

ชื่อวิทยานิพนธ์    ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคลกลุ่ม Gram-negative rods ของสารสกัด  
จากเปลือกผลทับทิม  
ผู้เขียน            นางสาวตรีชฎา ศิริรักษ์  
สาขาวิชา           จุลชีววิทยา  
ปีการศึกษา        2547

### บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของวิทยานิพนธ์นี้เพื่อที่จะศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกผลทับทิม (*Punica granatum* Linn.) ด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน 3 ชนิดต่อแบคทีเรีย Gram-negative rods ที่เป็นปัญหาทางการแพทย์ สารสกัดหยาบด้วย ethanol มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบ ได้แก่ enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) 4 สายพันธุ์ (*E. coli* O157: H7, *E. coli* O26: H11, *E. coli* O111: NM, *E. coli* O22), *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella boydii* และ *Salmonella london* ค่าของ inhibition zone อยู่ในช่วง 10.02 ถึง 19.15 mm ค่า minimum inhibitory concentration (MIC) และ minimum bactericidal concentration (MBC) อยู่ในช่วง 0.09 ถึง 3.13 mg/ml และ 3.13 ถึง 25 mg/ml ตามลำดับ สารสกัดหยาบด้วยน้ำมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีน้อย ส่วนสารสกัดหยาบด้วย chloroform ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อที่นำมาทดสอบ ผลการศึกษาการออกฤทธิ์ของ ethyl acetate และ *n*-butanol fractions จากเปลือกผลทับทิมที่สกัดด้วย ethanol พบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อได้ดีโดยมีค่า MIC และ MBC อยู่ในช่วง 0.02 ถึง 0.78 mg/ml และ 0.19 ถึง 6.25 mg/ml ตามลำดับ สารสกัดจากเปลือกผลทับทิมด้วย ethanol, ethyl acetate fraction และ *n*-butanol fraction มีผลในการเพิ่มการเกิด hydrophobicity กับเชื้อเกือบทุกสายพันธุ์ ยกเว้น เชื้อ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ซึ่งตัวเชื้อมีคุณสมบัติเป็น autoaggregative ดังนั้นจึงไม่สามารถที่จะสรุปได้ว่าสมุนไพรไปมีผลต่อการเกิด hydrophobicity นอกจากนี้ ethyl acetate fraction และ *n*-butanol fraction จากเปลือกผลทับทิมด้วย ethanol มีผลให้เชื้อ EHEC ปล่อย Verocytotoxin 1 และ Verocytotoxin 2 ลดลงและเมื่อนำ ethyl acetate fraction จาก

เปลือกผลทับทิมมาวิเคราะห์หาสารสำคัญโดยใช้ LC-MS พบว่ามีสารกลุ่ม punicalagin, punicalin, และสารกลุ่ม flavonoids (luteolin, quercetin, kaempferol และ/หรือกลุ่ม anthocyanins) หรือ glycoside ของ flavonoids และสารกลุ่ม sterol อาจเป็น stigmasterol งานวิจัยนี้พบว่าสารสกัดหยาบด้วย ethanol มีฤทธิ์ดีในการต้านเชื้อ ดังนั้นการศึกษาคู่ในรายละเอียดของสมุนไพรชนิดนี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการพัฒนาที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคติดเชื้อจาก Gram-negative rods

Thesis Title                    Antibacterial Activity of Extracts from *Punica granatum*  
Pericarp on Pathogenic Gram-negative rods

Author                         Miss Treechada Sirirak

Major Programme            Microbiology

Academic Year                2004

### Abstract

The objective of this study was to investigate the effect of crude extracts of *Punica granatum* Linn. pericarp with 3 different solvents against pathogenic Gram-negative rods. Ethanolic extracts showed the antibacterial activity against all strains tested including enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) 4 strains (*E. coli* O157: H7, *E. coli* O26: H11, *E. coli* O111: NM, *E. coli* O22), *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella boydii* and *Salmonella london*. Inhibition zones ranged from 10.02 to 19.15 mm. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) ranged from 0.09 to 3.13 mg/ml and 3.13 to 25 mg/ml, respectively. Aqueous extract had low antibacterial activity while crude chloroform extracts had no effect on the growth of these strains. Ethyl acetate and *n*-butanol fractions of crude ethanolic extract of *P. granatum* pericarp were demonstrated high activity with the best MIC and MBC values of 0.02 to 0.78 mg/ml and 0.19 to 6.25 mg/ml, respectively. Ethanolic extract, ethyl acetate fraction, and *n*-butanol fraction increased hydrophobicity of almost all strains. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 was autoaggregative so it can not be concluded that the extracts affected hydrophobicity. Both ethyl acetate and *n*-butanol fractions decreased Verocytotoxin 1 and Verocytotoxin 2 production. Liquid chromatograph-mass spectrometry analyses of ethyl acetate fraction showed that it contains punicalagin, punicalin, flavonoids (luteolin,

quercetin, kaempferol and/or anthocyanins) or glycoside of flavonoids and sterol; may be stigmasterol.

As ethanolic extract of *P. granatum* was very effective against these pathogenic bacteria, further investigation on this plant species may provide alternative, bioactive medicines for the treatment of Gram-negative bacterial infection.