การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัส โดยใช้สารสกัดจากพืชตระกูลขิง

Inhibition of pathogenic bacteria contaminating exposed surfaces by extracts of Zingiberaceae family

วารีรัตน์ หนูหีต

Wareerat Nooheet

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Environmental Management
Prince of Songkla University
2557

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัสโดยใช้สารสกัดจากพืชตระกูลขิง

ผู้เขียน นางสาววารีรัตน์ หนูหีต

สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

……

(ดร.ปรินุช ชุมแก้ว)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

……

(ดร.จรัสลักษณ์ เพชรวัง)

คณะกรรมการสอบ

……ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิทย์ สุวรรณโณ)

……...กรรมการ

(ดร.ปรินุช ชุมแก้ว)

……...กรรมการ

(ดร.จรัสลักษณ์ เพชรวัง)

…….....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงศ์ศักดิ์ เหล่าดี)

…….....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.มณฑล เลิศคณาวนิชกุล)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม

……

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้เป็นผลมาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และขอแสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนเกี่ยวข้อง

ลงชื่อ.....
(ดร.ปรินุช ชุมแก้ว)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....
(นางสาววารีรัตน์ หนูหีต)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อนและไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....
(นางสาววารีรัตน์ หนูหีต)
นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัสโดยใช้สารสกัดจากพืชตระกูลขิง

ผู้เขียน นางสาววารีรัตน์ หนูหีต

สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม

ปีการศึกษา 2556

บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคบนพื้นผิวสัมผัสโดยใช้ส่วนเหง้าสด 4 ชนิดของพืชตระกูลขิง ได้แก่ขิง (*Zingiber officinale)* ข่า (*Alpinia galangna*) กระชาย (*Boesebergia rotunda*) และขมิ้นขาว (*Curcuma mangga*) โดยนำมาสกัดด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำและเมทานอล นำสารสกัดทั้ง 4 ชนิด มาทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus, Escherichia coli* และ *Psudomonas aeruginosa* ด้วยวิธี Agar well diffusion โดยทดสอบที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 100, 200 และ 300 มก./มล. ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ โดยสารสกัดจากกระชายสามารถยับยั้งเชื้อ *B.cereus* ได้ดีที่สุด มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal Inhibition Concentration : MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal Bactericidal Concentration : MBC) เท่ากับ 0.05 และ 0.10 มก./มล. ตามลำดับ สารสกัดจากขิง สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus, E. coli* และ *P. aeruginosa* ได้ดีที่สุด มีค่า MIC เท่ากับ 50, 100 และ100 มก./มล. ตามลำดับและมีค่า MBC เท่ากับ 100, 200 และ 200 มก./มล. ตามลำดับ การทดสอบความสามารถในการเป็นสารกำจัดเชื้อจุลินทรีย์โดยทดสอบการกำจัดแบคทีเรียบนพื้นผิวปุ่มกดลิฟต์ในโรงพยาบาลพบว่าสารสกัดจากขิงที่สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียลงได้ร้อยละ 52.13-94.95 เมื่อใช้สารสกัดเข้มข้น 50-200 มก./มล. เมื่อสัมผัสกับเชื้อเป็นเวลา 5 นาที จากการผลการทดลองจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากขิงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ ดังนั้นจึงสามารถนำสารสกัดจากธรรมชาติมาประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์กำจัดเชื้อที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมในอนาคต เพื่อลดการใช้สารเคมีและเพิ่มมูลค่าสมุนไพรพื้นบ้านอีกทางหนึ่ง

Thesis Title Inhibition of pathogenic bacteria contaminating exposed surfaces by extracts of Zingiberaceae family

Author Miss Wareerat Nooheet

Major Program Environmental Management

Academic Year 2013

ABSTRACT

This research aimed to study the efficiency of extracts from Zingiberaceae family against surface pathogenic bacteria. The fresh rhizomes from four kinds of Zingiberaceae (*Zingiber officinale, Alpinia galnga, Boesenbergia rotunda*, and *Curcuma mangga*) were extracted by hydrodistillation with methanol and water. The four crude extracts were investigated for their inhibitory effects against four microorganisms, namely *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus, Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa,* by using an agar well diffusion method at three concentrations of 100, 200, and 300 mg/ml. In such sensitivity testing the methanol extract of *B. rotunda* showed strong activity against *B. cereus* with an 0.05 mg/ml Minimal Inhibition Concentration (MIC) and an 0.10 mg/ml Minimal Bactericidal Concentration (MBC). The *Z. officinale* extract had the strongest inhibitory effect against *S. aureus, E. coli*, and *P. aeruginosa* with the MIC values at 50, 100, and 100 mg/ml, respectively, and the MBC values at 100, 200, and 200 mg/ml, respectively. The *Z. officinale* extract as a disinfectant of surface bacteria was evaluated on elevator control buttons in a hospital. The total bacteria counts were reduced by 52. 13% - 94.95 % when using a 50 - 200 mg/ml extract for a 5 minutes exposure. The results of antibacterial testing suggest that *Z. officinale* extract could be used as the active ingredient in value added eco-friendly disinfectant products based on Thai traditional herbs, replacing some currently conventional chemical agents.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(5)
Abstract	(6)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(11)
รายการภาพประกอบ	(13)
สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ	(16)
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย	1
1.2 การตรวจเอกสาร	3
1.2.1 การสกัดสารจากพืช	4
1.2.2 การเลือกตัวทำละลายในการสกัด	10
1.2.3 พืชตระกูลขิง	13
1.2.3.1 กระชาย	13
1.2.3.2 ขมิ้นขาว	15
1.2.3.3 ขิง	17
1.2.3.4 ข่า	19
1.2.4 แบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัส	21
1.2.4.1 *Staphylococcus aureus*	21
1.2.4.2 *Bacillus cereus*	23
1.2.4.3 *Escherichia coli*	24
1.2.4.4 *Pseudomonas aeruginosa*	25
1.3 วัตถุประสงค์	27
1.4 ความสำคัญและประโยชน์ของการวิจัย	27
1.5 กรอบแนวคิดงานวิจัย	28

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 2 วิธีวิจัย	
2.1 วัสดุและอุปกรณ์	29
2.1.1 ตัวอย่างพืช	29
2.1.2 เชื้อที่ใช้ทดสอบ	29
2.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ	29
2.1.4 สารเคมีและวัสดุ	30
2.1.5 เครื่องมือ	30
2.2 วิธีการดำเนินการวิจัย	30
2.2.1 การสกัดหยาบจากตัวอย่างพืช	30
2.2.2 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดด้วยวิธี Agar well diffusion	31
2.2.3 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ ด้วยวิธี Agar well diffusion	32
2.2.4 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ด้วยวิธี Agar dilution	32
2.2.5 การทดสอบการยับยั้งเชื้อบนพื้นผิวสัมผัสด้วยสารสกัดจากพืชตระกูลขิง	33
2.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	34
บทที่ 3 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล	35
3.1 การสกัดหยาบจากพืชตระกูลขิง	35
3.2 ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชตระกูลขิง โดยวิธี Agar well diffusion	36
3.3 ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อและ หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อด้วยวิธี Agar well diffusion	43
3.4 การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบนพื้นผิวสัมผัสโดยใช้สารสกัดจากขิง	45
บทที่ 4 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	50
4.1 สรุปผลการวิจัย	50
4.2 ข้อเสนอแนะ	50

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

เอกสารอ้างอิง	51
ภาคผนวก	57
ภาคผนวก ก	58
ภาคผนวก ข	60
ภาคผนวก ค	62
ภาคผนวก ง	64
ภาคผนวก จ	76
ประวัติผู้เขียน	81

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียในการใช้สารสกัดจากพืชกับสารเคมีสังเคราะห์	3
2	สรุปคุณสมบัติของตัวทำละลายบางชนิดที่ใช้ในการสกัดสารจากพืชสมุนไพร	12
3	ลักษณะและน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบขิง กระชาย ข่าและขมิ้นขาว ที่ได้สกัดด้วยน้ำและเมทานอล	35
4	บริเวณยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ของสารสกัดขิง ข่า ขมิ้นขาวและกระชายที่สกัดด้วยเมทานอลเมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	36
5	บริเวณยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ของสารสกัดขิง ข่า ขมิ้นขาวและกระชาย ที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	38
6	บริเวณยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ของสารสกัดขิง ข่า ขมิ้นขาวและกระชาย ที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	39
7	บริเวณยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 ของสารสกัดขิง ข่า ขมิ้นขาวและกระชาย ที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	40
8	ผลการหาค่า MIC และ MBC ของสารสกัดขิงในการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853, *E. coli* ATCC25922 และ *S. aureus* ATCC25923 และสารสกัดกระชายในการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687	44
9	ปริมาณจุลินทรีย์บนพื้นผิวสัมผัสของลูกบิดประตูห้องน้ำ ปุ่มกดลิฟต์ และเคาเตอร์ผู้ป่วยนอก	45
10	บริเวณยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ของสารสกัดขิงที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	65
11	บริเวณยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ของสารสกัดข่าที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	65
12	บริเวณยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ของสารสกัดกระชายที่สกัด ด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	66

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
13	บริเวณยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ของสารสกัดขิงที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	68
14	บริเวณยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ของสารสกัดข่าที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	68
15	บริเวณยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ของสารสกัดขิงที่สกัดด้วยเมทานอล ด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	70
16	บริเวณยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ของสารสกัดข่าที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	70
17	บริเวณยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ของสารสกัดขมิ้นขาวที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	71
18	บริเวณยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ของสารสกัดกระชายสกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	71
19	บริเวณยับยั้งเชื้อ S. aureus ATCC25923 ของสารสกัดขิงที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	73
20	บริเวณยับยั้งเชื้อ S. aureus ATCC25923 ของสารสกัดข่าที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	73
21	บริเวณยับยั้งเชื้อ S. aureus ATCC25923 ของสารสกัดขมิ้นขาวที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	74
22	บริเวณยับยั้งเชื้อ S. aureus ATCC25923 ของสารสกัดกระชายที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.	74
23	เก็บตัวอย่างเชื้อ ครั้งที่ 1	77
24	เก็บตัวอย่างเชื้อ ครั้งที่ 2	77
25	เก็บตัวอย่างเชื้อ ครั้งที่ 3	77
26	เก็บตัวอย่างเชื้อ ครั้งที่ 4	78

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
27	ค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อจากการเก็บตัวอย่าง 4 ครั้ง	78
28	ผลของสารสกัดจากขิงที่ความเข้มข้น 200, 100 และ 50 มก./มล. ที่เวลาต่าง ๆ ต่อปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบนพื้นผิวปุ่มกดลิฟต์	79
29	ผลของสารสกัดจากขิงที่ความเข้มข้น 200, 100 และ 50 มก./มล. ที่เวลาต่างๆ ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบนพื้นผิวปุ่มกดลิฟต์	80

รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1	การสกัดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ	6
2	การสกัดแบบซอกห์เลท	7
3	การสกัดด้วยสารเคมีโดยวิธีการแยกชั้น	9
4	การสกัดแบบไหลย้อนกลับ	10
5	ตัวทำละลายเรียงตามลำดับมีขั้วจากมากไปน้อย	11
6	ลักษณะของเหง้ากระชาย	15
7	ลักษณะของเหง้าขมิ้นขาว	16
8	ลักษณะของเหง้าขิง	18
9	ลักษณะของเหง้าข่า	21
10	ลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus*	23
11	ลักษณะของเชื้อ *Bacillus cereus*	24
12	ลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli*	25
13	ลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*	26
14	กรอบแนวคิดงานวิจัย	28
15	จุลินทรีย์บนพื้นผิวสัมผัสของ ลูกบิดประตูห้องน้ำ ปุ่มกดลิฟต์ เคาเตอร์ผู้ป่วยนอก	46
16	ผลของสารสกัดจากขิงความเข้มข้น 200, 100 และ 50 มล. ที่เวลา ต่าง ๆ ต่อปริมาณการรอดชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวปุ่มกดลิฟต์	47
17	สารสกัดหยาบขิง ข่า กระชายและขมิ้นขาวที่สกัดด้วยน้ำ	63
18	สารสกัดหยาบขิง ข่า กระชายและขมิ้นขาวที่สกัดด้วยเมทานอล	63
	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ของสารสกัดจาก ข่า ขมิ้นขาว กระชาย และ DMSO	67
19	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ของสารสกัดจาก ขิง ข่า ขมิ้นขาว กระชาย และ DMSO	69

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
21	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ของสารสกัดจากขิง ข่า ขมิ้นขาวกระชาย และ DMSO	72
22	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 ของสารสกัดจาก ขิง ข่า ขมิ้นขาวกระชายและ DMSO	75

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อม อาจส่งผลในด้านสุขภาพต่อมนุษย์ที่อาศัยอยู่บริเวณนั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากจุลินทรีย์เหล่านั้นเป็นเชื้อโรคและรับเชื้อเหล่านี้เข้าสู่ร่างกายอาจด้วยทางการหายใจเอาอากาศที่มีเชื้อโรคเข้าไป หรือการติดเชื้อผ่านทางผิวหนัง บริเวณบาดแผล การกินอาหารหรือดื่มน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อก่อโรค ซึ่งเชื้อก่อโรคเหล่านี้อาจแพร่กระจายจากผู้ป่วยโดยตรงหรือถูกแพร่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน น้ำ อากาศ รวมถึงติดอยู่ตามพื้นผิวอุปกรณ์เครื่องใช้ต่าง ๆ ซึ่งหากมีผู้มาสัมผัสและได้รับเชื้อหรือพิษของเชื้อเหล่านี้เข้าสู่ร่างกายอาจก่อให้เกิดการติดเชื้อและป่วยเป็นโรคได้ โรคติดเชื้อที่พบได้บ่อย เช่น โรคในระบบทางเดินอาหาร และการติดเชื้อบริเวณผิวหนังผ่านทางบาดแผล โรคติดเชื้อพบบ่อยในโรงพยาบาลเนื่องจากมีความชุกของเชื้อก่อโรคสูงประกอบกับผู้ป่วยมีภูมิคุ้มกันต่ำจึงมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อสูงกว่าคนปกติ ส่งผลให้การรักษาของแพทย์ไม่ได้ผลเท่าที่ควรและผู้ป่วยต้องเสียเวลาในการรักษานาน อีกทั้งเชื้อก่อโรคส่วนใหญ่จะดื้อต่อยาปฏิชีวนะ เชื้อโรคที่พบบ่อยในโรงพยาบาล ได้แก่ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Proteus* spp. และ *Streptococcus* sp. Gr. D กลไกการติดเชื้ออาจเป็นการสัมผัสผู้ป่วยโดยตรงหรือผ่านเครื่องมือ (สมหวัง ด่านชัยวิจิตร, 2540) และจากการศึกษาของสมหวัง ด่านชัยวิจิตร และสมพร โชคลอยแก้ว (2532) ได้ศึกษาโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล 23 โรงพยาบาลทั่วภูมิภาคของประเทศไทย พบว่าเชื้อ *P. aeruginosa* เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในโรงพยาบาลมากที่สุด โดยพบร้อยละ 22 รองลงมาคือ เชื้อ *E. coli* และ *Klebsiela* spp. พบร้อยละ 18.1 และ 14.0 ตามลำดับ โรคติดเชื้อ จาก *Pseudomonas* สามารถแพร่กระจายในโรงพยาบาลโดยบุคลากร อุปกรณ์แพทย์ ผิวหนัง น้ำยาฆ่าเชื้อและอาหาร นอกจากนี้จากการสรุปรายงานการเฝ้าระวังโรคติดต่อของสำนักระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุข ปีพุทธศักราช 2550 – 2553 พบว่าโรคติดต่อลำดับที่ 1, 2 และ 3 คือโรคอุจจาระร่วง ไข้ไม่ทราบสาเหตุและปอดบวม (Bureau of Epidemiology, 2007, 2008 and 2009) ตามลำดับ โดยส่วนใหญ่เป็นโรคที่สามารถติดต่อได้ทางอาหารและการสัมผัส ดังนั้นการป้องกันการติดเชื้อโดยการทำความสะอาดบนพื้นผิวสัมผัสเหล่านี้จึงเป็นวิธีที่ช่วยป้องกันการติดเชื้อได้อีกทางหนึ่ง

ในการควบคุมแบคทีเรียที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัสบริเวณสถานที่หรืออุปกรณ์ต่าง ๆ นั้น มักจะใช้สารเคมีในการฆ่าเชื้อ เช่น สารเคมีในกลุ่มแอลกอฮอล์ (Alcohols) กลูตาราลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) สารประกอบคลอรีน (Chlorine containing compounds) ไอโอโดฟอร์ (Iodophors) และกลุ่มฟีนอล (Phenols) เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ทำให้เกิดการระคายเคืองเยื่อเมือกต่าง ๆ เช่น เยื่อบุในปาก หลอดลม หลอดอาหาร และระบบลำไส้ ตัวอย่างเช่น สารเคมีในกลุ่มฟีนอล (สุรีย์พร โพธิ์ศรีทอง, 2555) เมื่อสัมผัสผิวหนังจะทำให้เกิดการระคายเคือง เกิดเป็นแผลที่ผิวหนังและสามารถซึมเข้าสู่กระแสโลหิตได้ แผลที่ผิวหนังจะมีอาการปวดและชา ถ้าสัมผัสเป็นบริเวณกว้างหรือกินเข้าไปอาจเสียชีวิตได้ เนื่องจากเป็นพิษต่อตับ ไต และระบบประสาทส่วนกลาง อีกทั้งสามารถทำปฏิกิริยากับคลอรีนเกิดเป็นสารก่อมะเร็งได้ นอกจากนี้ยังเป็นสารตกค้างในดินและน้ำอีกด้วย จากผลกระทบและอันตรายของสารเคมีดังกล่าว จึงมีความสนใจใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เพื่อทดแทนสารเคมีเหล่านี้ โดยพบว่าสารสกัดจากสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ อีกทั้งสารที่มีอยู่ในพืชเป็นสารที่สลายตัวได้ง่าย มีความปลอดภัยต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม โดยสารสกัดที่ได้จากพืชเหล่านี้จัดอยู่ในกลุ่มสารอินทรีย์ เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่อาจสะสมอยู่ในใบ ดอก และลำต้นของพืชบางชนิดซึ่งมีความสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้

จากรายงานการวิจัยในปัจจุบัน พบว่าสมุนไพรและเครื่องเทศบางชนิด ตัวอย่างเช่น พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae Family) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ โดยพบว่าเหง้าของพืชตระกูลขิงทั้งแบบแห้งและแบบสดมีน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ซึ่งมีรายงานว่าสาร 1-acetoxychavical acetate (ACA) ที่สกัดได้จากเหง้าข่าแห้งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราบางชนิดได้ นอกจากนี้ ACA ยังทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งสารก่อมะเร็ง และมีผลการศึกษาที่ระบุว่าพืชในตระกูลขิง เช่น ขิง ข่า และขมิ้น สามารถช่วยควบคุมและยับยั้งจุลินทรีย์ไม่ให้เพิ่มจำนวนได้ (อาภากร สุภาพิพัฒน์ และ จิตศิริ ราชตนะพันธุ์, 2550) อีกทั้งพืชในกลุ่มนี้ยังเป็นพืชในท้องถิ่นที่ปลูกและเจริญเติบโตได้ง่าย จากคุณสมบัติดังกล่าวทำให้มีความสนใจการนำสารสกัดจากพืชตระกูลขิงมาใช้เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งจะเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถช่วยลดการใช้สารเคมีลงได้

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวสัมผัสของสารสกัดจากพืชตระกูลขิง ได้แก่ ขิง ข่า กระชาย และขมิ้นขาว ซึ่งผลการศึกษาที่ได้คาดว่าจะเป็นแนวทางในการนำสมุนไพรมาใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ในการยับยั้งหรือควบคุมแบคทีเรีย ซึ่งจะช่วยทดแทนหรือเสริมการใช้สารเคมีในการฆ่าเชื้อ เพื่อลดสารตกค้างในสิ่งแวดล้อม และเป็นการนำสมุนไพรพื้นบ้านที่มีในท้องถิ่นมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

1.2 การตรวจเอกสาร (Review of Literature)

ปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับสมุนไพรมากขึ้นเพื่อลดการใช้สารเคมี ซึ่งสารเคมีมีความเป็นพิษสูงและสลายตัวยากทำให้เกิดผลกระทบต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม ซึ่งส่งผลให้สมดุลของธรรมชาติสูญเสียไป อีกทั้งการใช้สมุนไพรเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ผู้คนส่วนใหญ่หันมาให้ความสนใจเพิ่มมากขึ้นและหลีกเลี่ยงสารเคมีสังเคราะห์ที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ โดยมีรายงานการเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียในการใช้สารสกัดจากพืชกับสารเคมีสังเคราะห์ พบว่าสารสกัดจากพืชมีข้อได้เปรียบ ดังตารางที่ 1 (ณรงค์ โฉมเฉลา, 2536)

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียในการใช้สารสกัดจากพืชกับสารเคมีสังเคราะห์

สารสกัดจากพืช	สารเคมีสังเคราะห์
1. เลือกทำลายหรือทำลายเฉพาะเจาะจง	1. ทำลายได้กว้างขวาง
2. มีความเป็นพิษต่ำหรือค่อนข้างต่ำ	2. ความเป็นพิษมีตั้งแต่ต่ำถึงสูง
3. สลายตัวได้ง่าย	3. สลายตัวได้ยาก
4. ไม่มีอิทธิพลต่อระบบนิเวศน์หรือมีน้อย	4. มีอิทธิพลต่อระบบนิเวศน์มาก
5. หาวัตถุดิบได้ยากในขณะนี้	5. หาวัตถุดิบได้ง่าย
6. ราคาถูก	6. ราคาแพง
7. มีโอกาสต้านทานหรือดื้อยาน้อย	7. เกิดความต้านทานหรือดื้อยาง่าย
8. ต้นทุนการผลิตต่ำ	8. ต้นทุนการผลิตสูง
9. ใช้เทคโนโลยีการผลิตที่ง่าย	9. ใช้เทคโนโลยีการผลิตที่ซับซ้อน
10.ใช้กับศัตรูในดินให้ประสิทธิภาพสูงกว่าและสารพิษตกค้างต่ำกว่า	10. ใช้กับศัตรูในดินให้ประสิทธิภาพและมีพิษกับจุลินทรีย์และสัตว์ที่มีประโยชน์เกิดพิษตกค้างในดิน
11. ไม่มีลิขสิทธิ์และกฎหมายควบคุม	11. มีลิขสิทธิ์และกฎหมายควบคุม

ที่มา : ณรงค์ โฉมเฉลา (2536)

1.2.1 การสกัดสารจากพืช

การสกัดเป็นวิธีแยกสารที่เป็นของเหลวปนกับของเหลว หรือของแข็งปนของแข็ง โดยอาศัยสมบัติการละลายของสาร และเป็นการแยกสารที่ต้องการออกจากส่วนต่างๆ ของพืชหรือของผสม หลักการสำคัญของการสกัดด้วยตัวทาละลาย คือ การเลือกตัวทาละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารที่ต้องการออกมาให้มากที่สุด เพราะสารแต่ละชนิดจะละลายในตัวทำละลายต่างกันและละลายได้ในปริมาณต่างกัน วิธีที่นิยมนำมาใช้ในการสกัดสารจากพืชมี 5 วิธี ดังนี้ (อารมณ์ แสงวนิชย์, 2536)

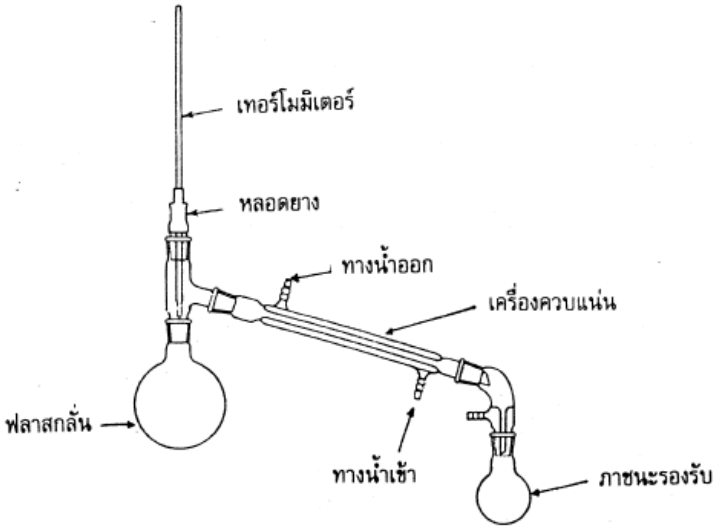
1. การหมักหรือการทำให้วัสดุอ่อนนุ่มด้วยการแช่น้ำ คือ นำส่วนที่ต้องการสกัดจากพืชมาเติมน้ำลงไปผสมให้เข้ากัน แช่ในระยะเวลาที่เหมาะสม จากนั้นนำมากรองเอาส่วนที่เป็นน้ำมาใช้ ซึ่งวิธีนี้

แสงจันทร์ เอี่ยมธรรมชาติ (2525) ได้ศึกษาผลของสมุนไพรบางชนิดในวงศ์ขิงกิเบอเรซี (Zinngiberceae) ต่อการเจริญของแบคทีเรียบางชนิด โดยใช้พืชสมุนไพร 5 ชนิดในวงศ์ขิง คือ กระชายขมิ้น ข่า ขิง และไพล นำมาทำให้แห้งและบดละเอียดแล้วแช่ใน diethyl ether, petroleum ether และน้ำกลั่นเป็นเวลา 48 ชั่วโมง กรองเอากากออก จากนั้นนำสารที่ได้ไปทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

รัชนี เต็เอียดหยอ (2549) ได้ทำการศึกษาการยับยั้งแบคทีเรียในกุ้งกุลาดำโดยใช้สารสกัดสมุนไพร โดยใช้สมุนไพรไทย 12 ชนิด ได้แก่ กระชาย กระเทียม กล้วยน้ำว้า กะเพรา ข่า ขิง ชุมเห็ดเทศ เบญกานี บัวบก ฝรั่ง มังคุด และสีเสียดเทศ สกัดด้วยเอทานอลและน้ำ โดยนำตัวอย่างสมุนไพรที่บดละเอียดแล้ว 100 กรัม มาทำการสกัดโดยใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 1,000 มล. เขย่าเบา ๆ และแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดแล้วนำมากรองแยกตะกอนออก แล้วนำไปทำให้แห้งโดยระเหยด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ และนำพืชสมุนไพร 100 กรัมไปต้ม แล้วนำไปกรองแยกตะกอนออก นำสารละลายที่ได้ไปทำให้แห้งโดยการ Freeze drying นำสารสกัดหยาบที่ได้ไปทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *Listeria monocytogens, Salmonella typhi, S. aureus* และ *Vabrio parahemolitieus* โดยวิธี dics diffusion ผลการทดลองพบว่าสารสกัดพืชสมุนไพรที่สกัดด้วยเอทานอลของผลฝรั่งและเบญกานี สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 4 ชนิดที่ใช้ได้ในการทดสอบสารสกัดของเปลือกมังคุดและสีเสียดเทศพบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes, S. aureus* และ *V. parahemolitieus* สารสกัดจากกระเทียม ชุมเห็ดเทศและใบมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* และ *S. aureus* และสารสกัดขิงด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes, S. aureus* และ *S. typhi* ได้ ส่วนสารสกัดของปลีกล้วยน้ำว้ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *S. typhi* ได้ สำหรับสารสกัดพืชสมุนไพรที่สกัดด้วยน้ำพบว่าสารสกัด

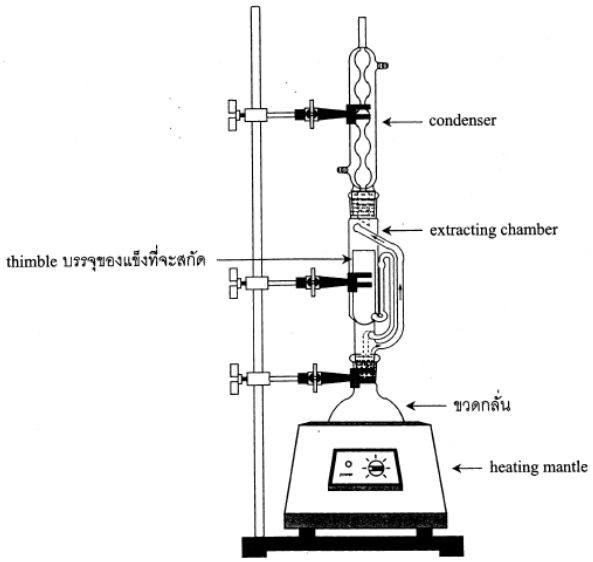
เบญกานีและสีเสียดเทศมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้ง 4 ชนิด และสารสกัดของชุมเห็ดเทศและใบมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *L. monocytogenes* และ *S. aureus* สารสกัดของผลฝรั่งสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *S. typhi* ได้ จากนั้นนำสารสกัดด้วยเอทานอลของเบญกานีไปศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียในกุ้งกุลาดำแช่เย็น โดยเติมเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *V. parahemolitieus* ในตัวอย่างกุ้งกุลาดำ พบว่ากุ้งกุลาดำที่มีการใช้สารสกัดของเบญกานีมีปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณแบคทีเรียน้อยกว่ากุ้งกุลาดำที่ไม่มีการใช้สารสกัดเบญกานี

2. การกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam distillation) การกลั่นด้วยไอน้ำเป็นเทคนิคอย่างหนึ่งของการสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยใช้ไอน้ำเป็นตัวทำละลาย ละลายสารและพาสารที่ต้องการออกจากของผสมได้ (ภาพที่ 1) ส่วนใหญ่การกลั่นด้วยไอน้ำมักจะใช้สกัดสารอินทรีย์ออกจากส่วนต่าง ๆ ของพืชที่อยู่ตามธรรมชาติ เช่น การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ใบมะกรูด เป็นต้น สารที่ต้องการสกัด จะต้องระเหยได้ง่าย สามารถให้ไอน้ำพาออกมาจากของผสมได้และสารที่สกัดได้จะต้องไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกับน้ำหรือไม่ละลายน้ำ (ถ้าของเหลวที่กลั่นได้ละลายน้ำหรือรวมเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำจะต้องนำไปกลั่นแยกอีกครั้งหนึ่ง) หลังจากที่สกัดด้วยไอน้ำแยกออกมาจากของผสมแล้วของเหลวจะแยกเป็น 2 ชั้น ชั้นหนึ่งเป็นน้ำอีกชั้นหนึ่งเป็นสารที่ต้องการ ซึ่งสามารถใช้กรวยแยกแยกออกจากกัน ซึ่งวิธีนี้ได้นำมาใช้ในการสกัดขิงสดโดยใช้เมทานอลหรือน้ำเป็นตัวทำละลายและสกัดน้ำมันหอมระเหย ด้วยการกลั่นโดยใช้น้ำ ได้ปริมาณสารสกัด เท่ากับ ร้อยละ 2.60, 1.90 และ 0.10 โดยน้ำหนักตามลำดับ (Zaeoung, 2004)



ภาพที่ 1. การสกัดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ
ที่มา : ประเสริฐ ศรีไพโรจน์ (2539)

3. การสกัดแบบซอกห์เลท (Soxhlet extraction) (ภาพที่ 2) เป็นวิธีที่ใช้ได้ดีกับตัวอย่างที่เป็นผงละเอียดโดยต้มตัวอย่างให้เดือดแล้วไอของสารละลายจะไปหมุนเวียนไหลผ่านตัวอย่างพืชและพาตัวสารออกมาพร้อมกับตัวทำละลาย ซึ่งวิธีการนี้ใช้ในการแยกสาร ดังเช่น งานวิจัยของ ศจีรา คุปพิทยานันท์ และ ภคนิจ คุปพิทยานันท์ (2554) ได้นำลำต้นและเหง้าของต้นเอื้องหมายนาหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปอบให้แห้งเพื่อป้องกันการเกิดเชื้อราเมื่อพืชแห้งสนิทแล้วจึงนำมาปั่นบดให้เป็นผง นำผงดังกล่าวไปเข้ากระบวนการสกัดด้วยเครื่อง Soxhlet Extractor โดยใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย ใช้เวลาในการสกัดประมาณ 12 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปเข้ากระบวนการกลั่นแบบ reflux เพื่อแยกตัวทำละลายที่ผสมอยู่ออกให้หมดด้วยเครื่อง Rotary Evaporator กระบวนการ สุดท้ายคือการทำให้สารสกัดแห้งเพื่อทำการตรวจวิเคราะห์ หาสารสำคัญทางเคมีของพืชด้วยวิธีการ Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)



ภาพที่ 2. การสกัดแบบซอกห์เลท
ที่มา : วิจิตร เอื้อประเสริฐ (2547)

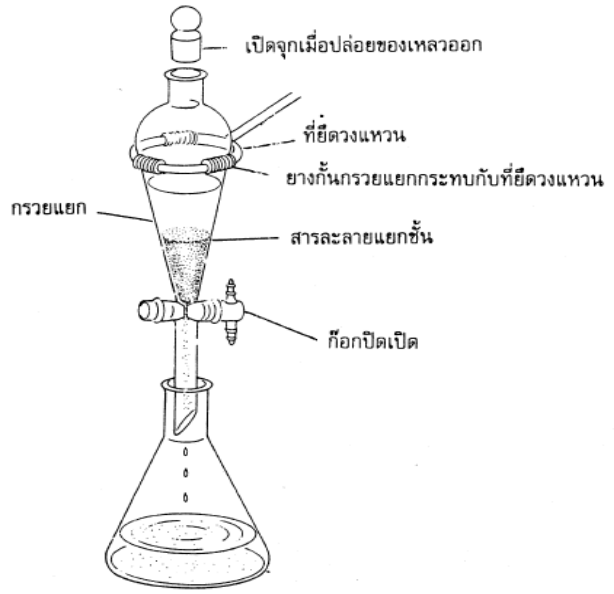
4. การสกัดด้วยสารเคมีโดยวิธีการแยกชั้น (Partition) (ภาพที่ 3) การสกัดวิธีนี้ มักใช้สำหรับตัวอย่างพืชสด โดยนำพืชมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ปั่นกับตัวทำละลายในเครื่องปั่น แล้วกรองผ่านกระดาษกรองสารละลายที่ได้นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายอีกชนิดซึ่งแยกชั้นกับตัวทำละลายแรก เพื่อทำให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น ซึ่งวิธีการนี้พบว่าถูกนำมาใช้ในการสกัดสารจากพืชหลายชนิด ตัวอย่างเช่น การสกัดสารจากเหง้าสดของขมิ้นขาว โดยนำตัวอย่างพืชมาสกัดด้วย chloroform ทำการสกัดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมากรอง นำสารละลายที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออก นำสารสกัดหยาบที่ได้ไปศึกษาองค์ประกอบและคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Policegoudra และคณะ, 2007) จากงานวิจัยของ นัยนา ต่างใจ และสุริยา ฤธาทิพย์ (2552) ได้ใช้วิธีการนี้ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดของสารสกัดจากหมากนวลหมากเขียว คูนและตะแบก โดยนำตัวอย่างอบแห้งแช่ในเอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นเวลา 2 วัน กรองเอากากออกนำส่วนของสารละลายมาระเหยเอาตัวทำละลายออก จากนั้นนำสารสกัดมาทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย คือ *E. coli* และ *S. aureus* จากงานวิจัย Karuppiah และ Rajaram (2012) ได้ใช้วิธีการนี้ในการสกัดสารจากผงกลีบกระเทียมและเหง้าขิง โดยนำมาแช่ในเอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยอัตราส่วน 1:20 และ 1:15 เป็นเวลา 2 สัปดาห์ กรองเอากากออก นำส่วนของสารละลายมาระเหยเอาตัวทำละลายออก และนำไปทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยา

Wilson และคณะ (2005) ได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากการสกัดขมิ้นอ้อย 2 ชนิด คือ *Curcuma malabarica* และ *Curcuma zedoaria* โดยยับยั้งแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus subtilis* NCIM 2603, *S. aureus* NCIM 2127, *Micrococcus luteus* NCIM 2103, *E. coli* NCIM 2574, *Proteus mirabilis* NCIM 2300 และ *Klebsiella pneumoniae* NCIM 2957 และยับยั้งเชื้อรา 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Candida albicans* NCIM 3102 และ *Aspergillus niger* NCIM 596 สกัดสารโดยใช้ตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ petroleum ether, hexane, chloroform, acetone และ ethanol ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากขมิ้นอ้อยด้วย acetone และ hexane สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าตัวทำละลายชนิดอื่นที่ใช้ในการทดลอง โดยสารสกัดจาก *C. malabarica* และ *C. zedoaria* มีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.01-0.15 มก./มล. และ 0.01-0.94 มก./มล. ตามลำดับ แต่สารสกัดจาก *C. malabarica* ไม่สามารถยับยั้ง *S. aureus* NCIM 2127 ได้ ในขณะที่สารสกัดจาก *C. zedoaria* สามารถยับยั้งเชื้อชนิดนี้ได้ อีกทั้งงานวิจัยนี้เป็นรายงานแรกที่รายงานความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจาก *C. zedoaria* ซึ่งเป็นแนวทางในการนำพืชชนิดนี้มาใช้เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและราในทางการแพทย์ต่อไป

Habrah และคณะ (2000) ได้ศึกษาสารสกัดหยาบจากพืชตระกูลขิง 13 ชนิด ได้แก่ *Alpinia hookeriana* Val., *Alpinia malaccensis* Rosc., *Alpinia mutica* Roxb., *Alpinia nutans* Rosc., *Alpinia rafflesiana* Wall., *Alpinia* v*itellina* (Lindl.) Ridl., *Costus discolor* Rosc., *Costus megalobractea* K. Schum., *Costus spiralis* Rosc., *Costus spiralis* Rosc., *Costus* v*illosissimus* Jacq., *Zingiber cassumunar* Roxb., *Zingiber ottensii* Val. และ *Zingiber macroglossum* Val. สกัดโดยใช้ dichloromethane และ methanol เป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus substilis*, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), *E. coli* และ *P. aeruginosa* และทดสอบการยับยั้งเชื้อรา 2 ชนิด ได้แก่ *Candida albicans* และ *Aspergillus ochraceous* รวมทั้งทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจาก *Alpinia mutica* Roxb. ด้วย dichloromethane สามารถยับยั้งเชื้อ *B. substilis* ได้ดีที่สุด และมีเพียงสารสกัดจาก *Costus discolor* Rosc. เท่านั้นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *A. ochraceous* ได้ นอกจากนี้ผลการทดสอบยังชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจาก *A. Malaccensis* และ *A. mutica* มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า α – tocopherol

ปิยุกฤษฎ์ ทองบุญ (2555) ศึกษาวิธีการสกัดส้มแขกด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ น้ำ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 และเอทานอลร้อยละ 70 เพื่อนำสารสกัดหยาบจากส้มแขกมาทำผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือ ผลการทดลองพบว่าตัวทำละลายน้ำที่สกัดเนื้อผลส้มแขกแล้วให้ปริมาณสารสกัดสูงสุด ได้ปริมาณสารสกัดร้อยละ 49.29 ส่วนตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ที่สกัด

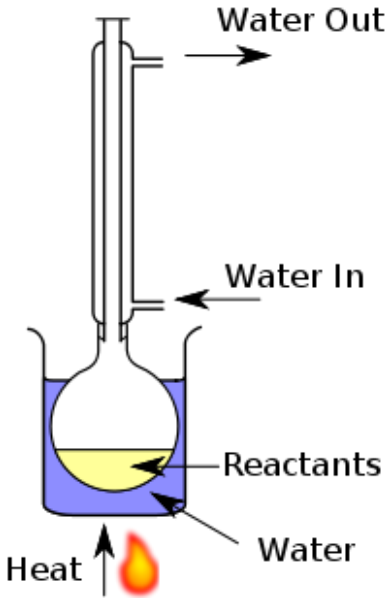
รกหุ้มเมล็ดที่ให้ปริมาณสารสกัดสูงสุด ได้ปริมาณสารสกัดร้อยละ 36.80 เมื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ คือ *E. coli, S. aureus, B. cereus* และ *S. typhimurium* ด้วยวิธี Broth Microdilution Method พบว่า สารสกัดหยาบจากส้มแขก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 8 มก./มล. เมื่อนำมาทำเป็นส่วนผสมเพื่อทำเจลล้างมือ เมื่อนำสารสกัดหยาบส้มแขกมาเป็นส่วนผสมของสเปรย์ทำความสะอาดมือ พบว่าสเปรย์ที่มีส่วนผสมของเอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 20 และสารสกัดส้มแขกความเข้มข้น 64 มก./มล. สามารถลดเชื้อจุลินทรีย์บนมือได้ร้อยละ 99.60 ซึ่งงานวิจัยนี้เป็นตัวอย่างในการใช้สารสกัดจากพืชเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย



ภาพที่ 3. การสกัดด้วยสารเคมีโดยวิธีการแยกชั้น
ที่มา : ประเสริฐ ศรีไพโรจน์ (2539)

5. การสกัดแบบไหลย้อนกลับ (Reflux extraction) (ภาพที่ 4) ใช้ในการสกัดสารสำคัญออกจาก สมุนไพรที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ เฮ็กเซน หรือน้ำ โดยสมุนไพรที่แช่ด้วยแอลกอฮอล์ เฮ็กเซน หรือน้ำ จะถูกต้มให้ความร้อน เพื่อทำการละลายสารสำคัญออกจากสมุนไพร โดยที่แอลกอฮอล์ หรือน้ำจะถูกต้มจนเดือดระเหยขึ้นไปด้านบน แล้วจะถูกควบแน่นด้วยคอนเดนเซอร์กลับลงมาทำละลายต่อเนื่อง หมุนเวียนอย่างนี้ไปเรื่อย ๆ จนสารสกัดละลายเข้มข้น จึงนำไปเข้าเครื่องระเหยแอลกอฮอล์ หรือเครื่องระเหยน้ำ เพื่อทำให้เข้มข้นต่อไป รายงานวิจัยที่ใช้วิธีการสกัดแบบไหลย้อนกลับ ดังเช่น การสกัดสารจากพริก โดยเปรียบเทียบวิธีการสกัดระหว่างการสกัดแบบ Reflux และการสกัดแบบการหมัก โดยใช้พริกจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์กะเหรี่ยง พันธุ์ขี้หนู

เม็ดใหญ่และพันธุ์หัวเรือ การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค 2 ชนิด คือ *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli* ด้วยวิธี Paper disc agar diffusion พบว่าสารสกัดพริกด้วยวิธี Reflux มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. cereus* และ *E. coli* (สัมพันธ์ สร้อยกล่อม และคณะ, 2556)



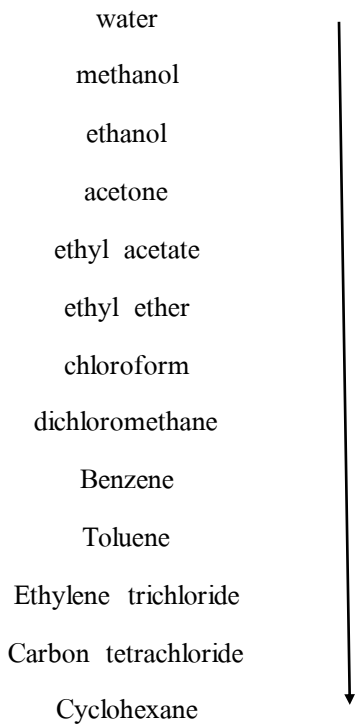
ภาพที่ 4. การสกัดแบบไหลย้อนกลับ

ที่มา : Milton Beychok (2553)

1.2.2 การเลือกตัวทำละลายในการสกัด

การสกัดนิยมใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วต่าง ๆ กัน โดยอาจสกัดจากตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วต่ำไปจนถึงที่มีขั้วสูง ประสิทธิภาพของสารสกัดจะขึ้นอยู่กับการคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมซึ่งตัวทำละลายที่เหมาะสม ควรมีคุณสมบัติ คือ สามารถละลายสารที่ต้องสกัดได้ ไม่ระเหยง่ายหรือยากจนเกินไปและไม่ติดไฟง่าย ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด ราคาถูก ตัวทำละลายที่ใช้กันมาก ได้แก่ คลอโรฟอร์ม เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่ดีแต่มี selectivity น้อย เฮกเซนเหมาะสำหรับสกัดสารที่ไม่มีขั้ว ซึ่งมักใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับกำจัดไขมันออกจากสมุนไพรเนื่องจากมีราคาถูก ตัวทำละลายที่ใช้กันมาก ได้แก่ เมทานอลและเอทานอล เนื่องจากมีความสามารถในการละลายกว้างและยังสามารถทำลายเอนไซม์ในพืชได้ (ประเสริฐ ศรีไพโรจน์, 2528)

ตัวทำละลายเรียงตามลำดับมีขั้วจากมากไปน้อยได้ดังนี้



ภาพที่ 5. ตัวทำละลายเรียงตามลำดับมีขั้วจากมากไปน้อย
ที่มา : ประเสริฐ ศรีไพโรจน์ (2528)

1.2.2.1 คุณสมบัติและความสามารถในการสกัดสารของตัวทำละลายแต่ละชนิด

ในการสกัดสารจากพืชควรเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมกับสารสกัดที่ต้องการจากพืช โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ซึ่งมีคุณสมบัติดังนี้และดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สรุปคุณสมบัติของตัวทำละลายบางชนิดที่ใช้ในการสกัดสารจากพืชสมุนไพร

ตัวทำละลาย	คุณสมบัติ
1. Ether	เป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่ได้จำกัดชนิด ไม่ละลายสารพื้น ๆ ชนิดอื่นที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อสมุนไพร แต่เกิด Oxidize ได้ง่าย
2. Hexane	เหมาะสำหรับสารไม่มีขั้ว ราคาถูก
3. Acetone	เป็นตัวทำละลายที่กำจัดไขมันได้ดี แต่สามารถละลายสารพื้นฐานในพืชได้บ้าง ข้อเสีย คือ มีกลิ่นฉุน กำจัดออกได้ยาก
4. Chlorofrom	เป็นตัวทำละลายที่สามารถละลายได้สารเกือบทุกชนิด แต่ไม่นิยมใช้เนื่องจากรับประทานมากจะเป็นสารก่อมะเร็ง
5. Ester	ตัวทำละลายในการสกัดยาสมุนไพร ทำให้ตัวยาสำคัญเข้มข้นและทำให้บริสุทธิ์ได้ง่าย
6. Methylene chloride	เกิดอิมัลชัน แต่ทำให้แห้งหรือระเหยได้ยาก
7. Alcohol	เป็นที่นิยมใช้เพราะมีความเป็นพิษต่ำ มี 2 ชนิด คือ methanol และ ethanol มีความสามารถในการละลายสารกว้างมากและยังใช้ทำละลายเอนไซม์ในพืชได้ ลดปฏิกิริยาการสลายตัวของน้ำขจัดออกได้ง่ายโดยไม่ต้องใช้ความร้อนสูง
8. Water	เป็นตัวทำละลายที่สำคัญ ไม่ไวไฟ ไม่เป็นพิษ หาง่าย ราคาถูก และสกัดสารได้มากชนิดแต่ไม่มีความคงตัวอาจทำให้การเกิดปนเปื้อนได้ง่าย ก่อนนำมาใช้ต้องผ่านกระบวนการกำจัดเชื้อก่อน

ที่มา : ประเสริฐ ศรีไพโรจน์ (2528)

1.2.3 พืชตระกูลขิง

1.2.3.1 กระชาย

กระชายมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Boesebergia rotunda* (L.) Mansf. อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Finger root, Chinese ginger, Chinese keys, Galingale และ ชื่อเรียกแตกต่างกันตามท้องถิ่นต่าง ๆ เช่น กะแอน ระแอน (ภาคเหนือ) ขิงทราย (มหาสารคาม) จี๊ปู่ ซีพู (เงี้ยว-แม่ฮ่องสอน) เป๊าะซอเร้าะ เป๊าะสี่ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) ว่านพระอาทิตย์ กรุงเทพฯ) (รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2535)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ กระชายเป็นไม้ล้มลุกขนาดเล็ก มีลำต้นใต้ดินเรียกเหง้า มีรากทรงกระบอกปลายแหลมจำนวนมากรวมติดอยู่ที่เหง้าเป็นกระจุก (ภาพที่ 6) เนื้อในรากละเอียด สีเหลือง มีกลิ่นเฉพาะ กาบใบสีแดงเรื่อ ใบไม้ยาวรีปลายแหลม ดอกเป็นช่อสีขาวอมชมพู ขยายพันธ์โดยใช้เหง้า กระชายชอบดินร่วนปนทราย ไม่ชอบดินแฉะ ต้องการแค่ปริมาณน้ำฝนตามธรรมชาติ ฤดูที่เหมาะกับการปลูก คือ ปลายฤดูแล้ง กระชายเป็นพืชสมุนไพรที่ปลูกตามบ้านเรือนทั่วไป ส่วนที่ใช้เป็นอาหารและยาในประเทศไทย คือ เหง้าใต้ดินและราก ในประเทศจีนมีรายงานการใช้กระชายเป็นยาในประเทศเวียดนาม ใช้กระชายในการปรุงอาหาร พันธุ์กระชายมีอยู่ 3 ชนิด คือ กระชายเหลือง กระชายแดง กระชายดำ (รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2535)

สรรพคุณของกระชาย ใช้เหง้าและรากของกระชายซึ่งมีรสเผ็ดร้อน หมอยาพื้นบ้านในประเทศไทยใช้เหง้าและรากของกระชายแก้ปวดมวนในท้อง แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ กลากเกลื้อน แก้จุกเสียด รักษาแผลในปาก แก้โรคกระเพาะ แก้ตกขาว ใช้เมื่อมีอาการปวดข้อเข่า ใช้เป็นยาอายุวัฒนะ บำรุงกำลัง (สำนักการแพทย์พื้นบ้าน, 2554) นอกจากนี้รากและเหง้าของกระชายมีน้ำมันหอมระเหยซึ่งประกอบไปด้วยสาร แคมฟีน (Camphene) ไลโมนีน (Limonene) ไพนีน (Pinene) การบูร (Camphor) บอร์นีออล (Borneol) และเมอร์ซีน (Myrcene) เป็นต้น (เบญจวรรณ, 2553) และยังมีรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกระชายอีกมากมายในการนำสารสกัดจากกระชายมาต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ดังนี้

อุทุมพร ทองอินทร์ (2541) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Clodosporium cladosporioides* และเชื้อแบคทีเรีย *Seratia marcescens* ของสารสกัดกระชาย ฟ้าทะลายโจร มะนาวแป้นและมะนาวน้ำหอม โดยสกัดหัวกระชาย ใบฟ้าทะลายโจร ใบและเปลือกมะนาวแป้น ใบมะนาวน้ำหอม ด้วยไดคลอโรมีเทน นำมาทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา *C. cladosporioides* ด้วยวิธี TLC - Bioassay พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราได้ เมื่อนำสารสกัดมาทำการยับยั้งเชื้อราและนำมาทำให้

บริสุทธิ์และวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรมิเตอร์ พบว่าสารต้านเชื้อราจากใบฟ้าทะลายโจรไม่สามารถวิเคราะห์โครงสร้างได้ แต่พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุล เท่ากับ 140 สารต้านเชื้อราจากกระชาย ประกอบด้วย Pinostrobin chalcone, N-virylpyrolidone มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 331 และ 432 ตามลำดับ และนำมาทดสอบฤทธิ์ ต้านแบคทีเรีย *S. marcescens* ด้วยวิธี TLC-Bioassay พบว่าสารสกัดหยาบกระชายเท่านั้น ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย จากการทดลองพบว่าสารต้านแบคทีเรียที่ได้จากกระชายประกอบด้วย cis-9-octadecan, 1-octadecence และ pinostobin chachone

เอกรินทร์ ภัทระนวดี (2550) ได้ศึกษาการสกัดเครื่องเทศของไทยได้แก่ กระชาย ขิง ข่าและขมิ้นชัน เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหารทดสอบด้วยวิธี agar dilution พบว่าสารสกัดจากกระชายและขิงสามารถยับยั้งเชื้อรา 4 ชนิด ได้แก่ *Aspergillus flavus, Aspergillus paraciticus, Aspergillus niger* และ *Fusarium oxysporum* ได้ โดยให้ค่า MIC ในช่วงมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 10 ปริมาตรต่อปริมาตร

Suree และ pana (2005) ศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella* 20 สายพันธุ์ และ *Enterobacteria* ด้วยสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยเครื่องเทศ 14 ชนิด ได้แก่ กระวาน อบเชย กานพลู ผักชี ยี่หร่า กระเทียม ขิง กะเพรา ใบและเปลือกมะกรูด ตะไคร้ ดอกจันทร์เทศ พริกไทยดำ และพริกไทยขาว และขมิ้นสกัดด้วยเทานอล ทดสอบโดยใช้วิธี disk diffusion ในการทดสอบเบื้องต้น พบว่าสารสกัดกานพลูสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดจากกระชายไม่สามารถยับยั้งเชื้อที่ใช้ทดสอบได้ แต่น้ำมันหอมระเหยจากกระชายสามารถยับยั้งเชื้อ *S. Agona S. Anatum S. Cholerasesuis S. Derby S. Enteridis S. Hadar S. Newport S. Orion S. Senftenberg S. Virchow S. Typhimurium (non-DT104 strain) S. Typhimurium DT104 Citrobacter freundii E. coli, Klebsiella pneumoniae, Seratia marcescens* ได้

ภาพที่ 6. ลักษณะของเหง้ากระชาย
ที่มา : สุดารัตน์ หอมหวล (2555)

1.2.3.2 ขมิ้นขาว

ขมิ้นขาวมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma mangga* Val & Zijp อยู่ในวงศ์ Zingiberraceae มีชื่ออังกฤษว่า Mango ginger และชื่อเรียกในท้องถิ่นว่า ขมิ้นม่วง ว่านม่วง

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของขมิ้นขาวเป็นพืชล้มลุกมีเหง้าใต้ดินแตกแขนงยาว (ภาพที่ 7) ผิวสีครีมแกมน้ำตาลอ่อน เนื้อใน สีขาวแกมเหลืองอ่อน มีกลิ่น ต้นเหนือดินสูงถึง 200 เซนติเมตร ใบเดี่ยวเรียงสลับระนาบเดียวกัน รูปใบหอกกลับแกมรูปขอบขนานหรือขอบขนานแกมรี ขนาดกว้าง 5-23 เซนติเมตร ยาว 15-95 เซนติเมตร ปลายใบแหลมหรือเรียวแหลม โคนใบสอบเข้าสีเขียวไม่มีขน แผ่นใบด้านบนสีเขียวหรือตรงกลางใบมีแถบยาวสีแดงแกมน้ำตาล เมื่อโตสีจะจาง กาบที่โคนต้นสีเขียวแกมแดงเรื่อ ๆ หรือสีเขียวทั้งแผ่น ผิวใบด้านล่างนุ่ม ไม่มีขน ก้านใบเป็นร่อง ก้านใบตอนล่างเป็นกาบหุ้มลำเรียงซ้อนกัน ลิ้นใบสั้น ปลายแถบตรง ช่อรูปทรงกระบอก ขนาดกว้าง 3.5-9 เซนติเมตร ยาว 10-20 เซนติเมตร ใบประดับชั้นล่างสีเขียว ชั้นบนส่วนปลายมีสีชมพูเข้มกว่าส่วนโคนที่มีสีค่อย ๆ จางจนเป็นสีขาว กลีบดอกมี 3 กลีบ รูปเรียวยาวมักม้วนกันยาว 3-4 เซนติเมตร สีขาว เกสรเพศผู้ ส่วนที่เป็นกลีบ กลีบบนมี 2 กลีบ สีขาว กลีบล่างเป็นกลีบปาก

ขนาดกว้าง 1.4-1.8 เซนติเมตร ยาว 1.5-2.5 เซนติเมตร พื้นสีขาวแถบกลางสีเหลือง อับเรณูยาว มีเดือยแคบ

ขมิ้นขาวมีสรรพคุณเป็นยารักษาแผลในลำไส้ เจริญอาหาร ขับลม ระงับเชื้อ รักษาโรคผิวหนัง เป็นยาบำรุง ขับปัสสาวะ บรรเทาอาการท้องขึ้น ทำให้ผายลมและรักษาไข้เหลือง โดยใช้เหง้าหรือหัว นอกจากนี้องค์ประกอบทางเคมีเหง้าขมิ้นขาวทั้งในส่วนที่ได้จากการสกัดแยกโดยวิธีทางโครมาโทกราฟี และส่วนที่ได้จากการกลั่นน้ำมันระเหยพบว่า ส่วนที่ได้จากการสกัดแยกโดยวิธีทางโครมาโทกราฟีสามารถแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสิ่งสกัดได้ 3 ชนิด ซึ่งเมื่อวิเคราะห์โครงสร้างด้วยวิธีทางสเปคโตรสโคปี พบว่า มีสารใหม่ 1 ชนิดในกลุ่มของ labdane diterpene คือ 15-ethoxy-8 (17), 12-labdadien-15,16,olide และสารอีก 2 ชนิด คือ สารในกลุ่ม norlabdane diterpene คือ 15,16-bisnorlabda-8 (17), 11-dien-13-one และของผสมในกลุ่ม steroid คือ 3-sitosterol และ stigmasterol อนึ่งได้ทำการแก้ไขการกำหนดค่า chemical shift ของคาร์บอนและโปรตอนของ 15, 16-bisnorlabda-8 (17), 11-dien-13-one ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้นสำหรับน้ำมันระเหยซึ่งวิเคราะห์หาองค์ประกอบด้วยเครื่อง GC/MS พบองค์ประกอบทางเคมี 30 ชนิด ประกอบด้วยสารกลุ่ม monoterpene ในปริมาณสูงสุดถึงร้อยละ 97.46 ซึ่งสารที่พบมากที่สุด คือ myrcene (ร้อยละ 84.61) และ 3-phellandrene (ร้อยละ 6.63), trans-ocimene (ร้อยละ 3.85) ตามลำดับ นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านจุลชีพของน้ำมันระเหย พบว่ามีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา (กุลนาถ มากบุญ, 2543)

ภาพที่ 7. ลักษณะของเหง้าขมิ้นขาว
ที่มา : วุฒิพงษ์ ฮามวงศ์ (2554)

1.2.3.3 ขิง

ขิงมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zingiber officinale* Roscoe จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae และมีชื่อภาษาอังกฤษว่า Ginger มีชื่อเรียกแตกต่างกันตามท้องถิ่นต่าง ๆ เช่น จังหวัดเชียงใหม่ เรียก ขิงเผือก จังหวัดจันทบุรี เรียก ขิงแกลง ขิงแดง ชนเผ่ากะเหรี่ยงในจังหวัดแม่ฮ่องสอน เรียก สะเอ (พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ, 2545)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ขิงเป็นพืชล้มลุก มีแง่งใต้ดิน แง่งจะแตกแขนงออกมาคล้ายนิ้วมือ เนื้อในสีเหลืองแกมเขียว (ภาพที่ 8) ลำต้นที่อยู่เหนือดินงอกจากแง่งตั้งตรง ใบสีเขียวเรียวแคบ ปลายใบแหลม ดอกเป็นช่อขนาดเล็ก ก้านดอกสั้น ดอกสีเหลืองและจะบานจากโคนไปหาปลาย

เหง้าแก่สดของขิงรสหวานเผ็ดร้อน มีสรรพคุณ แก้ลมจุกเสียด แก้เสมหะ บำรุงธาตุ แก้คลื่นไส้ อาเจียน (สถาบันแพทย์แผนไทย, 2545) นอกจากนี้เหง้าขิงมีน้ำมันหอมระเหยประมาณร้อยละ 0.5-4.4 ประกอบด้วย terpene, Zingiberine, cineol (รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2535) และมีสารที่มีฤทธิ์ลดการอักเสบ คือ gingerol และ shogoal (แสงไทย เค้าภูไทย, 2545)

รายงานการวิจัยเกี่ยวกับขิงที่ผ่านมาให้ความสนใจเกี่ยวกับการนำขิงมาต้านอนุมูลอิสระ ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ดังนี้

Zaeoung (2004) ศึกษาผลของตัวทำละลายและวิธีการสกัด ต่อปริมาณผลได้และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของขิง โดยแบ่งออกเป็นสารสกัดขิงสดโดยใช้เมทานอล หรือน้ำเป็นตัวทำละลายและสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยการกลั่นโดยใช้น้ำ พบว่าสารสกัดจากขิงโดยใช้เมทานอล น้ำและการกลั่นด้วยน้ำ ได้ปริมาณสารสกัด เท่ากับร้อยละ 2.60, 1.90 และ 0.10 โดยน้ำหนักตามลำดับ เมื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH รายงานค่าในรูปร้อยละของการยับยั้ง (% inhibition) พบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอลมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำ และน้ำมันหอมระเหย ซึ่งมีร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ 86.60, 61.50 และ 4.10 ตามลำดับ และคำนวณค่า EC_{50} (Efficient concencentration, ปริมาณของสารตัวอย่างต่อ 1 มล. (ของสารละลาย DPPH และสารละลายตัวอย่าง) ที่ไปลดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลงร้อยละ 50 จากความเข้มข้นของสารละลาย DPPH เริ่มต้น) ของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอล ได้เท่ากับ 35.60 มก./มล. เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานบีเอชที (BHT) มีค่า EC_{50} เท่ากับ 8.20 มก./มล. เมื่อนำสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอลของขิงมาแยกสารสำคัญและทดสอบสมบัติการจับอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าค่า EC_{50} ของสาร [6]-shogaol, [6]-dehydrogingerdione และ [6]-gingrerol เท่ากับ 4.0, 4.4 และ 4.7 มก./มล. ตามลำดับ

Ekwenye และ Elegalam (2005) ได้ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดขิงและกระเทียม โดยสกัดเหง้าขิงและกระเปาะกระเทียมด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 และน้ำ นำสารสกัด ที่ได้มาทดสอบกับเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. typhi* ด้วยวิธี dics diffution ผลการทดลองพบว่าสารสกัดขิงและกระเทียมด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. typhi* ได้ โดยสารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดได้ดีกว่าสารสกัดจากกระเทียม ซึ่งสารสกัดจากขิงด้วยเอทานอล มีค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. typhi* เท่ากับ 75 มก./มล. ส่วนสารสกัดจากขิงด้วยน้ำสามารถยับยั้ง *S. typhi* แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ และสารสกัดจากกระเทียมที่สกัดด้วยน้ำไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ได้

Azu และ Onyeagba (2007) ได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหัวหอมและขิง โดยทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด คือ *E. coli, S. typhi* และ *B. subtilis* ด้วยวิธี cup-plate diffusion ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. typhi* ได้ และสารสกัดจากหัวหอมสามารถยับยั้งเชื้อ *S. typhi* ได้

ภาพที่ 8. ลักษณะของเหง้าขิง
ที่มา : มูลนิธิสุขภาพไทย (2545)

1.2.3.4 ข่า

ข่ามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Alpinia galangna* (L.) Willd. จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae ชื่อท้องถิ่นในภาคเหนือเรียก ข่าตาแดง ข่าหยวก และมีชื่อภาษาอังกฤษว่า Galangal, False galangal, Greater galaga

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข่า เป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปี สูงประมาณ 1.5-2 เมตร มีลำต้นใต้ดินเรียกว่าเหง้า(ภาพที่ 9) มีข้อและปล้องชัดเจน เลื้อยขนานพื้นผิวดินและแตกแขนงเป็นง่าม(รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2535) เหง้าหัวมีขนาดใหญ่สีขาว ลำต้นเทียมเหนือดินคือส่วนของกาบใบที่หุ้มซ้อนทับกันมีสีเขียวทรงกระบอกกลม ใบเป็นใบเดี่ยวแตกใบเวียนรอบต้นลักษณะใบรูปขอบขนานหรือรูปขอบขนานแกมรูปไข่ขอบใบเรียวและบางช่วงเป็นคลื่นตรงปลายยอด แกนกลางข้อมีขนและดอกช่อจะจัดอยู่ด้วยกัน ปลายใบเป็นติ่งแหลมหรือเรียวแหลม โคนใบเฉียงและสอบเรียวเข้าหาก้านใบ แผ่นใบ สีเขียวเข้มเป็นมัน ก้านใบสั้น ดอกออกเป็นแบบช่อกระจะ ตรงปลายยอดแกนกลางช่อมีขนและดอกช่อจะจัดอยู่ด้วยกันอย่างหลวมๆ ช่อที่ยังอ่อนจะมีใบประดับรูปไข่ ลักษณะเป็นกาบสีเขียวอมเหลืองหุ้มมิด ดอกสีขาวขนาดเล็ก กลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอดสั้นปลายแยกเป็นสามกลีบกลีบใหญ่มีริ้วสีแดง ผลลักษณะรูปทรงกระบอกหรือทรงรีขนาดเท่าเม็ดบัว ผลออกสีเขียวเมื่อแก่จะมีสีแดงอมส้มและภายในมีเมล็ดเล็ก ๆ สีดำ มีรสขมและเผ็ด (โชติอนันต์และคณะ, 2551)

สรรพคุณของข่าช่วยขับลมแก้ท้องอืดท้องเฟ้อ ท้องเดินและบรรเทาอาการคลื่นไส้อาเจียน รักษาโรคผิวหนัง กลากเกลื้อนและแก้ลมพิษ สารสกัดจากข่านำมาประกอบเป็นยารักษาโรคได้หลายชนิด เช่น ยารักษาแผลสด แก้โรคปวดบวมตามข้อ แก้โรคหลอดลมอักเสบ ยาธาตุและยาขับลม ใช้ไล่แมลง ผลข่ามีสรรพคุณคล้ายกับเหง้า คือ ใช้เป็นยาแก้ปวดท้อง ท้องร่วง ฆ่าเชื้อบิดและช่วยย่อยได้ (สำนักการแพทย์พื้นบ้าน, 2554) นอกจากนี้ข่ายังมีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ โดยพบสารออกฤทธิ์ คือ cineole, camphor และ eugenol นอกจากนี้ eugenol ซึ่งมีฤทธิ์ขับน้ำดี จึงช่วยย่ออาหารได้ ข่ามีสารออกฤทธิ์ คือ 1'-acetoxychavicol acetate, 1'-acetoxyeugenol acetate และ eugenol ช่วยลดการอักเสบและตำรับ ที่มีข่าเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ลดการอักเสบได้ สารออกฤทธิ์คือ 1'-acetoxychavicol acetate และ 1'-acetoxyeugenol acetate จึงช่วยยับยั้งแผลในกระเพาะอาหารได้ สารสกัดข่าด้วยไดเอทิลอีเทอร์- ปิโตรเลียมอีเทอร์และน้ำกลั่นสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *E.coli* ที่เป็นสาเหตุของอาการแน่นจุกเสียดท้องได้ โดยเหง้าข่าประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย (Essential oil) ในน้ำมันหอมระเหยประกอบด้วยสารชนิด cinnamate, cineol, eugenol camphor และ pinenses เป็นต้น น้ำมันหอมระเหยเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อราต่าง ๆ มีฤทธิ์ขับลม ต้านเชื้อแบคทีเรีย สารสกัดข่าด้วย น้ำกลั่น เมทานอล ไดคลอโรมีเทน เฮกเซนหรือแอลกอฮอล์ สามารถฆ่าเชื้อรา คือ *Microsporum gypseum,*

Trichophyton rubrum และ *Trichophyton mentagrophyte* ที่เป็นสาเหตุของโรคกลากเกลื้อนได้ โดยพบว่า 1'-acetoxychavicol acetate และ 1'-acetoxyeugenol acetate เป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อรา (จิตระพี บัวผัน, 2548)

ข่าจัดเป็นผักพื้นบ้านที่มีการนำมาประกอบอาหารเป็นเครื่องเทศและใช้เป็นยารักษาโรคต่าง ๆ ได้ เนื่องจากประโยชน์ของข่ามีมากมายที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น ทำให้มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับข่าเพิ่มมากขึ้น ดังนี้

Oonmetta-aree และคณะ (2005) ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากข่า ขิง ขมิ้นขาว และกระชาย โดยนำเหง้าสดของพืชดังกล่าวมาหั่นและอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นบดให้เป็นผงแล้วสกัดด้วยเอทานอลนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบการยับยั้ง *S. aureus* และ *E. coli* โดยวิธี agar disc diffusion ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากข่าสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Minimum inhibitory concentration : MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum bactericidal concentration : MBC) เท่ากับ 0.325 และ 1.300 มก./มล. ตามลำดับ อีกทั้งยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ เติบโตของยีสต์ได้อีกด้วย

Eric และคณะ (2011) ได้ศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจาก พืชตระกูลขิง ได้แก่ ใบและเหง้าของข่าและขมิ้น ใบและดอกดาหลา โดยสกัดด้วยเมทานอล จากนั้นนำสารสกัดมาทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus, Micrococcus luteus* และ *B. cereus* โดยใช้วิธี Disc diffusion ซึ่งพบว่าสารสกัดจากเหง้าข่าสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *B. cereus* ได้ดีที่สุด ซึ่งมีค่าปริมาณต่ำสุดที่สามารถยับยั้งได้ (minimum inhibitory dose : MID) เท่ากับ 0.50 และ 1.00 มก./แผ่นกระดาษกรอง ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากขมิ้นสามารถยับยั้งเชื้อ *M. luteus* และ *B. cereus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MID เท่ากับ 0.13 มก./แผ่นกระดาษกรอง

ภาพที่ 9. ลักษณะของเหง้าข่า
ที่มา : สำนักการแพทย์พื้นบ้าน (2554)

1.2.4 แบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัส

เนื่องจากการติดเชื้อแบคทีเรีย เชื้อสามารถเข้าสู่ร่างกายได้หลายวิธี เช่น การรับประทานอาหารที่มีเชื้อ การหายใจเอาอากาศที่มีเชื้อโรคเข้าไป รวมถึงการสัมผัสเชื้อโรคจากพื้นผิวต่าง ๆ แล้วนำมาสัมผัสกับร่างกายหรืออาหารแล้วรับประทานเข้าไป ก็ทำให้เกิดการติดเชื้อได้ ดังนั้นพื้นผิวสัมผัสต่าง ๆ อาจเป็นแหล่งแพร่เชื้อโรคได้ ซึ่งเชื้อโรคอาจถูกแพร่จากผู้ติดเชื้อโดยตรงหรือนำมาโดยตัวกลางหรือพาหะอื่น ๆ เช่น ลม น้ำ และแมลง เป็นต้น เชื้อก่อโรคที่มักพบบนพื้นผิวสัมผัสมักพบได้หลายชนิด ตัวอย่างเช่น เชื้อ *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* เป็นต้น (Nandanlal *et al*., 2007)

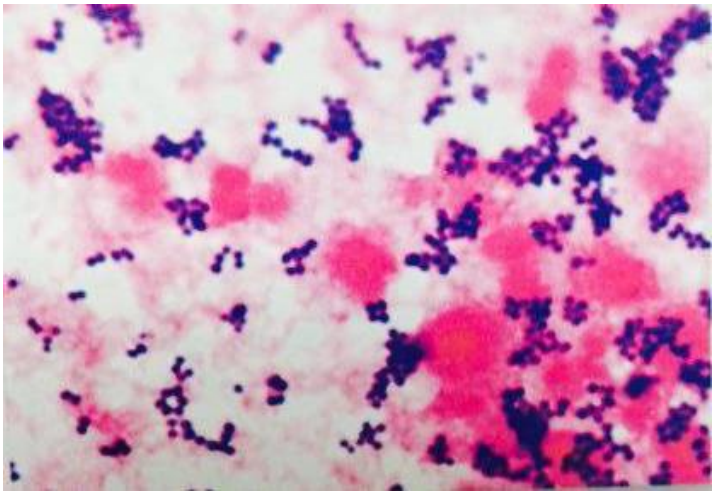
1.2.4.1 *Staphylococcus aureus*

S. aureus เป็นแบคทีเรียรูปร่างทรงกลมติดสีแกรมบวก มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 ไมโครเมตร เรียงตัวเป็นกลุ่ม ๆ ทำให้ดูเหมือนพวงองุ่น แต่จะพบเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ และเป็นสายสั้น ๆ (โดยมากไม่เกิน 4 เซลล์) อยู่ปะปนด้วยเสมอ (ภาพที่10) เชื้อนี้ไม่สร้างสปอร์ไม่เคลื่อนไหว ส่วนใหญ่ไม่มีแคปซูล (Chambers, 2001) ให้ผลบวกในการทดสอบ catalase และในภาวะที่

ไม่มีออกซิเจนจะสลายน้ำตาลให้กรด การติดต่อของเชื้อมาสู่คน ติดต่อโดยการรับประทานหรือดื่มน้ำที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไปประมาณ 1-6 ชั่วโมง เนื่อง จากสารพิษไปออกฤทธิ์ที่เยื่อบุลำไส้ ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องและท้องเดิน ส่วนมาก ไม่มีไข้ ในรายที่รุนแรงอาจช็อคได้ แต่ส่วนใหญ่อาการจะดีขึ้นใน 8-24 ชั่วโมง โรคนี้มีลักษณะพิเศษซึ่งอาจใช้เป็นแนวทางในการวินิจฉัยได้ คือ มีประวัติเป็นพร้อม ๆ กันหลายคนและมีระยะฟักตัวสั้น อาการรุนแรงของ โรคขึ้นอยู่กับจำนวนสารพิษในอาหารที่รับประทานเข้าไป (ประภาวดี ติษยาธิคม, 2550) เชื้อ *S. aureus* ที่ผลิตสารพิษส่วนใหญ่มักเป็นพวกที่สามารถสังเคราะห์เอนไซม์ coagulase ได้

แหล่งที่พบเชื้อ *S.aureus*เป็นเชื้อที่พบได้ตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกายมนุษย์ เช่น จมูก มือ แผลเรื้อรัง ผิวหนัง รวมทั้งเสื้อผ้า อากาศและฝุ่นละออง นอกจากนี้ ยังพบเชื้อ *S. aureus*ปนเปื้อนเครื่องโทรศัพท์สาธารณะในโรงพยาบาล บริเวณหมายเลยมือจับ ที่ฟังและที่พูดซึ่งหากมีการสัมผัสในบริเวณที่ปนเปื้อนเชื้อโรคดังกล่าวจะทำให้เกิดการเจ็บป่วยได้ (กุณฑีรา อุปมนต์, 2544)

Ekhaise และคณะ (2008) ทำการศึกษาปริมาณของจุลินทรีย์ในอากาศภายในโรงพยาบาลของกรุงเบอนิน ประเทศไนจีเรีย จำนวน 2 แห่ง คือ โรงพยาบาลกลางของกรุงเบอนินและ ศูนย์การแพทย์ Faith เพื่อใช้อ้างอิงในการกำหนดค่ามาตรฐานปริมาณของจุลินทรีย์ในอากาศภายใน โรงพยาบาล ในการตรวจนับปริมาณแบคทีเรียและรา การเก็บตัวอย่างจะใช้เทคนิค Settle plates เพื่อในแต่ละวันจะเก็บตัวอย่าง 3 ครั้ง ช่วงเช้าระหว่างเวลา 10:00 – 11:00 น. ช่วงบ่ายระหว่างเวลา 12:00 – 14:00 น. และช่วงเย็น ระหว่างเวลา 17:00 – 18:00 น. เปรียบเทียบช่วงเช้าและบ่ายและทำการจำแนกชนิดของจุลินทรีย์จะประกอบด้วย เชื้อรา 4 ชนิดและแบคทีเรีย 6 ชนิด โดยเชื้อราจำแนกได้ดังนี้ *Aspergillus Penicillum Mucor* และ *Fusarium* ส่วนเชื้อแบคทีเรียจำแนกได้เป็น *S. aureus Staphylococcus epidermidis E. coli P. aeruginosa Proteus mirabilis* และ *Klebsiella aerogenes* การแพร่กระจาย ของจุลินทรีย์มีค่าต่ำสุดในหอผู้ป่วยหญิงและห้องปฏิบัติการวิเคราะห์แบคทีเรียส่วนจะมีค่าสูงในห้องผ่าตัด

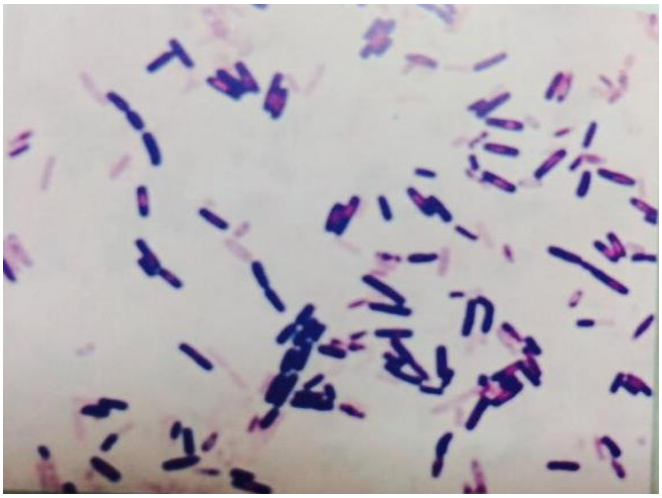


ภาพที่ 10. ลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus*
ที่มา : ภัทรชัย กีรติสิน (2549)

1.2.4.2 *Bacillus cereus*

B. cereus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างแท่ง เรียงตัวเป็นสายและสร้างเอนโดสปอร์(ภาพที่ 11) เจริญได้ดีทั้งสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน แหล่งที่อยู่อาศัยของเชื้อในธรรมชาติ ดิน น้ำ พืช และอาหาร (Schoeni and Lee Wong, 2005) *B. cereus* เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อสุขลักษณะ ความสะอาดของอาหาร น้ำและเครื่องดื่ม เพราะสามารถทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการของโรคอาหารเป็นพิษภายใน 8-16 ชั่วโมง และดำเนินต่อเนื่องจนถึง 12-24 ชั่วโมง โดยผู้ป่วยเกิดอาการ ได้ 2 แบบ คือ แบบอาการท้องร่วง (Diarrheal syndrome) ผู้ป่วยจะเป็นตะคริวที่ท้องทำให้มีอาการปวดท้องรุนแรงและมีอุจจาระเหลว เป็นน้ำ ไม่ค่อยมีอาการคลื่นไส้ อาเจียนและอีกแบบหนึ่งผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียนบางครั้งอาเจียนรุนแรงเป็นเชื้อที่สามารถอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้นานและเพิ่มโอกาสในการสัมผัสมากขึ้น

แหล่งที่พบเชื้อ *B. cereus* พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ในดิน ฝุ่นละออง ผลิตภัณฑ์จากพืช เช่น ข้าว ธัญพืช แป้ง ผลิตภัณฑ์จากแป้ง เครื่องเทศ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์และเครื่องปรุงรสต่าง ๆ ทำให้สามารถปนเปื้อนอาหารได้ง่ายเป็นเชื้อที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ (Helgason *et al*., 2000) ซึ่งคนสามารถรับเข้าสู่ร่างกายโดยการสัมผัสอาหาร ภาชนะที่ใส่อาหารและ โดยการสัมผัสจากอุปกรณ์หรือเครื่องมือที่ปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* เข้าสู่ร่างกายก่อให้เกิดการเจ็บป่วยได้



ภาพที่ 11. ลักษณะของเชื้อ *Bacillus cereus*
ที่มา : ภัทรชัย กีรติสิน (2549)

1.2.4.3 *Escherichia coli*

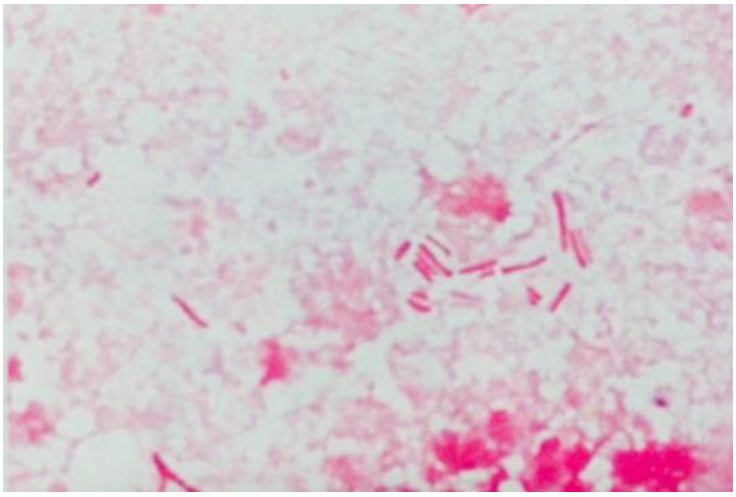
E. coli เป็นเชื้อจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีแหล่งอาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น อีกทั้งยังพบในสิ่งแวดล้อม เช่น น้ำ พืช อากาศและดิน *E. coli* เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae สกุล Escherichia เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่อยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม เชื้อ *E. coli* รูปร่างเป็นแท่ง ติดสีแกรมลบ (ภาพที่ 12) สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน เคลื่อนที่โดยใช้ Paritrichous flagella ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 10-40 องศาเซลเซียส โดยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 35-37 องศาเซลเซียส ก่อให้เกิดโรคเมื่อได้รับเชื้อภายใน 18-24 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการอุจจาระร่วงบ่อยครั้ง อุจจาระเป็นมูกเลือด ปวดท้อง มีอาการซีด เนื่องจากสารพิษของเชื้อไปทำลายเม็ดเลือดแดง จึงเกิดภาวะไตวายได้ แต่ผู้ติดเชื้อบางรายอาจไม่แสดงอาการของโรคแต่สามารถถ่ายทอดเชื้อให้ผู้อื่นได้ (อรอนงค์ รัชตราเชนชัย, 2556)

แหล่งที่พบเชื้อ *E. coli* มักพบเชื้อนี้ปนเปื้อนในวัตถุดิบที่นำมาผลิต พนักงาน แมลงสัตว์กัดแทะ อุปกรณ์ต่าง ๆ น้ำและน้ำแข็งที่ใช้ในกระบวนการผลิต และนอกจากนี้มีรายงานการวิจัยที่ได้มีการศึกษาเชื้อ *E. coli* ในโรงพยาบาล ดังนี้

Rosas และคณะ (1997) ทำการศึกษาเชื้อ *E.coli* ในฝุ่น (Settled-dust) ในอาคารและนอกอาคาร ในประเทศแมกซิโก พบเชื้อ *E.coli* ถึงร้อยละ 41 ของตัวอย่าง ซึ่งพบทั้งที่ก่อให้เกิดโรคและชนิดธรรมดา ผลจากการศึกษาครั้งนี้ ยังชี้ให้เห็นว่าการติดเชื้อในทางเดินอาหาร

ที่เกิดจากสายพันธุ์ในสิ่งแวดล้อม ดังนั้นเมื่อฝุ่นละอองเหล่านี้ไปเกาะติดสัมผัสกับวัตถุใด เมื่อมีการสัมผัสกับวัตถุนั้นก็จะเป็นการแพร่กระจายของเชื้อต่อไป

สมหวัง ด่านชัยวิจิตรและสมพร โชคลอยแก้ว (2532) ได้ศึกษาเชื้อโรคที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในโรงพยาบาล พบว่าเชื้อ *P. aeruginosa* เป็นสาเหตุอันดับหนึ่งในการติดเชื้อในโรงพยาบาล (ร้อยละ 22.0) รองลงมาคือ *E. coli* และ *Klebsiella* spp. (ร้อยละ 18.1 และ 14.0 ตามลำดับ) โรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* สามารถแพร่กระจายภายในโรงพยาบาลโดยบุคลากร อุปกรณ์ทางการแพทย์ ผิวหนัง น้ำยาฆ่าเชื้อ อาหาร โรคติดเชื้อนี้เป็นปัญหาที่รุนแรงมากในโรงพยาบาล เนื่องจากผู้ป่วยซึ่งมีอาการหนักอยู่แล้วจะเสียชีวิตเนื่องจากโรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* นอกจากนี้ยังดื้อต่อยาปฏิชีวนะทำให้ยากต่อการรักษา

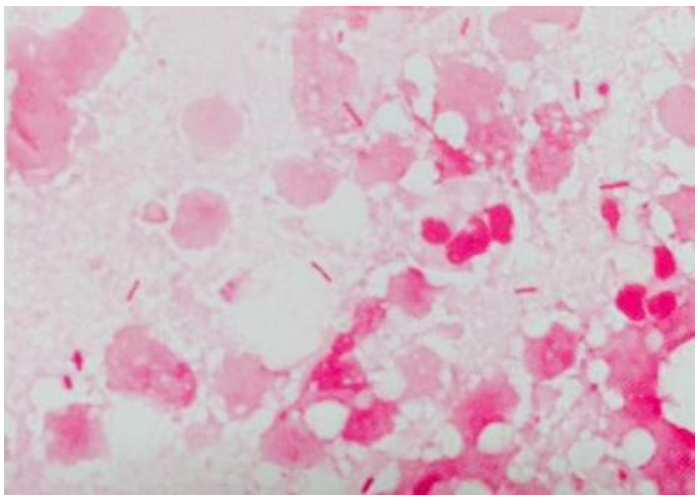


ภาพที่ 12. ลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli*
ที่มา : ภัทรชัย กีรติสิน (2549)

1.2.4.4 *Pseudomonas aeruginosa*

แบคทีเรียชนิดนี้เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง เป็นแบคทีเรียในวงศ์ *Pseudomonadaceae* สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้ flagellum 1 เส้น ที่ติดอยู่บริเวณขั้วเซลล์ (ภาพที่ 13) ปกติจะพบกระจายในดิน น้ำ ขยะหรือในพืชและเป็น normal flora ในลำไส้คน เช่น *Pseudomonas* สามารถทำให้เกิดโรคในคนได้ รวมทั้งสัตว์ โรคติดเชื้อ *P. aeruginosa* ก็มีอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยสูง โดยเฉพาะการติดเชื้อในกระแสเลือดและการติดเชื้อที่ปอด

แหล่งที่พบเชื้อ *P. aeruginosa* ค่อนข้างทนต่อการทำลายด้วยสารเคมีมากกว่าเซลล์แบคทีเรียปกติทั่วๆ ไป โดยเฉพาะในที่ ๆ มีความชื้น บางครั้งพบเป็น Normalmicrobiota ในลำไส้หรือบนผิวหนัง ในโรงพยาบาลอาจพบเชื้อได้ตามอ่างล้างหน้า เครื่องช่วยหายใจ เครื่องทำความชื้น (พิไลพรรณ, 2531) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ศึกษาความชุกของการแพร่กระจายของเชื้อ *S. aureus* และ เชื้อ *P. aeruginosa* จากอากาศภายในอาคารของโรงพยาบาลในเมืองมันดะ ประเทศอินเดีย โดยทำการเก็บตัวอย่างจำนวน 8 ครั้ง ตั้งแต่เดือนกันยายน 1997 ถึงเดือนมิถุนายน 1999 ผลการศึกษาพบว่า เชื้อที่ตรวจพบมาจากทางเดินหายใจและลำคอของผู้ป่วยที่ไอ จาม และ ติดอยู่บริเวณต่าง ๆ เช่น เตียง พื้น และอุปกรณ์ต่าง ๆ ในโรงพยาบาล ซึ่งอนุภาคที่ฟุ้งกระจายนี้เป็นสาเหตุหลักของการติดเชื้อในโรงพยาบาล และจำนวนผู้ป่วยจะมีผลโดยตรงต่อปริมาณเชื้อที่ตรวจพบ (Nandanlal *et al.*, 2007)



ภาพที่ 13. ลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*
ที่มา : ภัทรชัย กีรติสิน (2549)

1.3 วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชตระกูลขิงที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัส

2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากพืชตระกูลขิงบางชนิดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัส

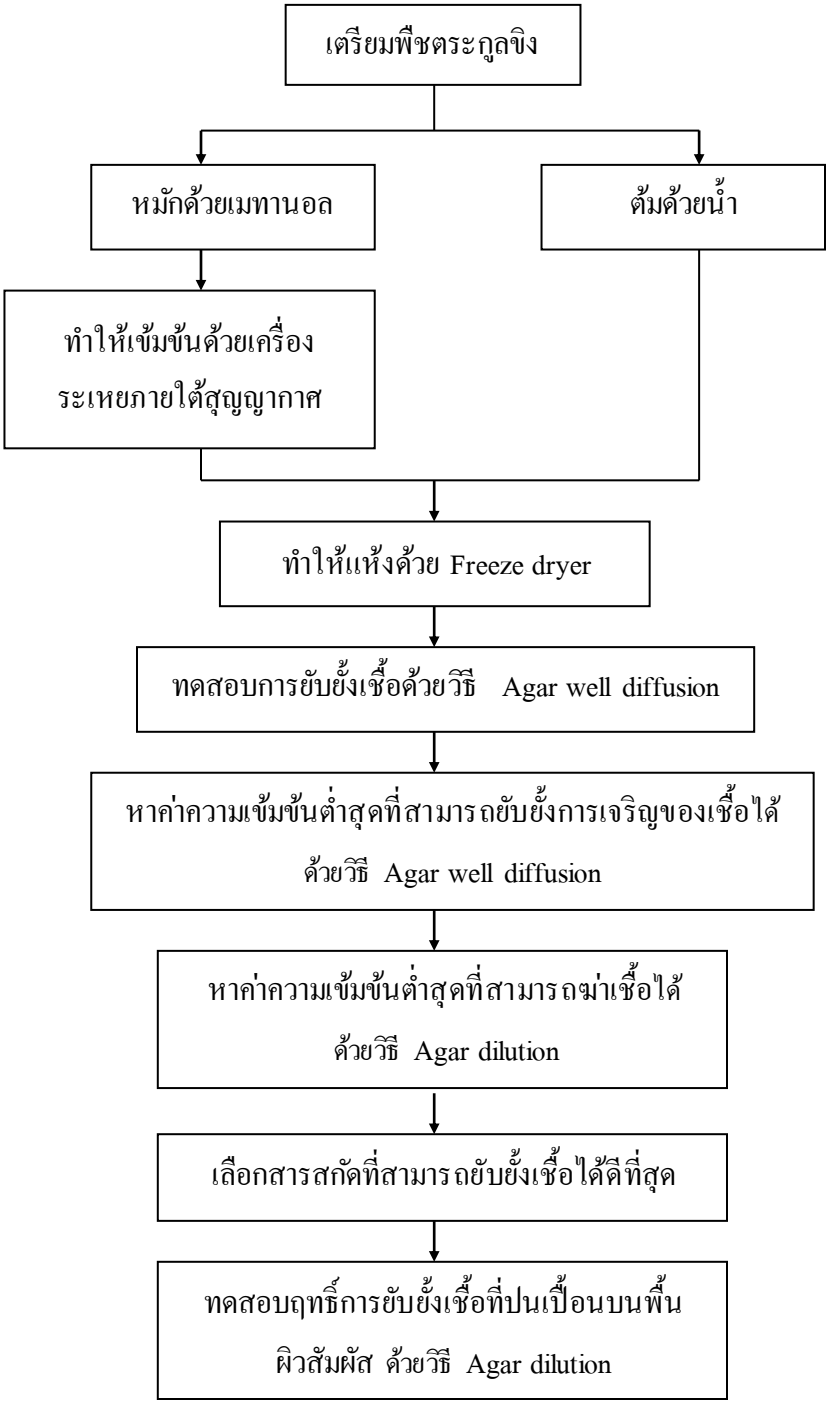
1.4 ความสำคัญและประโยชน์ของการวิจัย

1. ได้สารสกัดจากพืชตระกูลขิงที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัสได้ดีที่สุด

2. ได้ค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัสได้

3. เป็นแนวทางในการใช้สารสกัดจากพืชในการพัฒนาเป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเพื่อลดการใช้สารเคมีในอนาคต

1.5 กรอบแนวคิดงานวิจัย



ภาพที่ 14. กรอบแนวคิดงานวิจัย

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

2.1 วัสดุและอุปกรณ์

วัสดุที่ใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ประกอบด้วย ตัวอย่างพืช เชื้อที่ใช้ทดสอบ อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย สารเคมีและวัสดุ รวมถึงเครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ มีรายละเอียดดังนี้

2.1.1 ตัวอย่างพืช

1. ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe)
2. ข่า (*Alpinia galangna* (L.) Willd.)
3. ขมิ้นขาว (*Curcuma mangga* Val & Zijp.)
4. กระชาย (*Boesebergia rotunda* (L.) Mansf.)

ข่า กระชาย และขมิ้นขาว เก็บตัวอย่างสดจากอำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี และขิงซื้อในรูปขิงสดจากตลาดสดเทศบาลเมืองสุราษฎร์ธานี อำเภอเมืองสุราษฎร์ธานี จังหวัดสุราษฎร์ธานี

2.1.2 เชื้อที่ใช้ทดสอบ

1. *Staphylococcus aureus (S. aureus)* ATCC25923
2. *Bacillus cereus (B. cereus)* TISTR687
3. *Escherichia coli (E. coli)* ATCC25922
4. *Pseudomonas aeruginosa (P. aeruginosa)* ATCC27853

ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

2.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Nutrient Agar (NA) (Himedia, India)
2. Muller Hinton Broth (MHB) (Difco, France)

2.1.4 สารเคมีและวัสดุ

1. Methanol (MeOH)	(J.T. Baker, U.S.A.)
2. Dimethylsulfoxide (DMSO)	(Merck, Germany)
3. NaCl	(Merck, Germany)
4. กระดาษกรอง	(whatman, England)

2.1.5 เครื่องมือ

1. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)
2. ตู้อบอุณหภูมิสูง (Hot air oven)
3. ตู้เลี้ยงเชื้อ (Incubator)
4. เครื่องชั่งอย่างละเอียด (Analytical Balance)
5. เครื่องระเหยภายใต้สูญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator)
6. ไมโครปิเปต (Micropipette)
7. ที่เจาะจุกคอร์ก (Cork borer)

2.2 วิธีดำเนินการวิจัย

2.2.1 การสกัดหยาบจากตัวอย่างพืช

งานวิจัยนี้ได้สกัดสารจากพืชตระกูลขิง ได้แก่ขิง ข่า กระชาย และขมิ้นขาวโดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำและเมทานอล (จิราภรณ์ บุราครและเรือนแก้ว ประพฤติ, 2555)

2.2.1.1 การสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

นำเหง้าสดของขิง ข่า กระชายและขมิ้นขาว มาล้างให้สะอาดผึ่งให้แห้ง และนำมาหั่นให้มีขนาดเล็กโดยไม่ปอกเปลือก มาอย่างละ 20 กรัม เติมน้ำ 30 มล. สกัดด้วยน้ำ (อัตราส่วนพืชตระกูลขิงต่อน้ำเท่ากับ 2 ต่อ 3) นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง สกัดด้วยวิธีการ reflux กรองด้วยผ้าขาวบางแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 นำสารละลายที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freez dry จะได้สารสกัดในรูปสารสกัดหยาบ (Crude extract) แห้ง เก็บตัวอย่างที่จะใช้ทดสอบในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.2.1.2 การสกัดโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย

นำเหง้าสดของขิง ข่า กระชายและขมิ้นขาว มาล้างให้สะอาดผึ่งให้แห้ง และนำมาหั่นให้มีขนาดเล็กโดยไม่ปอกเปลือก อย่างละ 500 กรัม สกัดโดยแช่ในเมทานอล 1,000 มล. (อัตราส่วนพืชตระกูลขิงต่อเมทานอลเท่ากับ 1 ต่อ 2) หมักที่อุณหภูมิห้อง นำไปเขย่าด้วยเครื่อง

เขย่า ความเร็วรอบ 100 นาที เป็นเวลา 7 วัน นำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 เพื่อแยกส่วนตัวอย่างพืชออก แล้วนำสารละลายทั้งหมดทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยภายใต้สูญญากาศได้สารข้นหนืด ทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freez dry จะได้สารสกัดในรูปสารสกัดหยาบ (Crude extract) แห้ง เก็บตัวอย่างที่จะใช้ทดสอบในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.2.2 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัด ด้วยวิธี Agar well diffusion

2.2.2.1 การเตรียมสารสกัด

เตรียมสารสกัดที่จะใช้ทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 100, 200 และ 300 มก./มล. โดยนำส่วนสารสกัดหยาบมาละลายด้วย Dimethylsulfoxide (DMSO) และทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองผ่านเยื่อกรองที่มีรู 0.45 ไมโครเมตร

2.2.2.2 แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดสอบ

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบแบ่งเป็น แบคทีเรียแกรมบวก 2 สายพันธุ์ คือ *Staphylococcus aureus* ATCC25923 และ *Bacillus cereus* AISTR687 แบคทีเรียแกรมลบ 2 สายพันธุ์ คือ *Escherichia coli* ATCC25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853

2.2.2.3 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียเพื่อทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์เบื้องต้น

เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลือกเขี่ยเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด 2-3 โคโลนี ใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุอาหาร Muller Hinton Broth (MHB) ปริมาตร 5 มล. นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง เตรียมเชื้อที่มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard ซึ่งมีความเข้มข้นแบคทีเรียประมาณ 1.5×10^8 ซีเอฟยู/มล. จากนั้นจุ่มไม้พันสำลีปราศจากเชื้อจุ่มลงในเชื้อที่เตรียมไว้ นำมาเกลี่ยบนอาหาร NA ที่เตรียมไว้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยในการป้ายให้ทั่วผิวหน้าอาหาร การป้ายให้ป้ายแบบ 3 ระนาบ และทิ้งให้ผิวหน้าอาหารแห้ง จากนั้นเจาะหลุมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 มล. ด้วยที่เจาะจุกคอร์ก แล้วเติมสารสกัดความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล. ลงในหลุมหลุมละ 50 ไมโครลิตร โดยใช้ยาปฏิชีวนะคลอแรมฟีนิคอลเป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) และ DMSO เป็นชุดควบคุมเชิงลบ (Negative control) ทำการทดลองแต่ละตัวอย่าง 3 ซ้ำ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยวัดขนาดบริเวณวงใสที่เกิดขึ้นรอบหลุมอาหารเลี้ยงเชื้อ (inhibition zone) หน่วยเป็นมิลลิเมตร

2.2.3 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ ด้วยวิธี Agar well diffusion

2.2.3.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

เลี้ยงเชื้อในอาหาร MHB 5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นำเชื้อมาปรับปริมาณโดยเทียบความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard (เชื้อแบคทีเรียประมาณ 1.5×10^8 ซีเอฟยู/มล.) จากนั้นใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อจุ่มลงในเชื้อที่เตรียมไว้ นำมาเกลี่ยบนอาหาร NA ที่เตรียมไว้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหาร โดยการป้ายให้ป้ายแบบ 3 ระนาบ และทิ้งให้ผิวหน้าอาหารแห้งประมาณ 3-5 นาที จากนั้นเจาะหลุมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 มม. ด้วยที่เจาะจุกคอร์ก

2.2.3.2 การเตรียมสารสกัดสำหรับทดสอบ

เลือกสารสกัดที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุดจากผลการทดลองในข้อ 2.2 มาทดสอบหาค่า MIC โดยให้ความเข้มข้นเริ่มต้น 300, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.57 และ 0.78 มก./มล. โดยนำส่วนของสารสกัดหยาบมาละลายด้วย DMSO และทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองผ่านเยื่อกรองที่มีขนาดรู 0.45 ไมโครเมตร

2.2.3.3 การทดสอบ หาค่า MIC

นำสารสกัดที่เตรียมไว้ในข้อ 2.3.2 ลงในหลุมของจานอาหารที่ได้เตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบในข้อ 2.3.1 หลุมละ 50 ไมโครลิตร หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตผลการทดลอง โดยถ้ามีวงใสเกิดขึ้นแสดงว่าสารสกัดสามารถยับยั้งเชื้อได้และถ้าไม่มีวงใสแสดงว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้

2.2.4 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ ด้วยวิธี Agar dilution

นำสารสกัดที่มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ให้วงใสทุกความเข้มข้น โดยนำสารสกัดใส่ลงในหลอดทดลองที่ได้เตรียมเชื้อนำเชื้อมาปรับปริมาณโดยเทียบความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard (เชื้อแบคทีเรียประมาณ 1.5×10^8 ซีเอฟยู/มล.) นำมา spread ลงบนอาหาร NA 0.01 มล. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และอ่านผลโดยถ้าเชื้อเจริญบนอาหารมากกว่าร้อยละ 95 ถือว่าความเข้มข้นนั้นไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ แต่ถ้าเจริญบนอาหารน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 5 ถือว่าความเข้มข้นนั้นสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้เป็นค่า MBC

2.2.5 การทดสอบการยับยั้งเชื้อบนพื้นผิวสัมผัสด้วยสารสกัดจากพืชตระกูลขิง

2.2.5.1 เก็บตัวอย่างเชื้อบริเวณพื้นผิวลูกบิดประตู ปุ่มกดลิฟต์ และเคาเตอร์ผู้ป่วยนอก เป็นเวลา 1 เดือน สัปดาห์ละ 1 วัน ทุกวันจันทร์ เป็นจำนวน 4 ครั้ง โดยวิธีการ swab test (FDA/BAM, 1995)

1) ใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อจุ่มในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 (0.85% NaCl) (ภาคผนวก ข) ปริมาณหลอดละ 5 มล. จำนวน 3 หลอด หลอดที่ 1, 2 และ 3 โดยนำไม้พันสำลี swab บริเวณ พื้นผิวลูกบิดประตู ปุ่มกดลิฟต์และเคาเตอร์ผู้ป่วยนอก ตามลำดับ เสร็จแล้วใช้ไม้พันสำลีจุ่มลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 หลอดเดิม แล้วกดไม้ swab กับผิวด้านในของหลอดทดลอง

2) เขย่าหลอดทดลองที่เก็บตัวอย่างจากพื้นผิวตัวอย่าง นาน 2 นาที ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายขึ้นมา 0.1 มล. ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่เตรียมไว้ ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยสารละลายให้ทั่วผิวหน้าอาหาร ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมานับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียทั้งหมดเพื่อเลือกบริเวณพื้นผิวที่พบเชื้อแบคทีเรียมากที่สุดมาทดสอบด้วยสารสกัดจากพืชตระกูลขิง

2.2.5.2 การทดสอบการยับยั้งเชื้อบนพื้นผิวสัมผัสด้วยสารสกัดจากพืชตระกูลขิง

1) ใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อจุ่มในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ หลอดละ 5 มล. นำไม้พันสำลี swab บริเวณพื้นผิวที่พบเชื้อแบคทีเรียมากที่สุด ในข้อ 2.5.1 เขย่าหลอดทดลองที่เก็บตัวอย่างจากพื้นผิวตัวอย่าง แรง ๆ นาน 2 นาทีแล้วนำไม้พันสำลีออก ปรับปริมาตรด้วยโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 ให้ได้ 5 มล.

2) ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายขึ้นมา 0.1 มล. มา spread plate ลงบนผิวหน้าอาหาร NA ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3) นำสารสกัดจากพืชที่ต้องการทดสอบใส่ลงในสารละลายที่เหลือปรับความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 200, 100 และ 50 มก./มล. บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5, 10, 15, 30, 60, 120 และ 180 นาที จากนั้นนำมา spread plate ลงในอาหาร NA (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียทั้งหมด เพื่อหาปริมาณการรอดชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์

2.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำมาข้อมูลที่ได้จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัด ข้อ 2.2 มาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย (Analysis of Variance : ANOVA) แต่ละชุดการทดลองโดยวิธี DMRT

บทที่ 3

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 การสกัดสารจากพืชตระกูลขิง

นำตัวอย่างจากพืชตระกูลขิง 4 ชนิด ได้แก่ ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) ข่า (*Alpinia galangna* (L.) Willd.) กระชาย (*Boesebergia rotunda* (L.) Mansf.) และขมิ้นขาว (*Curcuma manga* Val & Zijp) มาสกัดด้วยน้ำและเมทานอล พบว่าสารสกัดที่ได้มีลักษณะแตกต่างกัน สารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำโดยวิธีการ reflux และทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freez dry มีลักษณะเป็นผงแห้ง มีน้ำหนักแห้งตั้งแต่ 2.15-5.12 กรัม โดยที่สารสกัดจากข่ามีปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือ กระชาย ขมิ้นขาวและขิง ตามลำดับ ส่วนการสกัดด้วยเมทานอลโดยวิธีการหมักแล้วนำมาทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยภายใต้สูญญากาศจะได้สารข้นหนืด เมื่อนำมาทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freez dry จะได้สารสกัดที่มีลักษณะหนืด มีของเหลวสีน้ำตาลปนอยู่เล็กน้อย มีน้ำหนักแห้ง 6.12-8.43 กรัม สารสกัดจากข่ามีปริมาณมากที่สุด รองลงมา คือ กระชาย ขิงและขมิ้นขาว ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ลักษณะและน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบ ขิง กระชาย ข่า และขมิ้นขาว ที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำและเมทานอล

สารสกัด	สกัดด้วยน้ำ		สกัดด้วยเมทานอล	
	ลักษณะของสารสกัด	น้ำหนักแห้ง(กรัม)	ลักษณะของสารสกัด	น้ำหนักแห้ง(กรัม)
ขิง	จับตัวเป็นผงแห้ง สีน้ำตาลเข้ม	2.15	หนืด สีเหลืองปนน้ำตาล มีของเหลวสีน้ำตาลเล็กน้อย	7.64
กระชาย	เป็นผงแห้ง เหลืองปนน้ำตาล	3.06	หนืด สีน้ำตาล มีของเหลวสีน้ำตาลเล็กน้อย	7.68
ข่า	เป็นผลแห้ง สีน้ำตาล	5.12	หนืดสีน้ำตาลเข้มมีของเหลวสีน้ำตาลเล็กน้อย	8.43
ขมิ้นขาว	เป็นผงแห้ง สีน้ำตาลเข้ม	2.68	หนืด สีดำเข้มปนน้ำตาล	6.12

3.2 ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชตระกูลขิง

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลและน้ำของพืชตระกูลขิง คือ ขิง ข่า กระชาย ขมิ้นขาว โดยทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้ แก่ *P. aeruginosa* ATCC27853, *E. coli* ATCC25922, *B. cereus* TISTR687 และ *S. aureus* ATCC25923 ด้วยวิธี Agar well diffusion (ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4 5 6 และ 7) พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้ โดยสารสกัดขิงและข่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้ทุกชนิด สารสกัดกระชายสามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853, *B.* cereus TISTR687 และ *S. aureus* ATCC25923 ได้ สารสกัดขมิ้นขาวสามารถยับยั้งเชื้อ *B.* cereus TISTR687 และ *S. aureus* ATCC25923 ได้ ส่วนสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน คือ 100, 200 และ 300 มก./มล. ซึ่งจากงานวิจัยของ Onyeagba และคณะ (2004) ได้ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดสารจากขิงแห้ง พบว่าสารสกัดที่ได้ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* เช่นกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารออกฤทธิ์ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียในขิง ข่า กระชายและขมิ้นขาวเป็นสารที่ไม่มีขั้วจึงไม่ละลายในน้ำ ดังนั้นเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดสาร สารสกัดที่ได้จึงไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบได้

ตารางที่ 4 บริเวณยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ของสารสกัดขิง ข่า ขมิ้นขาวและกระชายที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

ความเข้มข้นของสารสกัด (มก/มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (mean ± SD ; มม.)			
	สารสกัดขิง	สารสกัดข่า	สารสกัดขมิ้นขาว	สารสกัดกระชาย
100	11.33 ± 0.58a	9.33 ± 0.58a	-	-
200	11.67 ± 0.58a	9.67 ± 0.58a	-	-
300	12.67 ± 0.58a	10.67 ± 0.58b	-	9.00 ± 0.00c

หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม., - คือ ไม่เกิดวงใสการยับยั้งเชื้อ
แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± S.D. , n=3)
ค่าเฉลี่ยที่แสดงในแนวนอนที่มีอักษรแตกต่างกัน (a>b>c) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$) ที่ความเข้มข้นระดับเดียวกันของขนาดวงใสการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดต่างชนิดกัน

จากผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ของสารสกัดเมทานอลจากขิง ข่า และกระชาย (ตารางที่ 4) พบว่าที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล. สารสกัดจากขิงและข่าสามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ได้โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 11.33-12.67 และ 9.33-10.67 มม. ตามลำดับ สารสกัดกระชายสามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ได้ที่ความเข้มข้น 300 มก./มล. เท่านั้น มีค่าเฉลี่ยวงใสการยับยั้ง เท่ากับ 9.00 มม. ส่วนสารสกัดจากขมิ้นขาวไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ได้ในทุกความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบ

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ของสารสกัดจากขิงและข่าที่ความเข้มข้น 100 และ 200 มก./มล. ไม่มีความแตกต่างกันแต่เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 300 มก./มล. พบว่าสารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ได้ดีกว่าสารสกัดจากข่าและกระชายตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณและ/หรือชนิดของสารออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันในสารสกัดของพืชทั้ง 3 ชนิด นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ของสารสกัดจากกระชายจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ เห็นได้จากเมื่อทดสอบการยับยั้งเชื้อที่ความเข้มข้น 100 และ 200 มก./มล. พบว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ได้ แต่เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 300 มก./มล. พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้ จากผลการทดสอบนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเมทานอลจากขิงสามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ได้ดีที่สุด

ในการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC25922 (ตารางที่ 5) พบว่าสารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ได้เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล. โดยมีค่าเฉลี่ยของบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 14.00-16.67 มม. สารสกัดจากข่าสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ได้ที่ความเข้มข้น 200 และ 300 มก./มล. มีค่าเฉลี่ยของบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 10.00 - 11.67 มม. ส่วนขมิ้นขาวและกระชายไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ได้ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า สารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ได้มากกว่าสารสกัดจากข่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อทดสอบการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ที่ความเข้มข้น 200 มก./มล. และ 300 มก./มล. จากผลการทดสอบนี้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากขิงที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ได้ดีที่สุด

ตารางที่ 5 บริเวณยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ของสารสกัดขิง ข่า ขมิ้นขาวและกระชายที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

ความเข้มข้นของสารสกัด (มก/มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (mean ± SD ; มล.)			
	สารสกัดขิง	สารสกัดข่า	สารสกัดขมิ้นขาว	สารสกัดกระชาย
100	14.00 ± 0.00	-	-	-
200	14.67 ± 0.58a	10.00 ± 1.00b	-	-
300	16.67 ± 0.58a	11.67 ± 0.58b	-	-

หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม., - คือ ไม่เกิดวงใสการยับยั้งเชื้อ แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± S.D. , n=3)
ค่าเฉลี่ยที่แสดงในแนวนอนที่มีอักษรแตกต่างกัน (a > b) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$) ที่ความเข้มข้นระดับเดียวกันของขนาดวงใสการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดต่างชนิดกัน

จากการศึกษาของ Suree และ Pana (2005) ได้ทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ด้วยสารสกัดหยาบจากกระชายที่สกัดด้วยเอทานอลโดยวิธี disc diffusion พบว่า สารสกัดหยาบจากกระชายไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ซึ่งผลการทดลองที่ได้ให้ผลเช่นเดียวกับผลการวิจัยในครั้งนี้ ซึ่งพบว่าสารสกัดเมทานอลจากกระชายไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารออกฤทธิ์ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้นั้นไม่สามารถถูกละลายได้ด้วยตัวทำละลายแอลกอฮอล์ที่ใช้ในการทดลอง คือ เอทานอลและเมทานอล

การทดสอบการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 (ตารางที่ 6) พบว่าสารสกัดจากขิง ข่า ขมิ้นขาว และกระชายสามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ได้ในทุกความเข้มข้นคือ 100, 200 และ 300 มก./มล. จากการวิเคราะห์ทางสถิติจะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้น 100 และ 200 มก./มล. สารสกัดจากขิง และกระชายมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ไม่แตกต่างกัน และสารสกัดจากข่าและขมิ้นขาวมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ไม่แตกต่างกันโดยสารสกัดจากขิง และกระชายมีความสามารถในการยับยั้ง *B. cereus* TISTR687 ได้ดีกว่าข่าและขมิ้นขาว

เมื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ของสารสกัดทุกชนิดที่ความเข้มข้น 300 มก./มล. พบว่าสารสกัดจากขิงและกระชายมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อไม่แตกต่างกัน และสามารถยับยั้งเชื้อ *B.cereus* TISTR687 ได้ดีกว่าข่าและขมิ้นขาว ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากการทดลองนี้จะเห็นได้สารสกัดเมทานอลของขิงและกระชาย สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ได้ดีที่สุด

ตารางที่ 6 บริเวณยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ของสารสกัดขิง ข่า ขมิ้นขาวและกระชายที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

ความเข้มข้นของสารสกัด (มก/มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (mean ± SD ; มล.)			
	สารสกัดขิง	สารสกัดข่า	สารสกัดขมิ้นขาว	สารสกัดกระชาย
100	13.67 ± 0.58a	10.00 ± 0.00b	10.33 ± 0.58b	14.33 ± 0.58a
200	14.17 ± 0.76a	11.17 ± 0.76b	10.83 ± 0.29b	14.67 ± 0.58a
300	14.67 ± 0.58a	12.67 ± 0.58b	11.33 ± 0.58c	15.17 ± 0.76a

หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม., - คือ ไม่เกิดวงใสการยับยั้งเชื้อ
แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± S.D. , n=3)
ค่าเฉลี่ยที่แสดงในแนวนอนที่มีอักษรแตกต่างกัน (a>b>c) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$) ที่ความเข้มข้นระดับเดียวกันของขนาดวงใสการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดต่างชนิดกัน

ในการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 (ตารางที่ 7) พบว่าสารสกัดจากขิง ข่า ขมิ้นขาว และกระชายสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 ได้ในทุกความเข้มข้นคือ 100, 200และ 300มก./มล. จากการวิเคราะห์ทางสถิติจะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้น 100 มก./มล. สารสกัดจากขิง และกระชายมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้ไม่แตกต่างกัน และสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 ได้ดีกว่าสารสกัดจากขมิ้นขาวและข่า ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ความเข้มข้น 200 มก./มล. พบว่าสารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 ได้ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากกระชาย และสารสกัดจากขมิ้นขาวและข่า ซึ่งสารสกัดจากขมิ้นขาวและข่า สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 ได้ไม่แตกต่างกัน ส่วนที่ความเข้มข้น 300 มก./มล. พบว่าสารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

ATCC25923 ได้ดีที่สุด รองลงมา คือสารสกัดจากกระชาย ส่วนสารสกัดจากขมิ้นขาวและกระชาย สามารถยับยั้งเชื้อได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 ต่ำที่สุด จากผลการทดสอบชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากขิงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 ได้ดีที่สุด

ตารางที่ 7 บริเวณยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 ของสารสกัดขิง ข่า ขมิ้นขาวและกระชายที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

ความเข้มข้นของสารสกัด (มก/มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (mean ± SD ; มล.)			
	สารสกัดขิง	สารสกัดข่า	สารสกัดขมิ้นขาว	สารสกัดกระชาย
100	15.17 ± 0.76 a	9.33 ± 0.58c	10.66 ± 0.58b	14.33 ± 0.58a
200	16.67 ± 0.58a	10.66 ± 0.58c	11.33 ± 0.58c	15.33 ± 0.58b
300	17.33 ± 0.58a	12.00 ± 0.00c	12.00 ± 0.00c	15.66 ± 0.58b

หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม., - คือ ไม่เกิดวงใสการยับยั้งเชื้อ แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± S.D. , n=3)
ค่าเฉลี่ยที่แสดงในแนวนอนที่มีอักษรแตกต่างกัน (a>b>c) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$) ที่ความเข้มข้นระดับเดียวกันของขนาดวงใสการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดต่างชนิดกัน

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากขิง ข่า กระชาย และขมิ้นขาว สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*B. cereus* TISTR687 และ *S. aureus* ATCC25923) ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ *(P. aeruginosa* ATCC27853 และ *E. coli* ATCC25922) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากสารออกฤทธิ์ในสารสกัดสามารถซึมเข้าไปในเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบจะมีผนังเซลล์ชั้นนอก (outer membrane) ซึ่งประกอบด้วยชั้นของ Murein ที่หนา จึงทำให้สามารถป้องกันสารยับยั้งไม่ให้เข้าสู่เซลล์ได้ (Martin, 1995) อีกทั้งชั้น lipopolysaccharide (LPS) ในเยื่อหุ้มชั้นนอกของแบคทีเรียแกรมลบมีคุณสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) สูง จึงสามารถป้องกันไม่ให้สารที่มีคุณสมบัติเป็นสารไฮโดรโฟบิกเข้าสู่เซลล์ได้ดี ในขณะที่สารประกอบที่มีคุณสมบัติเป็นสารไฮโดรโฟบิกสามารถผ่านเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบเนื่องจาก

ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกประกอบด้วยแปปติโดไกลแคน (Peptidoglycan) เท่านั้นจึงไม่สามารถป้องกันการเข้าสู่เซลล์ของสารยับยั้งได้ดีเท่าแบคทีเรียแกรมลบ

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าสารสกัดเมทานอลจากพืชตระกูลขิงสามารถออกฤทธิ์กว้างต้านการเจริญของเชื้อได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ซึ่งในการทดลองได้ทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *B. cereus* TISTR687 และ *S. aureus* ATCC25923 แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *E. coli* ATCC25922 และ *P. aeruginosa* ATCC27853

จากรายงานของ Azu และ Onyeagba (2007) พบว่าสารสกัดจากขิงสามารถต้านการเจริญของเชื้อ *B. subtilis, S. typhi* และ *E. coli* ได้ ซึ่งสารสกัดจากขิงประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยที่สำคัญ เช่น Zingiberal และ Zingiberene นอกจากน้ำมันหอมระเหยแล้วพบว่ายังมีสารในกลุ่มน้ำมันชัน (Oleo-resin) เช่น Shogaol และ Zingerol ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารที่ทำให้ขิงมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ จากการทดลองโดย Eric และคณะ (2011) ได้สกัดสารจากเหง้าและใบของข่า ขมิ้นและดอกดาหลา ซึ่งเป็นพืชตระกูลขิงด้วยเมทานอล แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดจากเหง้าของข่าสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *B. cereus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า minimum inhibitory dose (MID) เท่ากับ 0.05 และ 1.00 มก./แผ่นกระดาษกรอง จากการศึกษาของ Oonmetta-aree และคณะ (2005) ซึ่งได้ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากข่าขิง ขมิ้นขาว และกระชายสกัดด้วยเอทานอล นำสารสกัดที่ได้มาทดสอบการยับยั้ง *S. aureus* และ *E. coli* โดยวิธี agar disc diffusion ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากพืชทุกชนิดแสดงผลการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และสารสกัดจากข่าที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าสารสกัดจากพืชชนิดอื่นที่ใช้ในการทดลอง โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ เท่ากับ 0.325 และ 1.300 มก./มล. ตามลำดับ จากการทดลองนี้พบว่าในน้ำมันหอมระเหยจากข่าพบว่ามีสารประกอบหลัก คือ D, L-1'-ACA (76.49%) ซึ่งกลไกในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* นั้น พบว่าสารสกัดจากข่าจะทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ภายนอกของเชื้อ *S. aureus* แตกออกทำให้องค์ประกอบของเซลล์รั่วไหลออกมาและยังทำให้องค์ประกอบภายในเซลล์ตกตะกอนอีกด้วย นอกจากนี้สารสกัดจากข่ายังประกอบไปด้วยสาร Acetoxychavicol acetate (ACA), p-coumaryl diacetate, palmitic acid, acetoxyeugenol acetate, eugenol, β-bisabolene, β-farnesene และ sesquiphellandrene ซึ่งสารประกอบเหล่านี้จะไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งองค์ประกอบหลักของ ACA นั้นมีโครงสร้างเป็นเอสเทอร์ของกรดอะซิติก สารดังกล่าวจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงประจุของเยื่อหุ้มเซลล์ และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง pH ภายในเซลล์ส่งผลให้โปรตีนในเซลล์เสียสภาพ นอกจากนี้สารในกลุ่มเมทิลเอสเทอร์ ยังสามารถเข้าสู่เซลล์ผ่านทางเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีคุณสมบัติไฮโดรโฟบิกได้และหมู่คาร์บอกซิลจะสามารถข้าสู่เซลล์ผ่าน

ทางเซลล์เมมเบรนได้ดีส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลง pH ในภายในเซลล์ ทำให้โปรตีนในเซลล์เสียสภาพและเกิดการตกตะกอน

จากการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากขิง ข่ากระชายและขมิ้น ในการยับยั้ง *Listeria monocytogenes* สายพันธุ์ 101 (อาภากร สุภาพิพัฒน์ และจิตศิริ ราชตนะพันธุ์, 2550) ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่ปนเปื้อนในเนื้อไก่สดบรรจุสภาวะสุญญากาศแช่เย็นพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกระชายสามารถยับยั้งเชื้อชนิดนี้ได้ ซึ่งในน้ำมันหอมระเหยจากกระชายมีสารประกอบที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ได้แก่ camphor, 1,8 cineol, trans-geraniol, camphere และ methyl cinnamate (Thongson *et al*., 2005) ซึ่งในงานวิจัยนี้พบว่าสารสกัดเมทานอลจากกระชายสามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 และ *S. aureus* ATCC25923 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกได้เช่นเดียวกัน ดังนั้นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดกระชายในงานวิจัยนี้อาจเนื่องมาจากสารประกอบเช่นเดียวกับงานวิจัยข้างต้นจึงมีผลให้สารสกัดจากกระชายสามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 และ *S. aureus* ได้

ในการศึกษาของ อุทุมพร ทองอินทร์ (2541) ซึ่งได้ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *Seratia marcescens* ด้วยวิธี TLC-Bioassay พบว่าสารสกัดหยาบกระชายซึ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้ โดยพบว่าสารต้านแบคทีเรียที่พบในกระชายประกอบด้วย cis-9-octadecan, 1-octadecence และ pinostobin chachone และมีสารที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ คือ Pinostrobin chalcone และ N-virylpyrolidone ซึ่งจากการที่สารสกัดจากกระชายในงานวิจัยนี้สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ได้นั้น อาจเนื่องมาจากสารประกอบในน้ำมันกระชายดังกล่าวสามารถถูกสกัดออกมาได้ด้วยเมทานอล ทำให้สารสกัดที่ได้ในการทดลองนี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ที่นำมาทดสอบได้ นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Eric และคณะ (2011) ซึ่งได้ศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชตระกูลขิง ได้แก่ ใบและเหง้าของข่าและขมิ้น ใบและดอกดาหลา โดยสกัดด้วยเมทานอล จากนั้นนำสารสกัดมาทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus, Micrococcus luteus* และ *B. cereus* โดยใช้วิธี Disc diffusion ซึ่งพบว่าสารสกัดจากเหง้าข่าสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *B. cereus* ได้ดีที่สุด ซึ่งมีค่าปริมาณต่ำสุดที่สามารถยับยั้งได้ (minimum inhibitory dose : MID) เท่ากับ 0.50 และ 1.00 มก./แผ่นกระดาษกรองตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองในงานวิจัยนี้พบว่าสกัดจากข่าสามารถยับยั้งเชื้อในกลุ่ม *B. cereus* (*B. cereus* TISTR687) ได้เช่นเดียวกัน

ในรายงานของ Oonmetta-aree และคณะ (2005) ที่กล่าวมาข้างต้นนั้นจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากข่ามีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าสารสกัดจาก ขิง ขมิ้นขาวและกระชาย แต่ในงานวิจัยนี้กลับพบว่าสารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุดเห็นได้จากบริเวณยับยั้งที่มีขนาดกว้างกว่าการทดสอบด้วยสารสกัดที่ได้จากข่า ขมิ้นขาวและกระชายตามลำดับ (ตารางที่ 7)

ซึ่งผลการทดสอบที่แตกต่างกันนี้อาจเนื่องมาจากหลายปัจจัย เช่น แหล่งของพืช ชนิดของตัวทำละลาย และสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบมีความแตกต่างกัน โดยพบว่ามีรายงานการทดสอบความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชทั้งที่ทดสอบในพืชชนิดเดียวกันหรือคนละชนิด จะให้ผลการทดสอบที่หลากหลายโดยมีความแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ทั่วโลก ทั้งนี้เนื่องมาจากมีปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เช่น ลักษณะภูมิอากาศ องค์ประกอบของดิน อายุและระยะการเจริญของพืช ปริมาณ คุณภาพและองค์ประกอบของสารสกัด รวมถึงสายพันธุ์ของเชื้อที่แตกต่างกัน ยิ่งไปกว่านั้นพบว่ามีงานวิจัยหลายฉบับรายงานว่าชนิดของตัวทำละลายที่ใช้เป็นส่วนสำคัญในกระบวนการสกัดซึ่งจะส่งผลให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แตกต่างกัน (Ababutin, 2011)

3.3 ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ ด้วยวิธี Agar well diffusion

จากการทดสอบเบื้องต้น พบว่าสารสกัดจากกระชายและขิงสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบเบื้องต้นได้ดีที่สุด โดยสารสกัดจากกระชายสามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ได้ดีที่สุดและสารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งเชื้อ*P. aeruginosa* ATCC27853, *E. coli* ATCC25922 และ *S. aureus* ATCC25923 ได้ดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือกนำสารสกัดจากกระชายและขิงมาทำการทดสอบเพื่อหาค่า MIC และ MBC โดยใช้ยาปฏิชีวนะคลอแรมฟีนิคอลเป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) และ DMSO เป็นชุดควบคุมเชิงลบ (Negative control) จากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากกระชายสามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.05 มก./มล. และมีค่า MBC เท่ากับ 0.10 มก./มล. สารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853, *E. coli* ATCC25922 และ *S. aureus* ATCC25923 ได้ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 100, 100 และ 50 มก./มล. ตามลำดับ และมีค่า MBC เท่ากับ 200, 200 และ 100 มก./มล. ตามลำดับ ดังตารางที่ 8 ซึ่งจากผลการทดลองของ Oonmetta-aree และคณะ (2006) ที่ทำการทดสอบการยับยั้ง *S. aureus* ด้วยสารสกัดจากข่าสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล โดยใช้วิธี broth dilution พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 0.325 มก./มล. ซึ่งมีค่าต่ำกว่าค่า MIC ที่ได้จากการวิจัยนี้ ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากการใช้ตัวทำละลายในการสกัดสารที่แตกต่างกันและใช้วิธีการทดสอบที่แตกต่างกัน ทั้งนี้การทดสอบด้วยวิธี broth dilution นั้นเป็นการทดสอบในอาหารเหลวอาจทำให้เซลล์ของแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบสัมผัสกับสารสกัดได้ทั่วถึงและดีกว่าการทดสอบด้วยวิธี agar well diffusion ซึ่งเป็นการทดสอบบนอาหารวุ้นซึ่งเป็นอาหารแข็ง นอกจากนี้ Ezenwanze and Elegaam (2005) ได้ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. typhi* ของสารสกัดขิงด้วยเอทานอล ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 75 มก./มล. และ 250 มก./มล. ซึ่งค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli*

ที่ได้ในงานวิจัยมีค่า MIC เท่ากับ 100 มก./มล. ซึ่งมีค่ามากกว่าในงานวิจัยดังกล่าวข้างต้นทั้งนี้อาจเนื่องมาจากชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด วิธีการทดสอบ ตัวอย่างพืชและสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองแตกต่างกัน

ตารางที่ 8 ผลการหาค่า MIC และ MBC ของสารสกัดขิงในการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853, *E. coli* ATCC25922 และ *S. aureus* ATCC25923 และสารสกัดกระชายในการทดสอบ การยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687

สารสกัด	เชื้อที่ใช้ทดสอบ	MIC (มก./มล.)	MBC (มก./มล.)
ขิง	*P. aeruginosa* ATCC27853	100	200
	E. coli ATCC25922	100	200
	S. aureus ATCC25923	50	100
กระชาย	*B. cereus* TISTR687	0.05	0.10

จากการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชตระกูลขิงทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ขิง ข่า กระชายและขมิ้นขาว พบว่าสารสกัดจากขิง สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้ทั้ง 4 ชนิด คือ *P. aeruginosa* ATCC27853, *E. coli* ATCC25922, *B. cereus* TISTR687 และ *S. aureus* ATCC25923 โดยสามารถยับยั้ง *P. aeruginosa* ATCC27853, *E. coli* ATCC25922 และ *S. aureus* ATCC25923 ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดชนิดอื่น ส่วนความสามารถในการยับยั้ง *B. cereus* TISTR687 ของสารสกัดจากขิงพบว่าสามารถยับยั้งได้รองลงมาจากสารสกัดจากกระชายซึ่งสามารถยับยั้ง *B. cereus* TISTR687 ได้ดีที่สุด จากผลการการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากขิงที่กล่าวมาข้างต้นจึงเลือกนำสารสกัดขิงใช้มาทดสอบในขั้นตอนต่อไป โดยนำไปทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัสในสถานที่จริงในโรงพยาบาลแห่งหนึ่ง ทำการเลือกบริเวณทดสอบการควบคุมแบคทีเรียโดยเลือกบริเวณที่มีการสัมผัสของบุคลากรและผู้มารับบริการในโรงพยาบาลสูง เช่น ลูกบิดประตูห้องน้ำ ปุ่มกดลิฟต์ และเคาเตอร์ผู้ป่วยนอก

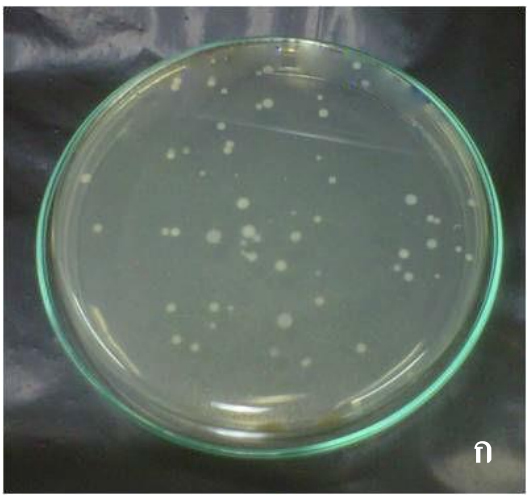
4.4 การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบนพื้นผิวสัมผัสโดยใช้สารสกัดจากขิง

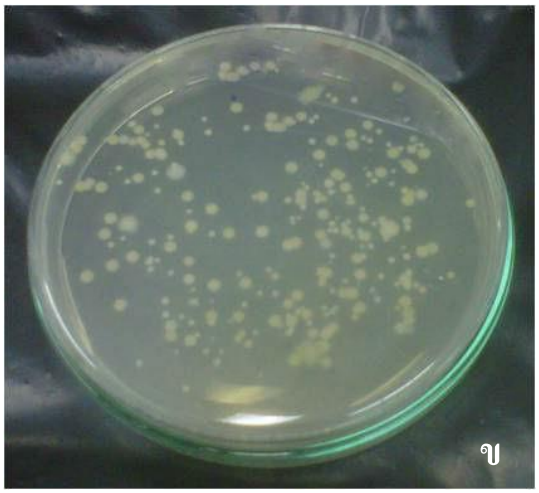
จากการเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียในบริเวณที่มีการสัมผัสของบุคลากรและผู้มารับบริการในโรงพยาบาล ได้แก่ ลูกบิดประตูห้องน้ำ ปุ่มกดลิฟต์ และเคาเตอร์ผู้ป่วยนอก โดยทำการทดลองเพื่อคัดเลือกบริเวณที่มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียมากที่สุดเพื่อ ใช้ทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวสัมผัสด้วยสารสกัดจากขิง ผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์เบื้องต้นในบริเวณดังกล่าวแสดงในตารางที่ 9 และ ภาพที่ 15

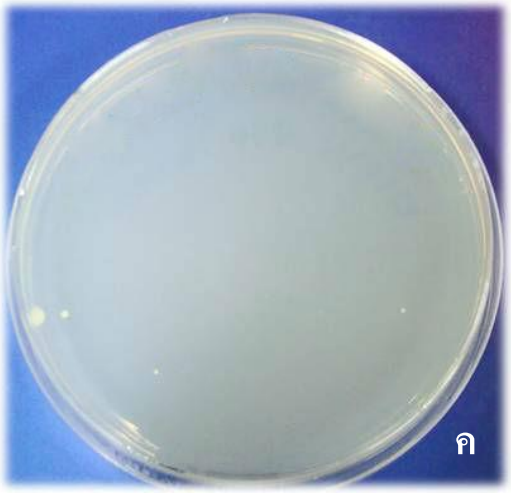
ตารางที่ 9 ปริมาณจุลินทรีย์บนพื้นผิวสัมผัสของลูกบิดประตูห้องน้ำ ปุ่มกดลิฟต์ และเคาเตอร์ผู้ป่วยนอก

ลำดับที่	บริเวณตัวอย่าง	ปริมาณจุลินทรีย์ (ซีเอฟยู/มล.)
1	ลูกบิดประตูห้องน้ำ	8.20×10^2
2	ปุ่มกดลิฟต์	17.00×10^2
3	เคาเตอร์ผู้ป่วยนอก	3.60×10^2
4	0.85% NaCl	-

หมายเหตุ - คือ ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์



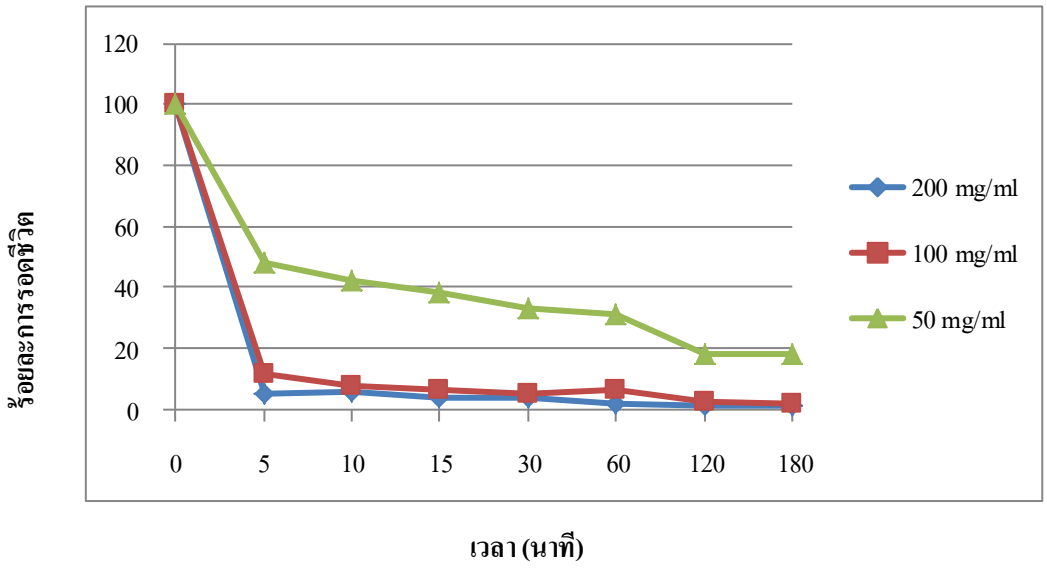




ภาพที่ 15. จุลินทรีย์บนพื้นผิวสัมผัสของ (ก) ลูกบิดประตูห้องน้ำ (ข) ปุ่มกดลิฟต์ (ค) เคาเตอร์ผู้ป่วยนอก

จากการเก็บตัวอย่างและนับจำนวนแบคทีเรียบริเวณลูกบิดประตูห้องน้ำ ปุ่มกดลิฟต์ และเคาเตอร์ผู้ป่วยนอก โดยทำการเก็บตัวอย่าง 4 ครั้ง ซึ่งมีจำนวนเชื้อที่พบใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเฉลี่ยจำนวนแบคทีเรีย เท่ากับ 8.20×10^2 ซีเอฟยู/มล. 17.00×10^2 ซีเอฟยู/มล. และ 8.20×10^2 ซีเอฟยู/มล. ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าบริเวณปุ่มกดลิฟต์มีจำนวนแบคทีเรียมากที่สุด จากการสังเกตพบว่าบริเวณปุ่มกดลิฟต์เป็นบริเวณที่มีผู้ใช้บริการใช้มือสัมผัสมากกว่าบริเวณลูกบิดประตูห้องน้ำและเคาเตอร์ผู้ป่วยนอก เนื่องจากเป็นอาคารผู้ป่วยนอกที่มีการให้บริการผู้ป่วยนอกห้องปฏิบัติการกลาง บริการทันตกรรม แผนกสูตินารีเวช และแผนกความสวยความงามทำให้มีผู้ใช้ลิฟต์เป็นจำนวนมากจึงเป็นปัจจัยที่ทำให้มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียมากที่สุด ดังนั้นจึงเลือกบริเวณปุ่มกดลิฟต์เพื่อใช้ในการทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์บนพื้นผิวโดยใช้สารสกัดจากขิง

จากการทดสอบสารการยับยั้งจุลินทรีย์บนปุ่มกดลิฟต์โดยใช้สารสกัดจากขิง โดยทดสอบที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มก./มล. ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย บริเวณปุ่มกดลิฟต์ได้ โดยที่ความเข้มข้น 200 มก./มล. สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด ผลการทดสอบแสดงในภาพที่ 16



ภาพที่ 16. ผลของสารสกัดจากขิงที่ความเข้มข้น 200, 100 และ 50 มล. ที่เวลาต่างๆ ต่อปริมาณการรอดชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวปุ่มกดลิฟต์

จากภาพที่ 6 พบว่าเมื่อใช้สารสกัดจากขิงความเข้มข้น 50 มก./มล. สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียลงมากที่สุด ร้อยละ 81.91 เมื่อทำการทดสอบเป็นเวลา 120 นาที หลังจากนั้นปริมาณจุลินทรีย์จะคงที่ เมื่อทดสอบสารสกัดจากขิงที่ความเข้มข้น 100 มก./มล. พบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียลงได้มากกว่า ร้อยละ 90 คือ ร้อยละ 92.12 เมื่อทำการทดสอบเป็นเวลา 10 นาที และสามารถลดปริมาณแบคทีเรียได้มากที่สุด ร้อยละ 97.93 เมื่อทำการทดสอบเป็นเวลา 180 นาที หลังจากนั้นปริมาณแบคทีเรียจะลดลงอย่างช้าๆ และคงที่ ที่ความเข้มข้น 200 มก./มล. พบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียลงได้มากกว่า ร้อยละ 90 คือ ร้อยละ 94.95 เมื่อทำการทดสอบเป็นเวลา 5 นาที และสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียลงมากที่สุด ร้อยละ 99.14 เมื่อทำการทดสอบเป็นเวลา 180 นาที แบคทีเรียที่รอดชีวิตมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้เวลาในการสัมผัสกับสารสกัดมากขึ้น โดยที่เวลาที่ 5 และ 10 นาที ปริมาณจุลินทรีย์จะลดลงอย่างรวดเร็ว และหลังจากนั้นปริมาณการรอดชีวิต ของแบคทีเรียค่อยๆ ลดลงและคงที่ ซึ่งจากการทดลองจะเห็นว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียขึ้นอยู่กับความ

เข้มข้นของสารสกัดจากขิงและเวลาที่ใช้ ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าเชื้อแบคทีเรียจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 5 นาทีแรกในการทดลอง จากนั้นการลดลงของแบคทีเรียจะลดลงอย่างช้า ๆและคงที่ในที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารเมื่อสารสกัดถูกทิ้งไว้ในสภาวะการทดลองนานขึ้นส่งผลให้เกิดการสลายตัวของสารออกฤทธิ์ทำให้ผลการยับยั้งจุลินทรีย์ลดลง หรืออาจเนื่องมาจากในการทดลองนี้ได้ทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียในสถานที่จริงซึ่งแบคทีเรียที่เก็บตัวอย่างได้ไม่ได้รับการจัดจำแนกก่อนการทดสอบ จึงทำให้การทดสอบนี้เป็นการทดสอบการยับยั้งกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ไม่ทราบชนิด การที่ปริมาณแบคทีเรียลดลงในช่วงแรกอย่างรวดเร็วอาจเนื่องมาจากแบคทีเรียส่วนใหญ่ไวต่อสารสกัดจากขิง ทำให้กราฟมีลักษณะลดลงอย่างรวดเร็วและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่อาจเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ทนต่อการยับยั้งด้วยสารสกัดจากขิงทำให้กราฟของการลดลงของแบคทีเรียมีลักษณะคงที่

จากผลงานวิจัยจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคบนพื้นผิวสัมผัสได้จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะนำสารสกัดขิงมาประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดพื้นผิว ซึ่งในปัจจุบันจะเห็นได้ว่ามีการนำพืชสมุนไพรหรือสารสกัดจากสมุนไพรมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่นิยมนำพืชตระกูลขิงมาเป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ เช่น สบู่ โดยมีการนำสารสกัดจากข่าซึ่งเป็นสมุนไพรในท้องถิ่นมาผสมเป็นส่วนผสมของสบู่ ซึ่งพบว่าสารสกัดจากข่าจะช่วยกำจัดเชื้อราและเชื้อก่อโรคบริเวณผิวหนังได้ (พราวสปา,2557) นอกจากนี้ได้มีการผลิตสบู่ซึ่งมีส่วนผสมของสารสกัดจากขิง โดยสารสกัดจากขิงจะช่วยกระตุ้นการไหลเวียนโลหิตและช่วยให้การผลัดเปลี่ยนเซลล์ผิวดีขึ้น รวมถึงสามารถฆ่าเชื้อโรคและลดการอักเสบได้ (วีระชัย ทองสา, 2557) นอกจากสารสกัดจากพืชตระกูลขิงแล้ว จากรายงานการวิจัยพบว่ามีการใช้สมุนไพรเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดในรูปแบบอื่น ๆ เช่น การวิจัยของ พิชญดา ฉายแสง (2552) ได้นำเสนอรากไม้เทพทาโรมากลั่น จากนั้นนำน้ำมันหอมระเหยผสมในผลิตภัณฑ์เจลทำความสะอาดมือโดยมีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยเทพทาโรร้อยละ 2.5 พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ จากผลการสำรวจพฤติกรรมของผู้บริโภคโดยใช้แบบสอบถามจากการใช้ผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับผลิตภัณฑ์ ปัจจัยที่ผู้บริโภคมีความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์มากที่สุดคือ มีส่วนผสมของสารธรรมชาติ ความสะอาดหลังการใช้ และบรรจุภัณฑ์ให้ความสะดวก พกพาง่าย นอกจากนี้ ปิยุกฤษฎ์ ทองบุญ (2556) ได้สกัดสารจากส้มแขก เพื่อนำสารสกัดหยาบมาทำผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือเพื่อลดการใช้สารเคมีและลดการปนเปื้อนสารเคมีลงสู่สิ่งแวดล้อม โดยนำสารสกัดส้มแขกมาใช้เป็นส่วนผสมในการทำสเปรย์ทำความสะอาดมือ พบว่าสเปรย์ที่มีส่วนผสมของเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ20 และสารสกัดส้มแขกความเข้มข้น 64 มก./มล. สามารถลดเชื้อจุลินทรีย์ลงบนมือได้ร้อยละ 99.6และจากการสอบถามความพึงพอใจของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ สเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก ปรากฏว่าผู้บริโภคพึงพอใจผลิตภัณฑ์ร้อยละ 83.3

จากงานวิจัยดังกล่าวข้างต้นซึ่งได้มีการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด นั้นจะเห็นได้ว่านอกจากจะได้ผลิตภัณฑ์ซึ่งเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคแล้วยังสามารถช่วยลดการใช้สารเคมีและการปนเปื้อนสารดังกล่าวสู่สิ่งแวดล้อมได้อีกด้วย

ดังนั้นการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด จะช่วยลดการใช้สารเคมี ลดการปนเปื้อนและการตกค้างของสารเคมีลงสู่สิ่งแวดล้อม ประหยัดค่าใช้จ่ายและหากพัฒนาเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจะเป็นการเพิ่มมูลค่าสมุนไพรพื้นบ้านอีกทางหนึ่ง นอกจากนี้ก็เป็นการจัดการการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคบนพื้นผิวสัมผัสได้เพื่อสุขอนามัยที่ดีและปลอดภัยต่อผู้บริโภค

บทที่ 4

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

4.1 สรุปผลการวิจัย

จากการนำสารสกัดจากพืชตระกูลขิงทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ขิง ข่า กระชายและขมิ้นขาว ที่สกัดด้วยเมทานอลและน้ำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้ ส่วนสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ เมื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นสารเท่ากับ 100, 200 และ 300 มก./มล. พบว่าสารสกัดจากกระชายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.05 มก./มล. และ ค่า MBC เท่ากับ 0.10 มก./มล. สารสกัดขิงมีประสิทธิภาพ ในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853, *S. aureus* ATCC25923 และ *E.coli* ATCC25922 ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 100, 100 และ 50 มก./มล. ตามลำดับ และ ค่า MBC เท่ากับ 200, 200 และ 100 มก./มล. ตามลำดับ และจากการการทดสอบความสามารถในการเป็นสารกำจัดเชื้อจุลินทรีย์โดยทดสอบการกำจัดแบคทีเรียบนพื้นผิวปุ่มกดลิฟต์ ในโรงพยาบาล พบว่าสารสกัดจากขิงสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียลงได้ร้อยละ 52.13-94.95 เมื่อใช้ สารสกัดเข้มข้น 50-200 มก./มล. และสัมผัสกับเชื้อเป็นเวลา 5 นาที

4.2 ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองที่ได้จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการใช้พืชสมุนไพรเพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบนพื้นผิวสัมผัสเพื่อลดการใช้สารเคมีในการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย อีกทั้งยังเป็นการใช้ทรัพยากรในท้องถิ่นให้เกิดประโยชน์ ซึ่งวัตถุดิบสมุนไพรพื้นบ้านมีราคาถูกปลูกง่ายและมีปริมาณมาก หากนำมาพัฒนาเป็นสารสกัดใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว จะเป็นการเพิ่มมูลค่าสมุนไพรพื้นบ้านไทยอีกทางหนึ่ง นอกจากนี้จะช่วยลดการนำเข้าสารเคมี ประหยัดค่าใช้จ่ายและพลังงานได้อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

กุณฑีรา อุปมนต์. (2544). **อุบัติการณ์การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียของโทรศัพท์สาธารณะในโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ จังหวัดสงขลา**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

กุลนาถ มากบุญ. (2543). **องค์ประกอบทางเคมีของเหง้าขมิ้นขาว**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร-มหาบัณฑิต. คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

จิตระพี บัวผัน. (2548). **เรียนรู้เรื่องสมุนไพร**. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์ประมิด.

จิราภรณ์ บุราคร และ เรือนแก้ว ประพฤติ. (2555). **ผลของการสกัดสมุนไพรพื้นบ้านไทยจำนวน 7 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย**. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. 10(1), 11-21

โชติอนันต์และคณะ. (2551). **สมุนไพรไทยสำหรับงานสาธารณสุขมูลฐาน**. กรุงเทพฯ : ดวงกมลพับลิชชิ่ง.

ณรงค์ โฉมเฉลา. (2536). **การใช้สมุนไพรและพืชหอมในการป้องกันกำจัดศัตรูทางการเกษตร**. คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 12-15.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. (2550). **จุลชีววิทยาทั่วไป**. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นัยนา ต่างใจ และ สุริยา ฤธาทิพย์. (2552). **ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดของสารสกัดจากหมากนวล**. ภาควิชาสาขาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์-ประยุกต์, มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

เบญจวรรณ วาณิชย์เจริญ. **กระชาย**. สืบค้น 8 พฤษภาคม 2553, จาก http://www.l3nr.org/posts/195240

ประภาวดี ติษยาธิคม. (2553). **โรคอาหารเป็นพิษสาเหตุจากเชื้อ *Staphyloccus aureus***. สืบค้น 8 พฤษภาคม 2553, จากhttp://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_1_001c.asp?info_id=210

ประเสริฐ ศรีไพโรจน์. (2528). **เทคนิคทางเคมี**. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยศรีนครินทร์วิโรฒ มหาสารคาม. 72-73.

ประเสริฐ ศรีไพโรจน์. (2539). **เทคนิคทางเคมี**. กรุงเทพฯ : ประกายพรึก. 84-91

ปิยุกฤษฎ์ ทองบุญ. (2556). **ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดส้มแขกและการปรยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ล้างมือ**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาการจัดการสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

พราวสปา. (2557). **สบู่ข่า**. สืบค้น 12 มีนาคม 2557, จาก http://www.praewspa.com

พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ. (2545). **ประโยชน์ของสมุนไพรในงานสวนพฤกษศาสตร์โรงเรียน**. กรุงเทพฯ : แสงมงคล ออฟเซ็ท การพิมพ์

พิชญดา ฉายแสง. (2552). **การผลิตและการเสริมสร้างมูลค่าของน้ำมันหอมระเหยจากเศษเหลือไม้เทพทาโร**. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พิไลพรรณ พงษ์พูล. (2531). **Pathogenic Bacteria**. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน.

ภัทรชัย กีรติสิน. (2549). **ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์**. กรุงเทพ ฯ : ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทย์ศาสตร์ศิริราชพยาบาล, มหาลัยมหิดล.

รัชนี เต๋เอียดหยอ . (2549). **การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดพืชสมุนไพรในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) แช่เย็น**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. (2335). **พืชเครื่องเทศสมุนไพร**. กรุงเทพฯ : กรมการฝึกหัดครู.

วิจิตร เอื้อประเสริฐ. (2547). **คู่มือปฏิบัติการทางเคมีอินทรีย์**. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 52.

วีระชัย ทองสา. (2557). **สบู่ขิง**. สืบค้น 8 พฤษภาคม 2553, สืบค้น 11 กุมภาพันธ์ 2557, จาก http://bavariagingersoap.blogspot.com/2011/09/blog-post.html

วุฒิพงษ์ ฮามวงศ์. (2553). **ขมิ้นขาว**. สืบค้น 8 พฤษภาคม 2553, จาก http://natres.skc.rmuti.ac.th/WAN/ data/ka-min-kaow.html

ศจีรา คุปพิทยานันท์และภคนิจ คุปพิทยานันท์. (2554). **ผลของสารสกัดจากเอื้องหมายนาต่อระบบสืบพันธุ์ในหนูตัดรังไข่**. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

พราวสปา. (2557). **สบู่ข่า**. สืบค้น 12 มีนาคม 2557, จาก http://www.praewspa.com

สมหวัง ด่านชัยวิจิตร. (2540). **โรคติดเชื้อในโรงพยาบาล**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สมาคมโรคติดเชื้อแห่งประเทศไทย. กรุงเทพ ฯ

สมหวัง ด่านชัยวิจิตรและสมพร โชคลอยแก้วใส. (2532). การศึกษาอัตราความชุกของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลทั่วประเทศ พ.ศ. 2531. **วารสารจดหมายเหตุทางการแพทย์**. 71 (2532), 1-5.

สัมพันธ์ สร้อยกล่อม พัชรพรรณ พรหมเมศร์และโสภา กลิ่นจันทร์. (2556). **ประสิทธิภาพของสารสกัดพริกต่อการต้านเชื้อแบคทีเรีย**. ภาควิชาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

สำนักการแพทย์พื้นบ้าน กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข. (2554). **สมุนไพรพื้นบ้านลดความเสี่ยงโรคมะเร็งตามภูมิปัญญาของหมอพื้นบ้าน**. กรุงเทพ ฯ : โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน กระทรวงสาธารณสุข. (2541). **สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน**. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก .

สุชาดา ไชยสวิสดิ์และสุรชัย แก้วบุญเรือง. (2546). **การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสมุนไพรไทยบางชนิด**. ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์และเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุรีย์พร โพธิ์ศรีทอง. (2555). **การดูแลและควบคุมการติดเชื้อจากพื้นผิวต่าง ๆ**. สืบค้น 10 สิงหาคม 2555, จาก http://samutprakarndent.files.wordpress.com

แสงจันทร์ เอี่ยมธรรมชาติ. (2525). **การศึกษาผลของสมุนไพรบางชนิดในวงศ์ขิงกิเบอเรซี (Zingiberraceae) ต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบางชนิด**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (การสอนชีววิทยา), มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

แสงไทย เค้าภูไทย. (2545). **เจาะงานวิจัย สมุนไพรหมื่นล้าน**. กรุงเทพ ฯ : อินฟอร์มีเดีย บุ๊คส์

อรอนงค์ รัชตราเชนชัย. (2556). **รายงานประจำปี 2556**. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 51.

อาภากร สุภาพิพัฒน์และจิตศิริ ราชตนะพันธุ์. (2550). **ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยตระกูลเหง้าในการยับยั้ง *Listeria monocytogenes* ในเนื้อไก่สดบรรจุสภาวะสุญญากาศแช่เย็น**. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45 : สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์ สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. กรุงเทพ ฯ. 516-522.

อารมณ์ แสงวนิชย์. (2536). **การใช้สมุนไพรและพืชหอมในการป้องกันกำจัดศัตรูทำการเกษตร**. รายงานการสัมมนาการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูทางการเกษตร. คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 118-122.

อุทุมพร ทองอินทร์. (2544). **การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Cladosporium cladosporioides* และแบคทีเรีย *Seratia mercescens* ของสารสกัดจากกระชาย ฟ้าทะลายโจร มะนาวแป้นและมะนาวน้ำหอม**. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เอกรินทร์ ภัทระนวดี. (2550). **การสกัดเครื่องเทศของไทยด้วยตัวทำละลายร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูงและประสิทธิภาพของสารสกัดเครื่องเทศร่วมกับ EDTA ในการยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหาร**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร, มหาวิทยาลัยเษตรศาสตร์.

Ababutain, C. M. (2011). Antimicrobial Activity of Ethanolic Extracts From Some Medicinal Plant Australian. **Journal of Basic and Applied Sciences**, 5(11), 678-683

Azu, N. C., and Onyeagba, R. A. (2007). Antimicrobial properties of extracts of *Allium cepa (*Onions) and *Zingiber officinale* (Ginger) on *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* and *Bacillus subtilis*. **Journal of Tropical Medicine**; 3, 351-372.

Bin, S., Yi-Zhong, C., John D, B., and Harold, C. (2007). The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. **International Journal of Food Microbiology**. 117(1) : 112-119.

Boyce, J.M., and Pittet, D. (2002). Guideline for hand hygiene in health-care setting : Recommendations of the healthcare infection control practices advisory committee and the hicpac/shea/idsa hand hygiene task force. **Infection control and hospital Epidermiology**. 23(S12), 3-40.

Bureau of Epidemiology. (2007). **Annual Epidemiological Serveillance Report 2007** Retrieved September 2, 2010, from http://epid.moph.go.th/Annual/ANNUAL2550/part2/Table/table1.html

Bureau of Epidemiology. (2008). **Annual Epidemiological Serveillance Report 2008**. Retrieved September 2, 2010, from http://epid.moph.go.th/Annual/Annual1%202551/part2_51/Annual_Menuprat2_52.html

Bureau of Epidemiology. (2009). **Annual Epidemiological Serveillance Report 2009**. Retrieved September 21, 2010, from http://epid.moph.go.th/Annual/Annual1%202552/Main.html

Chamber, H. F. (2001). **The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus* Emerging infectious diseases**, 7(2), 178.

Ekhaise, F. O., Ighosewe, O. U., and Ajakpovi, O. D. (2008). Hospital Indoor Airborne Microflara in Private and Government Owned Hospitals in Benin City Nigeria. **World Journal of Medical Sciences**. 3(1), 19-23.

Eric, W. C., Voon, P. N., Voon, P. N., Vi, V. T., and Yin, Y. L. (2011). Antioxidant and Antibacterial Properties of *Alpinia galanga*, *Curcuma longa*, and *Etlingera elatior* (Zingiberaceae). **Journl of Phamcognosy**. 3(22), 54-61.

Ezenwanze, N. N., and Elegalam, U. N. (2005). Antibacterial activity of extracts of ginger *(Zingiber officinale* Roscoe *and* Garlic (*Allium Sativum* L.*)* and African oil bean seed *Pentaclethra Macrophylla*. **Journal of Molecular Medicine and Advance Science**. 1(4), 411-416.

FDA. (1995). **Bacteriological Analytical Manaul (BAM) (8 ed)**. USA : Gaithersburg.

Habsah, M., Amran, M., Mackeen, M. M., Lajis, N. H., Kikuzaki, H., Nakatani, N., Rahman, A. A., and Ghafar, A. M. (2000). Screening of Zingiberaceae extracts for antimicrobial and antioxidant activities. **Journal of Ethnopharmacology**. 72(200), 403-410.

Helgason, E., Okstad, O. A., Caugant, D. A., Johansen, H. A., Fouet, A., Mock, M. (2000). *Bacillus anthrasis, Bacilus cereus*, and *Bacillus thuringienisis*-one species on the basis of genetic evidence. **Applied and Enironmemtal Microbiology**, 66(6), 2627-2630.

Martin, G., (1995**). Ethnobotany: A Methods Manual**. Chapman & Hall, London.

Matu, E.N., and van Staden, J. (2003). Antibacterial and anti-inflammatory Activities of some plans used for medicinal purposes in Kenya. **Journal of Ethnophamacol**. 87, 35-41.

Milton Beychok. (2009). **Reflux**. Retrieved August 10, 2009, From http://en.citizendium.org/wiki/ Reflux_(distillation).

Nandalal, P., and Somashekar, R. K. (2007). Prevalence of *Staphyloccus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in door air flora of district hospital, Mandya, Karnataka. **Journal of Environment Biology**. 5(11), 197-200.

Onyeagba, R. A., Ugbogu, O. C., Okeke C. U., and Iroakasi. O. (2004) Studies on the antimicrobial effects of galic (*Allium sativum* Linn), ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) and lime (*Citrus aurantifolia* Linn). **Affican Journal of Biotechnology**. 3(10), 522-554

Oonmetta-aree, J., Suzukib, T., Gasalucka, P., and Eumkebc, G. (2005). Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. **LWT - Food Science and Technology**. 105, 1214-1220.

Ouattara, R.E.S., Holley, R. A., Piette, G.J.P. and Begin, A. (1997). Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. **International Journal of Food Microbiology**. 37, 155–162.

Policegoudra, R. S., Abirajb K., Channe, D. G., and Aradhya, S.M. (2007). Isolation and characterization of antioxidant and antibacterial compound from mango ginger (*Curcuma amada* Roxb.) rhizome. **Journal of Chromatography B**. 825, 40-48.

Rosas, I., Salinas E., Yela, A., Calva, E., Eslava, C. and Cravioto, A. (1997). *Escherichai coli* in Settlled-Dust and Air Samples Collected in Residental Environments in Mexico City. **Journal of Applied and Environmental Microbiology**. 63, 751-752.

Scherrer, R., and Gerhardt, P. (1971). Molecular sieving by the bacillus. Megaterium cell wall and protoplast. **Journal of Bacteiol**. 107, 718-735.

Schoeni, J. L., and Wong, A. C. (2005). Bacillus cereus food poisoning and its toxins. **Journal of mangostana Phytochemistry**, 20 (1), 183-185.

Smith-Palmer, A., Stewart, J., and Fyfe, L. (1998). Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. **Letters in Applied Microbiology**, 26, 118-122.

Suree, N., and Lohasupthawee, P. (2005). Antibacterial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against Sallmonellae and other enterobacteria. **Journal of KMITL Sci. Tech**, 5 (3), 527-538.

Wilson, B., Abraham, G., Manju,V. S., Mathew, M., Vimala, B., Sundaresan, S., and Nambisan, B. (2005). Antimicrobial activity of *Curcuma zedoaria* and *Curcuma malabarica* tubers**.** **Journal of Ethnopharmacology**, 99, 147-151.

Zaeoung, S. (2004). **Cytotoxic Activity Against Tumour Cells and Free radical Seavenging Actiity of Zingiberaceous Rhizomes Used as Spices**. Master of Pharmacy Thesis. Prince of Songkla University.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ภาคผนวก ก

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Nutrient Agar (NA)

Nutrient Agar	28	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

นำอาหารเลี้ยงเชื้อผงสำเร็จรูปมา 28 กรัม ใส่น้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มแล้วคนให้ละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

2. Muller Hinton Broth (MHB)

Muller Hinton Broth	21	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

นำอาหารเลี้ยงเชื้อผงสำเร็จรูปมา 21 กรัม เติมน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มแล้วคน ให้ละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข
วิธีการเตรียมสารละลาย

ภาคผนวก ข

วิธีการเตรียมสารละลาย

1. 0.5 McFarland Standard

1 % $BaCl_2$	0.5	มิลลิลิตร
1% H_2SO_4	1.5 x 10^9	เซลล์ต่อตารางเมตร

วิธีเตรียม

ผสม 1 % แบเรียมคลอไรด์ (1% $BaCl_2$) 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วย 1% กรดซัลฟิวริก (1%H_2SO_4) (ปริมาณ 1.5 x 10^9 เซลล์ต่อตารางเมตร)

2. Sterile Normal Saline 0.85 %

NaCl	8.5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

ชั่งโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 8.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

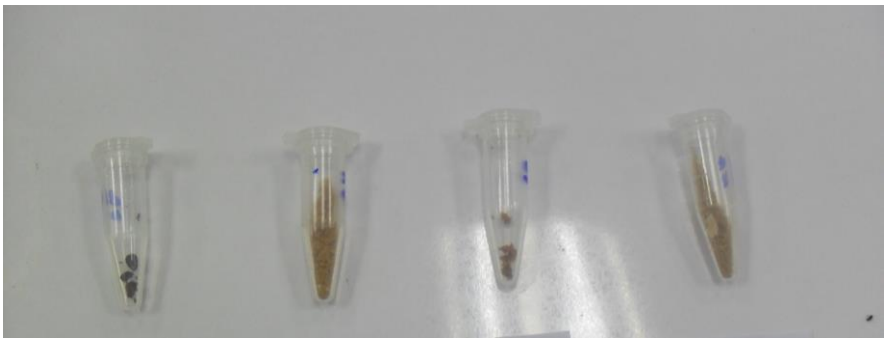
ภาคผนวก ค
การสกัดหยาบจากพืชตระกูลขิง

ภาคผนวก ค

การสกัดหยาบจากพืชตระกูลขิง

1. ลักษณะของสารสกัดขิง ข่า กระชายและขมิ้นขาวด้วยน้ำและเมทานอล

1.1 สารสกัดหยาบขิง ข่า กระชายและขมิ้นขาวที่สกัดด้วยน้ำ



ขิง กระชาย ข่า ขมิ้นขาว

ภาพที่ 17. สารสกัดหยาบขิง ข่า กระชายและขมิ้นขาวที่สกัดด้วยน้ำ

1.2 สารสกัดหยาบขิง ข่า กระชายและขมิ้นขาวที่สกัดด้วยเมทานอล

กระชาย ขมิ้นขาว ข่า ขิง

ภาพที่ 18. สารสกัดหยาบขิง ข่า กระชายและขมิ้นขาวที่สกัดด้วยเมทานอล

ภาคผนวก ง
ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยสารสกัดจากพืชตระกูลขิง

ภาคผนวก ง

ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยสารสกัดจากพืชตระกูลขิง

ตารางที่ 10 บริเวณยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ของสารสกัดขิงที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

ความเข้มข้นของสารสกัด (มก./มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (มม.)			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย± SD
100	11.00	11.00	12.00	11.33±0.58
200	11.00	12.00	12.00	11.67±0.58
300	13.00	12.00	13.00	12.67±0.58

หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม.

ตารางที่ 11 บริเวณยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ของสารสกัดข่าที่สกัดด้วยเมทานอลเมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

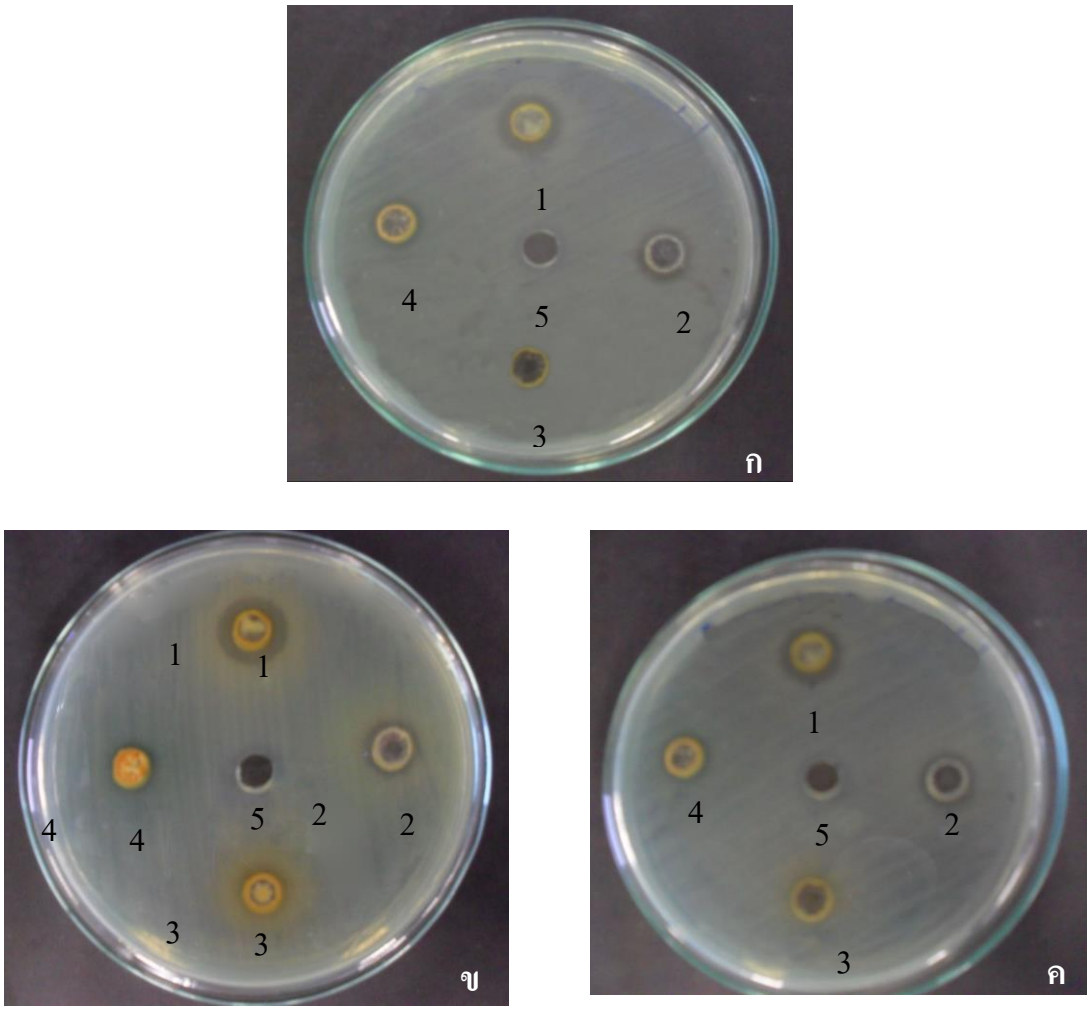
ความเข้มข้นของสารสกัด (มก./มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (มม.)			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย± SD
100	9.00	9.00	10.00	9.33±0.58
200	9.00	10.00	10.00	9.67±0.58
300	11.00	10.00	11.00	10.67±0.58

หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม.

ตารางที่ 12 บริเวณยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ของสารสกัดกระชายที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

ความเข้มข้นของสารสกัด (มก./มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (มม.)			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย± SD
100	-	-	-	-
200	-	-	-	-
300	9.00	9.00	9.00	9.00±0.00

หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม.



ภาพที่ 19. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC27853 ของสารสกัดจาก (1) ขิง (2) ข่า (3) ขมิ้นขาว (4) กระชาย และ (5) DMSO

(ก) สารสกัดขิง ข่า กระชาย และ ขมิ้นขาว ที่ความเข้มข้น 100 มก./มล.

(ข) สารสกัดขิง ข่า กระชาย และ ขมิ้นขาว ที่ความเข้มข้น 200 มก./มล.

(ค) สารสกัดขิง ข่า กระชาย และ ขมิ้นขาว ที่ความเข้มข้น 300 มก./มล.

ตารางที่ 13 บริเวณยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ของสารสกัดขิงที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

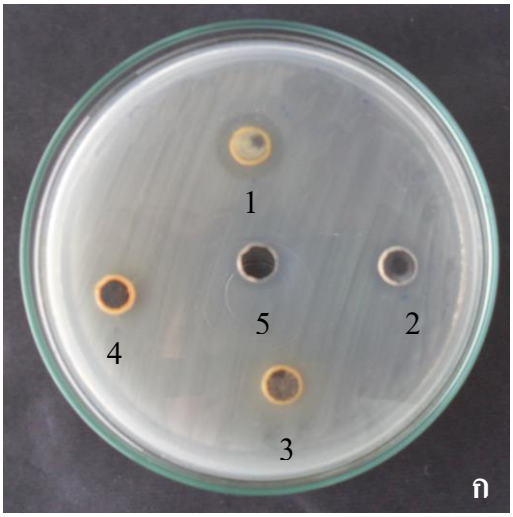
ความเข้มข้นของสารสกัด (มก./มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (มม.)			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย± SD
100	14.00	14.00	14.00	14.00±0.00
200	14.00	15.00	15.00	14.67±0.58
300	16.00	17.00	17.00	16.67±0.58

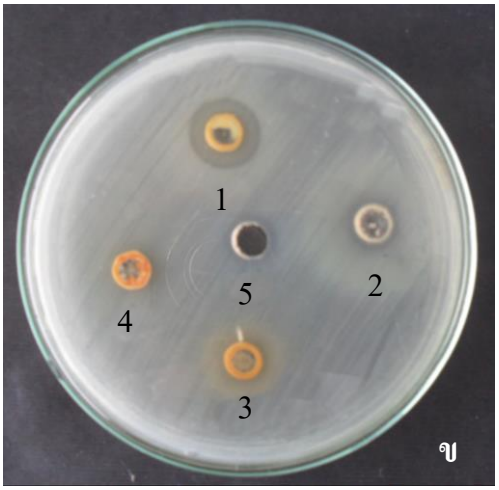
หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม.

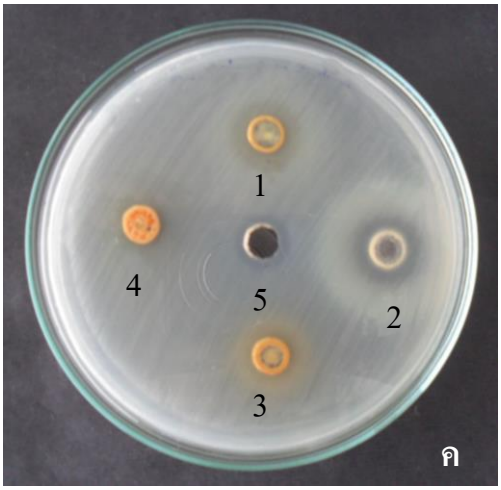
ตารางที่ 14 บริเวณยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ของสารสกัดข่าที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

ความเข้มข้นของสารสกัด (มก./มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (มม.)			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย± SD
100	-	-	-	-
200	11.00	9.00	10.00	10.00±1.00
300	11.00	12.00	12.00	11.67±0.58

หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม.







ภาพที่ 20. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ของสารสกัดจาก (1) ขิง (2) ข่า (3) ขมิ้นขาว (4) กระชาย และ (5) DMSO

(ก) สารสกัดขิง ข่า กระชาย และ ขมิ้นขาว ที่ความเข้มข้น 100 มก./มล.

(ข) สารสกัดขิง ข่า กระชาย และ ขมิ้นขาว ที่ความเข้มข้น 200 มก./มล.

ตารางที่ 15 บริเวณยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ของสารสกัดขิงที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

ความเข้มข้นของสารสกัด (มก./มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (มม.)			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย±SD
100	14.00	13.00	14.00	13.67±0.58
200	14.00	15.00	13.50	14.17±0.76
300	15.00	14.00	15.00	14.67±0.58

หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม.

ตารางที่ 16 บริเวณยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ของสารสกัดข่าที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

ความเข้มข้นของสารสกัด (มก./มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (มม.)			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย±SD
100	10.00	10.00	10.00	10.00 ± 0.00
200	11.00	12.00	10.50	11.17 ± 0.76
300	13.00	12.00	13.00	12.67 ± 0.58

หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม.

ตารางที่ 17 บริเวณยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ของสารสกัดขมิ้นขาวที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

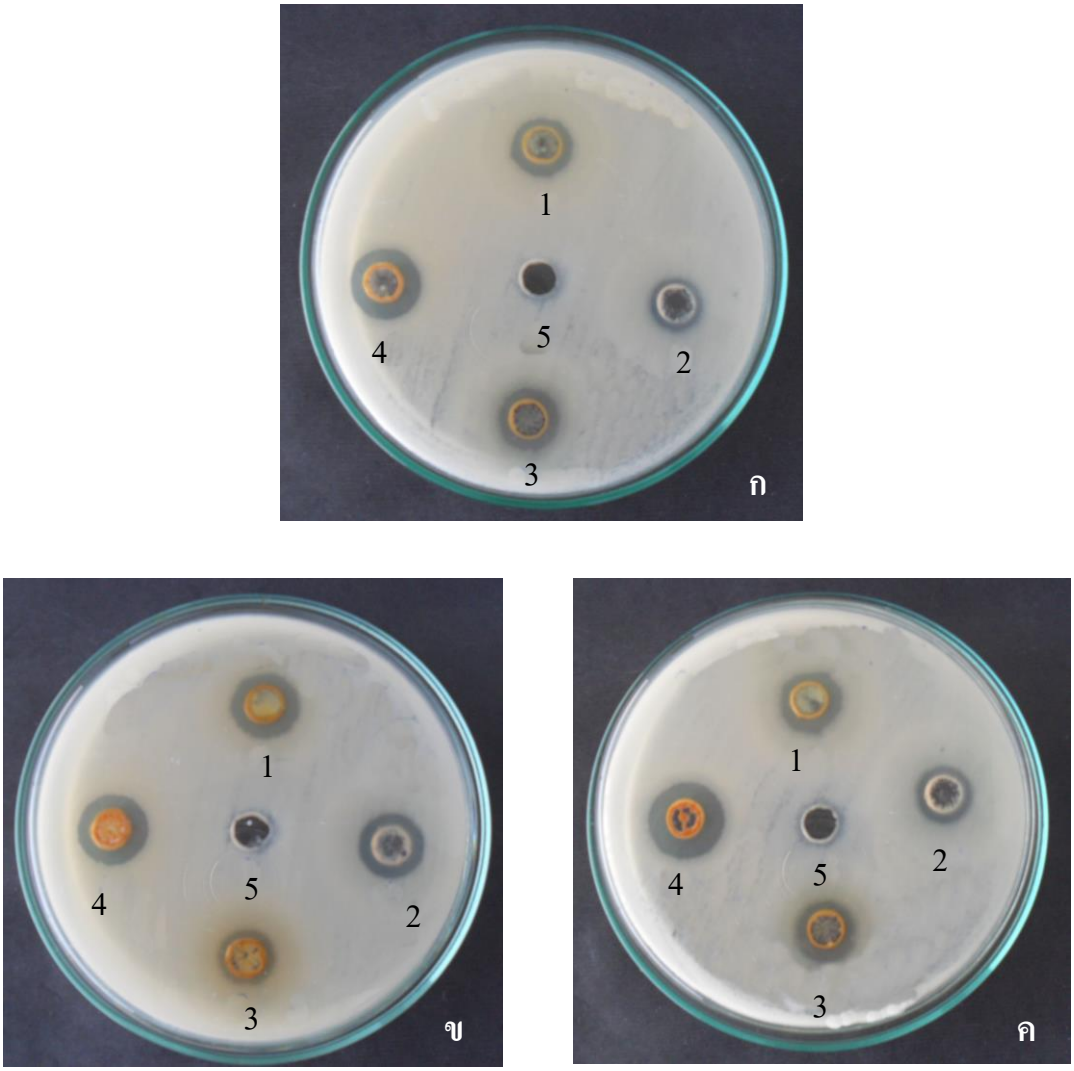
ความเข้มข้นของสารสกัด (มก./มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (มม.)			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย±SD
100	11.00	10.00	10.00	10.33±0.58
200	11.00	11.00	10.50	10.83±0.29
300	11.00	11.00	12.00	11.33±0.58

หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม.

ตารางที่ 18 บริเวณยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR687 ของสารสกัดกระชายที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

ความเข้มข้นของสารสกัด (มก./มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (มม.)			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย±SD
100	14.00	14.00	15.00	14.33±0.58
200	14.00	15.00	15.00	14.67±0.58
300	15.00	16.00	14.50	15.17±0.76

หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม.



ภาพที่ 21. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *B. cereus* AISTR687 ของสารสกัดจาก (1) ขิง (2) ข่า (3) ขมิ้นขาว (4) กระชาย และ (5) DMSO

(ก) สารสกัดขิง ข่า กระชาย และ ขมิ้นขาว ที่ความเข้มข้น 100 มก./มล.

(ข) สารสกัดขิง ข่า กระชาย และ ขมิ้นขาว ที่ความเข้มข้น 200 มก./มล.

(ค) สารสกัดขิง ข่า กระชาย และ ขมิ้นขาว ที่ความเข้มข้น 300 มก./มล.

ตารางที่ 19 บริเวณยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 ของสารสกัดขิงที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

ความเข้มข้นของสารสกัด (มก./มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (มม.)			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย±SD
100	15.00	16.00	14.50	15.17±0.76
200	16.00	17.00	17.00	16.67±0.58
300	17.00	18.00	17.00	17.33±0.58

หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม.

ตารางที่ 20 บริเวณยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 ของสารสกัดข่าที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

ความเข้มข้นของสารสกัด (มก./มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (มม.)			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย±SD
100	9.00	10.00	9.00	9.33±0.58
200	10.00	11.00	11.00	10.67±0.58
300	12.00	12.00	12.00	12.00±0.00

หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม.

ตารางที่ 21 บริเวณยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 ของสารสกัดขมิ้นขาวที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

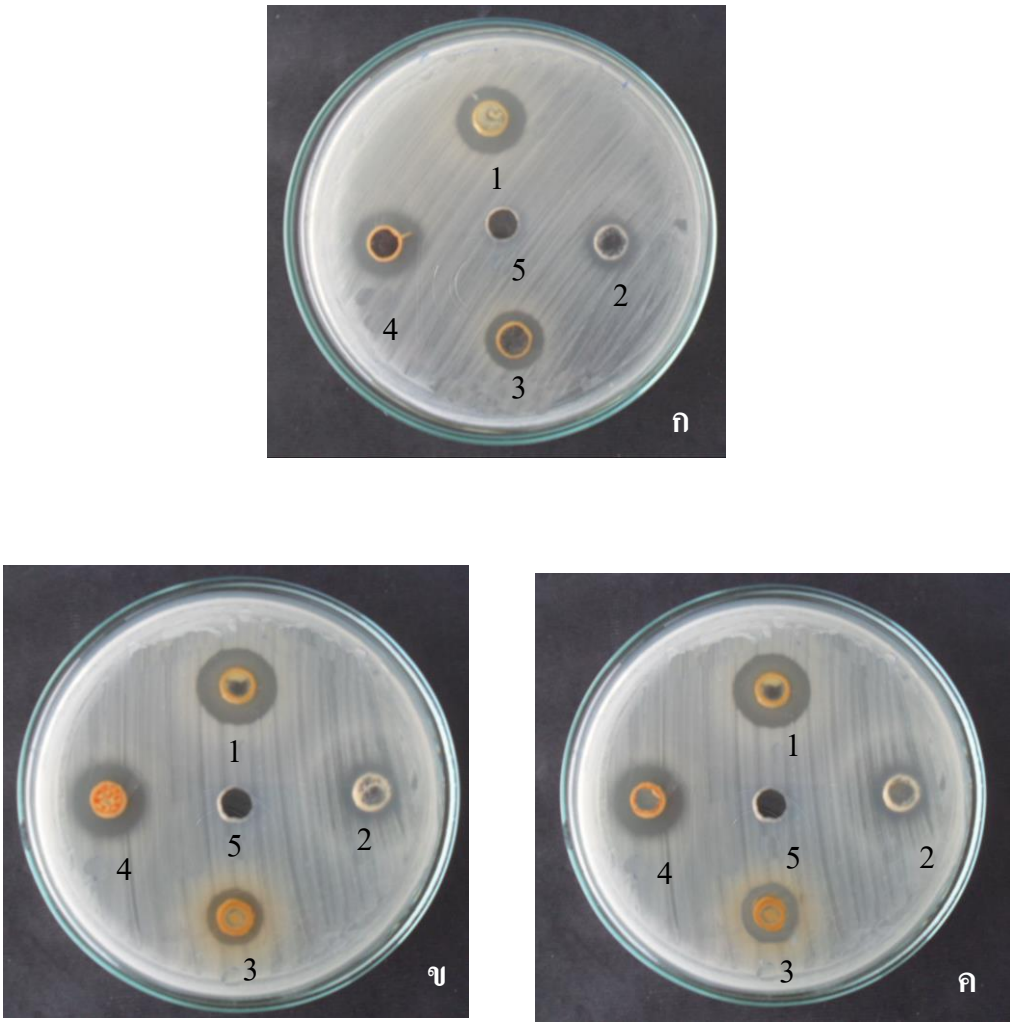
ความเข้มข้นของสารสกัด (มก./มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (มม.)			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย±SD
100	10.00	11.00	11.00	10.67±0.58
200	11.00	12.00	11.00	11.33±0.58
300	12.00	12.00	12.00	12.00±0.58

หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม.

ตารางที่ 22 บริเวณยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 ของสารสกัดกระชายที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./มล.

ความเข้มข้นของสารสกัด (มก./มล.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (มิลลิเมตร)			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย ±SD
100	14.00	14.00	15.00	14.33±0.58
200	16.00	15.00	15.00	15.33±0.58
300	16.00	16.00	15.00	15.67±0.58

หมายเหตุ หลุมทดสอบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มม.



ภาพที่ 22. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 ของสารสกัดจาก (1) ขิง (2) ข่า (3) ขมิ้นขาว (4) กระชาย และ (5) DMSO

(ก) สารสกัดขิง ข่า กระชาย และ ขมิ้นขาว ที่ความเข้มข้น 100 มก./มล.

(ข) สารสกัดขิง ข่า กระชาย และ ขมิ้นขาว ที่ความเข้มข้น 200 มก./มล.

(ค) สารสกัดขิง ข่า กระชาย และ ขมิ้นขาว ที่ความเข้มข้น 300 มก./มล.

ภาคผนวก จ
ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบนพื้นผิวสัมผัสในโรงพยาบาลด้วยสารสกัดจากขิง

ภาคผนวก จ

ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบนพื้นผิวสัมผัสในโรงพยาบาลด้วยสารสกัดจากขิง

1. ปริมาณจุลินทรีย์บนพื้นผิวสัมผัสของลูกบิดประตูประตูห้องน้ำ ปุ่มกดลิฟต์และเคาเตอร์ผู้ป่วยนอก

ตารางที่ 23 เก็บตัวอย่างเชื้อ ครั้งที่ 1

ลำดับที่	ตัวอย่าง	1	2	เฉลี่ย±SD
1	ลูกบิดประตูห้องน้ำ	79	89	84±7.07
2	ปุ่มกดลิฟต์	166	176	171±7.07
3	เคาเตอร์ผู้ป่วยนอก	36	34	35±1.41
4	0.85% NaCl	-	-	-

ตารางที่ 24 เก็บตัวอย่างเชื้อ ครั้งที่ 2

ลำดับที่	ตัวอย่าง	1	2	เฉลี่ย±SD
1	ลูกบิดประตูห้องน้ำ	79	77	78±1.41
2	ปุ่มกดลิฟต์	168	172	166±2.82
3	เคาเตอร์ผู้ป่วยนอก	36	40	38±2.82
4	0.85% NaCl	-	-	-

ตารางที่ 25 เก็บตัวอย่างเชื้อ ครั้งที่ 3

ลำดับที่	ตัวอย่าง	1	2	เฉลี่ย±SD
1	ลูกบิดประตูห้องน้ำ	77	83	80±4.24
2	ปุ่มกดลิฟต์	177	171	174±24
3	เคาเตอร์ผู้ป่วยนอก	39	31	35±5.67
4	0.85% NaCl	-	-	-

ตารางที่ 26 เก็บตัวอย่างเชื้อ ครั้งที่ 4

ลำดับที่	ตัวอย่าง	1	2	เฉลี่ย±SD
1	ลูกบิดประตูห้องน้ำ	84	88	86±2.82
2	ปุ่มกดลิฟต์	172	168	170±2.82
3	เคาเตอร์ผู้ป่วยนอก	35	39	37±2.82
4	0.85% NaCl	-	-	-

ตารางที่ 27 ค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อจากการเก็บตัวอย่าง 4 ครั้ง

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	เฉลี่ย±SD
1	ลูกบิดประตูห้องน้ำ	84	78	80	86	82±3.65
2	ปุ่มกดลิฟต์	171	166	174	170	170±3.30
3	เคาเตอร์ผู้ป่วยนอก	35	38	35	37	36±1.50
4	0.85% NaCl	-	-	-	-	-

ตารางที่ 28 ผลสารสกัดจากขิงที่ความเข้มข้น 200, 100 และ 50 มก./มล. ที่เวลาต่าง ๆ ต่อปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบนพื้นผิวปุ่มกดลิฟต์

เวลา (นาที)	200 มก./มล.		100 มก./มล.		50 มก./มล.	
	ปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต cfu/ml	ปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต %	ปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต cfu/ml	ปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต %	ปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต cfu/ml	ปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต %
5	340	5.05	560	11.62	900	47.87
10	400	5.93	380	7.88	800	42.55
15	260	3.86	320	6.64	720	38.29
30	260	3.86	260	5.39	620	32.98
60	120	1.78	300	6.62	580	30.85
120	80	1.19	120	2.49	340	18.09
180	60	0.86	100	2.07	340	18.09
Control	6740	100	4820	100	1880	100

ตารางที่ 29 ผลของสารสกัดจากขิงที่ความเข้มข้น 200, 100 และ 50 มก./มล. ที่เวลาต่าง ๆ ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบนพื้นผิวปุ่มกดลิฟต์

เวลา (นาที)	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ลง (ร้อยละ)		
	200 มก./มล.	100 มก./มล.	50 มก./มล.
5	94.95	88.38	52.13
10	94.07	92.12	57.45
15	96.14	93.36	61.71
30	96.14	94.61	67.02
60	98.22	93.38	69.15
120	98.81	97.51	81.91
180	99.14	97.93	81.91