

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลร่วมระหว่างสารสกัดพืชสมุนไพร พิเษและความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์หรือน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญของยีสต์ที่แยกได้จากน้ำผักกาดทองและน้ำส้มคั้น

ผู้เขียน นางสาวดาวริน สุขเกษม

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2549

บทคัดย่อ

การศึกษาสายพันธุ์ของยีสต์ที่แยกได้จากน้ำส้มเกล็ดหิมะและน้ำผักกาดทอง พิสูจน์โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีระวิทยา และการศึกษาลำดับเบสของ ดี เอ็น เอ พบว่า เป็นยีสต์ในกลุ่ม ascosporogenous yeast สายพันธุ์หลักของยีสต์ที่แยกได้จากน้ำส้มเกล็ดหิมะ คือ *Candida parapsilosis* *Zygosaccharomyces fermentati* และ *Kluyveromyces marxianus* ส่วนยีสต์สายพันธุ์หลักที่แยกได้จากน้ำผักกาดทอง คือ *Issatchenkia orientalis* และ *Candida humilis*.

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดอย่างหยาบของพืชสมุนไพร 11 ชนิด ได้แก่ กระเทียม หอม อบเชย กานพลู กะเพรา กะหล่ำปลี ข่า กระจ่าง กล้วยน้ำวัว บัวบก และฝรั่ง ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล 95 % ต่อการยับยั้งยีสต์ *C. parapsilosis* *Z. fermentati* และ *K. marxianus* ซึ่งแยกได้จากน้ำส้มเกล็ดหิมะ และ *I. orientalis* และ *C. humilis* ซึ่งแยกได้จากน้ำผักกาดทอง โดยใช้วิธี disc diffusion ศึกษาที่ความเข้มข้นของสารสกัด 8 มิลลิกรัมต่อแผ่นดิสก์ พบว่า สารสกัดเอทานอลของอบเชยและกานพลู สามารถยับยั้งยีสต์ทั้ง 5 สายพันธุ์ เมื่อศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดอบเชย กานพลู และโพแตสเซียมซอร์เบตต่อการยับยั้งยีสต์ (MIC) โดยใช้วิธี agar dilution พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดอบเชย กานพลู และโพแตสเซียมซอร์เบตต่อการยับยั้ง *C. parapsilosis* *Z. fermentati* และ *K. marxianus* คือ 1.0 0.5 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดอบเชย กานพลู และโพแตสเซียมซอร์เบตต่อการยับยั้ง *I. orientalis* และ *C. humilis* คือ 2.0 1.0 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

จากการศึกษาผลร่วมของพิเษ (2.0 3.0 และ 4.0) ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส (10 15 และ 20 องศาบริกซ์) และสารสกัดอบเชย (0.5 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) หรือกานพลู (0.5 1.0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) หรือโพแตสเซียมซอร์เบต (0.4 2.0 และ 3.6 หรือ 0.4 1.2 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ของน้ำส้มเกล็ดหิมะต่อการยับยั้ง *C. parapsilosis* *Z. fermentati* และ *K. marxianus* โดยใช้วิธี Response Surface Methodology (RSM) พบว่าพิเษและความเข้มข้นของ

สารสกัดอบเชยหรือกานพลูในน้ำส้มเกลือหิมาลัยมีผลต่อการยับยั้ง *C. parapsilosis* *Z. fermentati* และ *K. marxianus* อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสมีผลต่อการยับยั้งอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ส่วนพีเอชและความเข้มข้นของโพแตสเซียมซอร์เบทในน้ำส้มเกลือหิมาลัย มีผลต่อการยับยั้ง *C. parapsilosis* อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ในขณะที่พีเอชและความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสมีผลอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ต่อการยับยั้ง *Z. fermentati* และ *K. marxianus*

จากการศึกษาผลรวมของพีเอช (3.0 3.5 และ 4.0) ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (32 37 และ 42 องศาปริกซ์) และสารสกัดอบเชย (1.0 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) หรือกานพลู (0.2 0.6 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) หรือโพแตสเซียมซอร์เบท (0.8 1.6 และ 2.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ในน้ำผักกาดดองต่อการยับยั้ง *I. orientalis* โดยใช้วิธี Response Surface Methodology (RSM) พบว่า พีเอชและความเข้มข้นของสารสกัดอบเชยในน้ำผักกาดดองมีผลต่อการยับยั้ง *I. orientalis* อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์มีผลต่อการยับยั้งอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ในขณะที่ความเข้มข้นของสารสกัดกานพลู หรือโพแตสเซียมซอร์เบทของน้ำผักกาดดองมีผลต่อการยับยั้ง *I. orientalis* อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ส่วนพีเอชและความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ มีผลต่อการยับยั้งอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกันของสารสกัดอบเชย หรือสารสกัดกานพลูหรือโพแตสเซียมซอร์เบท พบว่า เมื่อพีเอชลดลงจะมีความสามารถในการยับยั้งยีสต์ได้ดีขึ้น ดังนั้นในอาหารประเภทที่มีความเป็นกรดสูง สามารถใช้สารสกัดอบเชยและสารสกัดกานพลูที่ความเข้มข้นต่ำในการยับยั้งยีสต์ เพื่อการถนอมอาหารได้

Thesis Title	The Combined Effect of Herbal Extracts, pH and NaCl or Sucrose on the Growth of Isolated Yeasts from Pickle and Orange Juice
Author	Miss Daorin Sukkasaem
Major Program	Biotechnology
Academic Year	2006

ABSTRACT

The yeast isolated from orange juice and pickled leafy vegetable were identified by using morphology physiology and DNA sequencing. All yeasts were ascosporogenous. The typical spoilage yeasts isolated from orange juice were *Candida parapsilosis*, *Zygosaccharomyces fermentati* and *Kluyveromyces marxianus* . While from pickled leafy vegetable were *Issatchenkia orientalis* and *Candida humilis*.

The crude aqueous extracts and ethanolic extracts of herbs 11 species including *Allium sativium*, *Allium cepa*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Eugenia aromatica*, *Ocimum tenuiflorum*, *Brassica oleracea*, *Alpinia nigra*, *Boesenbergia pandurata*, *Musa sapientum*, *Centella asiatica*, *Psidium guajava* and a chemical preservative (potassium sorbate) were used to study the antimicrobial activity against the isolated yeasts from orange juice (*C. parapsilosis*, *Z. fermentati* and *K.marxianus*) pickled leafy vegetable (*I. orientalis* and *C. humilis*). The crude extracts were preliminarily screened by disc diffusion technique at the concentration 8.0 mg/disc. Ethanolic extracts of the *Cinnamomum zeylanicum* (cinnamon) and *Eugenia aromatica* (clove) showed activity while the aqueous extracts of all herbs exhibited no activity. MICs were determined by the agar dilution method. The ethanolic extract of cinnamon and clove showed activity against *C. parapsilosis* *Z. fermentati* and *K.marxianus* with MIC 1.0 and 0.5 mg/ml and showed activity against *I. orientalis* and *C. humilis* with MIC 2.0 and 1.0 mg/ml. The potassium sorbate showed activity against *C. parapsilosis* *Z. fermentati* and *K.marxianus* with MIC 0.4 mg/ml and showed activity against *I. orientalis* and *C. huminis* with MIC 0.8 mg/ml.

The combined effect of pH (2.0, 3.0 and 4.0) , concentration of sucrose (10, 15 and 20 °Brix) and cinnamon extracts (0.5, 1.0 and 1.5 mg/ml) or clove extract (0.5, 1.0 and 1.5 mg/ml) or potassium sorbate (0.4, 2.0 and 3.6 or 0.4, 1.2 and 2.0 mg/ml) in orange juice on the

survival of isolated yeasts were studied using Response Surface Methodology (RSM). The pH of orange juice and concentration of cinnamon or clove extract had the most significant ($P<0.05$) effect on the survival of *C. parapsilosis*, *Z. fermentati*, and *K. marxianus*, while concentration of sucrose had least effect. Survival of *C. parapsilosis*, *Z. fermentati* and *K. marxianus* were most affected by concentration of potassium sorbate but pH and concentration of sucrose did not have significant ($P<0.05$) effect on survival of *Z. fermentati* and *K. marxianus*.

The combined effect of pH (3.0, 3.5 and 4.0), concentration of NaCl (32, 37 and 42 °Brix) and cinnamon extracts (1.0, 2.0 and 3.0 mg/ml) or clove extract (0.2, 0.6 and 1.0 mg/ml) or potassium sorbate (0.8, 1.6 and 2.4 mg/ml) in fermented brine on the survival of isolated yeasts were studied using Response Surface Methodology (RSM). The pH of fermented brine and concentration of cinnamon had the most significant ($P<0.05$) effect on survival of *I. orientalis* while concentration of NaCl was least effect. Survival of *I. orientalis* were most affected by concentration of clove and potassium sorbate but not by pH and concentration of NaCl. Comparing with the same concentration of cinnamon, clove extract and potassium sorbate, the results demonstrated that, survival of all yeasts decreased as pH decreased. So at low concentration of cinnamon and clove extract can markedly inhibit the growth of food spoilage yeasts when used in combination with low pH.