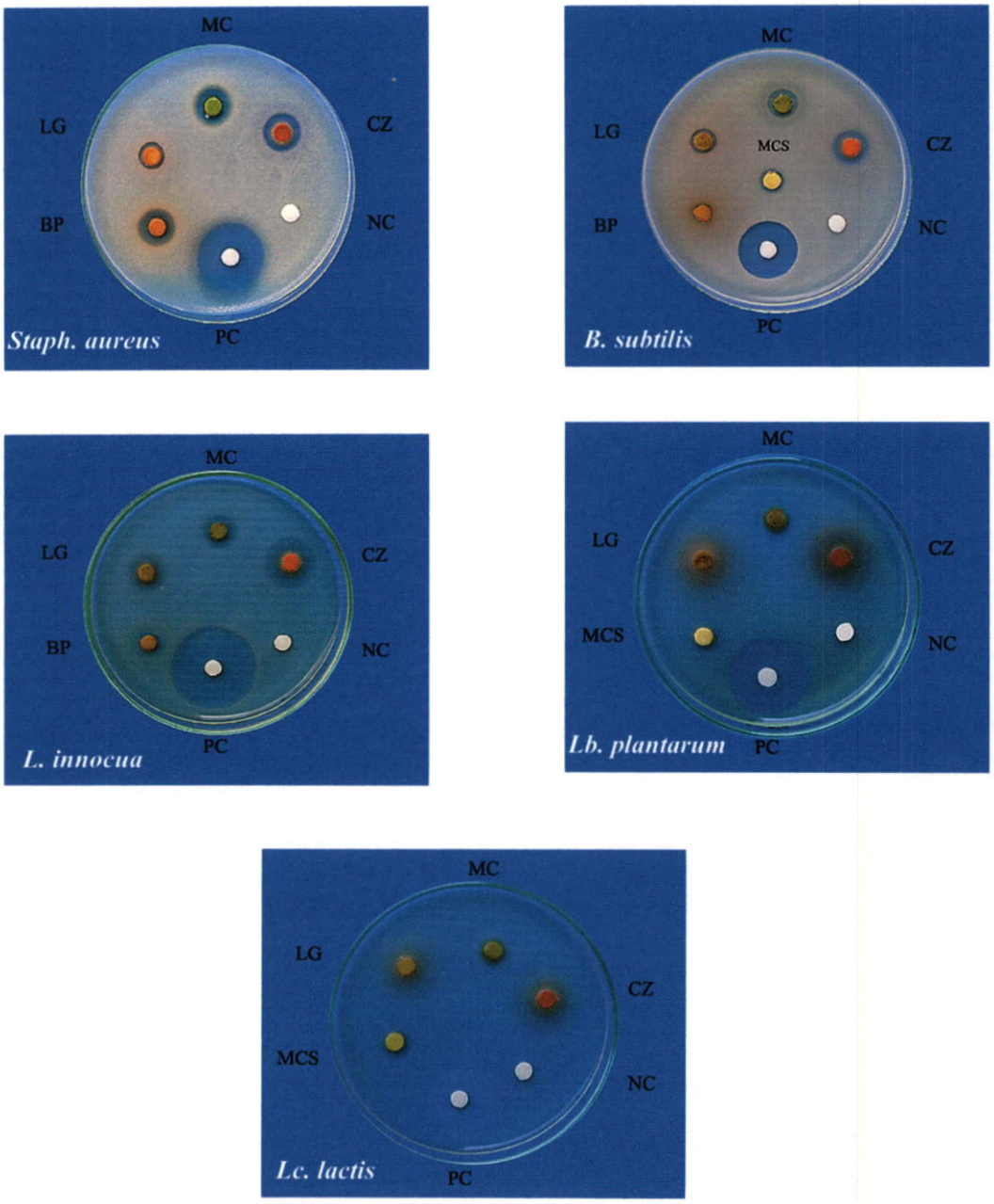
หมายเหตุ : รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc 6 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

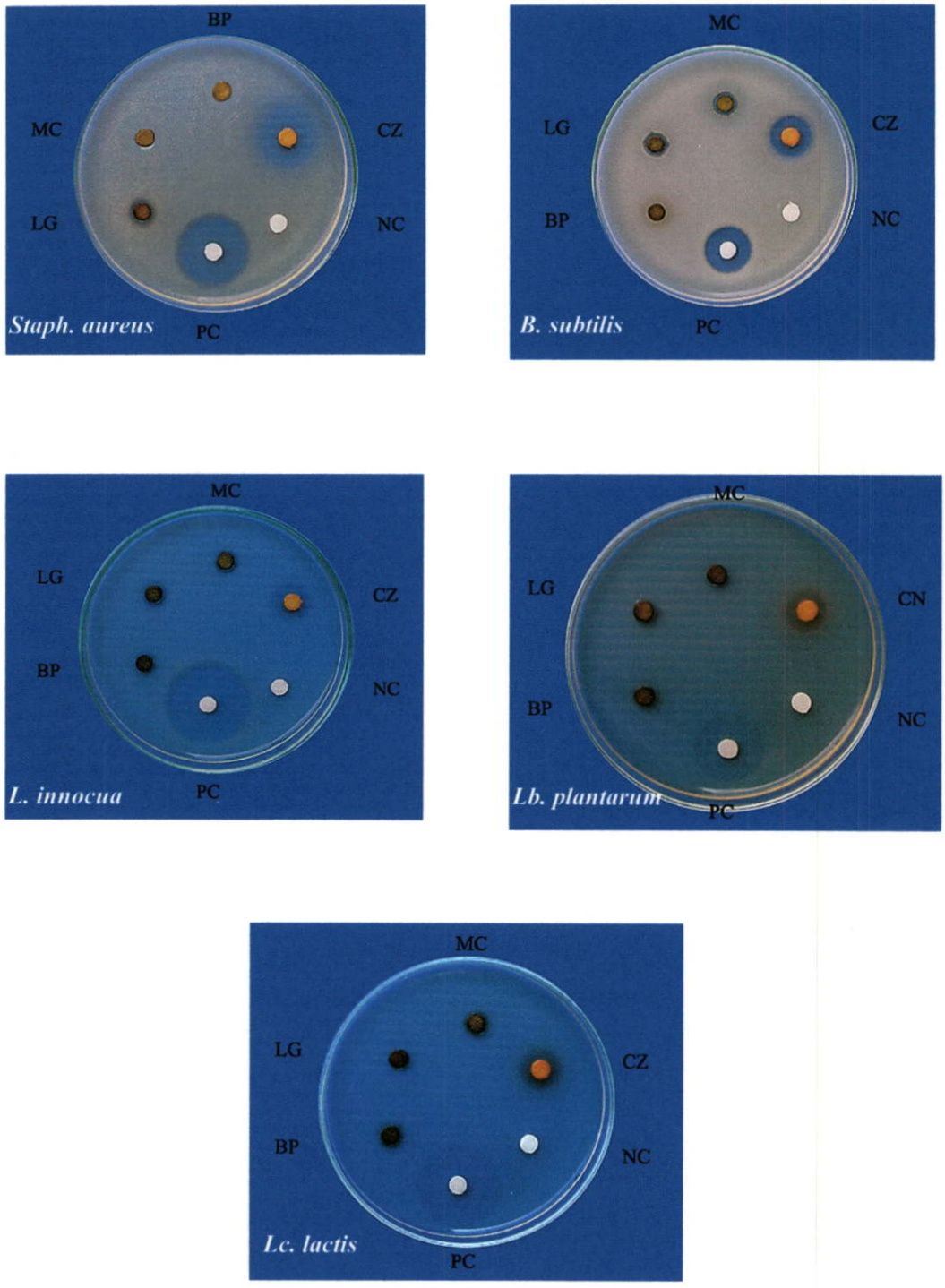
พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็น

ภาคผนวก ค

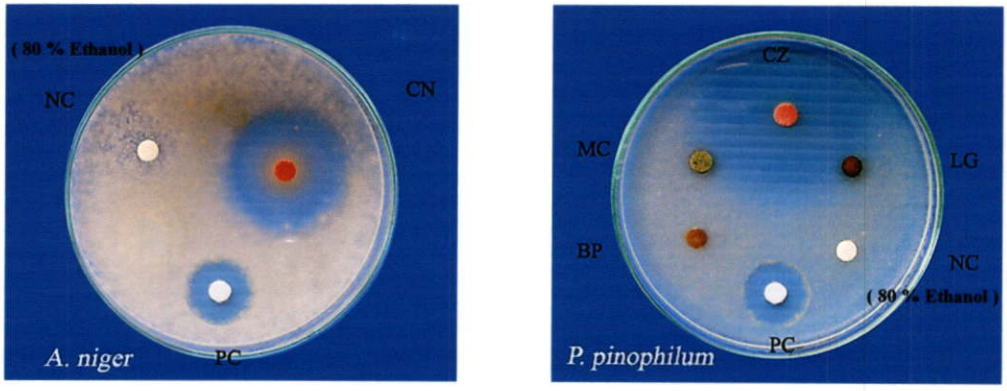
ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดพืชพื้นบ้าน



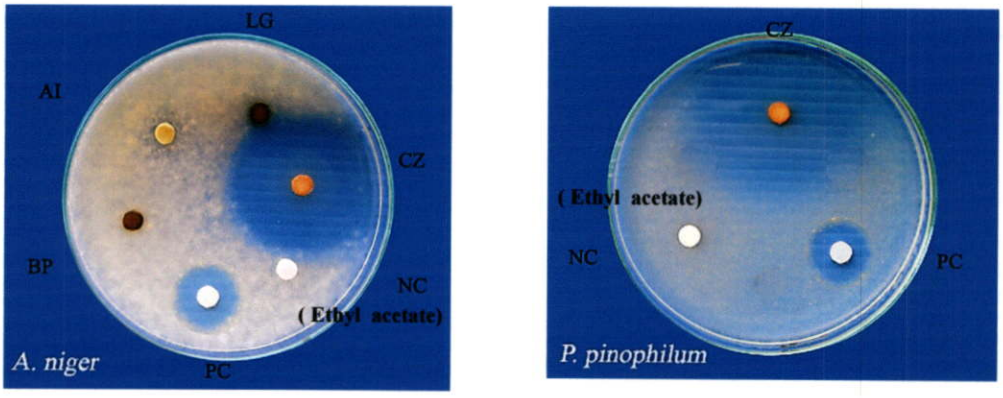
ภาพที่ ค 1 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ (CZ = อบเชย, MC = มะระขี้นก, MCS = ลูกมะระขี้นก, LG = หมีเหม็น, BP = ปีนนกไส้, AI = เมล็ดสะเดา, PC = Positive control (คลอแรมฟินิคอล), NC = Solvent control (เอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์))



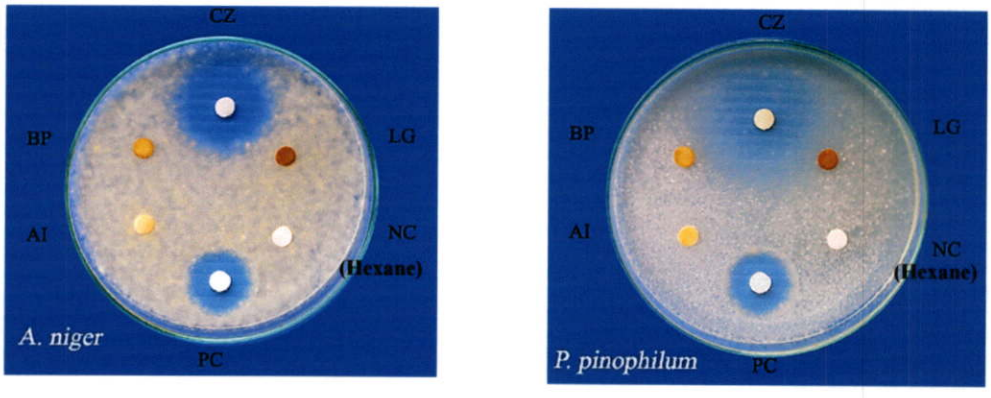
ภาพที่ ค 2 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านด้วยเอทิลอะซิเตท (CZ = อบเชย, MC = มะระขี้นก, MCS = ลูกมะระขี้นก, LG = หมีเหม็น, BP = ปีนนกไส้, AI = เมล็ดสะเดา, PC = Positive control (คลอแรมฟีนิคอล), NC = Solvent control (เอทิลอะซิเตท))



สารสกัดพืชด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์

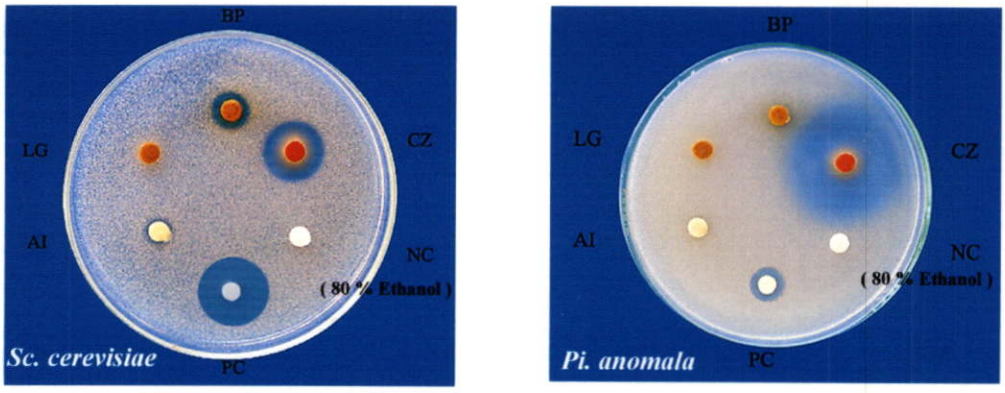


สารสกัดจากพืชด้วยเอทิลอะซิเตท

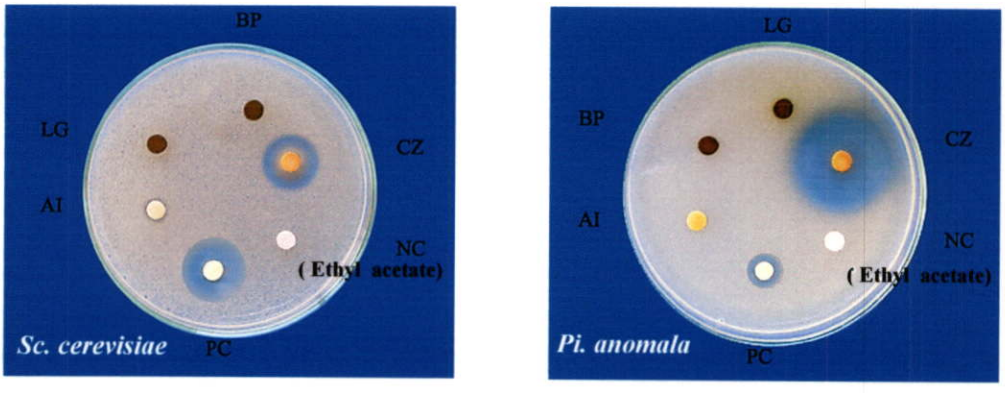


สารสกัดจากพืชด้วยเฮกเซน

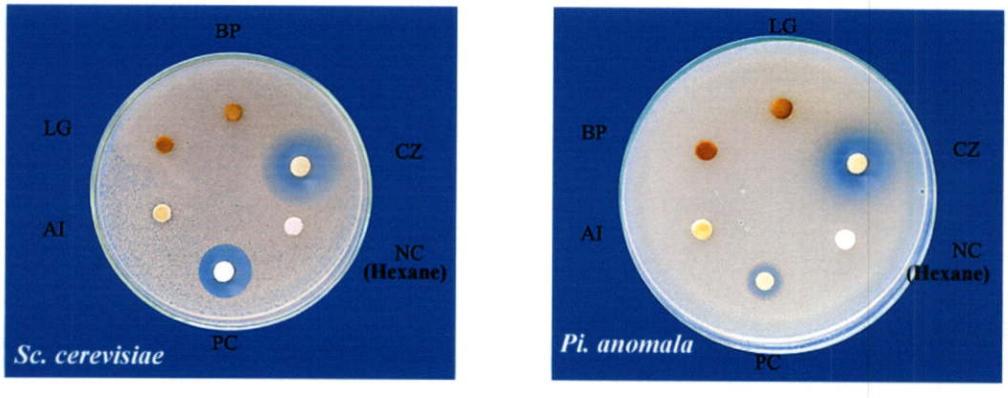
ภาพที่ ค 3 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. niger* และ *P. pinophilum* ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้าน (CZ = อบเชย, MC = มะระขี้นก, LG = หมีเหม็น, BP = ปืนนกไส้, AI = เมล็ดสะเดา, PC = Positive control (คลอแรมฟีนิคอล), NC = Solvent control (เอธานอล 80%, เอทิลอะซิเตท, เฮกเซน))



สารสกัดพืชด้วยเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์

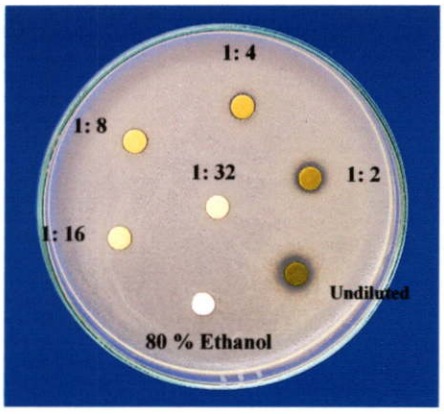


สารสกัดจากพืชด้วยเอทิลอะซิเตท

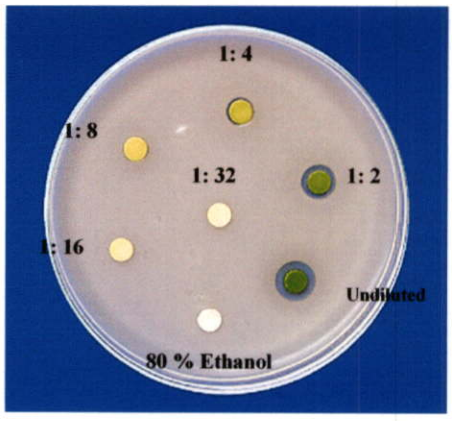


สารสกัดจากพืชด้วยเฮกเซน

ภาพที่ ค 4 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ *Pi. anomala* และ *Sc. cerevisiae* ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้าน (CZ = อบเชย, MC = มะระขี้นก, LG = หมีเหม็น, BP = ปีนนกไส้, AI = เมล็ดสะเดา, PC = Positive control (คลอแรมฟีนิคอล), NC = Solvent control (เอธานอล 80%, เอทิลอะซิเตท, เฮกเซน))

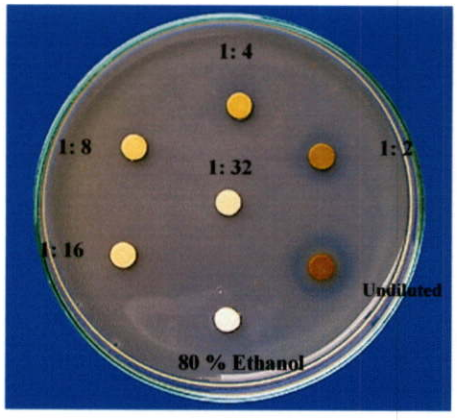


Staph. aureus



B. subtilis

L. innocua



Lc. lactis

ภาพที่ ค 5 ขนาดวงใสของสารสกัดมะระขี้นกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ภาคผนวก ง
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1 Trypticase soy broth – yeast extract

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

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 12 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 GYP broth

Yeast extract	10	g
Glucose	10	g
Peptone	10	g
Salt solution	5	ml
น้ำกลั่น	1000	ml

Stock salt solution

Mg SO4.7H2O	4	g
MnSO4	0.2	g
FeSO4	0.2	g
NaCl	0.2	g
น้ำกลั่น	100	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

5 GYP agar

Yeast extract	10	g
Glucose	10	g
Peptone	10	g
Salt solution	5	ml
Agar	15	g
น้ำกลั่น	1000	ml

Stock salt solution

Mg SO4.7H2O	4	g
MnSO4	0.2	g
FeSO4	0.2	g
NaCl	0.2	g
น้ำกลั่น	100	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ต้มให้เดือดจนวุ้นละลาย นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวพสุดา เจี่ยปิยะสกุล
วันเดือนปีที่เกิด	23 สิงหาคม 2520 ที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ.2543	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประวัติการทำงาน	
พ.ศ.2544	ตำแหน่ง Supervisor แผนกควบคุมคุณภาพ บริษัทไทยฟูจิย่า จำกัด
พ.ศ.2550	ตำแหน่ง Supervisor แผนกประกันคุณภาพภาพ บริษัทเคอร์รี่ อินกรีเดียนท์ (ไทยแลนด์) จำกัด