บทที่ 3

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

1. สารสกัดจากพืชสมุนไพร

ตัวอย่างพืชสมุนไพรสด/ อบแห้ง 12 ชนิด (กระชาย (*Boesenbergia pandurata*), กระเทียม (*Allium sativum*), กล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum*), กะเพรา (*Ocimum tenuiflorum*), ข่า (*Alpinia galanga*), ขิง (*Zingiber officnale*), ชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata*), เบญกานี (*Quercus infectoria*), บัวบก (*Centella asiatica*), ฝรั่ง (*Psidium guajava*), มังคุด (*Garcinia mangostana*), และสีเสียดเทศ (*Uncaria gambir)* นำมาคัดเลือกเอาเฉพาะส่วนที่ต้องการมาสกัดด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์หรือน้ำ พบว่าสารสกัดหยาบที่ผ่านขั้นตอนการสกัดด้วยเอธานอลหรือน้ำมีน้ำหนักร้อยละของสารสกัดที่ได้ ความชื้นและลักษณะของสารสกัดหยาบที่แตกต่างกัน

1.1 สารสกัดหยาบด้วยเอธานอล

สารสกัดที่ผ่านการสกัดด้วยเอธานอลมีน้ำหนักร้อยละของสารสกัดและความชื้นของสารสกัดที่ได้ต่อน้ำหนักพืชที่ใช้ แสดงไว้ในตารางที่ 1 โดยพบว่าร้อยละของสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลที่ได้มีค่าตั้งแต่ 8.00–81.57 และลักษณะของสารสกัดหยาบมีทั้งลักษณะหนืดและแห้ง ส่วนใหญ่สารสกัดหยาบด้วยเอธานอลมีลักษณะหนืด สำหรับสีของสารสกัดหยาบมีลักษณะแตกต่างกันตามสีของส่วนของสมุนไพรที่นำมาสกัด โดยสารสกัดส่วนใหญ่มีสีน้ำตาลและสารสกัดที่ได้จากส่วนของใบมีสีเขียวเข้ม ดังนี้

- กระชาย (เหง้า) สารสกัดหยาบมีลักษณะหนืด สีเหลืองปนน้ำตาล มีน้ำมันเล็กน้อย
- กระเทียม (หัว) สารสกัดหยาบมีลักษณะหนืด สีเหลืองปนน้ำตาล
- กะเพรา (ใบ) สารสกัดหยาบมีลักษณะหนืด สีน้ำตาลเข้ม มีน้ำมันเล็กน้อย
- กล้วยน้ำว้า (ปลีกล้วย) สารสกัดหยาบมีลักษณะ หนืด มีสีเหลืองเข้ม มีน้ำมันเล็กน้อย
- กล้วยน้ำว้า (เปลือก) สารสกัดหยาบมีลักษณะเปียก ไม่หนืด สีเหลืองปนเขียว
- กล้วยน้ำว้า (ผล) สารสกัดหยาบมีลักษณะหนืด สีเหลืองเข้ม มีน้ำมันเล็กน้อย
- ข่า (เหง้า) สารสกัดหยาบมีลักษณะหนืด สีน้ำตาลเข้ม มีน้ำมันเล็กน้อย
- ขิง (เหง้า) สารสกัดหยาบมีลักษณะหนืด สีน้ำตาลเข้ม มีน้ำมันเล็กน้อย
- ชุมเห็ดเทศ (ใบ) สารสกัดหยาบมีลักษณะหนืด สีเขียวเข้ม มีน้ำมันเล็กน้อย

- บัวบก (ใบ) สารสกัดหยาบมีลักษณะหนืด สีเขียวเข้ม มีน้ำมันเล็กน้อย
- เบญกานี (ปูด) สารสกัดหยาบมีลักษณะหนืด สีเขียวปนน้ำตาล
- ฝรั่ง (ใบ) สารสกัดหยาบมีลักษณะแห้งเปราะ สีเขียวเข้ม
- ฝรั่ง (ผล) สารสกัดหยาบมีลักษณะหนืด สีน้ำตาลเข้ม
- มังคุด (ใบ) สารสกัดหยาบมีลักษณะแห้งเปราะ สีเขียวเข้ม
- มังคุด (เปลือก) สารสกัดหยาบมีลักษณะหนืด สีน้ำตาลแดง
- สีเสียดเทศ (สารสกัดก้อน) สารสกัดหยาบมีลักษณะหนืด สีน้ำตาลแดง

ปริมาณร้อยละของความชื้นของสารสกัดหยาบที่ได้มีค่าตั้งแต่ 5.17-31.35 การที่สารสกัดหยาบด้วยเอธานอลมีปริมาณความชื้นหลังจากการทำแห้งในปริมาณมาก อาจเนื่องมาจากปริมาณน้ำที่มีอยู่ในพืชสมุนไพรเองมีปริมาณมาก นอกจากนี้การใช้ 95 เปอร์เซ็นต์เอธานอลยังมีน้ำเป็นองค์ประกอบอีก และในการทำแห้งโดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ ซึ่งใช้อุณหภูมิในการระเหยเพียง 40 องศาเซลเซียส จึงอาจทำให้ไม่สามารถระเหยน้ำที่มีอยู่ได้

1.2 สารสกัดหยาบด้วยน้ำ

สารสกัดที่ผ่านการสกัดด้วยน้ำมีน้ำหนักร้อยละของสารสกัดและความชื้นของสารสกัดที่ได้ต่อน้ำหนักพืชที่ใช้ แสดงไว้ในตารางที่ 2 โดยพบว่าร้อยละของสารสกัดหยาบด้วยน้ำที่ได้มีค่าตั้งแต่ 1.32–44.90 และลักษณะของสารสกัดหยาบส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นผงแห้ง สำหรับสีของสารสกัดหยาบมีลักษณะแตกต่างกันตามส่วนของสมุนไพรที่นำมาสกัด ดังนี้

- กระชาย (เหง้า) สารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีน้ำตาลเข้ม
- กระเทียม (หัว) สารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีเหลืองปนน้ำตาล
- กะเพรา (ใบ) สารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีน้ำตาลเข้ม
- กล้วยน้ำว้า (ปลีกล้วย) สารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีน้ำตาลเข้ม
- กล้วยน้ำว้า (เปลือก) สารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีน้ำตาลเข้ม
- กล้วยน้ำว้า (ผล) สารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีน้ำตาลอ่อน
- ข่า (เหง้า) สารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีน้ำตาลเข้ม
- ขิง (เหง้า) สารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีน้ำตาลเข้ม
- ชุมเห็ดเทศ (ใบ) สารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีเขียวเข้ม
- บัวบก (ใบ) สารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีเขียวเข้ม
- เบญกานี (ปูด) สารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีเขียวอ่อน
- ฝรั่ง (ใบ) สารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีเขียวเข้ม

- ฝรั่ง (ผล) สารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีน้ำตาลอ่อน
- มังคุด (ใบ) สารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีน้ำตาลอมส้ม
- มังคุด (เปลือก) สารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีน้ำตาลแดง
- สีเสียดเทศ (สารสกัดก้อน) สารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีน้ำตาลแดง

ตารางที่ 1 ปริมาณร้อยละและความชื้นของสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลของพืชสมุนไพร

Table 1 % yield and % moisture of crude ethanolic extracts of herbal plants

Herb	**Plant parts**	**% Yield of extracts**	**% Moisture of extracts**
Allium sativum	Bulbs	11.67	30.87
Alpinia galanga	Rhizomes	15.70	11.49
Boesenbergia pandurata	Rhizomes	8.50	5.17
Cassia alata	Leaves	37.60	17.41
Centella asiatica	Leaves	20.00	27.77
Garcinia mangostana	Leaves	16.50	9.56
Garcinia mangostana	Fruit peels	12.44	15.34
Musa sapientum	Flowers	9.90	23.93
Musa sapientum	Fruit peels	8.75	25.38
Musa sapientum	Fruits	38.22	28.05
Ocimum tenuiflorum	Leaves	26.30	29.45
Psidium guajava	Leaves	41.05	12.05
Psidium guajava	Fruit peels	8.00	20.68
Quercus infectoria	galls	81.57	31.35
Uncaria gambir	Extracts	78.04	22.03
Zingiber officnale	Rhizomes	8.51	27.30

ตารางที่ 2 ปริมาณร้อยละและความชื้นของสารสกัดหยาบด้วยน้ำของพืชสมุนไพร

Table 2 % yield and % moisture of crude aqueous extracts of herbal plants

Herb	**Plant parts**	**% Yield of extracts**	**% Moisture of extracts**
Allium sativum	Bulbs	21.49	6.80
Alpinia galanga	Rhizomes	2.69	5.63
Boesenbergia pandurata	Rhizomes	3.17	5.96
Cassia alata	Leaves	16.30	4.52
Centella asiatica	Leaves	27.40	6.53
Garcinia mangostana	Leaves	15.76	4.67
Garcinia mangostana	Fruit peels	6.19	9.86
Musa sapientum	Flowers	1.32	10.32
Musa sapientum	Fruit peels	2.61	11.75
Musa sapientum	Fruits	3.32	17.96
Ocimum tenuiflorum	Leaves	19.62	7.72
Psidium guajava	Leaves	30.09	6.64
Psidium guajava	Fruit peels	5.64	9.33
Quercus infectoria	galls	44.90	4.63
Uncaria gambir	Extracts	32.08	3.48
Zingiber officnale	Rhizomes	2.86	5.37

2. ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดพืชสมุนไพรโดยวิธี Disc diffusion

ในการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพรด้วยเอธานอลและน้ำ โดยแบคทีเรียที่นำมาทดสอบทั้ง 4 ชนิด (*Listeria monocytogenes, Salmonella typhi, Staphylococcus aureus* และ *Vibrio parahaemolyticus*) เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่พบได้ในอาหาร โดยเลือกใช้วิธี disc diffusion ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย ซึ่งเปรียบเทียบขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสรอบๆ แผ่น disc เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพเบื้องต้นในการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร พบว่าสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้แตกต่าง

กัน (ตารางที่ 3 และ 4) โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสรอบแผ่น disc ของสารสกัดด้วยเอธานอลอยู่ในช่วง 10–22 มิลลิเมตร ซึ่งมีขนาดของวงใสกว้างกว่าวงใสที่เกิดจากสารสกัดด้วยน้ำ ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสรอบแผ่น disc อยู่ในช่วง 10–20 มิลลิเมตร ในขณะที่แผ่น disc ควบคุมซึ่งบรรจุตัวทำละลายอยู่ไม่ทำให้เกิดวงใส (ภาพประกอบ 1 และ 2)

สำหรับพืชสมุนไพรที่สกัดด้วยเอธานอล พบว่า สารสกัดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้ง 4 ชนิด คือสารสกัดของผลฝรั่งและเบญกานี โดยมีฤทธิ์ยับยั้ง *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุด สารสกัดของเปลือกกล้วยน้ำว้า ใบฝรั่งและขิงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes*, *S. typhi* และ *S. aureus* โดยสารสกัดของเปลือกกล้วยน้ำว้าและขิงมีฤทธิ์ยับยั้ง *S. typhi* ได้ดีที่สุด ซึ่งมีรายงานว่าสารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* และ *S. aureus* ได้เช่นกัน (Hammer *et al*., 1999 ; Alzoryky and Nakahara, 2002) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากขิงและฝรั่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. typhimurium* และ *S. infantis* ได้ (Gnan and Demello, 1999 ; Hammer *et al*., 1999 ; Alzoryky and Nakahara, 2002) สารสกัดของเปลือกมังคุดและสีเสียดเทศมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes*, *S. aureus* และ *V. parahaemolyticus* โดยมีฤทธิ์ยับยั้ง *V. parahaemolyticus* ได้ดีที่สุด ซึ่งได้มีการทดสอบที่ให้ผลที่สอดคล้องกันสำหรับสารสกัดจากฝรั่งและเปลือกมังคุดว่ามีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ได้เช่นกัน (จริยา สินเดิมสุข และคณะ, 2532 ; Rabe and Staden, 1997 ; Gnan and Demello, 1999) สารสกัดของกระเทียม ชุมเห็ดเทศ และใบมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* และ *S. aureus* พบว่า สารสกัดจากชุมเห็ดเทศมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้น (นงค์เยาว์ ภู่เจนจบ, 2544) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกันเพราะ *L. monocytogenes* และ *S. aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก สารสกัดของปลีกล้วยน้ำว้ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* และ *S. typhi* ได้ สารสกัดของกระชายและใบบัวบกมีฤทธิ์ยับยั้งเฉพาะ *S. aureus* ได้เท่านั้น และสารสกัดของผลกล้วยน้ำว้ายับยั้งได้เฉพาะ *S. typhi* เท่านั้น ส่วนสารสกัดด้วยเอธานอลที่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้เลยทั้ง 4 ชนิดได้แก่ ข่าและกะเพรา

สำหรับพืชสมุนไพรที่สกัดด้วยน้ำพบว่าสารสกัดของเบญกานีและสีเสียดเทศมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้ง 4 ชนิด สารสกัดของชุมเห็ดเทศและใบมังคุดมีฤทธิ์ยับยั้ง *L. monocytogenes* และ *S. aureus* ได้ สารสกัดของผลฝรั่งยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *S. typhi* ได้ สารสกัดของกระเทียมสามารถยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* เท่านั้น และพบรายงานก่อนหน้านี้ว่าสารสกัดจากน้ำกระเทียมคั้นมีฤทธิ์ยับยั้ง *L. monocytogenes* และ *S. aureus* ได้และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำกระเทียม ทำให้สามารถยับยั้งได้เพิ่มขึ้น (Kumar and Berwal, 1998) และสารสกัดของใบฝรั่งและขิงยับยั้งการเจริญได้เฉพาะ *S. aureus* ส่วนสารสกัดของข่า กระชาย บัวบก เปลือกมังคุด ปลี

เปลือกและผลของกล้วยน้ำว้า และกะเพรา พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบทั้ง 4 ชนิดได้เลย สารสกัดด้วยเอธานอลของผลฝรั่งและเบญกานี และสารสกัดด้วยน้ำของเบญกานีและสีเสียดเทศมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้แบบกว้าง คือสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ที่นำมาทดสอบได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ส่วนใหญ่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้มากที่สุด รองลงมาคือ *L. monocytogenes* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่ง และสารสกัดส่วนน้อยเท่านั้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. typhi* และ *V. parahaemolyticus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง และมีรายงานกล่าวว่าแบคทีเรียแกรมลบมีความทนทานมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจากมีโครงสร้างของผนังเซลล์ที่แตกต่างกัน และเมื่อใช้สารสกัดพืชสมุนไพรแล้ว โดยทั่วไปสารสกัดจะไปสัมผัสผนังเซลล์ก่อน จึงทำให้แบคทีเรียแกรมลบที่มีผนังเซลล์หนากว่ามีความทนทานกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Rabe and Staden, 1997 ; Kabuki *et al*., 2000 ; Arias *et al*., 2004) จากรายงานการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากใบฝรั่งและเปลือกมังคุด พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกได้มากกว่า *E. coli* ATCC 25922 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ (จริยา สินเดิมสุข และคณะ, 2532) นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนใหญ่สารสกัดที่สกัดด้วยเอธานอลมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำ และยังสอดคล้องกับรายงานของ Voravuthikunchai และคณะ (2004) ที่พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรไทยบางชนิดที่สกัดด้วยน้ำไม่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้ ในขณะที่สารสกัดด้วยเอธานอลมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย อาจเป็นผลมาจากการสกัดใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่าการที่สารสกัดสมุนไพรชนิดที่ไม่มีขั้วไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์หรือมีฤทธิ์น้อยเนื่องจากสารสกัดชนิดที่ไม่มีขั้วไม่มีสาร phloroglucinal จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบอาจมีฤทธิ์มากกว่าสารสกัดบริสุทธิ์ซึ่งอาจมีการสูญเสียสารที่ฤทธิ์ในระหว่างการทำบริสุทธิ์ (Pistelli *et al*., 2000) และเนื่องจากสารสำคัญที่มีอยู่ในพืชมีหลายชนิดและสามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน จึงอาจทำให้มีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ได้แตกต่างกันด้วย ซึ่งควรมีการศึกษาถึงผลของตัวทำละลายต่อชนิดของสารที่สกัดได้ต่อไป

ผลจากการทดสอบสารสกัดด้วยเอธานอลและน้ำของเบญกานี พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้ทั้ง 4 ชนิด ซึ่งมีทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสรอบแผ่น disc อยู่ในช่วง 15.00–22.00 มิลลิเมตร โดยมีรายงานก่อนหน้านี้พบว่าสารสกัดด้วยเอธานอลและน้ำของเบญกานีมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้แบบกว้าง คือมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ และยังให้ผลสอดคล้องมากขึ้นเมื่อพบว่าทั้งสารสกัดด้วยเอธานอลและน้ำของเบญกานีสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923

ได้เช่นกัน (Voravuthikunchai *et al*., 2004 ; Nimri *et al*., 1999) การที่สารสกัดบางชนิดให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียได้แตกต่างกัน อาจเป็นผลมาจากปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายประการ เช่น แหล่งที่มาของสมุนไพรแตกต่างกัน สภาพแวดล้อมในการเพาะปลูกอาจส่งผลให้มีชนิดและปริมาณของกลุ่มสารสำคัญในสมุนไพรชนิดเดียวกันแตกต่างกัน เวลาในการเก็บเกี่ยวสมุนไพรแต่ละครั้ง เมื่อนำมาสกัดอาจทำให้กลุ่มสารสำคัญที่แยกได้แตกต่างกันด้วย นอกจากนี้วิธีการสกัดสารที่แตกต่างกัน และความเข้มข้นของสารที่แตกต่างกันก็ส่งผลให้การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียมีผลที่แตกต่างกันได้เช่นกัน (Lin *et al*., 1999 ; Nimri *et al*., 1999 ; Samuelsson, 1999)

สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของยาปฏิชีวนะต่อเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบ โดยใช้ Chloramphenicol ที่มีความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อแผ่น พบว่า สามารถยับยั้ง *L. monocytogenes*, *S. typhi, S. aureus* และ *V. parahaemolyticus* ได้ดี โดยมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสรอบแผ่น disc 26.33 27.96 22.50 และ 28.87 มิลลิเมตร ตามลำดับ ยาต้านจุลชีพมาตรฐาน Chloramphenicol ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อแผ่น เมื่อนำมาทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ซึ่งเป็นแบคทีเรีย แกรมบวก และ *E. coli* ATCC 25922 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบมีขนาดของวงใสอยู่ในช่วง 19.00–26.00 มิลลิเมตร และ 21.00–27.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ (Lorian, 1980)

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดพืชสมุนไพรด้วยเอธานอลโดยวิธี Disc diffusion

Table 3 Antibacterial activity of ethanolic extracts by Disc diffusion method

Herb	**Plant parts**	**Inhibition zone (mm)**			
		Lm.	**St.**	**Sa.**	**Vp.**
Allium sativum	Bulbs	13.00	-	12.00	-
Alpinia galanga	Rhizomes	-	-	-	-
Boesenbergia pandurata	Rhizomes	-	-	10.50	-
Cassia alata	Leaves	15.00	-	18.00	-
Centella asiatica	Leaves	-	-	10.50	-
Garcinia mangostana	Leaves	13.50	-	13.00	-
Garcinia mangostana	Fruit peels	12.00	-	12.50	13.00
Musa sapientum	Flowers	15.00	15.50	-	-
Musa sapientum	Fruit peels	10.00	16.00	12.00	-
Musa sapientum	Fruits	-	19.50	-	-
Ocimum tenuiflorum	Leaves	-	-	-	-
Psidium guajava	Leaves	11.00	11.00	12.00	-
Psidium guajava	Fruit peels	12.50	10.00	11.00	10.50
Quercus infectoria	Galls	20.50	16.50	18.00	17.00
Uncaria gambir	Extracts	14.00	-	15.00	17.00
Zingiber officnale	Rhizomes	11.00	18.00	12.00	-
Chloramphenicol		27.00	21.28	23.06	21.81
Ethanol		-	-	-	-

Lm. : *L. monocytogenes*, St. : *S. typhi*, Sa. : *S. aureus*, Vp. : *V. parahaemolyticus*

- : No inhibition zone

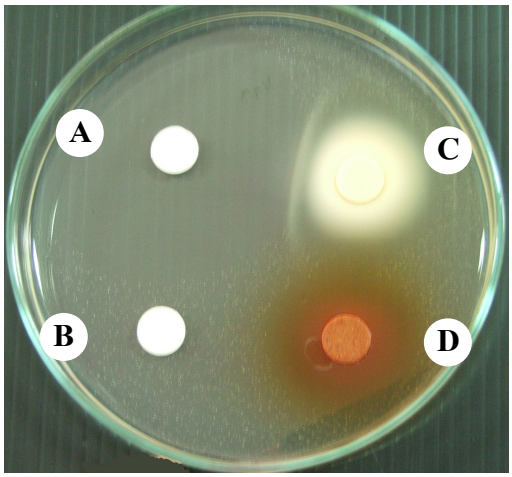
ตารางที่ 4 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดพืชสมุนไพรด้วยน้ำโดยวิธี Disc diffusion

Table 4 Antibacterial activity of aqueous extracts by Disc diffusion method

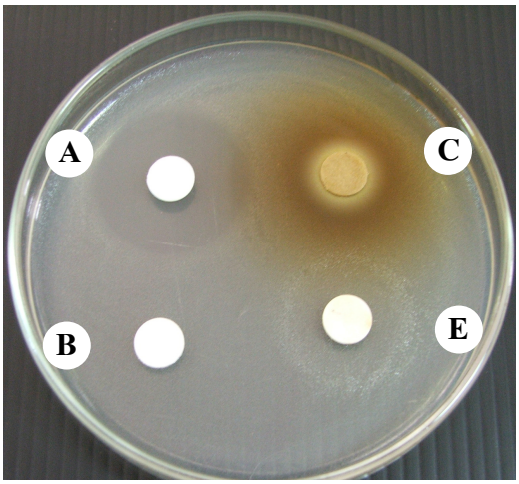
Herb	**Plant parts**	**Inhibition zone (mm)**			
		Lm.	**St.**	**Sa.**	**Vp.**
Allium sativum	Bulbs	15.00	-	-	-
Alpinia galangal	Rhizomes	-	-	-	-
Boesenbergia pandurata	Rhizomes	-	-	-	-
Cassia alata	Leaves	13.00	-	14.00	-
Centella asiatica	Leaves	-	-	-	-
Garcinia mangostana	Leaves	16.00	-	17.00	-
Garcinia mangostana	Fruit peels	-	-	-	-
Musa sapientum	Flowers	-	-	-	-
Musa sapientum	Fruit peels	-	-	-	-
Musa sapientum	Fruits	-	-	-	-
Ocimum tenuiflorum	Leaves	-	-	-	-
Psidium guajava	Leaves	-	-	15.00	-
Psidium guajava	Fruit peels	-	11.00	14.00	-
Quercus infectoria	Galls	15.00	15.00	20.00	16.00
Uncaria gambir	Extracts	12.50	16.50	12.50	15.00
Zingiber officnale	Rhizomes	-	-	14.00	-
Chloramphenicol		27.00	21.28	23.06	21.81
Water		-	-	-	-

Lm. : *L. monocytogenes*, St. : *S. typhi*, Sa. : *S. aureus*, Vp. : *V. parahaemolyticus*

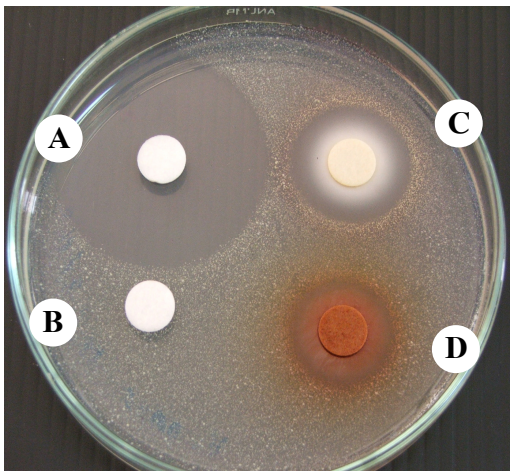
- : No inhibition zone



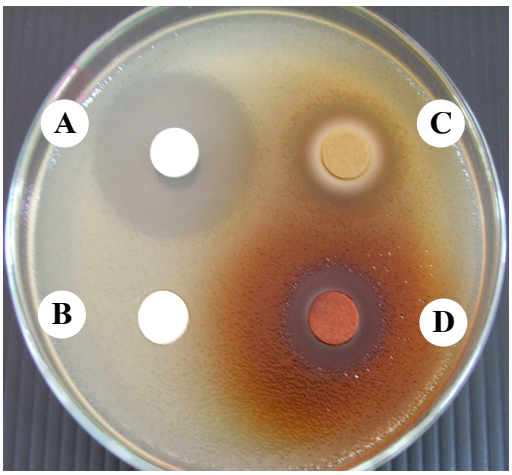
L. monocytogenes



S. typhi



S. aureus



V. parahaemolyticus

ภาพที่ 1 การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดพืชสมุนไพรด้วยเอธานอล โดยวิธี Disc diffusion

Figure 1 Antibacterial activity of ethanolic extracts by Disc diffusion method

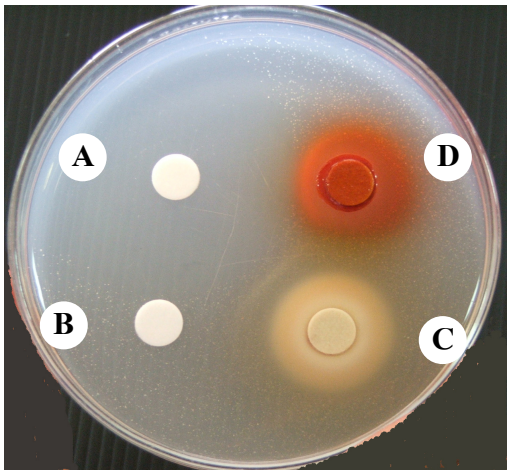
A : Positive control (Chloramphenicol)

B : Negative control (Ethanol)

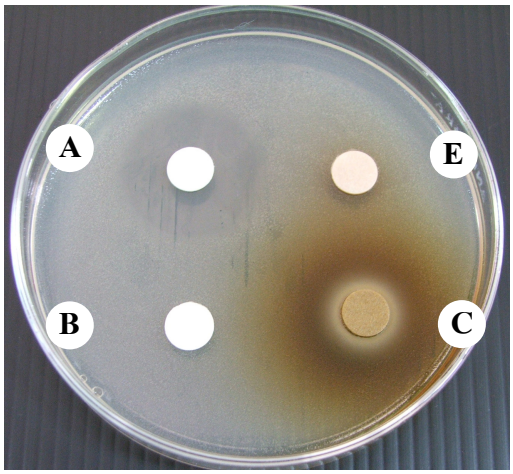
C : *Quercus infectoria*

D : *Uncaria gambir*

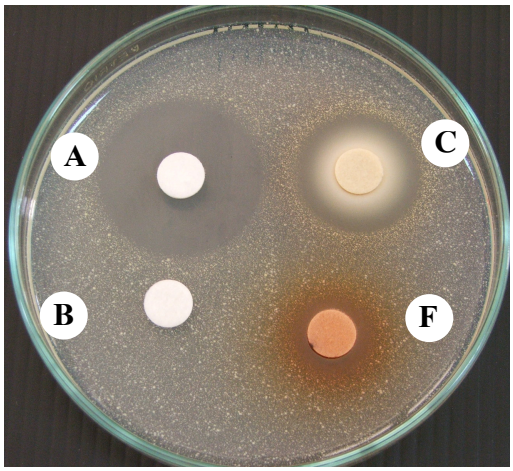
E : *Musa sapientum* (Fruits)



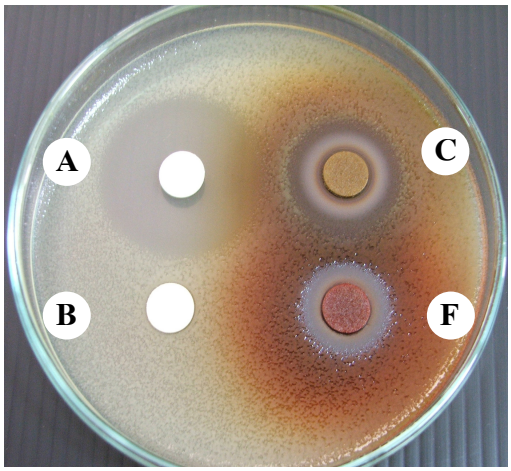
L. monocytogenes



S. typhi



S. aureus



V. parahaemolyticus

ภาพที่ 2 การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดพืชสมุนไพรด้วยน้ำ โดยวิธี Disc diffusion

Figure 2 Antibacterial activity of aqueous extracts by Disc diffusion method

A : Positive control (Chloramphenicol)

B : Negative control (Ethanol)

C : *Quercus infectoria*

D : *Garcinia mangostana* (Leaves)

E : *Psidium guajava* (Fruits)

F : *Uncaria gambir*

3. ผลการทดสอบหาค่า Minimum inhibitory concentration (MIC) โดยวิธี Agar dilution

เมื่อคัดเลือกสารสกัดของสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่นำมาทดสอบโดยวิธี disc diffusion ได้ดี โดยเปรียบเทียบจากขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส มาหาค่า MIC โดยวิธี agar dilution ได้ผลดังตารางที่ 5 และ 6 พบว่าทั้งสารสกัดด้วยเอธานอลและน้ำจากเบญกานีมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแบบกว้าง ซึ่งสามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบที่นำมาทดสอบได้ทั้ง 4 ชนิด ซึ่งมีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.08–5.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่า MIC ต่อแบคทีเรียแกรมบวก (*L. monocytogenes* และ *S. aureus*) ต่ำกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*S. typhi* และ *V. parahaemolyticus*) คือค่า MIC ต่อแบคทีเรียแกรมบวกอยู่ในช่วง 0.08–5.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MIC ต่อแบคทีเรียแกรมลบอยู่ในช่วง 0.16 ถึงมากกว่า 10.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นั่นคือสารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ตามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุด คือสารสกัดด้วยเอธานอลของปลีกล้วยน้ำว้า โดยมีค่า MIC 0.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับ *S. aureus* พบว่าสารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานี มีฤทธิ์ยับยั้งได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *S. typhi* และ *V. parahaemolyticus* ได้ดีที่สุด คือสารสกัดด้วยเอธานอลของกล้วยน้ำว้าและเบญกานี โดยมีค่า MIC 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร Voravuthikunchai และคณะ (2005) ได้รายงานค่า MIC ของสารสกัดจากเบญกานีต่อ *S. aureus* อยู่ในช่วง 0.1-0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีค่า MIC ที่ใกล้เคียงกันคือ อยู่ในช่วง 0.16-0.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่จากการศึกษาของ Nimri และคณะ (1999) พบว่าค่า MIC ของสารสกัดจากเบญกานีอยู่ในช่วง 0.98-31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับค่าที่แตกต่างกันบ้างกับรายงานก่อนหน้านี้อาจเนื่องมาจากวิธีการสกัดสาร ความบริสุทธิ์ของสาร และสายพันธุ์ของเชื้อที่นำมาทดสอบ (Voravuthikunchai *et al*., 2004) และค่า MIC ที่มีค่าสูงนั้นอาจเป็นผลมาจากสารสกัดยังไม่อยู่ในรูปของสารบริสุทธิ์ หรือสารที่มีฤทธิ์มีอยู่ในสารสกัดหยาบนั้นน้อยเกินไป (Rabe and Staden, 1997)

จากผลการทดสอบพบว่า เบญกานีเป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคที่พบได้ในอาหารได้ดีอีกชนิดหนึ่ง อีกทั้งจากผลการทดสอบและรายงานก่อนหน้านี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบจากเบญกานียังมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้แบบกว้าง คือมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ (Voravuthikunchai *et al*., 2004 ; Nimri *et al*., 1999) สารสำคัญที่พบในเบญกานีและมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียคือแทนนิน ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ และแทนนินสามารถพบในสมุนไพรชนิดอื่นๆได้อีกด้วย (Nimri *et al*., 1999) เบญกานีจัดเป็น

สมุนไพรที่หาซื้อได้ง่าย ราคาไม่แพง และยังสามารถนำมาสกัดสารได้ง่าย นอกจากนี้ยังให้ปริมาณร้อยละของสารสกัดที่สูงอีกด้วย ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจที่จะมีการนำไปศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคชนิดอื่นๆ และควรมีการสนับสนุนให้มีการศึกษาถึงรายละเอียดของสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์ดี เพื่อเป็นแนวทางในในการพัฒนาสารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สามารถช่วยลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่อาจก่อให้เกิดโรคในอาหารมาทดแทนสารเคมีที่มีราคาแพงต่อไปในอนาคต

ตารางที่ 5 ค่า Minimum inhibitory concentration (MIC) ของสารสกัดสมุนไพรด้วยเอธานอล

Table 5 Minimum inhibitory concentration (MIC) of ethanolic extracts

Herb	Plant parts	Bacterial tested	MIC values (mg/ml) *
Cassia alata	Leaves	*Listeria monocytogenes*	2.50
		Staphylococcus aureus	2.50
Garcinia mangostana	Fruit peels	*Vibrio parahaemolyticus*	5.00
Musa sapientum	Flowers	*Listeria monocytogenes*	0.08
		Salmonella typhi	0.31
Musa sapientum	Fruit peels	*Salmonella typhi*	0.31
Musa sapientum	Fruits	*Salmonella typhi*	0.16
Quercus infectoria	Galls	*Listeria monocytogenes*	0.08
		Salmonella typhi	0.31
		Staphylococcus aureus	0.16
		Vibrio parahaemolyticus	0.16
Uncaria gambir	Extracs	*Listeria monocytogenes*	2.50
		Staphylococcus aureus	2.50
		Vibrio parahaemolyticus	0.31
Zingiber officnale	Rhizomes	*Salmonella typhi*	0.31

* : by agar dilution method

ตารางที่ 6 ค่า Minimum inhibitory concentration (MIC) ของสารสกัดสมุนไพรด้วยน้ำ

Table 6 Minimum inhibitory concentration (MIC) of aqueous extracts

Herb	Plant parts	Bacterial tested	MIC values (mg/ml) *
Allium sativum	Bulbs	*Listeria monocytogenes*	2.50
Garcinia mangostana	Leaves	*Listeria monocytogenes*	2.50
Musa sapientum	Flowers	*Staphylococcus aureus*	1.25
Psidium guajava	Leaves	*Staphylococcus aureus*	5.00
	Fruit peels	*Staphylococcus aureus*	>10.00
Quercus infectoria	Galls	*Listeria monocytogenes*	0.62
		Salmonella typhi	2.50
		Staphylococcus aureus	0.62
		Vibrio parahaemolyticus	5.00
Uncaria gambir	Extracs	*Salmonella typhi*	1.25
		Vibrio parahaemolyticus	5.00

* : by agar dilution method

4. ผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดพืชสมุนไพร

คัดเลือกสารสกัดของสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแต่ละชนิดได้ดี โดยคัดเลือกสารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานีและสารสกัดจากส่วนปลีของกล้วยน้ำว้าสำหรับศึกษาการยับยั้ง *L. monocytogenes* สารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานีและส่วนผลของกล้วยน้ำว้า สำหรับศึกษาการยับยั้ง *S. typhi* สารสกัดด้วยเอธานอลและน้ำของเบญกานีสำหรับศึกษาการยับยั้ง *S. aureus* และสารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานีและสีเสียดเทศสำหรับศึกษาการยับยั้ง *V. parahaemolyticus* โดยนำมาศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร ปัจจัยที่ศึกษาถึงประกอบด้วยปริมาณของแบคทีเรีย พีเอช และอุณหภูมิที่มีผลต่อฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร

4.1 ผลของปริมาณแบคทีเรียเริ่มต้นที่มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร

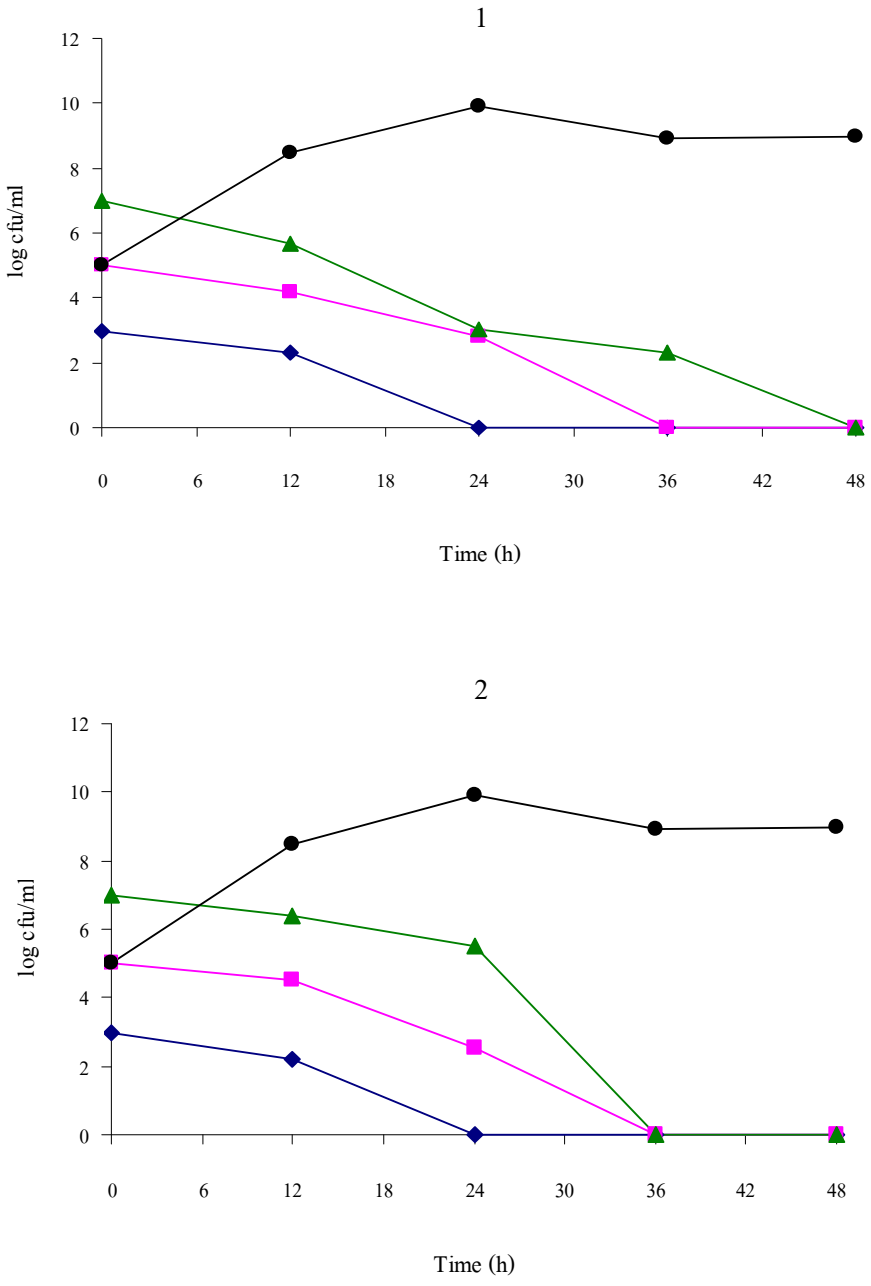
ภาพที่ 3-6 แสดงผลของปริมาณแบคทีเรียเริ่มต้นผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพรเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง พบว่าปริมาณของแบคทีเรียมีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร โดยสารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานีและส่วนปลีของกล้วยน้ำว้าที่มีความเข้มข้นเป็น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^3 CFU/mlได้หมดภายใน 24 ชั่วโมง และเมื่อเพิ่มปริมาณเชื้อเริ่มต้นเป็น 10^5 CFU/ml และ 10^7 CFU/ml สารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานีสามารถยับยั้งการเจริญได้หมดเมื่อเวลาผ่านไป 36 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ในกรณีของสารสกัดด้วยเอธานอลของปลีกล้วยน้ำว้าจะใช้เวลาทำลาย *L. monocytogenes* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^5 CFU/ml และ 10^7 CFU/ml ได้หมดในเวลาเพียง 36 ชั่วโมง (ภาพที่ 3)

สารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานี และผลของกล้วยน้ำว้าสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. typhi* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^3 CFU/ml ได้หมดภายใน 24 ชั่วโมง และเมื่อเพิ่มปริมาณเชื้อเริ่มต้นเป็น 10^5 CFU/ml และ 10^7 CFU/ml สารสกัดทั้งสองชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. typhi* ได้หมดเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 4)

สำหรับ *S. aureus* พบว่า สารสกัดด้วยเอธานอลและน้ำของเบญกานีสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^3 CFU/ml และ 10^5 CFU/ml ได้หมดภายใน 12 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มปริมาณเชื้อเริ่มต้นเป็น 10^7 CFU/ml สารสกัดด้วยเอธานอลและน้ำของเบญกานีไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง ได้หมด (ภาพที่ 5)

สำหรับ *V. parahaemolyticus* (ภาพที่ 6) พบว่าสารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานีและสีเสียดเทศสามารถยับยั้งการเจริญของ *V. parahaemolyticus* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^3 CFU/mlได้หมดภายใน 24 ชั่วโมง และเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง สารสกัดทั้งสองชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของ *V. parahaemolyticus* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^5 CFU/ml ได้หมด แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *V. parahaemolyticus* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^7 CFU/ml ได้หมด

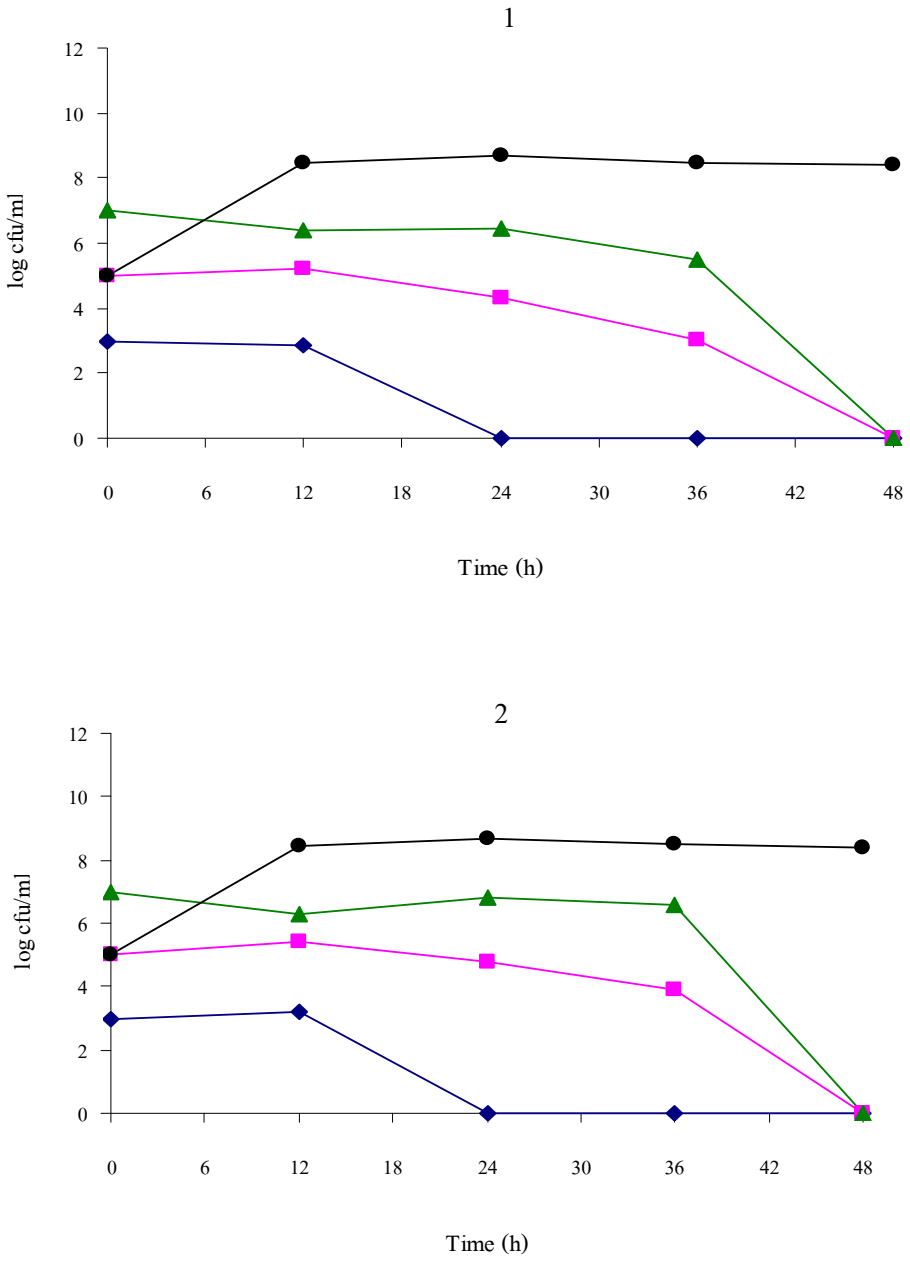
Lorian (1980) กล่าวว่าปริมาณของแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบเป็นปัจจัยที่มีผลต่อฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย และได้ยกตัวอย่างไว้ว่าได้มีผู้ทดสอบความไวของเชื้อ *Psuedomonas* ต่อ carbenicillin ในอาหารเหลว Mueller Hinton พบว่า ค่า MIC เพิ่มขึ้นจาก 5 เท่าเป็น 40 เท่า เมื่อใช้เชื้อขึ้นจาก 10^3 ตัว/มิลลิลิตร เป็น 10^7 ตัว/มิลลิลิตร ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเมื่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอาจทำให้สารสกัดสมุนไพรออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ได้ไม่ทั่วถึงจึงส่งผลให้ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้น้อยลง ดังนั้นการศึกษาถึงผลของปริมาณแบคทีเรียเริ่มต้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อจะนำไปสู่การเลือกใช้ปริมาณสารสกัดสมุนไพรเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อไป



ภาพที่ 3 ผลของปริมาณ *Listeria monocytogenes* เริ่มต้นต่อการยับยั้งการเจริญโดยสารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานี (1) และปลีกล้วยน้ำว้า (2)

Figure 3 Effect of inoculum level of *Listeria monocytogenes* on the antibacterial activity of ethanolic extracts of *Q. infectoria* (1) and flowers of *M. sapientum* (2)

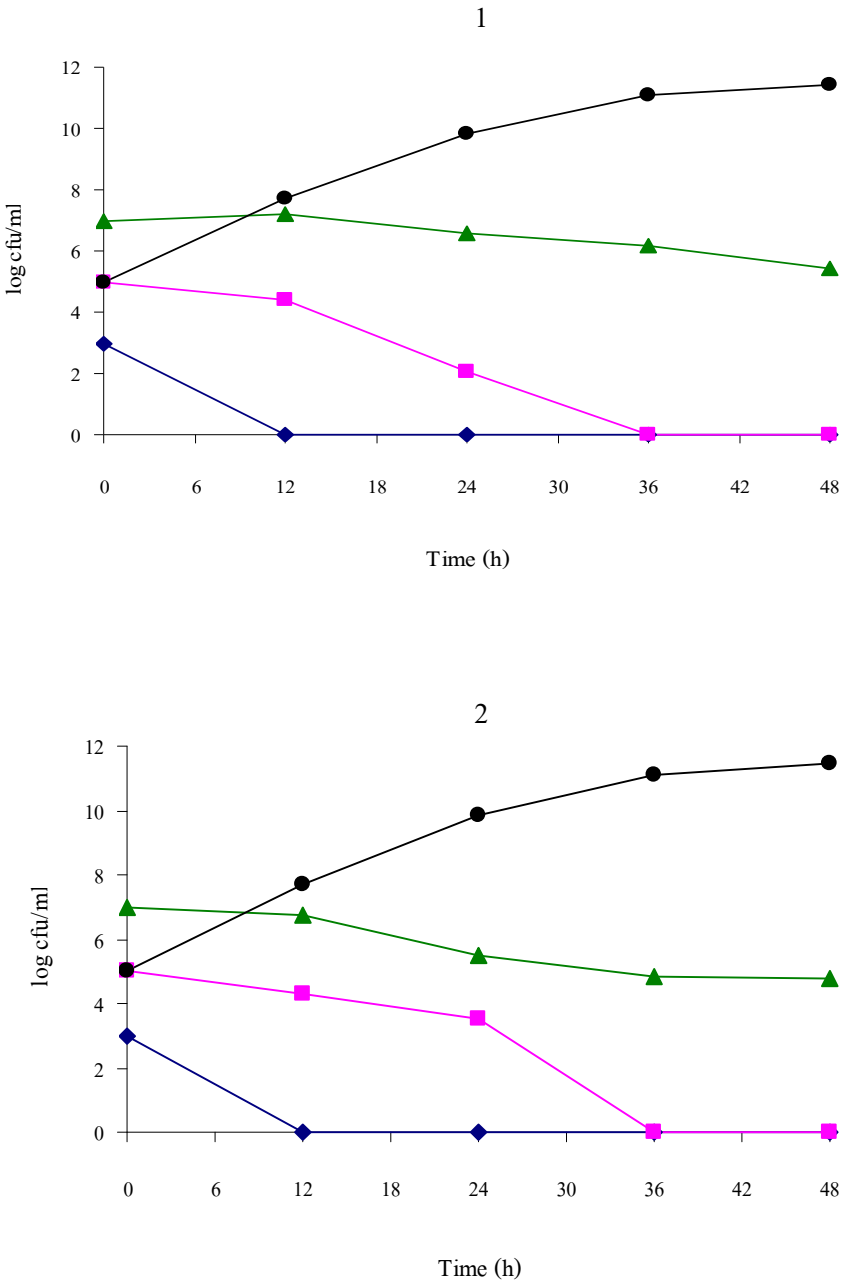
● control (10^5 cfu/ml) ■ 10^3 cfu/ml ▲ 10^5 cfu/ml ◆ 10^7 cfu/ml



ภาพที่ 4 ผลของปริมาณ *Salmonella typhi* เริ่มต้นต่อการยับยั้งการเจริญโดยของสารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานี (1) และผลกล้วยน้ำว้า (2)

Figure 4 Effect of inoculum level of *Salmonella typhi* on the antibacterial activity of ethanolic extracts of *Q. infectoria* (1) and fruits of *M. sapientum* (2)

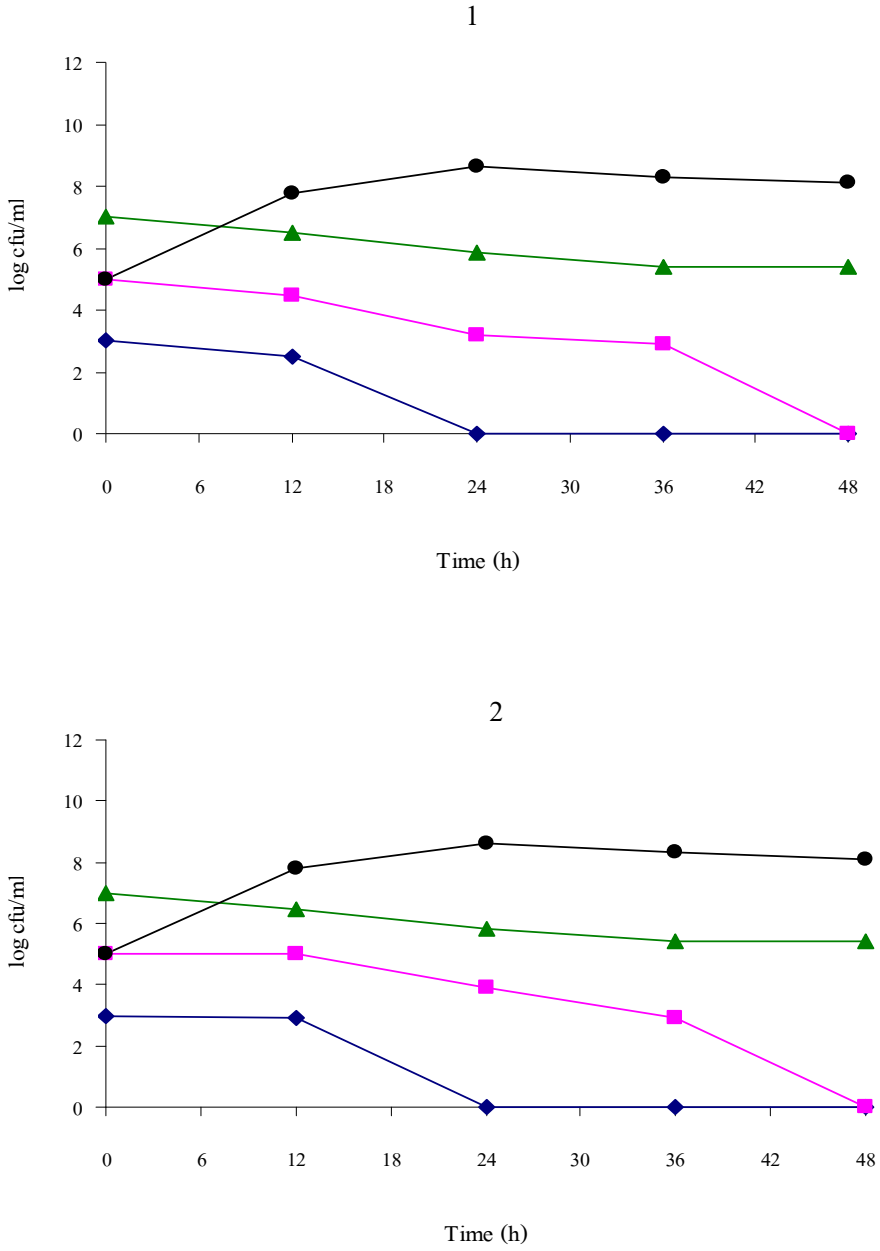
● control (10^5 cfu/ml) ■ 10^3 cfu/ml ▲ 10^5 cfu/ml ◆ 10^7 cfu/ml



ภาพที่ 5 ผลของปริมาณ *Staphylococcus aureus* เริ่มต้นต่อการยับยั้งการเจริญโดยของสารสกัดด้วยเอธานอล (1) และน้ำ (2) ของเบญกานี

Figure 5 Effect of inoculum level of *Staphylococcus aureus* on the antibacterial activity of ethanolic extracts (1) and aqueous extracts (2) of *Q. infectoria*

● control (10^5 cfu/ml) ■ 10^3 cfu/ml ▲ 10^5 cfu/ml ◆ 10^7 cfu/ml



ภาพที่ 6 ผลของปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus* เริ่มต้นต่อการยับยั้งการเจริญโดยของสารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานี (1) และสีเสียดเทศ (2)

Figure 6 Effect of inoculum level of *Vibrio parahaemolyticus* on the antibacterial activity of ethanolic extracts of *Q. infectoria* (1) and *U. gambir* (2)

● control (10^5 cfu/ml) ■ 10^3 cfu/ml ▲ 10^5 cfu/ml ◆ 10^7 cfu/ml

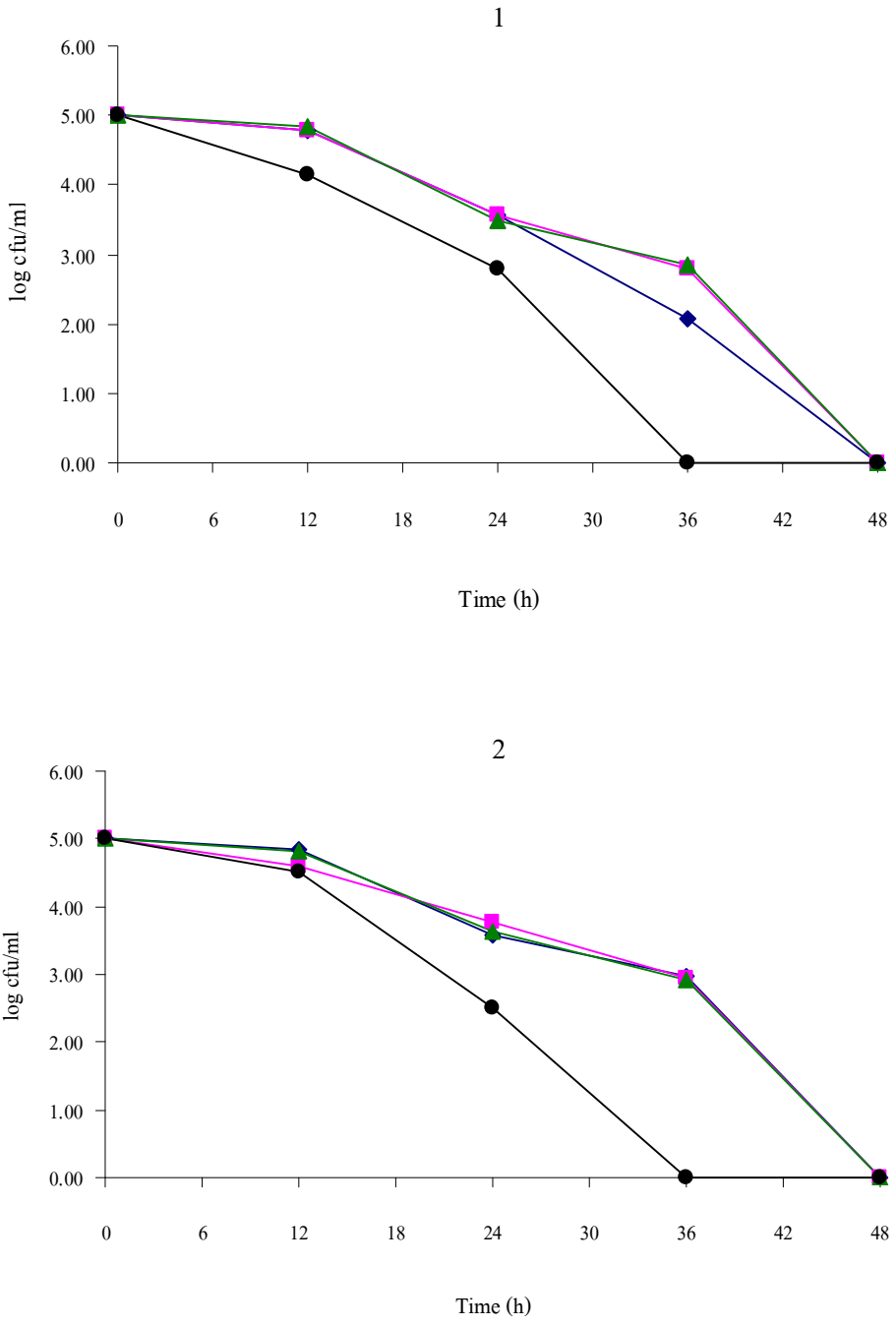
4.2 ผลของพีเอชต่อการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร

การศึกษาผลของพีเอชต่อการยับยั้งแบคทีเรียร่วมกับการใช้สมุนไพร เนื่องจากอาหารแต่ละชนิดมีค่าพีเอชที่แตกต่างกันซึ่งอาจมีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรได้แตกต่างกัน และเพื่อให้การใช้สารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งแบคทีเรียมีประสิทธิภาพดีที่สุด ภาพที่ 7-10 แสดงผลของพีเอชที่มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร โดยทำการปรับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีค่า พีเอช 6.5, 7.5 และ 8.5 โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งไม่มีการปรับพีเอช (7.2) พบว่าที่พีเอช 6.5, 7.5 และ 8.5 มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^5 CFU/ml แตกต่างกันเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากระดับ พีเอชที่ใช้ทดสอบมีความใกล้เคียงกัน จึงทำให้มีผลในการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแตกต่างกันเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Stonsaovapak และคณะ (2000) โดยพบว่าที่ระดับพีเอช 6.5-9.5 สารสกัดสมุนไพรมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบแตกต่างกันเล็กน้อยเท่านั้น เช่นเดียวกันกับ Kabuki และคณะ (2000) ที่พบว่าสารสกัดจากเมล็ดมังคุดเมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์มีความคงตัวที่พีเอช 3.0–9.0 นอกจากนี้ยังพบว่า ที่พีเอชต่ำสารสกัดสมุนไพรมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่าที่พีเอชสูง (Stonsaovapak *et al*., 2000 ; Hsieh, 2001)

4.3 ผลของอุณหภูมิต่อการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร

ในการแปรรูปอาหารโดยทั่วไป มักจะต้องมีการใช้ความร้อนเข้ามาเกี่ยวข้อง ดังนั้นจึงศึกษาถึงผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพร เพื่อจะได้หลีกเลี่ยงการเสื่อมสภาพของสารสกัดสมุนไพร การศึกษาครั้งนี้ได้นำสารสกัดสมุนไพรที่คัดเลือกมาข้างต้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60, 80 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที และเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งเป็นสารสกัดสมุนไพรที่ไม่มีการให้ความร้อน การทดสอบผลของอุณหภูมิต่อฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดสมุนไพรแสดงผลในภาพที่ 11-14 จากการศึกษาพบว่าสารสกัดสมุนไพรที่นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ นั้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้แตกต่างกันเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม Hsieh และคณะ (2001) กล่าวว่าการใช้สารสกัดจากพืชหลายชนิดร่วมกันในการยับยั้งแบคทีเรีย พบว่าเมื่อนำสารสกัดผสมนี้ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60, 80, 100 และ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที สารสกัดผสมนี้ยังมีความคงตัวอยู่มากและยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และยังพบว่าสารสกัดของอบเชยที่นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ก็ยังสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ดีเช่นกัน นั่นคือสารสกัดสมุนไพรสามารถทนความร้อนที่ใช้ในการทดสอบได้ ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะสารสกัด

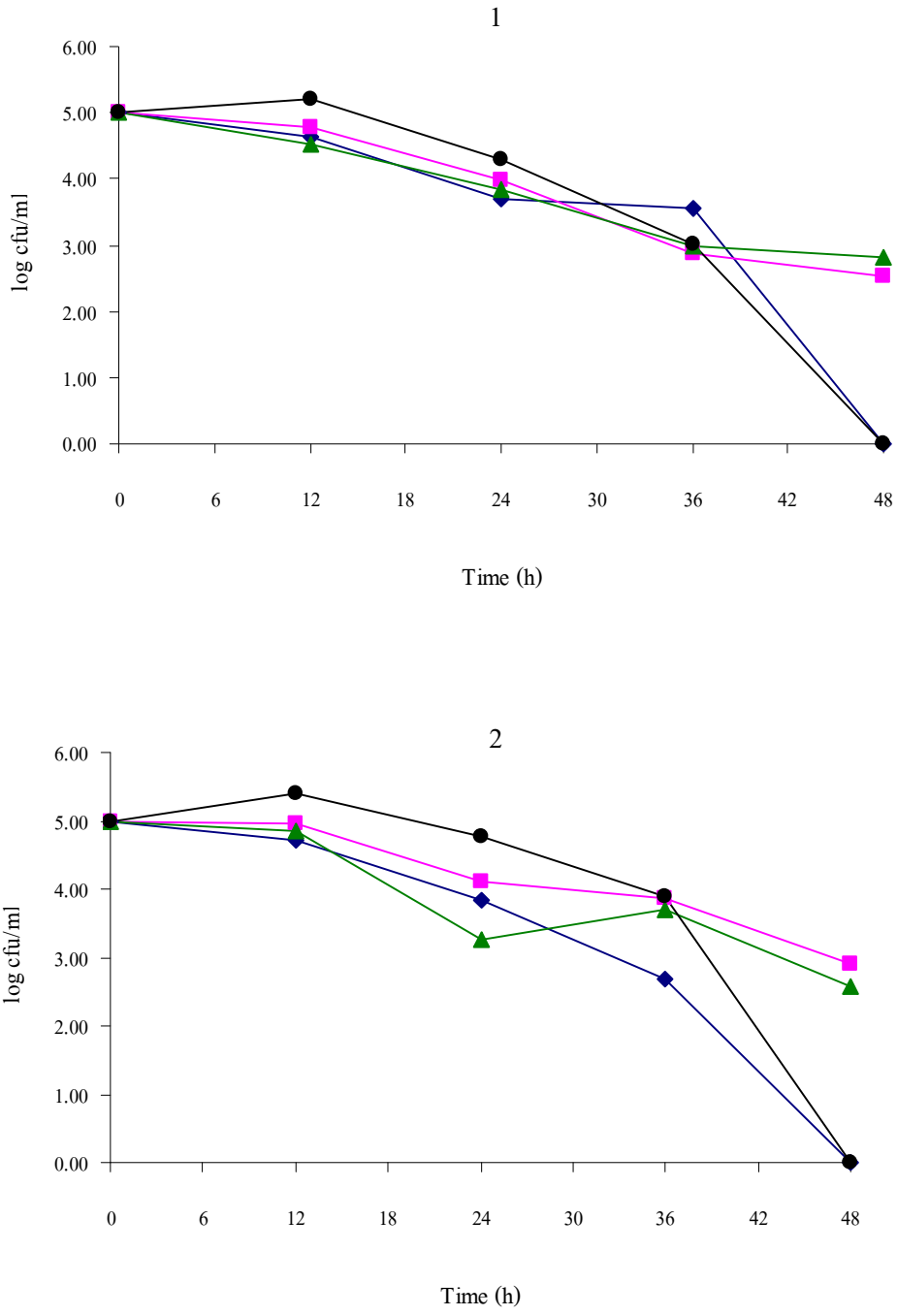
สมุนไพรที่ใช้ในการทดสอบเป็นสารสกัดหยาบซึ่งมีสารหลายชนิดรวมอยู่ด้วยกัน ซึ่งสารบางชนิดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบอาจทนความร้อนได้ เมื่อสารสกัดผ่านความร้อนมาแล้วจึงยังมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียอยู่อีก จากผลการทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับ Kabuki และคณะ (2000) ที่พบว่าสารสกัดจากเมล็ดมังคุดมีความคงตัวเมื่อนำไปให้ความร้อนแล้ว เช่นเดียวกันกับ Hsieh และคณะ (2001) กล่าวว่าเมื่อนำสารสกัดอบเชยไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที พบว่าสารสกัดอบเชยยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีเหมือนเดิม โดยให้เหตุผลว่าที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะว่าสารสกัดอบเชยได้ผ่านการให้ความร้อนมาแล้วเบื้องต้นจากขั้นตอนการสกัด ซึ่งความคงตัวของสารสกัดสมุนไพรนี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการนำไปประยุกต์ใช้กับอาหารที่จำเป็นต้องผ่านความร้อนก่อนรับประทาน (Hsieh *et al*., 2001)



ภาพที่ 7 ผลของพีเอชต่อการยับยั้งการเจริญของ *Listeria monocytogenes* ของสารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานี (1) และปลีกล้วยน้ำว้า (2)

Figure 7 Effect of pH on the antibacterial activity of ethanolic extracts of *Q. infectoria* (1) and flowers of *M. sapientum* (2) against *Listeria monocytogenes*

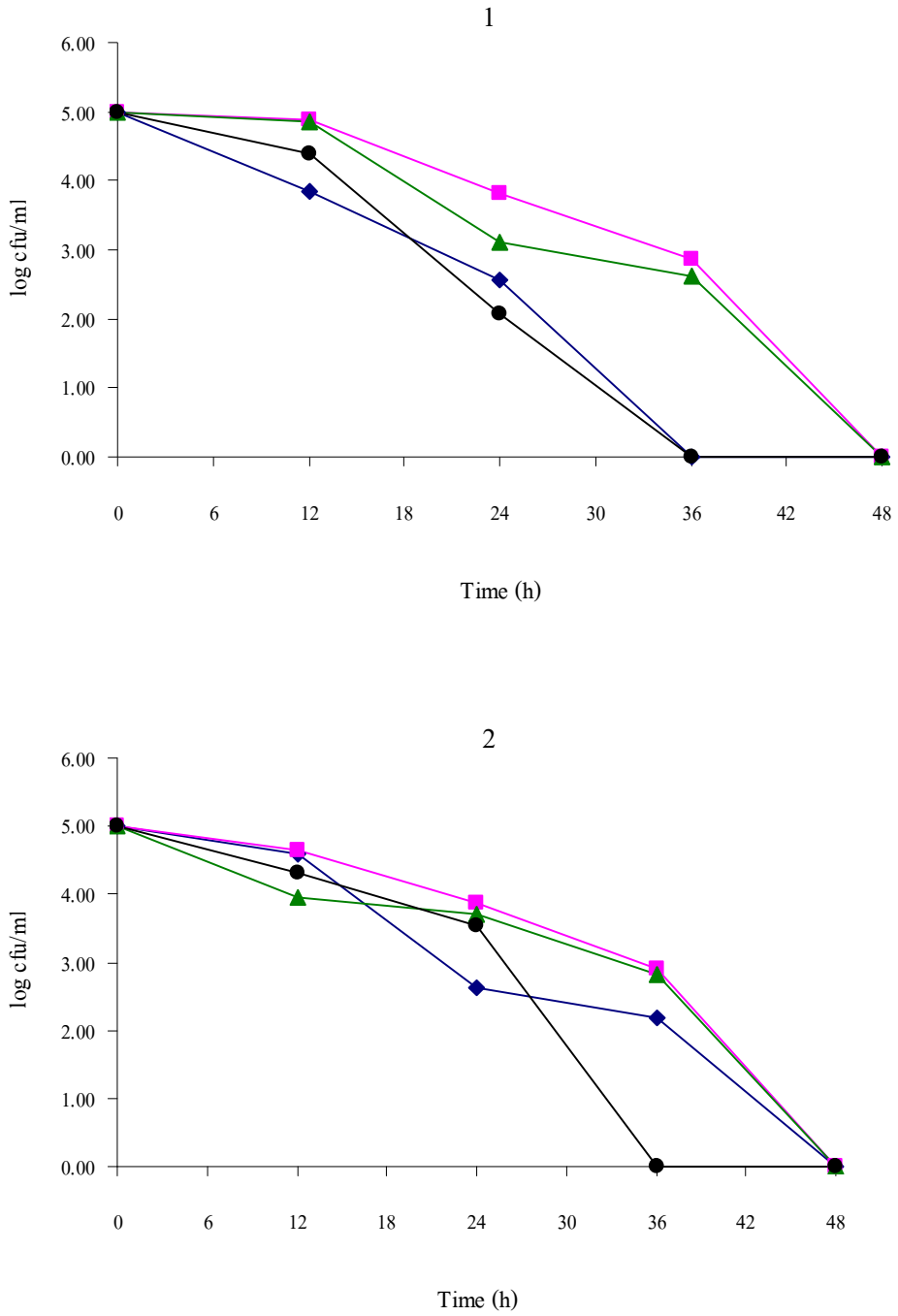
● control (7.2) ■ pH 6.5 ▲ pH 7.5 ◆ pH 8.5



ภาพที่ 8 ผลของพีเอชต่อการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella typhi* ของสารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานี (1) และผลกล้วยน้ำว้า (2)

Figure 8 Effect of pH on the antibacterial activity of ethanolic extracts of *Q. infectoria* (1) and fruits of *M. sapientum* (2) against *Salmonella typhi*

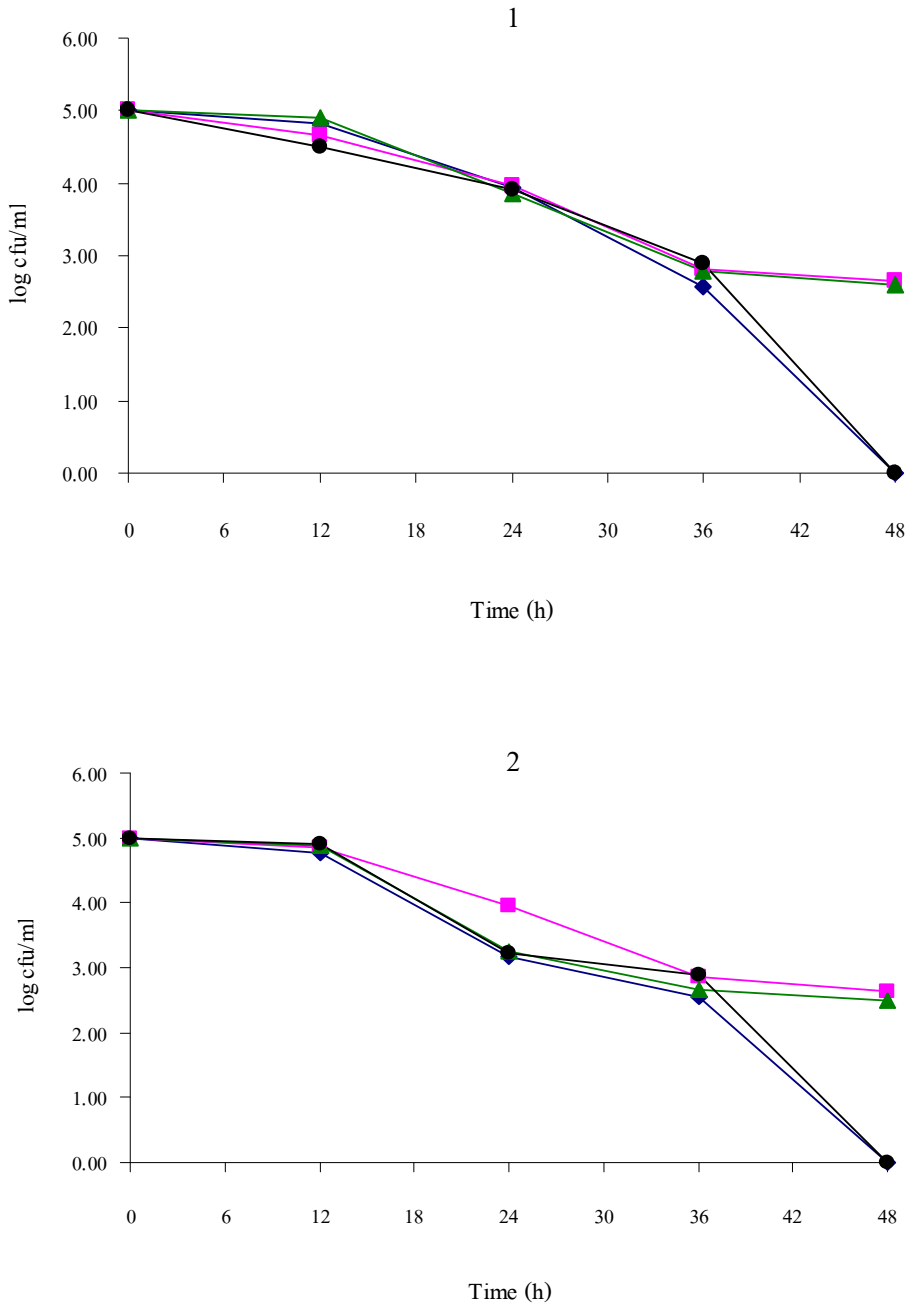
● control (7.2) ■ pH 6.5 ▲ pH 7.5 ◆ pH 8.5



ภาพที่ 9 ผลของพีเอชต่อการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดด้วยเอธานอล (1) และน้ำ (2) ของเบญกานี

Figure 9 Effect of pH on the antibacterial activity of ethanolic extracts (1) and aqueous extracts (2) of *Q. infectoria* against *Staphylococcus aureus*

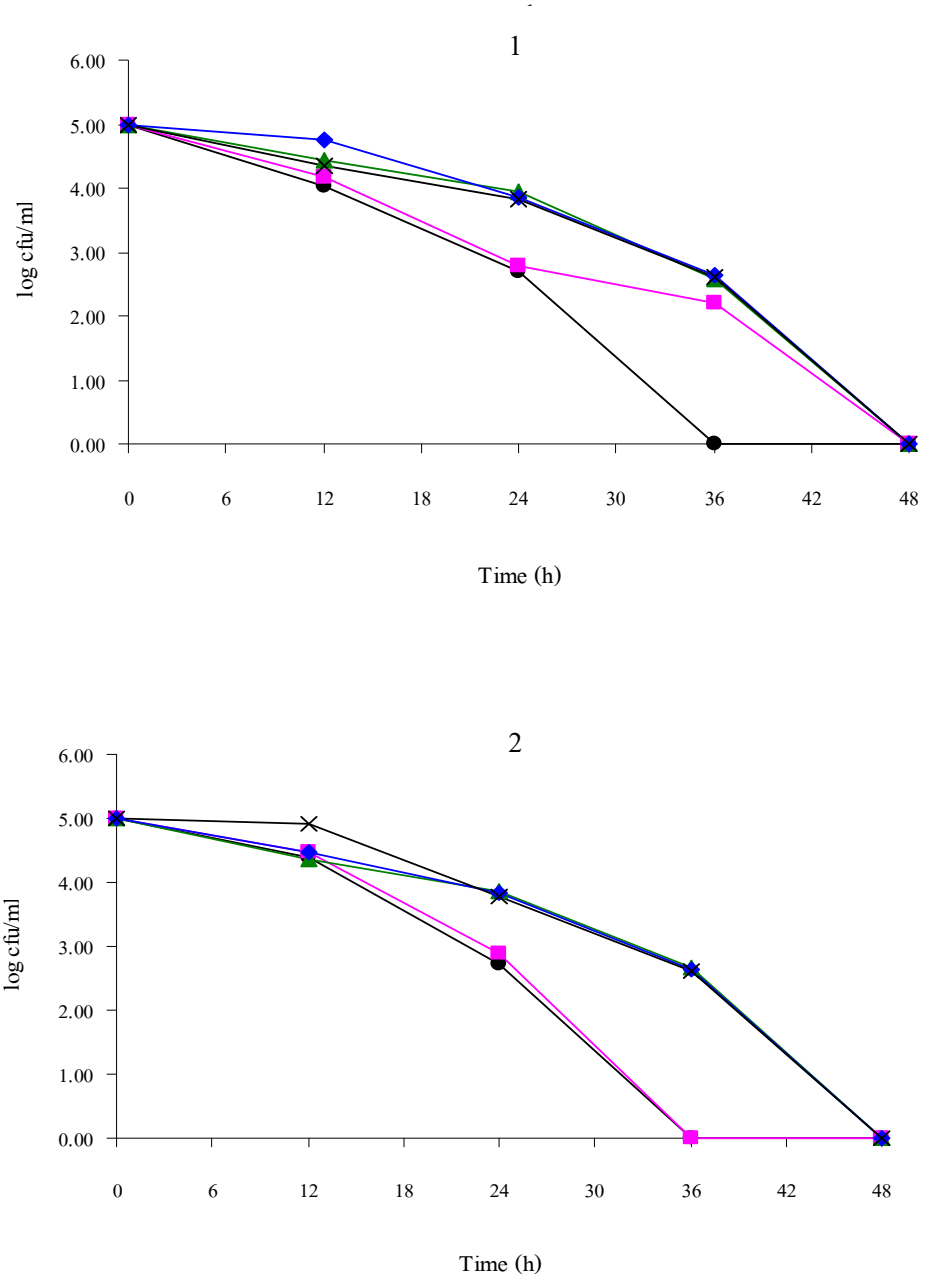
● control (7.2) ■ pH 6.5 ▲ pH 7.5 ◆ pH 8.5



ภาพที่ 10 ผลของพีเอชต่อการยับยั้งการเจริญของ *Vibrio parahaemolyticus* ของสารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานี (1) และสีเสียดเทศ (2)

Figure 10 Effect of pH on the antibacterial activity of ethanolic extracts of *Q. infectoria* (1) and *U. gambir* (2) against *Vibrio parahaemolyticus*

● control (7.2) ■ pH 6.5 ▲ pH 7.5 ◆ pH 8.5

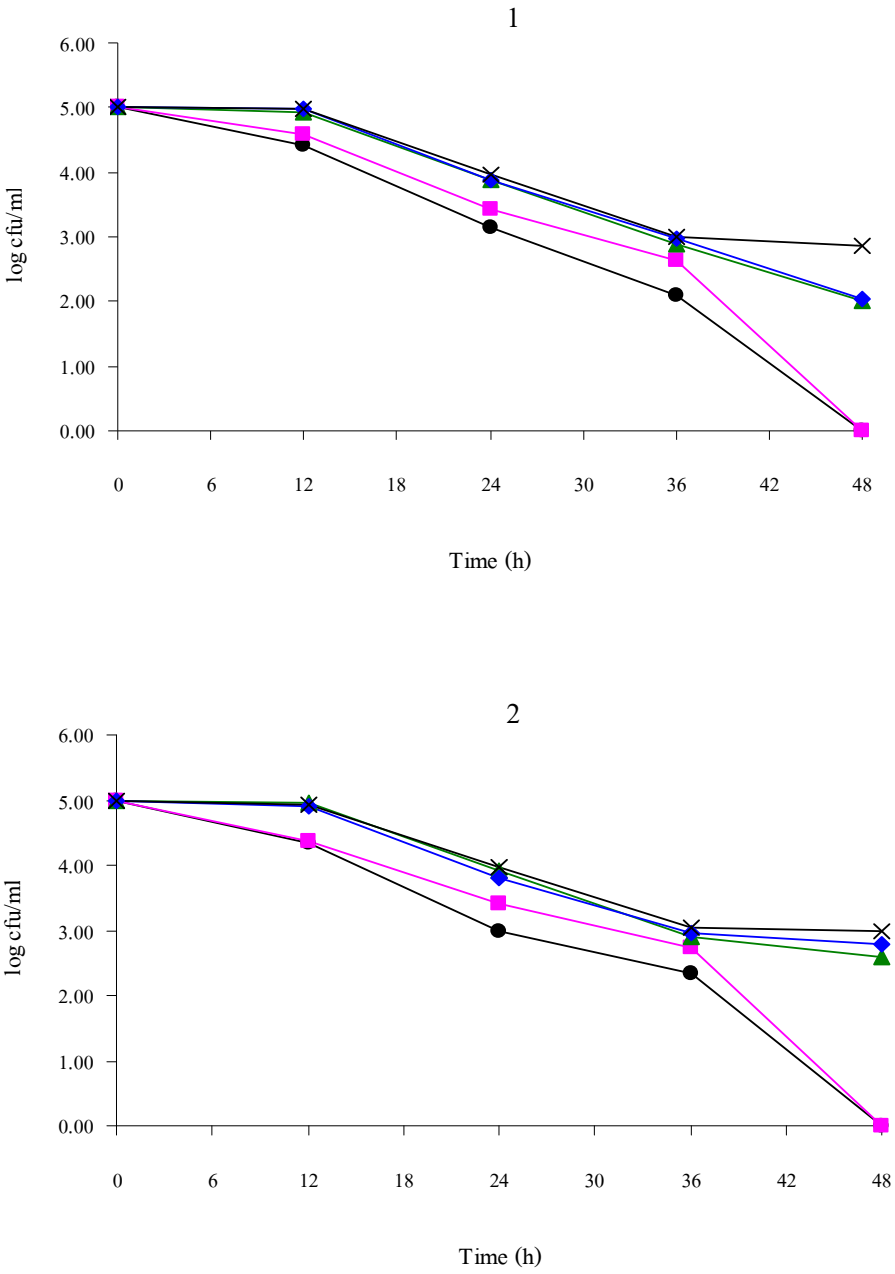


ภาพที่ 11 ผลของอุณหภูมิต่อการยับยั้งการเจริญ *Listeria monocytogenes* ของสารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานี (1) และปลีกล้วยน้ำว้า (2)

Figure 11 Effect of temperature on the antibacterial activity of ethanolic extracts of *Q. infectoria* (1) and flowers of *M. sapientum* (2) against *Listeria monocytogenes*

● control ◆ 60 ^{O}C

■ 80 ^{O}C ▲ 100 ^{O}C ✳ 121 ^{O}C

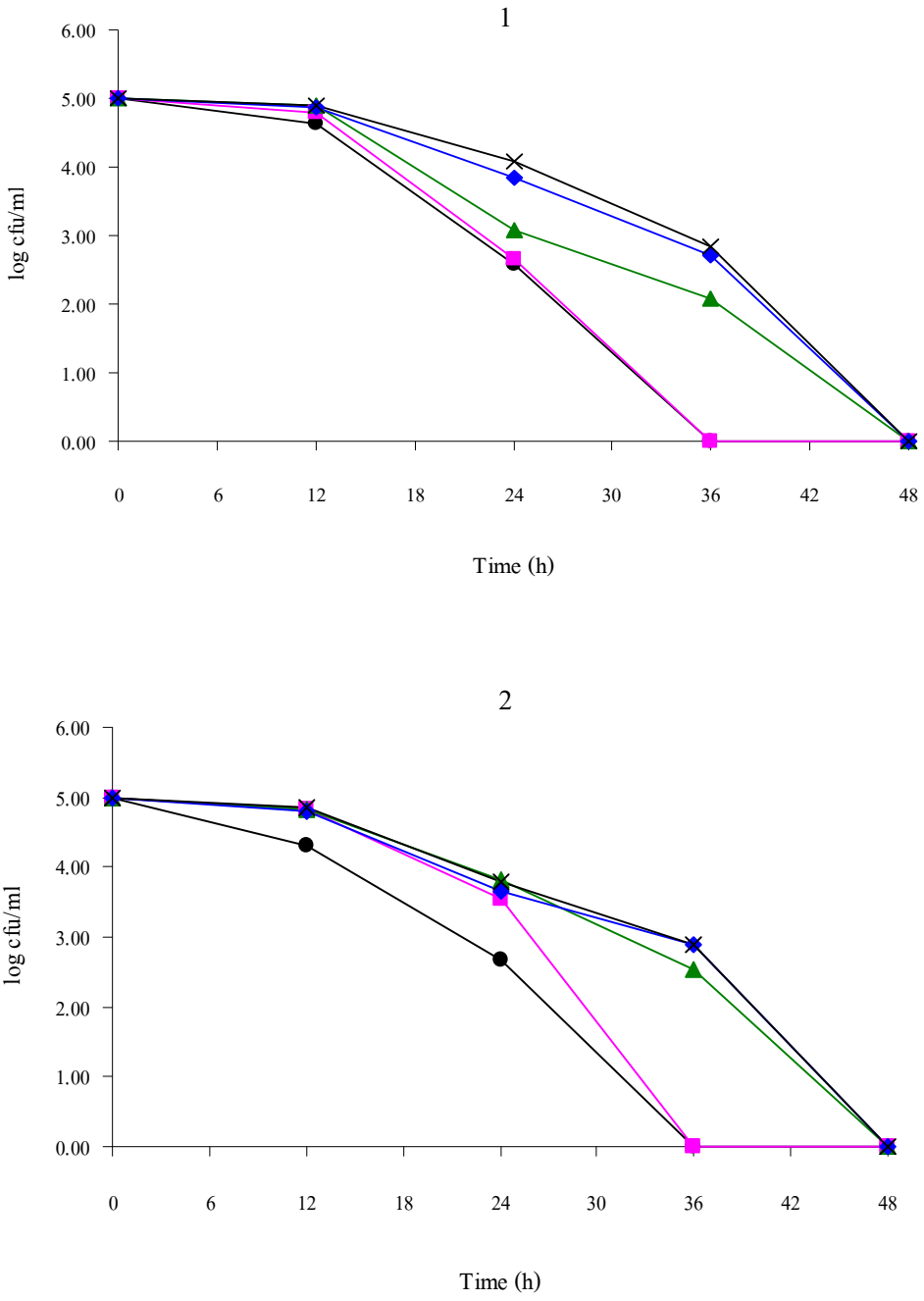


ภาพที่ 12 ผลของอุณหภูมิต่อการยับยั้งการเจริญ *Salmonella typhi* ของสารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานี (1) และผลกล้วยน้ำว้า (2)

Figure 12 Effect of temperature on the antibacterial activity of ethanolic extracts of *Q. infectoria* (1) and fruits of *M. sapientum* (2) against *Salmonella typhi*

● control ◆ 60 ^{O}C

■ 80 ^{O}C ▲ 100 ^{O}C ✳ 121 ^{O}C

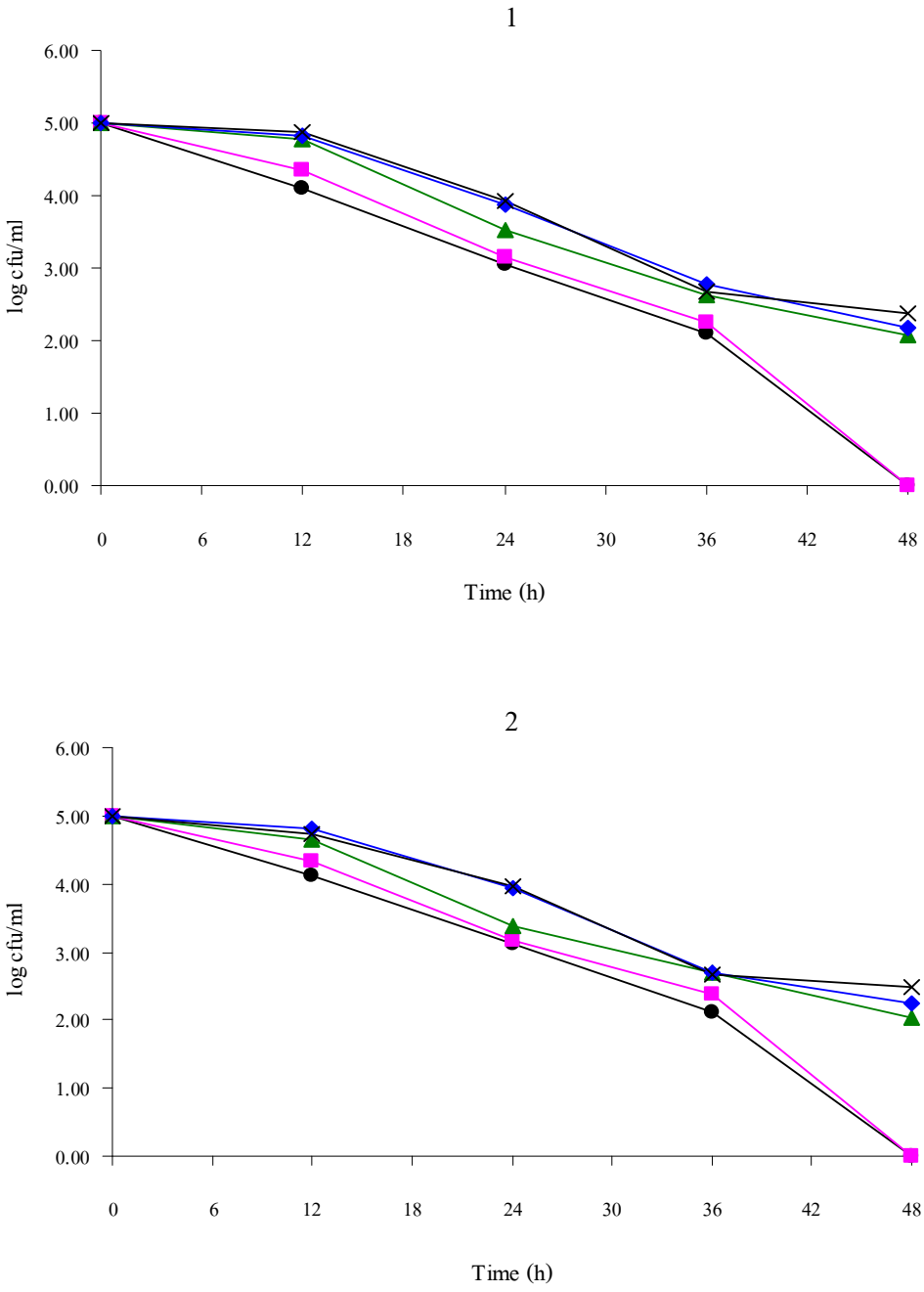


ภาพที่ 13 ผลของอุณหภูมิต่อการยับยั้งการเจริญ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดด้วยเอธานอล (1) และน้ำ (2) ของเบญกานี

Figure 13 Effect of temperature on the antibacterial activity of ethanolic extracts (1) and aqueous extracts (2) of *Q. infectoria* against *Staphylococcus aureus*

control 60 ^{O}C

80 ^{O}C 100 ^{O}C 121 ^{O}C



ภาพที่ 14 ผลของอุณหภูมิต่อการยับยั้งการเจริญ *Vibrio parahaemolyticus* ของสารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานี (1) และสีเสียดเทศ (2)

Figure 14 Effect of temperature on the antibacterial activity of ethanolic extracts *Q. infectoria* (1) and *U. gambir* (2) against *Vibrio parahaemolyticus*

control 60 ^{O}C

80 ^{O}C 100 ^{O}C 121 ^{O}C

5. ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดพืชสมุนไพรในกุ้งกุลาดำแช่เย็น

ในการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งแบคทีเรียในกุ้งกุลาดำแช่เย็น โดยการนำสารสกัดสมุนไพรที่มีการทดสอบแล้วว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้แบบกว้าง ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบมาศึกษา ได้แก่ สารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานี (*Q. infectoria*) โดยนำมาทดสอบกับ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก *V. parahaemolyticus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ

การศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพของกุ้งกุลาดำแช่เย็นที่มีการใช้สารสกัดเอธานอลของเบญกานีที่มีความเข้มข้น 5 เท่า ของค่า MIC (0.78 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร) กับกุ้งกุลาดำแช่เย็นที่ไม่มีการใช้สารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานี และเก็บรักษากุ้งกุลาดำแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 7 กุ้งกุลาดำที่นำมาใช้ทดลองมีพีเอช 6.51 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ 6.15 มิลลิกรัม/ 100 กรัม และมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด 3.84 log CFU/ml และตรวจไม่พบเชื้อ *S. aureus* และ *V. parahaemolyticus* ในขณะที่กุ้งกุลาดำที่จุ่มสารสกัดเอธานอลของเบญกานีมีพีเอช 6.48 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ 6.23 และมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดลดลงเป็น 3.78 log CFU/ml เมื่อนำกุ้งกุลาดำไปเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน พบว่า กุ้งกุลาดำชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้สารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานีมีค่าพีเอชและปริมาณด่างที่ระเหยได้เพิ่มขึ้นเป็น 7.63 29.82 มิลลิกรัม/ 100 กรัม ตามลำดับ และมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 4.49 log CFU/ml ในขณะที่กุ้งกุลาดำที่จุ่มสารสกัดเอธานอลของเบญกานีมีพีเอช 6.48 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ 22.96 และตรวจไม่พบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดตั้งแต่วันที่ 10

เมื่อเปรียบเทียบคุณภาพของกุ้งกุลาดำแช่เย็นชุดที่มีการเติมเชื้อ *S. aureus* หรือ *V. parahaemolyticus* เป็นแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ โดยมีการใช้และไม่ใช้สารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานี พบว่า ผลการทดลองเป็นไปในทางเดียวกันกับชุดควบคุมที่มีการใช้สารสกัดแต่ไม่ได้เติมเชื้อ *S. aureus* หรือ *V. parahaemolyticus* โดยในวันที่ 0 กุ้งกุลาดำชุดที่มีการเติมเชื้อ *S. aureus* แต่ไม่ใช้สารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานีมีค่าพีเอช 6.50 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ 6.02 มิลลิกรัม/ 100 กรัม ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด 4.10 log CFU/ml และมีปริมาณ *S. aureus* 3.12 log CFU/ml และกุ้งกุลาดำชุดที่มีการใช้สารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานีมีค่าพีเอช 6.49 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ 5.88 มิลลิกรัม/ 100 กรัม ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด 4.09 log CFU/ml และมีปริมาณ *S. aureus* 3.45 log CFU/ml เมื่อเก็บรักษากุ้งกุลาดำที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่า กุ้งกุลาดำชุดที่ไม่มีการเติมสารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานีมีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 7.76 ปริมาณด่างที่ระเหยได้เพิ่มขึ้นเป็น 29.68 มิลลิกรัม/ 100 กรัม และยังตรวจพบปริมาณแบคทีเรีย

ทั้งหมด 4.88 log CFU/ml และปริมาณ *S. aureus* 3.93 log CFU/ml ในขณะที่กุ้งกุลาดำชุดที่มีการใช้สารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานีพบว่า มีค่าพีเอชและปริมาณด่างที่ระเหยได้ลดลงเป็น 7.93 และ 25.34 มิลลิกรัม/ 100 กรัม ตามลำดับ และตรวจไม่พบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ตั้งแต่วันที่ 7 และไม่พบปริมาณ *S. aureus* ตั้งแต่วันที่ 3 (ตารางที่ 7)

สำหรับกุ้งกุลาดำที่มีการเติมเชื้อ *V. parahaemolyticus* พบว่า ในวันที่ 0 กุ้งกุลาดำชุดที่ไม่มีการใช้สารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานีมีค่าพีเอช 6.50 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ 6.16 มิลลิกรัม/ 100 กรัม ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด 5.41 log CFU/ml และปริมาณ *V. parahaemolyticus* 4.15 log CFU/ml และกุ้งกุลาดำชุดที่มีการใช้สารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานีมีค่าพีเอช 6.49 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ 6.02 มิลลิกรัม/ 100 กรัม ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด 4.54 log CFU/ml และปริมาณ *V. parahaemolyticus* 3.77 log CFU/ml เมื่อเก็บรักษากุ้งกุลาดำแช่เย็นเป็นเวลา 14 วัน พบว่า กุ้งกุลาดำชุดที่ไม่มีการใช้สารสกัดมีค่าพีเอช 7.94 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ 31.64 มิลลิกรัม/ 100 กรัม และไม่พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณ *V. parahaemolyticus* ตั้งแต่วันที่ 10 ในขณะที่กุ้งกุลาดำชุดที่มีการใช้สารสกัดด้วยเอธานอลของเบญกานีพบว่า มีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 7.78 ปริมาณด่างที่ระเหยได้เพิ่มขึ้นเป็น 25.62 มิลลิกรัม/ 100 กรัม แต่ตรวจไม่พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณ *V. parahaemolyticus* ตั้งแต่วันที่ 3 (ตารางที่ 7)

การที่ตรวจไม่พบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและ *V. parahaemolyticus* ตั้งแต่ในวันที่ 7 และตรวจไม่พบ *S. aureus* ตั้งแต่วันที่ 3 อาจเนื่องสารสกัดที่ใช้มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียในกุ้งกุลาดำได้ดี จึงทำให้แบคทีเรียที่นำมาทดสอบไม่สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนขึ้นได้ ซึ่งจากการทดสอบเบื้องต้นมานี้ จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการพัฒนาสารสกัดจากสมุนไพรมาใช้ทดแทนสารถนอมอาหารที่เป็นสารเคมีได้ มาประยุกต์ใช้กับอาหารประเภทต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอาหารที่พร้อมรับประทานได้ทันที เพื่อลดการตกค้างและสะสมในร่างกายจนอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้ นอกจากนี้ยังพบว่ามีการใช้สารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหารประเภทต่างๆ อีกด้วย โดย Kim และคณะ (2001) ได้ศึกษาการประยุกต์ใช้สารสกัดด้วยน้ำจากกลีบดอกคามีเลียในน้ำนม พบว่าในช่วงระยะเวลา 2–3 วันแรก ระยะ lag ของ *Salmonella typhimurium* และ *E. coli* O157 : H7 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบยังเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกันกับ *L. monocytogenes* และ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ยังมีระยะ lag เพิ่มขึ้นในช่วงระยะเวลา 1–2 วันแรก แต่หลังจากนั้นพบว่าอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิดนี้ลดลงและไม่มีการเจริญเมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน Hao และคณะ (1998) ได้ศึกษาการใช้สมุนไพรในการยับยั้งจุลินทรีย์ในเนื้อไก่สุกแช่เย็น พบว่าสารสกัดของน้ำมันกานพลูและพริกใหญ่มีผลในการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และ *L. monocytogenes* ในเนื้อไก่สุกแช่เย็นได้ภายใน 7 และ 14 วัน

ตารางที่ 7 คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของกุ้งกุลาดำแช่เย็นในระยะเวลาต่างๆ

Table 7 Physical chemical and microbial quality of black tiger shrimp during chilling storage

Sample	Treatment	Storage time (day)					
		0	**1**	**3**	**7**	**10**	**14**
Control[a]	pH	6.51	6.96	7.12	7.39	7.45	7.63
	TVB (mg/100 g)	6.16	7.84	12.04	18.76	21.56	29.82
	TVC (log CFU/ml)	3.84	6.42	7.15	2.85	4.56	4.49
	S. aureus (log CFU/ml)	-	-	-	-	-	-
	V. parahaemolyticus (log CFU/ml)	-	-	-	-	-	-
Control[b]	pH	6.48	6.92	7.06	7.34	7.41	7.62
	TVB (mg/100 g)	6.23	7.42	10.08	12.32	16.38	22.96
	TVC (log CFU/ml)	3.78	5.28	4.95	6.36	-	-
	S. aureus (log CFU/ml)	-	-	-	-	-	
	V. parahaemolyticus (log CFU/ml)	-	-	-	-	-	-
S. aureus [a]	pH	6.50	7.04	7.15	7.66	7.74	7.76
	TVB (mg/100 g)	6.02	8.68	13.44	21.84	23.80	29.68
	TVC (log CFU/ml)	4.10	5.30	7.90	5.21	5.24	4.88
	S. aureus (log CFU/ml)	3.45	5.38	5.27	4.73	4.75	3.93
S. aureus[b]	pH	6.49	7.01	7.13	7.52	7.71	7.93
	TVB (mg/100 g)	5.88	8.12	12.74	15.96	18.62	25.34
	TVC (log CFU/ml)	3.33	4.43	3.18	-	-	-
	S. aureus (log CFU/ml)	3.12	3.97	-	-	-	-
V. parahaemolyticus [a]	pH	6.50	7.03	7.17	7.66	7.75	7.94
	TVB (mg/100 g)	6.16	8.96	13.44	20.86	24.50	31.64
	TVC (log CFU/ml)	5.41	5.41	7.27	5.29	-	-
	V. parahaemolyticus (log CFU/ml)	4.15	4.82	2.99	2.94	-	-
V. parahaemolyticus[b]	pH	6.49	6.89	7.11	7.52	7.72	7.78
	TVB (mg/100 g)	6.02	8.26	11.76	18.76	19.32	25.62
	TVC (log CFU/ml)	4.54	4.10	3.12	-	-	-
	V. parahaemolyticus (log CFU/ml)	3.77	3.93	2.70	-	-	-

[a] : with out herbal extract

[b] : with herbal extract