

ประสิทธิภาพของสมุนไพรพื้นบ้านในการยับยั้งการเจริญ
ของเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา

จิรนนท์ อันทะชัย

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา
กุมภาพันธ์ 2561
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

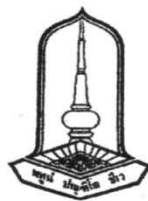


ประสิทธิภาพของสมุนไพรพื้นบ้านในการยับยั้งการเจริญ
ของเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา

จิรนนท์ อันทะชัย

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา
กุมภาพันธ์ 2561
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม





คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนางสาวจิรนนท์ อันทะชัย
แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

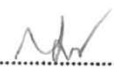
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


.....
(ผศ.ดร.ยุวดี อินสำราญ)

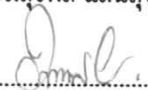
ประธานกรรมการ
(ผู้ทรงคุณวุฒิ)


.....
(ผศ.ดร.วันวิสาข์ ดื้อดจั่น)

กรรมการ
(อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก)

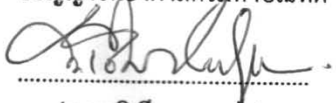

.....
(ผศ.ดร.สุรพล แสนสุข)

กรรมการ
(อาจารย์บัณฑิตศึกษาภายนอกคณะ)


.....
(ผศ.ดร.เบญจมาศ คูชนี)

กรรมการ
(อาจารย์บัณฑิตศึกษาภายนอกคณะ)

มหาวิทยาลัยอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม


.....
(ศ.ดร.วิเชียร มากดุน)
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์


.....
(ศ.ดร.ประดิษฐ์ เทอดทูล)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
วันที่ 20 เดือน ก.พ. พ.ศ. 2561



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ได้รับทุนสนับสนุนโครงการวิจัยงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2560 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลือให้คำแนะนำอย่างสูงยิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วันวิสาข์ ดื่อดจันต์ ประธานกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เบญจมาศ คุชนี ประธานกรรมการสอบ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรพล แสนสุข กรรมการสอบ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุวดี อินสำราญ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก จากมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.เอกพจน์ ศรีฟ้า ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณสาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ และอุปกรณ์ในการทำวิจัย

สุดท้ายนี้ ขอขอบผลประโยชน์ ความดีงามทั้งปวงอันเกิดจากการศึกษาวิทยานิพนธ์นี้แด่ คณาจารย์ทุกท่าน บิดา และมารดาที่เคารพรัก ซึ่งเป็นกำลังใจที่สำคัญอย่างยิ่ง และให้การสนับสนุนในการศึกษาตลอดมาจนกระทั่งสามารถทำงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

จิรนนท์ อันทะชัย



ชื่อเรื่อง	ประสิทธิภาพของสมุนไพรพื้นบ้านในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย และ เชื้อรา
ผู้วิจัย	นางสาวจิรนนท์ อันทะชัย
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา จุลชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วันวิสาข์ ดื่อดจสัน
มหาวิทยาลัย	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ปีที่พิมพ์ 2561

บทคัดย่อ

พืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางยา 11 ชนิด (มะตูม มะนาว ใบชะพลู ดอกแค ดอกคำฝอย ดีปลี ใบหม่อน ใบยอ ใบเตย ชาเขียว และชาอู่หลง) ที่สกัดโดยใช้ น้ำ เอทานอล และเมทานอล ได้นำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ (*Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus cereus* ATCC687, *Staphylococcus epidermidis* ATCC518, *Escherichia coli* ATCC780, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20625, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC1467) เชื้อยีสต์ 1 สายพันธุ์ (*Candida albicans* NCYC854) โดยใช้วิธี agar well diffusion method และทดสอบกับเชื้อรา 3 สายพันธุ์ (*Aspergillus fumigatus* TISTR3464, *Penicillium chrysogenum* TISTR3555 และ *Microsporum canis*) โดยใช้วิธี Poisoned food method และทำการศึกษากิจกรรมของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยเทคนิค drop plate ผลจากการศึกษารังนี้พบว่าสารสกัดจากชาเขียวที่สกัดด้วยวิธีการสกัดทั้ง 3 วิธีมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 4 สายพันธุ์ และไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ และเชื้อยีสต์ได้ ยกเว้นชาเขียวที่สกัดด้วยเอทานอล 3 วัน ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใสเท่ากับ 12.7 มิลลิเมตร สารสกัดจากมะนาวที่สกัดด้วยเมทานอล 3 และ 5 วัน มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้ง 10 สายพันธุ์ สารสกัดจากมะนาวที่สกัดด้วยเอทานอล 3 และ 5 วัน สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ 9 สายพันธุ์ แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และผลการศึกษากิจกรรมของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยเทคนิค drop plate พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากชาเขียว และชาอู่หลง ที่สกัดด้วยวิธีการสกัดทั้ง 3 วิธี ไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากมะนาว และใบชะพลูที่สกัดด้วยเมทานอล 3 และ 5 วันไม่พบการเจริญของเชื้อยีสต์ และอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากชาเขียวที่สกัดด้วยเอทานอล 3 และ 5 วันไม่พบการเจริญของเชื้อรา

คำสำคัญ : สมุนไพร; ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย; ฤทธิ์ต้านเชื้อรา; สารสกัด



TITLE *In-vitro* antibacterial and antifungal activities of selected traditional plants

AUTHOR Miss Jeeranun Untachai

DEGREE Master Degree of Science **MAJOR** Microbiology

ADVISORS Asst. Prof. Wanwisa Dodgson, Ph.D.

UNIVERSITY Mahasarakham University **YEAR** 2018

ABSTRACT

Methanol, ethanol and water extracts of 11 medicinal plants (*Aegle marmelos*, *Citrus aurantifolia*, *Piper sarmentosum*, *Sesbania grandiflora*, *Carthamus tinctorius*, *Piper longum*, *Morus alba*, *Morinda citrifolia*, *Pandanus amaryllifolius*, green tea and oolong tea) were tested against six bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus cereus* ATCC687, *Staphylococcus epidermidis* ATCC518, *Escherichia coli* ATCC780, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20625 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC1467) and yeast (*Candida albicans* NCYC854) using the agar well diffusion method and testing three fungi (*Aspergillus fumigatus* TISTR3464, *Penicillium chrysogenum* TISTR3555 and *Microsporum canis*) using poisoned food method. Antimicrobial activity was also examined using the drop plate technique. Green tea extracts using three methods could inhibit gram positive bacteria (*S. aureus*, *B. cereus*, *S. epidermidis* and MRSA) but could not inhibit gram negative bacteria (*E. coli* and *Ps. aeruginosa*) and yeast (*C. albicans*) except that 3day ethanol extracts of green tea could inhibit *E. coli* (12.7 mm). The 3day and 5day ethanol and 3day and 5day methanol extracts of *C. aurantifolia* could inhibit all 10 microorganisms, but 3day and 5day ethanol extracts of *C. aurantifolia* could not inhibit *E. coli*. The result of the antimicrobial activity using the drop plate technique showed that the agar media mixed with the green tea and oolong tea extracts from all solvents could not inhibit six strains of bacteria. The agar media mixed with *C. aurantifolia* and *P. sarmentosum* extracts from 3day and 5day methanol extracts could not inhibit *C. albicans*. The agar media mixed with 3day and 5day ethanol extracts of green tea could not inhibit *A. fumigatus*, *P. chrysogenum* and *M. canis*.

Key Words : herb; antibacterial; antifungal; extract



สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพประกอบ	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.5 สมมติฐานของการวิจัย	4
1.6 สถานที่ทำการวิจัย	4
1.7 ระยะเวลาดำเนินการวิจัย	4
บทที่ 2 ปริทัศน์เอกสารข้อมูล	5
2.1 สมุนไพร	5
2.2 กระบวนการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร	7
2.2.1 การเตรียมตัวอย่างพืช	7
2.2.2 วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืช	7
2.2.3 ปัจจัยในการเลือกวิธีการสกัด	8
2.2.4 การเลือกใช้ตัวทำละลาย	8
2.2.5 การทำสารสกัดให้เข้มข้น	9
2.3 สารประกอบทางเคมีและเภสัชวิทยาของพืชสมุนไพร	10
2.3.1 สารประกอบปฐมภูมิ	10
2.3.2 สารประกอบทุติยภูมิ	10
2.4 ข้อมูลเบื้องต้นของสมุนไพร	12
2.4.1 ดีปลี	13
2.4.2 มะตูม	14
2.4.3 หม่อน	16
2.4.4 ใบชา	17
2.4.5 ดอกคำฝอย	21
2.4.6 มะนาว	22
2.4.7 ชะพลู	23



สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4.8 แคบ้าน	25
2.4.9 ยอ	26
2.4.10 ใบเตย	27
2.5 ข้อมูลเบื้องต้นของจุลินทรีย์	28
2.5.1 Staphylococci	29
2.5.2 Bacillus species	35
2.5.3 Escherichia coli	36
2.5.4 Pseudomonas	39
2.5.5 ยีสต์ก่อโรค	41
2.5.6 Microsporum canis	42
2.5.7 Aspergillus fumigatus	43
2.5.8 Penicillium chrysogenum	44
2.6 สารต้านจุลชีพ (antimicrobial agent)	45
2.6.1 แหล่งกำเนิดของสารต้านจุลชีพ (source of antimicrobial agent)	45
2.6.2 การทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ (antimicrobial susceptibility testing).	46
2.7 ยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial drug)	48
2.7.1 ยาที่ยับยั้ง หรือขัดขวางการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย	49
2.7.2 ยาที่ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน	50
2.7.3. ยาที่ยับยั้งการสังเคราะห์สารตั้งต้น ในกระบวนการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก ได้แก่ trimethoprim และ sulfa	52
2.7.4 ยาที่ขัดขวางกระบวนการแบ่งตัว และการถอดรหัสพันธุกรรม	53
2.7.5 ยาอื่น	54
2.7.6 ยาคีโตโคนาโซล (Ketoconazole)	54
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	55
3.1 วัสดุอุปกรณ์	55
3.1.1 แบคทีเรีย รา และยีสต์ที่ใช้ในการทดลอง	55
3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง	55
3.1.3 ยาปฏิชีวนะ	55
3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	56
3.1.5 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	56
3.1.6 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	57
3.1.7 สมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง	57
3.2 วิธีดำเนินการทดลอง	57
3.2.1 เก็บรวบรวมตัวอย่างพืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง	57



สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.2 สายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ	57
3.2.3 การเตรียมสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบ	58
3.2.4 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ	58
3.2.5 การเตรียมเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการทดสอบ	59
3.2.6 การเตรียมเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบ	59
3.2.7 การศึกษาผลของสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion	59
3.2.8 การศึกษาผลของสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ด้วยวิธี Agar well diffusion	60
3.2.9 การศึกษาผลของสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรากับวิธี Poisoned food method	61
3.2.10 วิธีการทดสอบหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test	61
3.2.11 วิธีการทดสอบหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimum Fungicidal Concentration (MFC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test	62
3.2.12 การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยเทคนิค Drop plate	64
3.2.13 การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ โดยเทคนิค Drop plate	64
3.2.14 การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยใช้ cork borer เจาะเชื้อวางลงบนจานอาหาร	64
3.2.15 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	65
บทที่ 4 ผลการวิจัย	66
4.1 การเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพร	66
4.2 ผลการสกัดสารสกัดพืชสมุนไพร	66
4.3 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar well diffusion	69
4.4 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ ด้วยวิธี Agar well diffusion	81
4.5 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ด้วยวิธี Poisoned food method	83



สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.6 ผลการทดสอบหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test	89
4.7 ผลการทดสอบหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimum Fungicidal Concentration (MFC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test	96
4.8 ผลการทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยเทคนิค Drop plate	101
4.9 ผลการทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ โดยเทคนิค Drop plate	104
4.10 ผลการทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยใช้ cork borer เจาะ เชื้อวาลงบนจานอาหาร	106
บทที่ 5 บทสรุป	110
5.1 สรุปและอภิปรายผลการวิจัย	110
5.1.1 ผลการออกฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อจุลินทรีย์	110
5.1.2 ผลการทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยเทคนิค Drop plate	112
5.1.3 ผลการทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ โดยเทคนิค Drop plate	112
5.1.4 ผลการทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยใช้ cork borer เจาะเชื้อวาลงบนจานอาหาร	112
5.1.5 ข้อเสนอแนะ	113
เอกสารอ้างอิง	114
ภาคผนวก	125
ภาคผนวก ก ทะเบียนตัวอย่างพันธุ์พืชอ้างอิง	126
ภาคผนวก ข สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ และการเตรียมสารเคมี	128
ภาคผนวก ค รูปภาพแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชสมุนไพร	131
ภาคผนวก ง ตารางแสดงข้อมูลสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ...	148
ภาคผนวก จ ผลการทดสอบสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้เทคนิค Drop plate และ ใช้ cork borer เจาะเชื้อวาลงบนจานอาหาร..	159
ประวัติย่อผู้วิจัย	171



สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1.1 ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย	4
ตาราง 4.1 น้ำหนักพืชสมุนไพรสดก่อนอบแห้ง และน้ำหนักสมุนไพรหลังอบแห้ง (หน่วยเป็นกรัม)	66
ตาราง 4.2 พืชที่ใช้ในการศึกษา และปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัด	67
ตาราง 4.3 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> DMST4212 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	70
ตาราง 4.4 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Staphylococcus epidermidis</i> DMST518 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	72
ตาราง 4.5 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) DMST20625 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	74
ตาราง 4.6 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Bacillus cereus</i> DMST5040 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	76
ตาราง 4.7 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Escherichia coli</i> ATCC25922 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	78
ตาราง 4.8 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> DMST4739 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืช สมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	80
ตาราง 4.9 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Candida albicans</i> NCYC854 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพร เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	82
ตาราง 4.10 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Microsporum canis</i> ด้วยวิธี Poisoned food method สารสกัดพืชสมุนไพร เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	84
ตาราง 4.11 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Aspergillus fumigatus</i> TISTR3464 ด้วยวิธี Poisoned food method สารสกัดพืช สมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	86



สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตาราง 4.12 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Penicillium chrysogenum</i> TISTR3555 ด้วยวิธี Poisoned food method สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	88
ตาราง 4.13 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> DMST4212 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> DMST4212 Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	90
ตาราง 4.14 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Staphylococcus epidermidis</i> DMST518 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>Staphylococcus epidermidis</i> DMST518 Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	91
ตาราง 4.15 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) DMST20625 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) DMST20625 Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	92
ตาราง 4.16 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Bacillus cereus</i> DMST5040 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>Bacillus cereus</i> DMST5040 Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	93
ตาราง 4.17 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Escherichia coli</i> ATCC25922 Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>Escherichia coli</i> ATCC25922 Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	94



สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตาราง 4.18 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> DMST4739 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> DMST4739 Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	95
ตาราง 4.19 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Candida albicans</i> NCYC854 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>Candida albicans</i> NCYC854 Minimum Fungicidal Concentration (MFC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	97
ตาราง 4.20 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Microsporum canis</i> (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>Microsporum canis</i> Minimum Fungicidal Concentration (MFC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	98
ตาราง 4.21 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Aspergillus fumigatus</i> TISTR3464 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>Aspergillus fumigatus</i> TISTR3464 Minimum Fungicidal Concentration (MFC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	99
ตาราง 4.22 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Penicillium chrysogenum</i> TISTR3555 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>Penicillium chrysogenum</i> TISTR3555 Minimum Fungicidal Concentration (MFC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	100
ตาราง 4.23 การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยเทคนิค Drop plate (ใช้เชื้อที่เจือจางหยดลงไป 10 ไมโครลิตร)	101



สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตาราง 4.24 การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ โดยเทคนิค Drop plate (ใช้เชื้อที่เจือจางหยดลงไป 10 ไมโครลิตร)	104
ตาราง 4.25 การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยใช้ cork borer เจาะเชื้อวางลงบนจานอาหารที่ผสมสารสกัดสมุนไพร	107
ตารางภาคผนวก ก.1 ทะเบียนตัวอย่างพันธุ์พืชอ้างอิง	127
ตารางภาคผนวก ข.1 การเตรียม McFarland standard	130
ตารางภาคผนวก ง.1 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> DMST4212 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	149
ตารางภาคผนวก ง.2 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Staphylococcus epidermidis</i> DMST518 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	150
ตารางภาคผนวก ง.3 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) DMST20625 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	151
ตารางภาคผนวก ง.4 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Bacillus cereus</i> DMST5040 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	152
ตารางภาคผนวก ง.5 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Escherichia coli</i> ATCC25922 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	153
ตารางภาคผนวก ง.6 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> DMST4739 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	154
ตารางภาคผนวก ง.7 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Candida albicans</i> NCYC854 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	155
ตารางภาคผนวก ง.8 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Microsporum canis</i> ด้วยวิธี Poisoned food method สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	156



สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางภาคผนวก ง.9 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Aspergillus fumigatus</i> TISTR3464 ด้วยวิธี Poisoned food method สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	157
ตารางภาคผนวก ง.10 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Penicillium chrysogenum</i> TISTR3555 ด้วยวิธี Poisoned food method สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)	158



สารบัญภาพประกอบ

	หน้า
ภาพประกอบ 2.1 ลักษณะของดีป्ली	13
ภาพประกอบ 2.2 ลักษณะขึ้นส่วนผลของมะตูม	14
ภาพประกอบ 2.3 ลักษณะของใบหม่อน	16
ภาพประกอบ 2.4 ลักษณะของชาเขียว	17
ภาพประกอบ 2.5 โครงสร้างโมเลกุลทางเคมีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีอยู่ใน สารสกัดจากชาเขียว	19
ภาพประกอบ 2.6 ลักษณะของชาอู่หลง	20
ภาพประกอบ 2.7 ลักษณะของดอกคำฝอย	21
ภาพประกอบ 2.8 ลักษณะของต้นมะนาว และผลมะนาว	22
ภาพประกอบ 2.9 ลักษณะของต้นชะพลู	23
ภาพประกอบ 2.10 ลักษณะของแคบ้าน	25
ภาพประกอบ 2.11 ลักษณะของใบยอ	26
ภาพประกอบ 2.12 ลักษณะของต้นใบเตย	27
ภาพประกอบ 2.13 เชื้อแบคทีเรีย <i>Staphylococcus aureus</i>	32
ภาพประกอบ 2.14 เชื้อแบคทีเรีย <i>Staphylococcus epidermidis</i>	33
ภาพประกอบ 2.15 การย้อมแกรมของเชื้อ <i>B. cereus</i> แสดงลักษณะแกรมบวกรูปแท่ง มีการเรียงตัวเป็นสาย	36
ภาพประกอบ 2.16 เชื้อแบคทีเรีย <i>Escherichia coli</i>	39
ภาพประกอบ 2.17 เชื้อแบคทีเรีย <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
ภาพประกอบ 2.18 เชื้อยีสต์ <i>Candida albicans</i>	42
ภาพประกอบ 2.19 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา <i>M. canis</i>	43
ภาพประกอบ 2.20 ลักษณะโคโลนีเดียวของเชื้อรา <i>M. canis</i>	43
ภาพประกอบ 2.21 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา <i>Aspergillus fumigatus</i>)	44
ภาพประกอบ 2.22 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา <i>Penicillium chrysogenum</i>	45
ภาพประกอบ 3.1 เจาะเชื้อราไปวางบนอาหาร SDA	59
ภาพประกอบ 3.2 แสดงตำแหน่งที่จะหยดสารสกัด และ control ของเชื้อแบคทีเรีย	60
ภาพประกอบ 3.3 แสดงตำแหน่งที่จะหยดสารสกัด และ control ของเชื้อยีสต์	60
ภาพประกอบ 3.4 แสดงตำแหน่งที่จะหยดสารสกัด และ control ของเชื้อรา	61
ภาพประกอบ 3.5 การเจือจางสารสกัดพืชสมุนไพรความเข้มข้นต่างๆ แบบ two-fold dilution	62
ภาพประกอบ 3.6 แสดงวิธีการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ได้ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC)	63



สารบัญภาพประกอบ (ต่อ)

	หน้า
ภาพประกอบ 3.7 แสดงวิธีการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) ยีสต์ และ ราได้ (Minimum Fungicidal Concentration; MFC)	63
ภาพประกอบ 4.1 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> DMST4212 ด้วยวิธี Agar well diffusion	69
ภาพประกอบ 4.2 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Staphylococcus epidermidis</i> DMST518 ด้วยวิธี Agar well diffusion	71
ภาพประกอบ 4.3 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) DMST20625 ด้วยวิธี Agar well diffusion	73
ภาพประกอบ 4.4 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Bacillus cereus</i> DMST5040 ด้วยวิธี Agar well diffusion	75
ภาพประกอบ 4.5 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Escherichia coli</i> ATCC25922 ด้วยวิธี Agar well Diffusion	77
ภาพประกอบ 4.6 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> DMST4739 ด้วยวิธี Agar well diffusion	79
ภาพประกอบ 4.7 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Candida albicans</i> NCYC854 ด้วยวิธี Agar well Diffusion	81
ภาพประกอบ 4.8 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Microsporum canis</i> ด้วยวิธี Poisoned food method	83
ภาพประกอบ 4.9 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Aspergillus fumigatus</i> TISTR3464 ด้วยวิธี Poisoned food method	85
ภาพประกอบ 4.10 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Penicillium chrysogenum</i> TISTR3555 ด้วยวิธี Poisoned food method	87
ภาพภาคผนวก ค.1 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรดีปลี	132
ภาพภาคผนวก ค.2 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรมะตูม	133
ภาพภาคผนวก ค.3 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรใบหม่อน	134
ภาพภาคผนวก ค.4 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรชาเขียว	135
ภาพภาคผนวก ค.5 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรชาอู่หลง	137



สารบัญภาพประกอบ (ต่อ)

	หน้า
ภาพภาคผนวก ค.6 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรดอกคำฝอย	139
ภาพภาคผนวก ค.7 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรมะนาว	141
ภาพภาคผนวก ค.8 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรชะพลู	143
ภาพภาคผนวก ค.9 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรดอกแค	145
ภาพภาคผนวก ค.10 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรใบยอ	146
ภาพภาคผนวก ค.11 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรใบเตย	147
ภาพภาคผนวก จ.1 ผลทดสอบการ Drop plate เชื้อแบคทีเรีย	160
ภาพภาคผนวก จ.2 ผลทดสอบการ Drop plate เชื้อยีสต์	165
ภาพภาคผนวก จ.3 ผลทดสอบการ Drop plate เชื้อรา	167



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

พืชสมุนไพรถือเป็นพืชที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจที่สำคัญของโลก ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากพืชบางชนิดสามารถใช้ควบคุมเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ ซึ่งผลิตภัณฑ์ทางยาจากทั่วโลกประมาณ 30% ผลิตมาจากพืช ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากพืช เช่น สมุนไพรและเครื่องเทศนิยมนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารเสริมและสารสกัดชนิดต่างๆ ซึ่งพืชสมุนไพรเหล่านั้นมีความสามารถในการป้องกันและรักษาโรคได้แตกต่างกันไป ยาที่ผลิตมาจากพืชจะดีกว่ายาทั่วไปเนื่องจากมีราคาถูก มีความเป็นพิษ และมีผลข้างเคียงน้อยกว่าสารเคมี (Patel *et al.*, 2015) ซึ่งการใช้ยาปฏิชีวนะมักจะมีความเป็นพิษ และผลข้างเคียงต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะปัญหาการดื้อยาของเชื้อจุลินทรีย์ (Palombo and Sample, 2001) พืชสมุนไพรถือเป็นแหล่งยาที่นิยมใช้มาหลายพันปีแล้ว และยาส่วนมากในปัจจุบันก็ผลิตมาจากพืชสมุนไพร ประชากรจากทั่วโลกประมาณ 80% นิยมใช้ยาสมุนไพรแผนโบราณในการดูแลรักษาสุขภาพขั้นพื้นฐาน ทางองค์การอนามัยโลกได้กล่าวว่าพืชสมุนไพรถือเป็นแหล่งทางเลือกที่ดีที่สุดเมื่อเทียบกับยาที่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้นมา ในปัจจุบันนี้ได้มีการค้นพบสารต้านจุลินทรีย์ในพืชสูงขึ้น ซึ่งถือว่าเป็นสิ่งที่ดีที่จะนำมาใช้เป็นแนวทางในการคิดค้นยาต้านจุลินทรีย์ชนิดใหม่ (Abraham and Thomas, 2012)

จากรายงานการศึกษาของ Fernandez และคณะ 2012 พบว่าสารสกัดจากชะพลูมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus* ชาเขียวที่สกัดด้วยเอทานอล สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ 5 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Listeria monocytogenes*, *Shigella flexneri* และเชื้อ *Salmonella enterica* (Jungmin *et al.*, 2013) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Brevibacterium linens*, *Pseudomonas fluorescens* และ *Bacillus subtilis* มีความไวต่อสารสกัดจากชาเขียว (Sharma *et al.*, 2012) สารสกัดเหยาสมุนไพรดีปลี มีผลในการยับยั้งการเจริญของรา *Amylomyces* sp., *Rhizopus* sp. และ *Aspergillus awamori* (วีระสิทธิ์ กัลยาณฤต และวรศักดิ์ ช่างภา, 2553) น้ำมันหอมระเหยจากผิวมะนาวที่สกัดโดยใช้เอธิลอะซิเตต สามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* และเชื้อ *Penicillium* sp. ได้ (เกศรินทร์ รามณี, 2552) สารสกัดเหยาสมุนไพรจากใบเตยสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus* และเชื้อ *Aeromonas hydrophila* (ธนพร วงษ์เอี่ยม และชลธิชา บัวตะมะ, 2558)

Poonkothai และ Saravanan 2008 พบว่าสารสกัดจากมะตูมที่สกัดด้วยเมทานอล สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* เชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi* A และ *Salmonella paratyphi* B ได้ Jha และ Srivastava 2013 ศึกษากิจกรรมการต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อยีสต์ และ เชื้อรา พบว่าสารสกัดจากเมล็ดของหม่อนที่สกัดโดยใช้เอทานอล สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย



Escherichia coli, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* เชื้อรา *Aspergillus niger* และ เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ได้ Sasakia และคณะ 2004 พบว่าสารสกัดจากชาอู่หลงมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย streptococci ในช่องปากทั้งหมด และพบว่าสามารถต้านเชื้อ *S. mutans* ได้ Mehrabian และ Majd 2000 พบว่าสารสกัดจากดอกคำฝอยที่สกัดด้วยเมทานอล สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* และ *Bacillus mycoides* และเชื้อรา *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger* และ *Geotrichum candidum* ได้ Rahman และคณะ 2014 พบว่าสารสกัดจากใบชะพลูที่สกัดโดยใช้เมทานอล สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas fuscovaginae* และ *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* ได้ สารสกัดโพลีฟีนอลจากดอกแค มีผลในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneria*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* และ *Vibrio cholera* (China et al., 2012) ทศนีย์ ปัญจนาถ และคณะ 2548 ศึกษาสารสกัดจากผลยอ ซึ่งทำการสกัดด้วยเมทานอล ผลการศึกษาพบว่าการผลยอมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และเชื้อแบคทีเรียรูปแท่งแกรมลบที่เป็นเชื้อก่อโรคในทางเดินอาหารหลายชนิด เช่น *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* AD group, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae* และ *Shigella sonnei* รวมถึงฤทธิ์ต้านเชื้อประจำถิ่น ในทางเดินอาหารเป็นส่วนใหญ่ เช่น *Citrobacter freundii*, *Enterobacter agglomerans* และ *Escherichia coli* ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสมุนไพรมีคุณค่าที่สำคัญอีกหลายประการคือ ช่วยในการต้านอนุมูลอิสระและช่วยลดการเกิดโรคหัวใจขาดเลือด (Hertog et al., 1993; Verena et al., 2006) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ส่งเสริมการสร้างภูมิคุ้มกัน ป้องกันอาการแพ้ (Sarwar and lockwood, 2010)

การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ถือเป็นการหาวิธีป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ปรสิตร ไวรัส และเชื้อราที่เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการค้นหาสารประกอบเพื่อพัฒนาให้เป็นยาชนิดใหม่ ที่มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์สูงกว่าเดิม (Farjana et al., 2014) เนื่องจากการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสมุนไพรถือเป็นสิ่งที่น่าสนใจมาก เพราะเป็นสิ่งที่เรานิยมใช้ในชีวิต ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสมุนไพรรูปชนิดต่างๆ ที่ผู้คนนิยมรับประทาน และหาซื้อได้ตามท้องตลาด ได้แก่ ติบลิ มะตูม ใบหม่อน ใบชา (ชาเขียว และ ชาอู่หลง) และ ดอกคำฝอย และสมุนไพรรูปปั้นบ้านที่ผู้คนนิยมใช้รับประทาน ได้แก่ มะนาว ชะพลู แคบ้าน ใบเตย และยอ เป็นต้น โดยการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสมุนไพรรูปแต่ละชนิดในการยับยั้งจุลินทรีย์ ซึ่งจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นยาต้านจุลินทรีย์ การใช้สมุนไพรรูปแทนยาแผนปัจจุบันเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจเนื่องจากมีต้นทุนต่ำ จึงได้นำสมุนไพรมาทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* DMST4212, *Staphylococcus epidermidis* DMST518, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* DMST20625 (MRSA), *Bacillus cereus* DMST5040, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739 เชื้อยีสต์ *Candida albicans* NCYC854 เชื้อรา *Microsporum canis*, *Aspergillus fumigatus* TISTR3464 และ *Penicillium chrysogenum* TISTR3555 ผลจากงานวิจัยในครั้งนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้โดยผสมสารสกัดสมุนไพรรูปลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ ในขณะที่เชื้อที่ต้องการคัดเลือกสามารถเจริญขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการใช้ประโยชน์ในอนาคต



1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1 ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และ เชื้อรา
- 1.2.2 ศึกษาระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดของปริมาณสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดี

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.3.1 สมุนไพรที่ใช้ในการศึกษามี 10 ชนิด ได้แก่ ใบชา (ชาเขียว และ ชาอู่หลง) มะตูม มะนาว ชะพลู แคนัน ดอกคำฝอย ดีปลี ใบเตย ใบหม่อน และยอ
- 1.3.2 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ *Staphylococcus aureus* DMST4212, *Staphylococcus epidermidis* DMST518, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* DMST 20625 (MRSA), *Bacillus cereus* DMST5040, *Escherichia coli* ATCC25922 และเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739
- 1.3.3 เชื้อยีสต์ที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ *Candida albicans* NCYC854
- 1.3.4 เชื้อราที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ *Microsporum canis*, *Aspergillus fumigatus* TISTR3464 และ *Penicillium chrysogenum* TISTR3555
- 1.3.5 สกัดสมุนไพรด้วยน้ำร้อน เอทานอล และเมทานอล (สมุนไพรต่อตัวทำละลาย อัตราส่วน 1:5)
- 1.3.6 ทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และยีสต์ โดยวิธี Agar well diffusion
- 1.3.7 ทดสอบการยับยั้งเชื้อรา โดยวิธี poisoned food technique
- 1.3.8 หาความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยใช้วิธี Broth Macro dilution test
- 1.3.9 หาค่า MBC (Minimal Bactericidal Concentration) และค่า MFC (Minimal Fungicidal Concentration)
- 1.3.10 ทดสอบสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อยีสต์โดยใช้เทคนิค Drop plate
- 1.3.11 ทดสอบสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยใช้ cork borer เเจาะ ขี้วาลงบนจานอาหาร

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ทราบถึงประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งจุลินทรีย์
- 1.4.2 ทราบระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดของปริมาณสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดี
- 1.4.3 สามารถนำสารสกัดสมุนไพรมาประยุกต์ใช้เป็นสารต้านจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อได้



1.5 สมมติฐานของการวิจัย

1.5.1 สารสกัดสมุนไพรมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ได้แตกต่างกัน

1.5.2 สามารถนำสารสกัดชาสมุนไพรมาประยุกต์ใช้เป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ในอาหารเลี้ยงเชื้อได้

1.6 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา SC2-302, SC2-308 และห้อง SC2-407/6 สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา และห้องศูนย์เครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

1.7 ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

เริ่มดำเนินการวิจัยตั้งแต่ เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2558 ถึง เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2560 (ดังตาราง 1.1)

ตาราง 1.1 ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนดำเนินงาน	2558		2559		2560		
	ก.ย.-	ม.ค.-	พ.ค.-	ก.ย.-	ม.ค.-	มิ.ย.-	ก.ย.-
	ธ.ค.	เม.ย.	ส.ค.	ธ.ค.	พ.ค.	ส.ค.	พ.ย.
1. วางแผนการทดลอง ศึกษาข้อมูล และตรวจสอบเอกสาร	↔						
2. เก็บรวบรวมพืชสมุนไพร และสกัด สารสกัดจากพืช	↔						
3. ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) เชื้อยีสต์ และเชื้อราได้ (MFC)	↔						
4. ทดสอบสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้เทคนิค Drop plate	↔						
5. สรุปผลการทดลอง จัดทำเล่มวิทยานิพนธ์ และเขียนบทความ เพื่อตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ	↔						



บทที่ 2

ปริทัศน์เอกสารข้อมูล

2.1 สมุนไพร

สมุนไพรเป็นพืชที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจ และความเป็นอยู่ของคนไทยเป็นอย่างมาก เนื่องจากนำมาใช้ปรุงอาหารและใช้เป็นยารักษาโรคมานานหลายพันปี เป็นภูมิปัญญาดั้งเดิมของบรรพบุรุษ ซึ่งสั่งสมมานานหลายชั่วอายุคน ภูมิปัญญาในการใช้สมุนไพรได้มีการใช้งานขาดหายไปบ้างตามการเปลี่ยนแปลงของโลก แต่ภูมิปัญญานี้ยังเป็นเพชรน้ำเอกที่รอคอยผู้เห็นคุณค่านำกลับมาใช้อย่างถูกต้อง ในสภาวะที่ประชาชนให้ความสนใจเรื่องคุณภาพชีวิตมากขึ้น มีความสนใจในชีวิตความเป็นอยู่โดยทั่วไปมากขึ้น และเข้าใจว่าการป้องกันดีกว่าการรักษา ในปัจจุบันสมุนไพรมีแนวโน้มที่จะมีความสำคัญเพิ่มขึ้น จากการสอบถามคนสมัยใหม่จะไม่ทราบการใช้ประโยชน์จากสมุนไพร บางท่านทราบแต่ชื่อสมุนไพรแต่ไม่ทราบประโยชน์อันมีค่าของสมุนไพร จากการสอบถามทำให้รู้ว่าภูมิปัญญาเหล่านี้คงจะสูญหายไปไม่ช้า ซึ่งภูมิปัญญาที่บรรพบุรุษได้สืบทอดกันมาจนเป็นเอกลักษณ์ แล้วกลายมาเป็นวัฒนธรรมส่วนหนึ่งในสังคมของไทย แต่น่าเสียดายที่คนรุ่นใหม่ส่วนใหญ่ไม่รู้จักร และไม่สนใจด้วยสาเหตุที่ไม่ทันสมัยนิยม หรือความไม่สะดวกในการใช้ สังเกตได้จากการที่มีสมุนไพรหลายชนิดในตำรายาไทยเหลือเพียงชื่อ เพราะไม่มีผู้รู้จักแล้ว หรือเกิดความสับสนในการเลือกซื้อ ทั้งชื่อกลาง ชื่อท้องถิ่น และชื่อพ้อง ตลอดจนพันธุ์พืชหลายชนิดเริ่มหายากขึ้น (พร้อมจิต ศรีลัมพ์, 2548)

พืชสมุนไพรมีคุณค่าอย่างมากต่อสุขภาพและชีวิตความเป็นอยู่ของคนในท้องถิ่นในอดีต การปลูกพืชสมุนไพรมักทำกันในลักษณะการปลูกผักสวนครัวตามริมรั้ว หรือตามหลังบ้านซึ่งจะใช้ประโยชน์เมื่อไหร่ก็เก็บมาใช้ได้สะดวก หรือพืชสมุนไพรขึ้นเองตามธรรมชาติบริเวณที่อกเขา ทุ่งนา ท้องไร่ เป็นแหล่งสร้างอาหารให้แก่คนในชุมชนเป็นเวลาราวนาน เมื่อประชากรเพิ่มปริมาณมากขึ้นจำเป็นต้องใช้พื้นที่ในการสร้างที่อยู่อาศัย หรือใช้พื้นที่ในการสร้างเขตอุตสาหกรรมทำให้พืชสมุนไพรหลายชนิดเริ่มลดปริมาณลงและหายาก หรือหายสาบสูญไป หรือเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงจากสังคมเกษตรไปสู่สังคมลักษณะอื่นๆ โดยการถางป่าเพื่อขยายพื้นที่ในการเพาะปลูกพืชเชิงเดี่ยว รวมทั้งการขยายตัวของชุมชน เช่น ถนนและบ้านเรือน ได้ส่งผลกระทบต่อวิถีชีวิตของคนในชุมชนให้ห่างเหินจากภูมิปัญญาท้องถิ่น ซึ่งระบบเกษตรอุตสาหกรรมที่เน้นการปลูกพืชเชิงเดี่ยวเพื่อการค้าได้เข้ามาแทนที่การเกษตรดั้งเดิมแบบผสมผสาน ที่มุ่งเน้นให้มีอาหารบริโภคอย่างเพียงพอภายในครอบครัว ส่วนการปลูกพืชเชิงเดี่ยวเพื่อหารายได้สร้างกำไรตอบแทนภายใต้การส่งเสริมสนับสนุนของรัฐและกลไกทางการตลาด ทำให้เกิดการขยายพื้นที่เพาะปลูกเชิงเดี่ยวอย่างกว้างขวาง ทำให้พื้นที่ป่าลดลงสมุนไพรย่อมลดปริมาณลงตามไปด้วย (ยศ สันติสมบัติ, 2544)

สมุนไพรมีประวัติควบคู่มาับชีวิตความเป็นอยู่มาช้านาน มีการใช้สมุนไพรในการบำบัดโรคอย่างลองผิดลองถูกมาตลอด ถ้าหากพืชสมุนไพรชนิดใดให้ประโยชน์ด้านการรักษาโรค ก็จะจดจำถ่ายทอดสืบทอดกันไปทำให้เกิดเป็นยากลางบ้าน (folklore medicine) ใช้กันในชุมชนเล็กๆ หรือเป็นยาแผนโบราณที่ใช้กันในชุมชนใหญ่ (รัตน อินทรานุภรณ์, 2547) แต่สมุนไพรไทยตามพระราชบัญญัติหมายถึง ยาที่ได้จากพืช สัตว์และแร่ธาตุ ซึ่งยังไม่ได้ผสมหรือแปรสภาพ เช่น พืชที่ได้จากส่วนราก ลำต้น



ใบ ดอก และผล (พเยาว์ เหมือนวงศ์ญาติ, 2537) ประเทศไทยนั้นเป็นประเทศที่มีป่าเขตร้อน ที่มีความหลากหลายของทรัพยากรทางชีวภาพ นั่นคือความหลากหลายของพันธุ์พืชสมุนไพร พันธุ์สัตว์ และความหลากหลายทางแร่ธาตุ จึงมีการใช้สมุนไพรในการรักษาโรคร้ายไข้เจ็บแตกต่างกัน และใช้กันมาจนถึงปัจจุบัน (รัตน อินทรานุปกรณ์, 2547)

ปัจจุบันการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรได้รับความนิยมและยอมรับเพิ่มมากขึ้น ซึ่งไม่เพียงแต่การใช้บริโภคเป็นอาหารเท่านั้น ประชาชนเริ่มมีความนิยมผลิตภัณฑ์ที่สกัดจากธรรมชาติกันมากขึ้น โดยเฉพาะในระยะหลังที่คนเริ่มตื่นตัวในเรื่องพิษภัยอันตรายจากสารเคมีและหันมาสนใจต่อสารที่สกัดจากธรรมชาติมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่มาจากการสังเคราะห์ทางเคมีด้วยความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคตัดสินใจเลือกใช้ประโยชน์บำรุงสุขภาพและเป็นยารักษาโรคหรือนำไปเป็นส่วนประกอบของใช้เพื่อการอุปโภคในชีวิตประจำวัน เช่น ใช้เป็นส่วนผสมของสบู่ ยาสีฟัน แชมพูสระผม ครีมนวดผมหรือครีมบำรุงผม ครีมบำรุงผิว น้ำหอม ยาต้ม น้ำมันหอมระเหย ก็ได้รับความนิยมแพร่หลายมากขึ้น เป็นผลโดยตรงจากประเทศทางยุโรปที่ให้ความสนใจพืชสมุนไพร เพราะพืชสมุนไพรมีผลข้างเคียงน้อยกว่ายาแผนปัจจุบัน ประกอบกับสภาวะถดถอยทางเศรษฐกิจในปัจจุบันที่รัฐบาลต้องการลดการนำเข้าของยาและสารเคมี (วันดี ฤกษ์พันธ์, 2538)

ประเทศไทยเป็นประเทศที่อุดมสมบูรณ์ไปด้วยพืชผักนานาชนิด มีความแตกต่างกันไป ในแต่ละเขตพื้นที่ตามลักษณะภูมิอากาศ ลักษณะภูมิประเทศ และสิ่งที่น่าสนใจคือ พืชผักพื้นบ้าน ในแต่ละท้องถิ่นที่มีคุณสมบัติเป็นเอกลักษณ์ของตนเอง ถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมในการประกอบอาหารเป็นเครื่องเทศเพื่อปรุงแต่ง สี กลิ่น รส และเป็นส่วนประกอบในยาสมุนไพรพื้นบ้าน ดังนั้นแนวทางในการเลือกรับประทานผัก จึงเป็นสิ่งที่ทั่วโลกให้ความสนใจและตระหนักถึงความสำคัญ โดยเฉพาะพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน เป็นแนวทางหนึ่งที่ผู้บริโภคนิยมเลือกนำมาบริโภคเป็นอาหาร นำมาใช้ดูแลสุขภาพป้องกันสุขภาพร่างกาย และที่สำคัญในด้านการส่งเสริมความสวยงามของร่างกาย ทั้งนี้เนื่องจากสภาวะสิ่งแวดล้อมในสังคมปัจจุบัน ที่พบว่ามีปัญหาด้านมลพิษที่อยู่รอบตัวเราอันเป็นสาเหตุของการเกิดโรคร้ายไข้เจ็บ ร่างกายไม่สร้างภูมิคุ้มกัน ซึ่งเกิดจากอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคร้ายต่างๆ การเสื่อมสภาพของเซลล์ จึงมีการทดลองวิจัยทางวิทยาศาสตร์และได้พิสูจน์ว่า สารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งพบได้ในอาหาร พืช ผัก และผลไม้มีบทบาทสำคัญในการลดความเสี่ยงจากการเกิดโรคต่างๆ เรียกได้ว่าเป็นสารที่สามารถลด ชะลอ หรือป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งสารดังกล่าวจะไม่ทำลายสารชีวโมเลกุลในร่างกาย (โอภา วัชรคุปต์, 2549)

ดังนั้นจึงเห็นได้ว่าสังคมปัจจุบันได้มีการศึกษาการสกัดสารสมุนไพรที่มีสรรพคุณต่างๆ นำมาใช้ประโยชน์ในหลายด้านมากขึ้น เช่น ด้านอุตสาหกรรมอาหาร ยารักษาโรค และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เป็นต้น กลิ่นหอมจากน้ำมันหอมระเหยของพืชสมุนไพรที่มีในพืชแต่ละชนิด จะมีประโยชน์ในการนำมาช่วยบำบัดอาการผิดปกติได้ดี โดยกลิ่นจะช่วยกระตุ้นให้ร่างกายหลั่งสารเอ็นโดฟิน (endorphine) ที่ช่วยลดความเจ็บปวด สารเอนเซฟาลิน (encephaline) ที่ช่วยทำให้มีอารมณ์ดี และสารเซโรโทนิน (serotonin) ที่ช่วยให้ร่างกายรู้สึกสงบเยือกเย็นและผ่อนคลายลงได้ เป็นต้น และเนื่องจากในน้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่จะมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย รา และไวรัส บางชนิดมีฤทธิ์เป็นยากระตุ้นหรือเป็นยานอนหลับ กลิ่นหอมของน้ำมันหอมระเหยจึงถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน (อรุณญา มโนสร้อย และจิระเดช มโนสร้อย, 2548)



2.2 กระบวนการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร

การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร ถือเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญ ซึ่งจะมีขั้นตอน และวิธีในการสกัดที่แตกต่างกันหลายวิธี ดังต่อไปนี้

2.2.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

การเตรียมตัวอย่างพืชนับเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญ ซึ่งต้องคำนึงถึงสิ่งที่มีผลต่อความแตกต่างของสารสำคัญในพืช ได้แก่ การตรวจเอกลักษณ์ที่ถูกต้องของพืช เพื่อให้ได้ชื่อพฤกษศาสตร์และได้ตัวอย่างที่ถูกต้อง ไม่มีพืชอื่นปน เพราะจะทำให้ได้สารแปลกปลอม ซึ่งอาจเป็นอันตรายได้นอกจากนี้ ยังทำให้ผลการวิจัยผิดพลาดได้ พืชต้องไม่มีโรค หากตัวอย่างที่เก็บมามีจุลินทรีย์อื่นเป็นสาเหตุของโรคพืช จุลินทรีย์อาจให้สารซึ่งถูกสกัดออกมาพร้อมกับสารที่เราต้องการ นอกจากนี้จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการชีวสังเคราะห์ในพืชทำให้ได้สารที่แตกต่างออกไปจากธรรมชาติ ความแตกต่างของสารสำคัญในพืช (Variation of constituents) ในการเก็บพืชแต่ละครั้ง สารสำคัญในพืชอาจแตกต่างกันทั้งปริมาณและชนิด ซึ่งเกิดจากสาเหตุหลายประการ เช่น ความแตกต่างเนื่องจากสายพันธุ์ แหล่งที่ปลูก เป็นต้น ดังนั้นจึงควรต้องบันทึก สถานที่ และเวลาที่เก็บตัวอย่างพืช สำหรับผลของการเก็บรักษาและเตรียมพืช (Effect of preserving and processing process) ในการทำพืชให้แห้งบางครั้งจะทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมุนไพรเสียไป เช่น ไธม์ (thyme) สดมีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ แต่ถ้าตัวอย่างแห้งฤทธิ์ทางเภสัชวิทยานี้จะหมดไป (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

2.2.2 วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืช

การสกัดสารสำคัญจากพืชอาจทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดของสารสกัด คุณสมบัติของสารในการทนต่อความร้อน ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ ดังนี้ (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

2.2.2.1 มาเชอเรชัน (Maceration หรือ Immersion) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยวิธีหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น ปากขวดกว้าง หรือถังสแตนเลส เป็นต้น ทิ้งไว้ ประมาณ 5-7 วัน หมั่นเขย่าหรือคนบ่อยๆ เมื่อครบกำหนดเวลาจึงค่อยๆ รินเอาสารสกัดออก พยายามบีบเอาสารละลายออกจากกาก (Marc) ให้มากที่สุด รวมสารสกัดที่ได้นำไปกรอง การสกัด ถ้าจะสกัดให้หมดจด (Exhausted) อาจจำเป็นต้องสกัดซ้ำหลายๆ ครั้ง วิธีนี้มีข้อดีที่สารไม่ถูกความร้อน แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก

2.2.2.2 เพอร์โคเลชัน (Percolation) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญแบบต่อเนื่องโดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า เพอร์โคเลเตอร์ (Percolator) นำสมุนไพรมาหมักกับตัวทำละลายพอชื้น ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่แล้วค่อยๆ บรรจุผงยาที่ละเอียดเป็นชั้นในเพอร์โคเลเตอร์เติมตัวทำละลายลงไปที่ระดับตัวทำละลายสูงเหนือสมุนไพร (Solvent head) ประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงเริ่มรินเอาสารสกัดออกมา โดยค่อยๆ เติมตัวทำละลายเหนือสมุนไพรอย่าให้แห้ง เก็บสารสกัดจนการสกัดสมบูรณ์ บีบกากเอาสารสกัดออกให้ได้มากที่สุด นำสารสกัดที่เก็บได้ทั้งหมดรวมกัน นำไปกรอง วิธีนี้อาจพบปัญหา ผลยาอาจจับตัวเป็นก้อนทำให้ตัวทำละลายไม่สามารถแทรกซึมเข้าไปสกัดได้ การพองตัวมากๆ ทำให้ต้องใช้ความดัน และอาจทำให้อุดตัน การบรรจุไม่สม่ำเสมอจะเกิดร่องซึ่งตัวทำละลายจะไหลผ่านร่องแทนการแทรกซึมไปตามผงยา ทำให้สกัดไม่สมบูรณ์



2.2.2.3 ซอกซ์เลตเอกแทรกเตอร์ (Soxhlet Extractor) จะเป็นวิธีการสกัดสารแบบต่อเนื่อง โดยใช้ตัวทำละลายซึ่งมีจุดเดือดต่ำ การสกัดทำได้โดยใช้ความร้อนทำให้ตัวทำละลายในภาชนะระเหยขึ้นไป แล้วกลั่นตัวลงมาในทิมเบอร์ (Thimble) ซึ่งบรรจุสมุนไพรไว้ เมื่อตัวทำละลายในเอกซ์แทรกติงแชมเบอร์ (Extracting chamber) สูงถึงระดับ สารสกัดจะไหลกลับลงไปในภาชนะด้วยวิธีการกลั่นน้ำภาชนะนี้ได้รับความร้อนจากฮีทติ้งแมนเทิล (Heating mantle) หรือหม้ออังไอน้ำ ตัวทำละลายจึงระเหยขึ้นไปถึงสารสกัดไว้ในภาชนะ ตัวทำละลายเมื่อกระทบคอนเดนเซอร์ (Condenser) จะกลั่นตัวกลับลงมาสกัดสารใหม่ วนเวียนเช่นนี้จนกระทั่งการสกัดสมบูรณ์ การสกัดด้วยวิธีนี้ใช้ความร้อนด้วย จึงอาจทำให้สารเคมีบางชนิดสลายตัว

2.2.2.4 การต้ม (decoction) เป็นการสกัดสารโดยนำตัวอย่างพืชสมุนไพร ไปต้มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิสูง 100 องศาเซลเซียส เริ่มจับเวลาตอนน้ำเดือด เป็นเวลา 10-15 นาที จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มากรองเพื่อกำจัดเศษตะกอน นำไประเหยเพื่อกำจัดเอาตัวทำละลายออก ข้อดี ลงทุนต่ำ ไม่มีคลอรีฟิลล์ และเหมาะสำหรับสารสกัดที่นำไปผลิตได้ทันที ข้อเสีย ได้สารสกัดปริมาณมาก ความเข้มข้นต่ำ มักมีคาร์โบไฮเดรต หรือโปรตีนติดมา ทำให้สารสกัดเสถียร และทำให้แห้งต้องใช้ spray dry หรือ freeze dry หรือ drum dry เพื่อกำจัดเอาตัวทำละลายออก (กิตติศักดิ์ แคล้วจันทร์สุข, 2560)

2.2.3 ปัจจัยในการเลือกวิธีการสกัด

การสกัดสารสำคัญในพืชสมุนไพรมีหลายวิธี ซึ่งวิธีการสกัดที่เหมาะสมขึ้นกับปัจจัยหลายๆ อย่าง เช่น คุณค่าของสารสกัดและค่าใช้จ่ายในการสกัด หากต้องการสกัดที่ไม่ใช่สารสำคัญ และคุณค่าทางการรักษาน้อย เช่น สารที่ใช้แต่งสี กลิ่น และรส ก็อาจใช้วิธีง่ายๆ ที่ไม่ยุ่งยาก สำหรับความต้องการที่จะให้ได้สารสกัดที่สมบูรณ์ (Exhausted extraction) หรือเกือบสมบูรณ์ หากต้องการสารสกัดเจือจาง การใช้วิธีมาเชอร์เรชัน (Maceration) ก็เพียงพอแล้ว แต่ถ้าต้องการสารสกัดเข้มข้นก็ ควรใช้วิธีเพอร์โคเลชัน (Percolation) หรือการสกัดแบบต่อเนื่อง ธรรมชาติของพืชสมุนไพร พิจารณาจากลักษณะและโครงสร้างของเนื้อเยื่อ ถ้าสมุนไพรที่มีลักษณะอ่อนนุ่ม เช่น ดอก และใบ อาจทำการสกัดด้วยวิธีมาเชอร์เรชัน (Maceration) หากเป็นพืชสมุนไพรที่มีเนื้อเยื่อแข็งและเหนียว เช่น เปลือก ราก และเนื้อไม้ ควรใช้วิธีเพอร์โคเลชัน หรือการสกัดแบบต่อเนื่อง ความสามารถในการละลายของสารสำคัญ ถ้าละลายได้ดีนิยมใช้วิธีดูดซับ แต่ถ้าละลายได้น้อยก็จำเป็นต้องใช้วิธีการสกัดแบบต่อเนื่องในความคงตัวของสารสำคัญในสมุนไพรต่อความร้อน ถ้าเป็นสารที่ไม่ทนต่อความร้อน ควรใช้วิธีมาเชอร์เรชันหรือวิธีเพอร์โคเลชัน (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

2.2.4 การเลือกใช้ตัวทำละลาย

ในการสกัดจะได้ผลดีหรือไม่ อยู่ที่การคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวทำละลายที่ดี ควรมีสสมบัติ เป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่ต้องการได้ดีพอ ไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่เราต้องการสกัด ไม่เป็นพิษ และมีราคาไม่แพง ตัวทำละลายที่นิยมใช้ เช่น คลอโรฟอร์ม อีเธอร์ เฮกเซน และแอลกอฮอล์ เป็นต้น ซึ่งในการเลือกใช้ตัวทำละลายอาศัยหลักเกณฑ์ดังนี้ คือ สารละลายและตัวทำละลายมีคุณสมบัติความมีขั้วคล้ายคลึงกัน ละลายสารที่ต้องการออกมามากที่สุด และแรง (Force) ที่เกี่ยวข้องในการละลายที่สำคัญ เช่น แรงการกระจาย หรือแรงลอนดอน (Dispersion force หรือ London force) แรงดึงดูดระหว่างขั้ว (Dipole-dipole force) และพันธะไฮโดรเจน (H-bonding) (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559) ตัวทำละลายที่มีขั้วมาก (สามารถละลายในน้ำ)



ตัวทำละลายที่มีขั้ว (จะละลายในแอลกอฮอล์) และ ตัวทำละลายไม่มีขั้ว (จะไม่ละลายในน้ำ) เช่น น้ำมันหอมระเหย ไชมันเรซิน มีคุณสมบัติดังนี้ (กิตติศักดิ์ แคล้วจันทร์สุข, 2560)

2.2.4.1 ตัวทำละลายที่มีขั้ว (polar solvents) ได้แก่ น้ำ สารที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายมีขั้วจะเป็นสารในกลุ่มจำพวก คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrates) ไกลโคไซด์ (Glycosides) กรดอินทรีย์ เช่น กรดทาร์ทาริก (tartaric acid) ในมะขาม กรดฮิบิสิก (hibiscic acid) ในผลกระเจี๊ยบ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) และเกลือของแอลคาลอยด์

2.2.4.2 ตัวทำละลายกึ่งมีขั้ว (semi-polar solvents) เช่น แอลกอฮอล์ สารที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายกึ่งมีขั้วจะเป็นสารจำพวก ไกลโคไซด์ (Glycosides) ซึ่งได้แก่ แทนนิน (Tannin) ซาโปนิน (Saponin) และ ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) อะไกลโคน (Aglycone) แอลคาลอยด์ (alkaloid) ฟีนอลิก (phenolic) เทอร์พีน (Terpene) เรซิน (Resins) และ สียางชนิด เช่น สีแดงของพริก แดงโม สีเหลืองส้ม ของมะเขือเทศ มะละกอ แครอท ส้ม

2.2.4.3 ตัวทำละลายไม่มีขั้ว (ไม่ละลายในน้ำ) (nonpolar solvents) เช่น น้ำมันหอมระเหย ไชมันเรซิน สารที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายไม่มีขั้วจะเป็นสารกลุ่มเทอร์พีนที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น สารสีในแครอท พริก และเมล็ดคำไทย

2.2.5 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้มักจะมีปริมาณมาก และเจือจาง ทำให้นำไปแยกส่วนได้ไม่สะดวก และไม่มีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อน ซึ่งมีหลายวิธีดังนี้ (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

2.2.5.1 การระเหย (Free Evaporation) คือ การระเหยให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากหม้ออ่างไอน้ำ (Water bath) หรือเครื่องให้ความร้อน (Hot plate) บางครั้งอาจจะเป่าอากาศร้อนลงไปในการสกัดเพื่อให้ระเหยได้เร็วขึ้น

2.2.5.2 การกลั่นในภาวะสุญญากาศ (Distillation in vacuum) เป็นวิธีการระเหยแห้งโดยกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำ และลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump) เครื่องมือชนิดนี้เรียกว่า rotary evaporator ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบที่จะกลั่น (Distillation flask) คอนเดนเซอร์หรือส่วนควบแน่นไของสารละลาย (Con-denser) และภาชนะรองรับสารละลายหลังการกลั่น (Receiving flask) โดยภาชนะบรรจุสาร สกัดอย่างหยาบที่จะกลั่นจะหมุนอยู่ตลอดเวลาที่ทำงาน และแช่อยู่ในหม้ออ่างไอน้ำเพื่อให้การกระจายของความร้อนทั่วถึงและสม่ำเสมอ เครื่องมือที่มีต้องมียระบบการทำสุญญากาศที่ดี ระยะระหว่างภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบที่จะกลั่น และคอนเดนเซอร์สั้น และมีระบบทำความสะอาดของคอนเดนเซอร์ที่ดี

2.2.5.3 การแช่แข็ง (Freezing) ถ้าเป็นสารสกัดด้วยน้ำ วิธีที่เหมาะสม คือ ใช้วิธีแช่แข็งโดยการใช้ความเย็น (Lyophilizer หรือ Freeze dryer) เฉพาะตัวทำละลายเท่านั้นที่แข็ง ซึ่งแยกจาก Concentrated extract โดยการเหวี่ยง วิธีนี้มีข้อดีเหมาะสมกับสารที่สลายตัวด้วยความร้อน

2.2.5.4 อัลตราฟิลเทรชัน (Ultrafiltration) เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (Membrane) ใช้กับสารที่มีมวลโมเลกุล (Molecular weight) สูงกว่า 5,000



2.3 สารประกอบทางเคมีและเภสัชวิทยาของพืชสมุนไพร

สารประกอบทางเคมีในพืชสมุนไพรจำแนกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ

2.3.1 สารประกอบปฐมภูมิ (primary metabolite) เป็นสารที่มีอยู่ในพืชชั้นสูงทั่วไป พบในพืชทุกชนิด เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) เช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน เม็ดสี (pigment) และเกลืออนินทรีย์ (inorganic salt) เป็นต้น (จุไรรัตน์ เกิดดอนแฝก, 2552; พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ, 2537)

2.3.2 สารประกอบทุติยภูมิ (secondary metabolite) เป็นสารประกอบที่มีลักษณะค่อนข้างพิเศษ พบต่างกันพืชแต่ละชนิด คาดว่าเกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) ที่มีเอนไซม์ (enzyme) เข้าร่วม ได้แก่ อัลคาลอยด์ (alkaloid) แอนทราควิโนน (anthraquinone) และน้ำมันหอมระเหย (essential oil) เป็นต้น ส่วนใหญ่สารประกอบทุติยภูมิจะมีสรรพคุณทางยา แต่จากการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารประกอบปฐมภูมิ บางชนิดสามารถออกฤทธิ์ในการรักษาโรคได้เช่นกัน จึงมีข้อสังเกตว่าสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางยาในพืชสมุนไพรชนิดหนึ่ง อาจมีใช้เพียงชนิดเดียว อาจมีหลายชนิดก็ได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีความเข้าใจที่ถ่องแท้ จึงจะสามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางยามาใช้ได้ ตัวอย่างสารประกอบทุติยภูมิที่พบในพืช ได้แก่ (จุไรรัตน์ เกิดดอนแฝก, 2552; พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ, 2537)

2.3.2.1 อัลคาลอยด์ (alkaloid) เป็นสารอินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นด่างและมีไนโตรเจน (nitrogen) เป็นส่วนประกอบ มีรสขม ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) และมีสารต่างกันไปตามฤดูกาล สารประเภทนี้จะมียุทธวิธีทางเภสัชวิทยาในหลายระบบ เช่น reserpine ในรากของต้นระย่อม มีสรรพคุณลดความดันเลือด สาร quinine ในเปลือกต้นชิงโคนา (cinchona) มีสรรพคุณในการรักษาโรคมาลาเรียและสาร morphine ในยางของฝิ่น มีสรรพคุณระงับอาการปวด เป็นต้น

2.3.2.2 น้ำมันหอมระเหย (volatile oil หรือ essential oil) เป็นน้ำมันที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) มีกลิ่นเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายในอุณหภูมิปกติ เบากว่าน้ำ โดยน้ำมันนี้เป็นส่วนผสมของสารเคมีหลายชนิด มักเป็นส่วนประกอบของพืชสมุนไพรที่เป็นเครื่องเทศ มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาหลากหลาย เช่น ช่วยขับลม ช้ำเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรีย สามารถพบในพืชสมุนไพรหลายชนิด ได้แก่ กระเทียม ขิง ข่า ตะไคร้ มะกรูด โพล และขมิ้น เป็นต้น

2.3.2.3 ไกลโคไซด์ (glycoside) เป็นสารประกอบที่พบมากในพืชสมุนไพร มีโครงสร้างแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นน้ำตาล เรียกว่า ไกลโคน (glycone) กับส่วนที่ไม่เป็นน้ำตาล เรียกว่า อะไกลโคน (aglycone) หรือจีนิน (genin) การที่มีน้ำตาลทำให้สารนี้ละลายน้ำได้ดี ส่วน aglycone เป็นสารอินทรีย์ ซึ่งมีสูตรโครงสร้างต่างกันไป ทำให้คุณสมบัติทางชีววิทยาของ glycoside แตกต่างกันไปจึงสามารถแบ่ง glycoside ได้หลายประเภท ได้แก่

1) Cardiac glycoside มีฤทธิ์ต่อระบบกล้ามเนื้อหัวใจ และการไหลเวียนโลหิต เช่น สารโนโบอีโธ

2) Anthraquinone glycoside จะมีฤทธิ์เป็นยาระบาย (laxative) และฆ่าเชื้อ (antibiotic) และใช้เป็นสีย้อม พบได้ในใบชุมเห็ดเทศ ใบขี้เหล็ก และใบมะขามแขก เป็นต้น (จุไรรัตน์ เกิดดอนแฝก, 2552; พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ, 2537) แอนทราควิโนน (Anthraquinones) เป็นสารกลุ่ม



ควิโนนที่พบมากที่สุด พบได้ทั้งในรูปอิสระ และไกลโคไซด์ มีโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วย 3 วงแหวน เป็นสารที่มีสีแดง-ส้ม แต่อาจจะพบได้ตั้งแต่สีเหลือง-น้ำตาล ส่วน Aglycone ของแอนทราควิโนนจะละลายได้ดีในด่าง ให้สีชมพู-แดง ซึ่งละลายได้ในตัวทำละลายต่างๆ เช่น เบนซีน อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม แอนทราควิโนนเกือบทุกตัว โดยจะมีจุดหลอมเหลวสูง ส่วนใหญ่ใช้เป็นยาระบายและยาถ่าย นอกจากนี้ยังใช้เป็นสีย้อมยารักษาเชื้อราที่ผิวหนังด้วย ตัวอย่างเช่น Chrysophanol (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

3) Saponin glycoside เป็นสารที่มีคุณสมบัติทำให้เกิดฟอง มักใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตยาประเภทสเตอรอยด์ เช่น ลูกประคำดีควาย ชะเอมเทศ และบัวบก เป็นต้น

4) Flavonoid glycoside เป็นสารสีที่พบในดอกและผลของพืช มักใช้เป็นสีย้อมหรือสีแต่งอาหาร บางชนิดมีฤทธิ์ลดอาการเกร็งของกล้ามเนื้อ และยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เช่น ต้นหม่อนน้อย และดอกอัญชัน เป็นต้น

2.3.2.4 แทนนิน (Tannins) เป็นสารจำพวกโพลีฟีนอลิกที่มีโมเลกุลค่อนข้างใหญ่ และซับซ้อนพบได้ทั่วไปในพืชเกือบทุกชนิด เป็นสารที่แยกให้บริสุทธิ์ได้ยากเพราะไม่ตกผลึก พบได้ทั้งในรูปอิสระและรูปไกลโคไซด์ คุณสมบัติและชนิดของแทนนินขึ้นอยู่กับขนาดของโมเลกุล แทนนินใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง เนื่องจากแทนนินสามารถตกตะกอนโปรตีนที่หนังสัตว์ได้ หรือใช้เป็นยาฝาดสมาน เป็นส่วนผสมในตำรายาแก้ท้องเสีย หรือใช้กับบาดแผลที่ผิวหนัง เพื่อให้แผลหายเร็วขึ้น ตัวอย่างเช่น Gallotannin (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

2.3.2.5 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นสารประกอบโพลีฟีนอลิก (Polyphenolic compound) จำพวกฟีนิลโครโมน (Phenyl chromones) พบมากในธรรมชาติโดยมักพบเป็นเม็ดสี (Pigment) ในส่วนต่างๆ ของพืชโดยเฉพาะในส่วนของดอก มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น $C_6-C_3-C_6$ ส่วนใหญ่จะประกอบไปด้วย Pyran ring จับกับ 3 Carbon chain และ 1 Benzene ring ฟลาโวนอยด์หลายชนิดมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ตัวอย่างเช่น Genistein ที่พบมากในถั่วเหลือง (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

2.3.2.6 คูมาริน (Coumarin) เป็นแลคโตนของ O-hydroxy cinnamic acid ในพืชพบได้ทั้งในรูปอิสระและในรูปกลัยโคไซด์ คูมารินเกือบทั้งหมดในธรรมชาติจะมีออกซิเจนที่ตำแหน่งที่ C-7 (อาจพบในรูปของ hydroxyl หรือ alkoxyl) สารบางตัวระเหยได้ นำมาใช้ประโยชน์ในหลายด้าน เช่น สารแต่งกลิ่น ยาบำรุงเลือด รักษาโรคต่างขา ตัวอย่างเช่น Umbelliferone (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

2.3.2.7 ซาโปนิน (Saponins) หรือซาโปนิน ไกลโคไซด์ มีส่วน Aglycone เป็นสารพวก Steroids หรือ Triterpenoids ส่วนนี้จะจับกับส่วนน้ำตาล หรืออนุพันธ์ของน้ำตาลที่ตำแหน่ง C_3 ได้เป็น O-glycoside ซาโปนินไกลโคไซด์มีคุณสมบัติบางอย่างคล้ายสบู่ เช่น สามารถเกิดฟองเมื่อเขย่ากับน้ำ ซึ่งจะเป็นสารลดแรงตึงผิวที่ดี และทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้ ตัวอย่างเช่น Glycyrrhizin ซึ่งมี Aglycone เป็น Triterpenoids และมีโมเลกุลของน้ำตาล 2 โมเลกุลเกาะตำแหน่งที่ 3 (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

2.3.2.8 เทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) เป็นสารทุติยภูมิที่พบมากที่สุดทางธรรมชาติ พบได้ทั้งในพืช และสัตว์ ประกอบด้วยหน่วยที่เล็กที่สุด เรียกว่า Isoprene unit ซึ่งเป็นสายโซ่กิ่ง (Branch chain) ของ คาร์บอน 5 อะตอม เทอร์พีนอยด์ มีโครงสร้างได้หลายแบบ และมีหมู่ฟังก์ชัน (Functional group) แตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นกับการจัดเรียงตัวของคาร์บอนที่อยู่ใน Isoprene unit การปิดวงแหวน และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation reaction) หรือปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction reaction)



เทอร์พีนอยด์ส่วนใหญ่จะละลายได้ดีในไขมัน ไม่มีสี พบได้ในไซโตพลาสซึม (Cytoplasm) ของเซลล์หรือเนื้อเยื่อพิเศษ ตัวอย่างเช่น Squalene ที่พบมากในปลาฉลาม (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

2.3.2.9 สเตอรอยด์ (Steroids) จะเป็นสารที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น Cyclopentanoperhydrophenanthrene สารจำพวกสเตอรอยด์มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับสารในกลุ่ม Tetracyclic Triterpenes มาก เป็นกลุ่มสารที่มีความสำคัญเนื่องจากนำไปใช้ประโยชน์เป็นยาลดการอักเสบ ยารักษาโรคหัวใจ ยาขับปัสสาวะ ตลอดจนนำมาสังเคราะห์เป็นฮอร์โมนเพศ และยากุมกำเนิด ตัวอย่างเช่น Testosterone ซึ่งเป็นฮอร์โมนเพศชาย (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

2.3.2.10 คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiac glycosides) เป็นไกลโคไซด์ที่ออกฤทธิ์ที่กล้ามเนื้อหัวใจ โดยไปเพิ่มแรงบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ ใช้รักษาโรคหัวใจวาย ผลการรักษาขึ้นอยู่กับชนิดของaglycone และจำนวนของน้ำตาล น้ำตาลจะช่วยให้คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ละลายได้ดีขึ้น เป็นผลให้การดูดซึม และการกระจายตัวของสารในร่างกายเพิ่มขึ้น จึงช่วยให้การออกฤทธิ์ของสารดียิ่งขึ้น ตัวอย่าง เช่น Oleandrin พบในยี่โถ (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

2.4 ข้อมูลเบื้องต้นของสมุนไพร

พืชสมุนไพรถือเป็นพืชที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจที่สำคัญของโลก ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากพืชบางชนิดสามารถใช้ควบคุมเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ ซึ่งผลิตภัณฑ์ทางยาจากทั่วโลกประมาณ 30% ผลิตมาจากพืช ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากพืช เช่น สมุนไพรและเครื่องเทศนิยมนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารเสริมและสารสกัดชนิดต่างๆ ซึ่งพืชสมุนไพรเหล่านั้นมีความสามารถในการป้องกันและรักษาโรคได้แตกต่างกันไป ยาที่ผลิตมาจากพืชจะดีกว่ายาทั่วไปเนื่องจากมีราคาถูก มีความเป็นพิษ และมีผลข้างเคียงน้อยกว่าสารเคมี (Patel *et al.*, 2015) ซึ่งการใช้ยาปฏิชีวนะมักจะเป็นพิษ และผลข้างเคียงต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาการดื้อยาของเชื้อจุลินทรีย์ (Palombo and Sample, 2001)

ประเทศไทยเป็นประเทศที่อุดมสมบูรณ์ไปด้วยพืชผักนานาชนิด มีความแตกต่างกันไป ในแต่ละเขตพื้นที่ตามลักษณะภูมิอากาศ ลักษณะภูมิประเทศ และสิ่งที่น่าสนใจคือ พืชผักพื้นบ้าน ซึ่งในแต่ละท้องถิ่นที่มีคุณสมบัติเป็นเอกลักษณ์ของตนเอง และผู้คนนิยมนำมาใช้เป็นส่วนผสมในการประกอบอาหารเป็นเครื่องเทศเพื่อปรุงแต่ง สี กลิ่น รส และเป็นส่วนประกอบในยาสมุนไพรพื้นบ้าน (โอภา วัชรคุปต์, 2549) ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสมุนไพรชนิดต่างๆ ที่ผู้คนนิยมรับประทาน และหาซื้อได้ตามท้องตลาด ได้แก่ ดีปลี มะตูม ใบหม่อน ใบชา (ชาเขียว และ ชาอู่หลง) และ ดอกคำฝอย และสมุนไพรพื้นบ้านที่ผู้คนนิยมใช้รับประทาน ได้แก่ มะนาว ชะพลู แคนบ้าน ใบเตย และยอ เป็นต้น โดยการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสมุนไพรแต่ละชนิดในการยับยั้งจุลินทรีย์ ซึ่งจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นยาต้านจุลินทรีย์



2.4.1 ดีปลี (ภาพประกอบ 2.1)



ภาพประกอบ 2.1 ลักษณะของดีปลี (ที่มา: วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2540)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Piper longum* L.

ชื่อสามัญ : long pepper

วงศ์ : Piperaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: เป็นไม้เลื้อย มีรากออกตามข้อสำหรับเกาะ และเลื้อยพันเถาค่อนข้างเหนียวและแข็ง มีข้อนูน แตกกิ่งก้านมาก ใบเป็นใบเดี่ยวออกสลับ ใบเป็นรูปไข่แกมขอบขนาน ปลายใบแหลม โคนใบมน ใบเป็นมัน ดอกออกเป็นช่อตรงข้ามกัน ลักษณะเป็นแท่ง ปลายเรียวมน ผลเล็ก กลม ฝังตัว กับช่อดอกผลอ่อนสีเขียว รสเผ็ด เมื่อสุกเป็นสีแดง ดีปลีชอบความชื้นสูง หากฝนตกชุกก็เป็นที่ถูกใจพืช ในการปลูกและการเก็บเกี่ยว เพียงนำกิ่งๆ มาปักชำรดน้ำให้ชุ่ม พอรากงอกและต้นตั้งตัวได้ก็นำลงปลูกในแปลงที่เตรียมไว้ สำหรับหลักให้เลื้อยพันนั้นมักนิยมใช้เสาไม้ที่แข็งแรงหรือใช้เสาซีเมนต์ หรืออาจปล่อยให้ไต่ไปบนรั้ว กำแพงหรือต้นไม้อื่นๆ ดีปลีนิยมนำมาแกงอาหารจากต้นไม้อื่น แต่ขออาศัยยึดเกาะเฉยๆ ใช้พื้นที่เพียงเล็กน้อยก็สามารถเป็นเจ้าของเถาดีปลีได้หรือจะปลูกเป็นไม้ประดับชมใบสีเขียวสดดูชุ่มชื้น หรือดูผลที่เป็นสีเหลืองเมื่อจวนสุก แดงเมื่อสุกแล้ว พร่าวไปทั้งเถาที่เป็นที่นิยม (กัลทิมา พิชัย, 2555)

สรรพคุณ: สมุนไพรเก่าแก่ที่มีความสำคัญชนิดหนึ่ง เถามีรสเผ็ดร้อน แก้เสมหะพิการ แก้ปวดฟัน ปวดท้อง จุกเสียด แก้กิดสีดวงทวาร แก้ลม เจริญอาหาร ใบมีรสเผ็ดร้อน แก้เส้นสุมนา (เส้นศูนย์กลางลำตัว) ดอกมีรสเผ็ดร้อนขม แก้ปถวิธาตุพิการ แก้ท้องร่วง ขับลมในลำไส้ แก้หืดหอบ แก้ลมวิงเวียน แก้กิดสีดวงทวารหนัก แก้कुศะรธาต เจริญอาหาร และรากมีรสเผ็ดร้อนขม แก้เส้นอัมพฤกษ์ อัมพาต ดับพิษปิตตะมาต แก้หืดหอบ แก้ลมวิงเวียน แก้เสมหะ แก้ปวดท้อง บำรุงธาตุ (กัลทิมา พิชัย, 2555)

ผลดีปลีจะมีสารสำคัญ ได้แก่ สาร alkaloids กลุ่ม piperidine เช่น pipaltine, piperine, piperanine, piprenonaline, dehydropipernonaline, piperlonguminine, retrofractamige B, Methyl piparate, N-isobutyl-(2E, 4E)-octadecadienamide, N-isobutyl-(2E, 4E, 14Z) eicosatrienamide และ guineensine และ piperchabamides A-D เป็นต้น (ปาจริย ขาวสุด, 2557) ซึ่งสาร alkaloids ในกลุ่ม piperidine ซึ่งมีความสำคัญ และเป็นประโยชน์จำนวนมาก ได้แก่ แก้ว



ท้องเดิน (antidiarrheal) รักษาโรคลมชัก (anticonvulsant) ลดไขมันในกระแสเลือด (hypolipidemic) ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ต้านการอักเสบ (antiinflammation) ต้านการกลายพันธุ์ (antimutagen) ลดอาการซึมเศร้า (antidepressant) ต้านเชื้อแบคทีเรีย และยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง (ศิริพร หมาดหล้า และ พจนพร ไกรดิษฐ์, 2559)

วีระสิทธิ์ กัลยาณฤต และวรศักดิ์ ช่างภา (2553) ได้ศึกษาอิทธิพลของสารสกัดหยาบสมุนไพรต่อจุลินทรีย์ในลูกแป้ง โดยทำการรวบรวมสมุนไพรทั้ง 10 ชนิดที่มีการใช้ผสมในการผลิตลูกแป้งในแต่ละท้องถิ่น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดหยาบสมุนไพรต่อเชื้อในลูกแป้ง พบว่าสารสกัดหยาบสมุนไพรดีปลี (Long Pepper) มีผลในการยับยั้งการเจริญของรา *Amylomyces* sp., *Rhizopus* sp. และ *Aspergillus awamori* ให้ผลต่อการเจริญต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้นที่ 1-3 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร เมื่อศึกษาผลของสารสกัดหยาบสมุนไพรต่อการเจริญของยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. cerevisiae* SYL16, 18, 20 และ 24 พบว่าสารสกัดหยาบจากดีปลี ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้

2.4.2 มะตูม (ภาพประกอบ 2.2)



ภาพประกอบ 2.2 ลักษณะชิ้นส่วนผลของมะตูม

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Aegle marmelos* (L.) Corr. Serr.

ชื่อสามัญ: Bael

วงศ์ : Rutaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: เป็นไม้ยืนต้นตามกิ่งมีหนาม ใบประกอบแบบนิ้วเรียงสลับ ใบรูปวงรี ขอบใบหยักมน ออกดอกเป็นช่อตามซอกใบ ดอกมีสีขาวอมเขียว ผลค่อนข้างกลม มีเปลือกแข็ง สีเขียวอมน้ำตาล ภายในมีเนื้อหนาสีเหลืองส้ม และมีน้ำเหนียวๆ อยู่รอบเมล็ด ขยายพันธุ์ด้วยการตอนกิ่ง หรือปักชำ **สรรพคุณ:** แก้กลิ้นไส้อาเจียนอันเกิดจากราตุไม่ปกติ แก้อาการท้องเสีย แก้บิด ช่วยให้ชุ่มชื้นหัวใจ (ธนารัตน์ รอดเสนา, 2549)

สารสำคัญที่พบในมะตูมมีมากมายหลายชนิด เช่น แพนนิน เพคติน (pectin) สารเมือก (mucilage) และสารอื่นๆ นอกจากนี้ยางมะตูม (bael gum) ซึ่งนักวิจัยไทยได้ทำการศึกษาคุณสมบัติ



ทางเคมีและกายภาพเพื่อนำมาใช้ประโยชน์เป็นสารปรุงในตำรับยาน้ำกระจายตัว พบว่ายางมะตูมเป็นสารปรุงแต่งที่ดีสำหรับตำรับยาน้ำกระจายตัว

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของมะตูม มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ต้านเชื้อยีสต์ ต้านไวรัส ต้านเชื้อมาลาเรีย ฆ่าไส้เดือน ฆ่าพยาธิฆ่าแมลง ยับยั้งการหดเกร็งของลำไส้ ยับยั้งการเคลื่อนไหวของลำไส้ คลายกล้ามเนื้อเรียบ ต้านฮีสตามีน ลดระดับน้ำตาลในเลือด ยับยั้งระดับน้ำตาลในเลือด เพิ่มระดับอินซูลิน (insulin) ลดระดับไขมันในเส้นเลือด ลดการอักเสบ รักษาแผลในกระเพาะอาหาร เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการวิจัยพบว่า เมื่อนำสารแทนนินที่สกัดจากใบมะตูมไปใช้ทดสอบกับหนูขาวที่เป็นโรคเบาหวาน ทำให้หนูขาวนั้นมีระดับน้ำตาลในเลือดลดลง เนื่องจากเกิดการหลั่งของอินซูลินหรือฮอร์โมนควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดมากขึ้น (รักษเกียรติ จิรินทร์, 2560)

Poonkothai and Saravanan (2008) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* แบคทีเรียแกรมลบ *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi A* และ *Salmonella paratyphi B* ของสารสกัดจากใบ เปลือก และผลมะตูมที่สกัดด้วย เมทานอล คลอโรฟอร์ม และน้ำ โดยใช้วิธี disc diffusion method จากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบ เปลือก และผลมะตูมที่สกัดด้วย เมทานอล สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ศึกษาได้ทุกชนิด มีค่าโซนใสอยู่ระหว่าง 2-24 มิลลิเมตร การศึกษาในครั้งนี้สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาเป็นยาเพื่อรักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียต่างๆ ได้

Balakumar et al., (2011) ได้ทำการศึกษากิจกรรมการต้านเชื้อราของสารสกัดจากใบมะตูมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* และ *Epidermophyton floccosum* โดยทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อรา (MFC) ของสารสกัดจากใบมะตูม โดยใช้วิธีที่แนะนำโดย National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) จากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบมะตูม ที่ทำการสกัดโดยใช้น้ำ เอทิลแอลกอฮอล์มีผลต่อค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อราที่สูง ดังนั้นสารสกัดจากใบมะตูมจึงมีผลต่อการเจริญของเชื้อราอย่างมีนัยสำคัญ

Prasannabalaji et al., (2012) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ของสารสกัดจากพืชท้องถิ่นบางชนิดของอินเดีย โดยทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากสมุนไพรร *Aegle marmelos* (มะตูม) โดยสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล และนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ 5 ชนิด ได้แก่เชื้อ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* และ *Klebsiella pneumoniae* ทำการทดสอบโดยใช้วิธี disc diffusion method ผลการทดลองพบว่า สารสกัดเมทานอลจาก *A. marmelos* (มะตูม) แสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง *E. coli* อย่างมีนัยสำคัญ (22 mm) และค่า MIC ต่อ *E. coli* เท่ากับ 0.156 mg/ml จากผลการศึกษาพบว่าสมุนไพรร *A. marmelos* (มะตูม) ที่สกัดด้วยเมทานอล มีศักยภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรีย และการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ของมะตูมอาจจะเป็นแหล่งข้อมูลใหม่สำหรับการค้นพบสารประกอบชนิดใหม่ที่สามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย เพื่อใช้ในการรักษาและต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ได้



2.4.3 หม่อน (ภาพประกอบ 2.3)



ภาพประกอบ 2.3 ลักษณะของใบหม่อน

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Morus alba* L.

ชื่อสามัญ : Mulberry tree, White Mulberry, Mulberry

วงศ์ : Moraceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: เป็นพืชไม้ต้น ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงสลับกัน ใบคล้ายรูปไข่ ขอบหยักหรือหยักเว้าเป็นพูขึ้นอยู่กับพันธุ์ ผิวใบสากคาย ใบของต้นหม่อนใช้เลี้ยงตัวไหม ดอกออกเป็นช่อคล้ายรูปทรงกระบอกออกตามซอกใบ กลีบดอกสีขาวหรือสีขาวแกมเขียว ผลเป็นผลรวมคล้ายรูปทรงกระบอก เมื่อสุกมีสีม่วงแดงและกินได้ ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด และปักชำกิ่ง **สรรพคุณ:** แก้ไข้ตัวร้อน แก้กระหายน้ำ แก้หวัด แก้ไอ แก้หอบหืด แก้หลอดลมอักเสบ ระบายประสาท ลดคอเลสเตอรอล ลดความดันโลหิต ลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดอาการกระดูกผุ มีสารต้านมะเร็ง บำรุงสายตา ช่วยบำรุงผมไม่หงอกก่อนวัย (ธนารัตน์ รอสณา, 2549)

คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของใบหม่อน: ใบหม่อนพบว่ามีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา ดังนี้ (ปรมาภรณ์ เกิดทรัพย์ และพิสุทธิ หนักแน่น, 2556)

1) สาร GABA (gamma amino butyric acid) ซึ่งจะช่วยลดความดันโลหิต ซึ่งพบว่า ใบหม่อน 100 กรัม มีสาร GABA 230 มิลลิกรัม

2) สาร deoxynojirimycin ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด ใบหม่อนแห้งมีอยู่ประมาณ 0.1% ซึ่งสารนี้มีเฉพาะในใบหม่อนเท่านั้น ออกฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ที่ย่อยสลายน้ำตาลจากลำไส้ ทำให้สารนี้มีผลในการลดระดับน้ำตาลในเลือด สำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน

3) สาร phytosterol นั้นจะช่วยลดระดับคอเรสเตอรอล และป้องกันการจับตัวกันของลิ้มเลือด จึงช่วยป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน ใบหม่อน 100 กรัม มีสาร sitosterol ซึ่งเป็นสาร phytosterol ชนิดหนึ่งอยู่ 46 มิลลิกรัม ซึ่งมากกว่าชาเขียวถึง 3.3 เท่า

4) สารสกัดจากใบหม่อนมีฤทธิ์ในการยับยั้งสารก่อกลายพันธุ์ ด้านมะเร็ง ในสัตว์ทดลองได้

5) สาร Mulberofuran A มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของรา

6) สาร Sangenone C มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย



จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดจากใบและรากของต้นหม่อน มีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์และลดอาการอักเสบได้ โดยสารที่มีบทบาทสำคัญ ได้แก่ กลุ่มฟลาโวนอยด์ ยกตัวอย่างเช่น kuwanon G, kuwanon C, mulberrofurin G และ albanol B ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี (Kimura *et al.*, 2007; Sohn *et al.*, 2004) และยังพบว่าในใบหม่อนมีสาร Mulberofuran A มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของรา และสาร Sangenone C มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (วันดี แสงสุวรรณ, 2549) นอกจากนี้ Wang *et al.* (2008) ได้ศึกษา กิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์ในใบหม่อน พบว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์ในใบหม่อนมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *B. subtilis*, *E. coli* และ *S. aureus* โดยมีค่า minimal inhibitory concentration (MIC) เท่ากับ 10, 2.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ปรมาภรณ์ เกิดทรัพย์ และพิสุทธิ หนักแน่น, 2556)

Jha and Srivastava (2013) ศึกษากิจกรรมการต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และเชื้อยีสต์ โดยใช้สารสกัดจากเมล็ดของหม่อนที่สกัดโดยใช้เอทานอล ทดลองกับเชื้อแบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ คือ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งทั้ง 4 สายพันธุ์ เป็นสายพันธุ์ที่ไวต่อสารสกัดมากที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) ตั้งแต่ 0.2 ถึง 26 มิลลิกรัมต่อลิตร และทดสอบกับเชื้อรา *Aspergillus niger* และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์มีความไวต่อสารสกัด โดยให้ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) ตั้งแต่ 0.2 ถึง 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นสารสกัดจากเมล็ดของหม่อนที่สกัดโดยใช้เอทานอล เป็นสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติที่มีศักยภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และเชื้อยีสต์

2.4.4 ใบชา

2.4.4.1 ชาเขียว (green tea) (ภาพประกอบ 2.4)



ภาพประกอบ 2.4 ลักษณะของชาเขียว

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Camellia sinensis* (L.) Kuntze

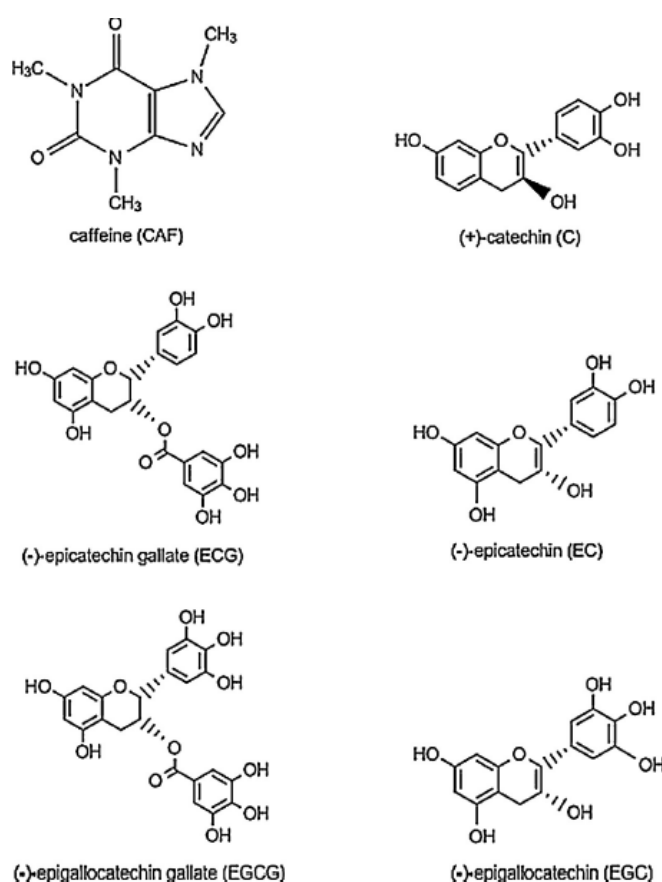
ชื่อสามัญ : Green Tea

วงศ์ : Theaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ต้นชาเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก สูงประมาณ 30 ฟุต ทรงพุ่มเป็นรูปกรวย ใบ เป็นใบเดี่ยว การจัดเรียงตัวของใบเป็นแบบสลับ 1 ใบต่อ 1 ข้อ โดยพัฒนาจากตาที่มุมใบ ขอบใบหยักแบบฟันเลื่อย ปลายใบแหลม แผ่นหนา หน้าใบเป็นมัน ใบยาวประมาณ 7-30 เซนติเมตร ใต้ใบมีขนอ่อนปกคลุม ดอกจะเกิดออกมาจากตาระหว่างลำต้นกับใบมีทั้งดอกเดี่ยว และดอกช่อ เป็นดอกสมบูรณ์เพศ มีทั้งเกสรตัวผู้และตัวเมีย เกสรตัวผู้มีสีเหลืองจำนวนมาก ก้านเกสรตัวผู้ยาวประมาณ 8-10 มิลลิเมตร อับเกสรตัวผู้มี 2 ช่อง ก้านชูเกสรตัวเมียสั้น ยอดเกสรตัวเมียมี 3-5 lobe กลีบดอกขาวมีสีขาว จำนวน 5-8 กลีบ ลักษณะโค้งเว้าแบบ obovate กลีบเลี้ยงสีขาว 5-6 กลีบ ผลเป็นแคปซูล (capsule) เปลือกหนาสีน้ำตาลอมเขียว แบ่งเป็น 3 ช่อง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5-2.0 เซนติเมตร จากเริ่มติดผลถึงผลแก่ใช้เวลาประมาณ 9-12 เดือน เมื่อผลแก่เต็มที่ผลจะแตกทำให้เมล็ดหล่นลงดินได้ เมล็ด มีรูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.8-1.6 เซนติเมตร มีใบเลี้ยง 2 ใบ อวบน้ำมีน้ำมันมากลักษณะหุ้มต้นอ่อนไว้ ผงเมล็ดแข็งหนาเชื่อมติดกับเปลือกหุ้มเมล็ด (testa) ซึ่งมีลักษณะบางเหนียว เมล็ดจะสามารถงอกได้ใน 2-3 อาทิตย์ ต้นอ่อนตั้งตรง ในผล 1 กิโลกรัม จะมีเมล็ดชา 400-600 เมล็ด (ศุภนารถ เกตุเจริญ และ อัญชลี พัดมีเทศ, 2560)

ใบชาเขียวแห้งจะมีสารประกอบโพลีฟีนอล (polyphenolic compounds) ซึ่งเป็นสารคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ยับยั้งการเจริญของเซลล์เนื้องอก และเซลล์มะเร็ง ช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระ และช่วยลดเรื้อรังวรัวรอย ซึ่งสารประกอบโพลีฟีนอล (polyphenolic compounds) หลักๆที่พบคือสารคาเทชิน (Catechin, C) โดยในชาเขียวจะพบคาเทชินชนิดต่างๆ ได้แก่ epicatechin (EC), epicatechin gallate (ECG), epigallocatechin (EGC), epigallocatechin gallate (EGCG) และ caffeine (CAF) ซึ่งมีโครงสร้างโมเลกุลต่างๆ ทางเคมีดังภาพประกอบ 2.5 (Sharma *et al.*, 2012; Manea *et al.*, 2014; Noormandi and Dabaghzadeh, 2015) คาเทชิน (catechins) เป็นสารพฤกษเคมีที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ คาเทชินมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant capacity) ซึ่งเป็นประโยชน์สำคัญที่ผู้บริโภคจะได้รับจากการบริโภคชา สมบัติการต้านอนุมูลอิสระทำให้คาเทชินมีประโยชน์ต่อสุขภาพหลายอย่าง ได้แก่ ช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็ง (Yuan *et al.*, 2011) ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจและ โรคหลอดเลือด (Hirano *et al.*, 2002) ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยโรคเบาหวาน (Kao *et al.*, 2006) และช่วยลดความอ้วน (Rains *et al.*, 2011) เป็นต้น





ภาพประกอบ 2.5 โครงสร้างโมเลกุลทางเคมีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีอยู่ในสารสกัดจากชาเขียว (ที่มา: Manea *et al.*, 2014)

Sharma *et al.*, (2012) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากใบชาเขียว ทำการทดลองกับเชื้อ *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Brevibacterium linens*, *Pseudomonas fluorescens* และ *Bacillus subtilis* โดยใช้วิธี disk diffusion assays ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากใบชาเขียวให้บริเวณการยับยั้งเชื้อมากกว่าหรือเท่ากับ 7 มิลลิเมตร และมีความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) ได้เท่ากับ 0.156 ถึง 0.313 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Radji *et al.*, (2013) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDRP) และเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารสกัดจากชาเขียว โดยใช้วิธี disc diffusion method และ หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (MIC) ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากชาเขียวสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, MRSA, MDRP และเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ โดยมีบริเวณโซนยับยั้งเท่ากับ 18.970 ± 0.287 , 19.130 ± 0.250 , 17.550 ± 0.393 และ 17.670 ± 0.398 มิลลิเมตร ตามลำดับ มีค่า MIC เท่ากับ 400, 400, 800 และ 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ



2.4.4.2 ชาอู่หลง (oolong tea) (ภาพประกอบ 2.6)



ภาพประกอบ 2.6 ลักษณะของชาอู่หลง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Camellia sinensis* (L.) Kuntze

ชื่อสามัญ : Oolong Tea

วงศ์ : Theaceae

เป็นชาเขียวที่มีการหมักใบชาสดในระหว่างการผลิตเพียงบางส่วน โดยเพิ่มการนำยอดชามาผึ่งแดด 20-40 นาที ทำให้อุณหภูมิในยอดชาสูงขึ้น เกิดกลิ่นหอม แล้วนำไปผึ่งในร่มอีกครั้ง พร้อมเขย่ากระตุ้นยอดชาให้ต้นตัว เร่งการหมัก ทำให้สีน้ำมีสีเข้มขึ้น ความแก่อ่อนของการหมักขึ้นกับระยะเวลาการผึ่งและเขย่ากระตุ้น ชนิดชาที่รู้จักกันดีที่สุดคือ ชาอู่หลง รสชาติของชาประเภทนี้จะเข้มข้นและมีกลิ่นหอม น้ำชามีสีเหลืองอมเขียว น้ำตาลอมเขียว น้ำตาลอมเหลือง น้ำตาลส้ม ขึ้นอยู่กับวิธีการผลิต ซึ่งกาชาจะมีสีเขียวอมเหลือง ผู้คนนิยมดื่มกันมากในประเทศจีนตอนกลาง แถบมณฑลฝูเจี้ยน กวางตุ้ง ไต้หวัน เมื่อดื่มชาชนิดนี้จะให้รสฝาด และขมเล็กน้อย ชุ่มคอ (จรินพร ตันติกิจศิริวงศ์, 2556)

Sasakia *et al.*, (2004) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากชาอู่หลง โดยทดสอบกับเชื้อ streptococci ในช่องปาก ประกอบด้วยเชื้อ *Streptococcus mutans* และ *Streptococcus sobrinus* และเพื่อจำแนกการตอบสนองต่อส่วนประกอบของแบคทีเรีย จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากชาอู่หลงทำให้เชื้อแบคทีเรียลดลง แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากชาอู่หลงมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย streptococci ในช่องปากทั้งหมด และพบว่าสามารถต้านเชื้อ *S. mutans* ได้สูงที่สุด ซึ่งพบว่าฤทธิ์ต้านนี้เกิดจากส่วน polyphenolrich momomeric และส่วนนี้ฤทธิ์ในการต้านจะสูงกว่า polyphenols บริสุทธิ์



2.4.5 ดอกคำฝอย (ภาพประกอบ 2.7)



ภาพประกอบ 2.7 ลักษณะของดอกคำฝอย

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Carthamus tinctorius* L.

ชื่อสามัญ : Safflower, False Saffron, Saffron Thistle

วงศ์ : Compositae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ดอกคำฝอยเป็นพืชล้มลุก ลำต้นเป็นสัน แตกกิ่งก้านมาก ใบเดี่ยวเรียงสลับ ใบคล้ายรูปวงรี ขอบใบหยัก ปลายเป็นหนามแหลม ดอกช่อออกที่ปลายยอด มีดอกย่อยจำนวนมาก เมื่อบานใหม่มีสีเหลืองและจะเปลี่ยนไปเป็นสีแดง ผลเป็นผลแห้งไม่แตก ขยายพันธุ์ด้วยการปักชำ และการตอนกิ่ง **สรรพคุณ:** เป็นยาบำรุงหัวใจ บำรุงประสาท ขับระดู ลดไขมันในเลือด ขับเหงื่อ เป็นยาระบายอ่อนๆ ระวังอาการปวดในสตรีที่มีรอบเดือนมาไม่ปกติ บำรุงเลือดสตรี คำฝอยสรรพคุณช่วยลดไขมันในเส้นเลือด ป้องกันไขมันอุดตันในเส้นเลือด เนื่องจากดอกคำฝอยมีกรดไลโนเลอิก (Linoleic Acid) อยู่มากซึ่งกรดชนิดนี้จะเข้าไปทำปฏิกิริยากับไขมันในเลือด และขับออกทางปัสสาวะ และทางอุจจาระ ช่วยขยายหลอดเลือด ป้องกันโรคความดันโลหิตสูง ช่วยเพิ่มการไหลเวียนของเลือดในร่างกายให้ดียิ่งขึ้น ทำให้มีออกซิเจนเข้าถึงเซลล์ต่างๆ ได้ดี ช่วยบำรุงโลหิต แก้โลหิตเป็นพิษ และช่วยฟอกโลหิต ช่วยสลายลิ่มเลือด จะมีประโยชน์อย่างมากสำหรับผู้ที่ชอบกินของหวาน เพราะจะมีระดับน้ำตาลในเลือดสูง ทำให้เลือดเหนียวข้นจับตัวกันเป็นลิ่มเลือด ทำให้ระบบไหลเวียนโลหิตทำงานได้ไม่ดี โดยดอกคำฝอยจะช่วยสลายลิ่มเลือดให้เล็กลง ช่วยป้องกันไม่ให้เลือดเกาะตัวกันเป็นลิ่มเลือด ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด ช่วยขยายหลอดเลือด ลดความดันโลหิต ลดไขมันในเลือด ลดอาการอักเสบ แก้แพ้ ช่วยต้านเชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย ยับยั้งพิษ (ธนรัตน์ รอสณา, 2549) ดอกหรือเกสรมีสาร Carthamin, Safflower yellow ซึ่งเป็นสารให้สีเหลืองแดง ปลอดภัยต่อการรับประทาน ช่วยลดเหงื่อ บำรุงโลหิต บำรุงหัวใจ บำรุงประสาท แก้ก้อนผูก รวมทั้งในดอกมีกรดไขมัน Linoleic Acid หรือกรดไขมันไม่อิ่มตัว (ประมาณ 25%) ช่วยลดไขมันในเส้นเลือด และ คลอเรสเตอรอล



Mehrabian and Majd (2000) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* และ *Bacillus mycoides* และเชื้อรา *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum* และ *Fusarium solani* ของสารสกัดจากดอกคำฝอยที่สกัดด้วยเมทานอล และคลอโรฟอร์ม โดยใช้วิธี Agar well diffusion method ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดดอกคำฝอยที่สกัดด้วยเมทานอล สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* และ *Bacillus mycoides* และเชื้อรา *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger* และ *Geotrichum candidum* ได้

2.4.6 มะนาว (ภาพประกอบ 2.8)



ภาพประกอบ 2.8 ลักษณะของต้นมะนาว และผลมะนาว

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle

ชื่อสามัญ: Lime, Common Lime

วงศ์: Rutaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: เป็นไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงปานกลาง ตามกิ่งก้านมีหนามแหลมคม ใบคล้ายรูปไข่หรือวงรี สีเขียวเป็นมัน ขอบใบหยักเล็กน้อย ดอกมีสีขาวอมเหลือง มีกลิ่นหอมอ่อนๆ ผลกลมโตสีเขียวเป็นมัน เมื่อแก่จัดมีสีเหลือง ภายในผลมีถุงเยื่อบางเรียวยาวและมีเมล็ดมีรสเปรี้ยวจัด ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด ตัดตา ตอนกิ่ง **สรรพคุณ:** แก้อาการท้องอืดท้องเฟ้อ ปวดท้อง ทำให้ร่างกายรู้สึกสดชื่นกระปรี้กระเปร่า มะนาวนั้นอุดมไปด้วยสารฟลาโวนอยด์ ซึ่งสารฟลาโวนอยด์นั้น ไม่เพียงแต่ช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพของวิตามินซี แต่ยังช่วยในการควบคุมระบบความดันโลหิตและช่วยลดอาการอักเสบได้อีกด้วย นอกจากนี้ในมะนาวยังมีสารลิโมนอยด์และโมดิฟายด์ ซิตรัส เพคติน ซึ่งปรากฏในการศึกษาครั้งล่าสุดว่าช่วยในการหยุดยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง เซลล์มะเร็งเต้านมและการเจริญเติบโตและทำให้เซลล์มะเร็งนั้นตายในที่สุด ซึ่งถือว่าช่วยในการรักษามะเร็งได้ส่วนหนึ่งด้วย (ธนรัตน์ รอดเสนา, 2549) ผู้คนนิยมใช้มะนาวเป็นยาแผนโบราณ เช่น ใช้เป็นยาฆ่าเชื้อ เป็นสารต้านไวรัส ต้านเชื้อรา ต้านพยาธิ ขับปัสสาวะ แก้ท้องผูก แก้โรคลำไส้ แก้หวัด แก้ไอ แก้อาการเจ็บคอ และ



ใช้เป็นยากระตุ้นความกระหาย นอกจากนี้ยังมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น flavonoids, limonoids, phenols, carotenoids, แร่ธาตุ และวิตามิน (Enejoh *et al.*, 2015)

เกศรินทร์ รามณี (2552) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดเอธิลอะซิเตตและน้ำมันหอมระเหยจากผิวเปลือก มะนาว ที่มีผลต่อเชื้อราโดยวิธี disc diffusion assay พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะนาว มีกิจกรรมยับยั้งในช่วงกว้าง คือสามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus flavus* TISTR 3041, *Aspergillus parasiticus* TISTR 3276, *Aspergillus fumigatus* TISTR 3018, *Aspergillus niger* 6275 และ *Penicillium* sp. โดยน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะนาวมีค่า MIC (Minimum Inhibitory Concentration) เท่ากับ 0.56, 0.56, 0.56, 1.13 และ 1.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีค่า MFC (Minimum Fungicidal Concentration) เท่ากับ 1.13, 1.13, 1.13, 2.25 และ 2.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีสารประกอบหลักที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะนาว คือ limonene (69.11%) และ *p*-cymene (12.77%) และการรอดชีวิตของ *A. flavus* และ *A. parasiticus* หลังเติมน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะนาวที่ระดับความเข้มข้น 1.13, 0.56 และ 0.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากผิวมะนาวที่ระดับความเข้มข้น 1.13 และ 0.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เชื้อ *A. flavus* ลดลงจาก 5.37 log CFU ต่อมิลลิลิตร เป็น 3.61 log CFU ต่อมิลลิลิตร ภายในเวลา 3 ชั่วโมง

สิริแซ พงษ์สวัสดิ์ และทรงพล จำดิษฐ์ (2015) ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมะนาว ต่อเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) จำนวน 5 ไอโซเลท ทดสอบด้วยวิธี disk diffusion และ broth microdilution พบว่าสารสกัดจากเปลือกมะนาวมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.4.7 ขะพลู (ภาพประกอบ 2.9)



ภาพประกอบ 2.9 ลักษณะของต้นชะพลู

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Piper sarmentosum* Roxb.

ชื่อสามัญ : Wildbetel Leafbush

วงศ์ : Piperaceae



ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: เป็นพืชล้มลุกขนาดเล็ก ลำต้นเป็นข้อๆ ใบเป็นใบเดี่ยว คล้ายรูปหัวใจ มีกลิ่นหอม ดอกช่อคล้ายดอกตีนปลีแต่สั้นกว่า กลีบดอกมีขนาดเล็กมากสีขาว ขยายพันธุ์ด้วยการปักชำกิ่ง **สรรพคุณ:** ช่วยให้เจริญอาหาร ขับเสมหะ ทำเสมหะให้เหลว ทำให้เลือดลมชาน บำรุงธาตุ ขับลม ชะพลูมีสรรพคุณรักษาหลายอย่าง เช่น ลำต้น ใช้เป็นยารักษาเสมหะ ใบช่วยเจริญอาหาร ดอกช่วยย่อยอาหาร ขับลมในลำไส้ รากบำรุงธาตุ ขับลมในลำไส้ เป็นต้น (ธนารัตน์ รอดเสนา, 2549)

ชะพลูเป็นพืชสกุลพริกไทย กระจายอยู่ทั่วไปในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อนของโลก มักใช้เป็นสารปรุงแต่งรสอาหาร ยาแผนโบราณ และสารควบคุมศัตรูพืช ซึ่งในสมุนไพรสกุลพริกไทยนี้มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ มากมาย เช่น alkaloids, amides, pyrones, dihydrochalcones และ flavonoids มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant), phenylpropanoids, lignans และ neolignans (Rukachaisirikul *et al.*, 2004) จากการวิจัยพบว่าใบชะพลูมีฤทธิ์ยับยั้งจุลชีพ (Silpasuwan, 1979; พชรินทร์ บุญหล้า และคณะ, 2557) เนื่องจากใบชะพลูมีสารสำคัญ ได้แก่ สาร alkaloids, amind, carotenes, flavonoids, lignans, phenylpropanoids, phenolics, ascorbic acid, tannins, vitamin C, vitamin E และสาร xanthophylls เป็นต้น ซึ่งสารดังกล่าวข้างต้นมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ใบชะพลูยังพบสาร 4-chromanol ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราได้ (ปาจริย ขาวสุด, 2557)

ปาจริย ขาวสุด (2557) ศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพ และองค์ประกอบทางเคมีที่สามารถออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อของสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อมากที่สุดต่อเชื้อก่อโรคในช่องปาก โดยสารสกัดสมุนไพร 12 ชนิด ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพโดยใช้วิธี agar well diffusion method ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบชะพลูสามารถต้านเชื้อ *Streptococcus mutans* ATCC25175, *Streptococcus sobrinus* ATCC33478, *Lactobacillus fermentum* ATCC14931, *Lactobacillus salivarius* ATCC11741, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 33384, *Fusobacterium nucleatum* ATCC25586 และ *Candida albicans* ATCC90028 ได้ ซึ่งมีค่า MIC อยู่ในช่วง 1.04 ถึง 4.17 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่า MBC อยู่ในช่วง 1.56 ถึง 8.33 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Rahman *et al.*, (2014) ได้ทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้สารสกัดจากใบชะพลู ซึ่งทำการสกัดโดยใช้เมทานอล (สารสกัดมีความเข้มข้น 25, 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ทดสอบในเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ 2 ชนิด คือเชื้อ *Pseudomonas fuscovaginae* และ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากใบชะพลูโดยใช้วิธี agar well diffusion และ disc diffusion assays จากการทดลองพบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ยับยั้งโดยบริเวณยับยั้งมีขนาด 9 ถึง 19.33 มิลลิเมตร และพบว่าค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ยับยั้งเชื้อ *Ps. fuscovaginae* และ *X. oryzae* ได้เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้เท่ากับ 25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ



2.4.8 แคบ้าน (ภาพประกอบ 2.10)



ภาพประกอบ 2.10 ลักษณะของแคบ้าน

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Sesbania grandiflora* Desv.

ชื่อสามัญ : Agasta, Sesban, Vegetable humming bird, Corkwood Tree

วงศ์ : Leguminosae - Papilionoideae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ลำต้นเปราะหักง่าย ใบประกอบเป็นแบบขนนกเรียงสลับกัน ออกดอกเป็นช่อตามซอกใบคล้ายรูปเคียว ดอกมีทั้งสีขาวและสีแดงอมม่วง ผลเป็นฝักกลมยาว ขยายพันธุ์ด้วยการปักชำกิ่ง การเพาะเมล็ด **สรรพคุณ:** แก้ไข้หัวลม เสริมสร้างกระดูกและฟัน บำรุงสายตา ดับพิษร้อน ถอนพิษไข้ แก้ท้องร่วง ท้องเดิน แก้ปวดหัว บำรุงผิวพรรณ แคอุดมไปด้วยวิตามินซึ่งมีส่วนช่วยต่อต้านและยับยั้งมะเร็ง เพราะมีสารที่มีฤทธิ์ช่วยยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ สามารถช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งได้เป็นอย่างดี ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย ช่วยป้องกันและรักษาอาการหวัดช่วยในเรื่องความจำ ป้องกันการเกิดเนื้องอก บรรเทาอาการไข้ ปวด โลหิตจาง ช่วยบำรุงและรักษาสายตา เนื่องจากมีเบตาแคโรทีนที่ร่างกายสามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ ช่วยแก้อาการปวดและหนักศีรษะ ด้วยการใช้ น้ำคั้นที่ได้จากดอกและใบแคนำมาสูดเข้าจมูกเพื่อช่วยบรรเทาอาการ ช่วยรักษาหลอดลมอักเสบ ไซนัสอักเสบ ยอดอ่อนใช้รับประทานแก้อาการปวดศีรษะข้างเดียว ช่วยดับพิษร้อนในร่างกาย แก้อ่อนใน กระหายน้ำ สารสกัดจากใบแค ช่วยทำให้ปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในกระแสเลือดของหนูทดลองกลับสู่สภาวะปกติ ผลงานวิจัยนี้จึงเป็นข้อสนับสนุนข้อมูลแพทย์ทางเลือกที่มีการใช้ใบแคเพื่อบำรุงตับและแก้ความผิดปกติของตับได้เป็นอย่างดี สารสกัดจากเอทานอลของใบแคมีฤทธิ์ช่วยป้องกันตับถูกทำลายในหนูทดลองที่ได้รับยาเกินขนาด (ธนรัตน์ รอสณา, 2549)

China *et al.*, (2012) ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดโพลีฟีนอล (Polyphenolic extract: PE) จากดอก *Sesbania grandiflora* (ดอกแค) ทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิด และศึกษาผลของการกระตุ้นการเจริญของกลุ่มโปรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* ซึ่งฤทธิ์การ



ด้านจุลชีพของสารสกัดโพลีฟีนอลจากดอก *S. grandiflora* ต่อเชื้อก่อโรคได้ดำเนินการทดสอบทั้งในห้องทดลองและสิ่งมีชีวิต การศึกษาในห้องทดลองแสดงให้เห็นว่าสาร PE มีผลในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneriza*, *Samonella typhi*, *Escherichia coli* และ *Vibrio cholera* เชื้อในกลุ่มแกรมบวกพบว่าเชื้อ *S. aureus* เป็นเชื้อที่มีความไวต่อ PE มากที่สุด และพบว่าค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญ (MIC) ของ *S. aureus* มีค่าเท่ากับ 0.013 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญ (MIC) ของ *V. cholera* มีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ คือ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในทางตรงกันข้าม PE แสดงให้เห็นถึงผลการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรีย *โปรไบโอติก L. acidophilus* ซึ่งการค้นพบที่สำคัญ คือ ดอก *S. grandiflora* PE เหนี่ยวนำให้การเจริญของ *L. acidophilus* มีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในอาหารเหลว

2.4.9 ยอ (ภาพประกอบ 2.11)



ภาพประกอบ 2.11 ลักษณะของใบยอ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Morinda citrifolia* L.

ชื่อสามัญ : Indian Mulberry, great morinda, noni และ beach mulberry

วงศ์ : Rubiaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก มีลำต้นตั้ง แขนงมักเป็นสี่เหลี่ยม เปลือกต้นเรียบ ใบรูปรีกว้างๆ ขอบใบหยัก เนื้อใบสีเขียวเป็นมัน ดอกออกรวมกันเป็นช่อกลมขนาดเล็กสีขาว เมื่อเจริญเต็มที่จะกลายเป็นผล ซึ่งมีรูปร่างกลมยาวรี มีตาขอบผลสีเขียว พอแก่จัดจะเป็นสีขาวขุ่นและมีกลิ่นเหม็น ภายในมีเมล็ดจำนวนมาก ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด **สรรพคุณ:** ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันในร่างกาย และเพิ่มแคลเซียมสำหรับสตรีวัยหมดประจำเดือน มีสารช่วยต้านมะเร็ง เป็นแหล่งวิตามินเอ ป้องกันการตาบอด ในเด็ก แก้กลิ้นไส้อาเจียน (ธนารัตน์ รอดสนา, 2549) Wang และ Su ปี 2001 ที่ทดสอบการต้านมะเร็ง และต้านอนุมูลอิสระของน้ำลูกยอ พบว่า น้ำลูกยอมีสรรพคุณต้านอนุมูลอิสระที่มีผลในการต่อต้านมะเร็งได้ดี มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย รวมถึงการศึกษาของ Phatthanawan (2002) ได้ศึกษาสารสกัดจากยอต่อการกรลายพันธุ์ พบว่า สารสกัดจากยอสามารถต้านการกรลายพันธุ์ใน

แมลงหวี่ได้ ทั้งนี้ Zin *et al.* (2002) ได้ศึกษาสารจากราก ใบ และผลของยอ พบว่าสารที่พบในรากยอเป็นสารที่มีขั้ว (Polar) และไม่มีขั้ว (Non polar) ส่วนสารในผล และใบยอเป็นสารที่ไม่มีขั้วเท่านั้น

ทัศนีย์ ปัญจานนท์ และคณะ (2548) ได้ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโดยใช้สารสกัดจากผลยอ ซึ่งทำการสกัดด้วยเมทานอลและละลายในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ และนำกลั่น นำสารสกัดมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียรวม 41 สายพันธุ์ แบ่งเป็นชนิดรูปกลมดิดสี่ แกรมบวก 9 สายพันธุ์ และรูปแท่งทั้งชนิดดิดสี่แกรมบวก 4 สายพันธุ์ และแกรมลบ 28 สายพันธุ์ มีทั้งชนิดที่ก่อโรคและเชื้อประจำถิ่น (โดยเฉพาะเชื้อในระบบทางเดินอาหาร) ด้วยวิธี disc diffusion และ broth dilution โดยการควบคุมคุณภาพตามเกณฑ์มาตรฐานของ NCCLS ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดทดสอบด้วยการใช้วิธี disc diffusion สารสกัดยอความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัม มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และเชื้อแบคทีเรียรูปแท่งแกรมลบที่เป็นเชื้อก่อโรคในทางเดินอาหารหลายชนิด เช่น *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* AD group, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae* และ *Shigella sonnei* รวมถึงฤทธิ์ต้านเชื้อประจำถิ่น ในทางเดินอาหารเป็นส่วนใหญ่ เช่น *Citrobacter freundii*, *Enterobacter agglomerans* และ *Escherichia coli* ซึ่งให้บริเวณยับยั้งประมาณ 7-13 มิลลิเมตร จัดว่าต่ำมากเมื่อเทียบกับยาต้านเชื้อแบคทีเรีย เช่น amikacin, ampicillin, cephalothin และ chloramphenicol ขนาดยา 5-30 มิลลิกรัมต่อแผ่น ซึ่งให้บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อประมาณ 18-35 มิลลิเมตร และไม่พบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในการทดสอบด้วยวิธี broth dilution โดยขนาดความเข้มข้นของสารสกัดยอที่ใช้สูงสุดเป็น 255 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.4.10 ใบเตย (ภาพประกอบ 2.12)



ภาพประกอบ 2.12 ลักษณะของต้นใบเตย

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Pandanus amaryllifolius* Roxb.

ชื่อสามัญ : Pandanus Palm Fragrant Pandan Pandom wangi

วงศ์ : Pandanaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ไม้ล้มลุกหรือไม้พุ่มขนาดเล็ก ขึ้นเป็นกอ มีลำต้นอยู่ใต้ดิน ใบเป็นใบเดี่ยวออกเรียงสลับกัน ใบยาว ปลายใบเรียวเล็กแหลม ใบค่อนข้างแข็ง ผิวใบค่อนข้างมัน สีเขียว



เข้ม มีกลิ่นหอมอ่อนๆ ขยายพันธุ์ด้วยการแยกหน่อ **สรรพคุณ:** ช่วยบำรุงหัวใจให้ชุ่มชื้น แก้ไอ ดับพิษไข้ เป็นยาชูกำลัง ขับปัสสาวะ ลดน้ำตาลในเลือด (รักษาโรคเบาหวาน) ลดความดันโลหิตสูง บำรุงตับและไต บรรเทาอาการหวัด ต้มเป็นประจําจะช่วยให้ร่างกายสดชื่น เตยหอมมีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด ลดความดันโลหิต ลดอัตราการเต้นของหัวใจ ขับปัสสาวะ ซึ่งฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่กล่าวไปทั้งหมดนั้น ได้มาจากการทดลองในห้องทดลอง นอกจากนี้ได้มีการทำการศึกษาวิจัย โดยนำน้ำต้มรากเตยหอมไปทดลองในสัตว์ทดลองเพื่อดูฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด ปรากฏว่าสามารถลดน้ำตาลในเลือดของสัตว์ทดลองได้ (ชนารัตน์ รอสณา, 2549)

ธนพร วงษ์เอี่ยม และชลธิชา บัวตะมะ (2558) ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดหยาดใบเตย ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิด ตรวจหาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาดด้วย 95% ethanol จากพืชสมุนไพรใบเตย (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 4 สายพันธุ์ คือเชื้อ *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus epidermidis* และเชื้อ *Bacillus cereus* และแบคทีเรียแกรมลบ 9 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), *Shigella* spp., *Salmonella enteritidis*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Aeromonas hydrophila* โดยใช้วิธี agar well diffusion และหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และค่า Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ด้วยวิธี broth dilution พบว่าสารสกัดหยาดสมุนไพรจากใบเตยสามารถยับยั้งเชื้อได้ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. aureus* (ATCC 25923), *S. epidermidis*, *B. cereus*, *V. parahaemolyticus* และ *A. hydrophila* ได้ให้ค่า inhibition zone $\pm$ SD เท่ากับ 9 ± 0.00 , 8 ± 0.00 , 9.33 ± 0.58 , 14.67 ± 0.58 และ 12.33 ± 0.58 mm ตามลำดับ ให้ค่า MIC/MBC เท่ากับ 64/64, 64/128, 32/32, 32/32 และ 16/16 mg/ml ตามลำดับ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าใบเตยนอกจากจะใช้ในการแต่งกลิ่นอาหาร และรับประทานแล้ว ยังมีสรรพคุณในการยับยั้งฤทธิ์แบคทีเรียก่อโรคได้

2.5 ข้อมูลเบื้องต้นของจุลินทรีย์

การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพถือเป็นการหาวิธีป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ปรสิต ไวรัส และเชื้อราที่เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการค้นหาสารประกอบเพื่อพัฒนาให้เป็นยาชนิดใหม่ ที่มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์สูงกว่าเดิม (Farjana et al., 2014) เนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย ปรสิต ไวรัส และเชื้อราที่ก่อโรคในมนุษย์มีมากมายหลายชนิด ผู้วิจัยจึงได้เลือกเชื้อทดสอบโดยใช้หลักเกณฑ์ในการเลือกคือ ใช้เชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST4212 (ทำให้เกิดการติดเชื้อที่บริเวณผิวหนัง บาดแผลผ่าตัด และอาหารเป็นพิษ) เชื้อ *Staphylococcus epidermidis* DMST518 (ทำให้เกิดการติดเชื้ออวัยวะเยื่อ เช่น ใส่ข้อเทียม โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณสะโพกผู้ป่วยมักมีอาการปวดเฉพาะที่และการทำงานของข้อเทียมไม่ดี โรคติดเชื้อจากการใส่สายยางหรือสายสวนต่างๆ) และ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* DMST20625 (MRSA) (เชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) เป็นเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายกลุ่ม (multiple drug resistant) เช่น ยาเพนิซิลลิน เตตราไซคลิน ซัลโฟนาไมด์ และ



ยา กลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ ซึ่งเชื้อ MRSA เป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลโดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ เช่น ผู้ป่วยที่มีแผลผ่าตัด แผลน้ำร้อนลวก ไฟไหม้ ผู้ป่วยที่มีการใส่สายสวน ปัสสาวะ และ การใช้เครื่องช่วยหายใจ) เป็นตัวแทนของเชื้อแกรมบวก รูปร่างกลม มีการเรียงตัวเป็นกลุ่ม (gram- positive cocci in cluster) คล้ายองุ่น เชื้อ *Bacillus cereus* DMST5040 (เป็นสาเหตุที่สำคัญของการติดเชื้อในตา อาจเกิดกระจกตาอักเสบ การอักเสบในลูกตา และการอักเสบทั้งตา บางครั้งก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษอีกด้วย) เป็นตัวแทนแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างท่อน มักพบต่อกันเป็นสาย โซ่ เชื้อ *Escherichia coli* ATCC25922 (ก่อโรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ การติดเชื้อในกระแสโลหิต) เป็นตัวแทนเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เซลล์เป็นรูปแท่ง เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739 (เป็นเชื้อฉวยโอกาสก่อโรคในคนที่มีร่างกายอ่อนแอ) เป็นตัวแทนเชื้อแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง กลุ่ม Gamma Proteobacteria กลุ่มนี้สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ เชื้อ *Candida albicans* NCYC854 (ก่อโรคที่ผิวหนัง ปาก ช่องคลอด และทางเดินอาหาร) เป็นตัวแทนของเชื้อยีสต์ เชื้อ *Microsporium canis* (มักจะก่อโรคในสัตว์ โดยเฉพาะแมวและสุนัข โดยแมวจะเป็นแหล่งของเชื้อราที่สำคัญ และสามารถติดสู่ผู้เลี้ยงได้) เป็นตัวแทนของเชื้อกลาก เชื้อ *Aspergillus fumigatus* TISTR3464 (เกิดโรคอาจเป็นแบบก่อภูมิแพ้ ก่อโรคเฉพาะแห่งหรือติดเชื้อแบบลุกลามไปตามอวัยวะต่างๆ เช่น ที่ปอด โปรงจมูก ตา หู เล็บ ผิวหนัง) และ *Penicillium chrysogenum* TISTR3555 (เป็นราปนเปื้อนที่อาจกลายเป็นราฉวยโอกาสก่อโรคกับอวัยวะต่างๆ ของร่างกายได้กว้างขวางมากโดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง) เป็นตัวแทนของเชื้อรา

2.5.1 Staphylococci

เชื้อกลุ่ม staphylococci เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม มีการเรียงตัวเป็นกลุ่ม (grampositive cocci in cluster) คล้ายองุ่น (grape – like cluster) จัดอยู่ในวงศ์ *Staphylococcaceae* ไม่สร้างสปอร์ไม่เคลื่อนที่ ส่วนใหญ่เป็นเชื้อ facultative anaerobe สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิด สามารถหมักคาร์โบไฮเดรต และสร้างสีที่หลากหลายตั้งแต่สีขาวจนถึงสีเหลืองเข้ม บางชนิดพบเป็นเชื้อประจำถิ่นที่ผิวหนังและเยื่อเมือกของมนุษย์ ก่อให้เกิดโรคจากผิวหนังที่รุนแรงและติดเชื้อบาดแผลต่อทางเดินปัสสาวะร้ายแรง หลายต่อชนิดให้เกิดการติดเชื้อที่มีหนอง เกิดฝีตามบริเวณต่างๆ และอาจทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดถึงตายได้ กลุ่ม Staphylococci ที่ก่อโรคมักจะทำให้เกิด hemolysis ของเม็ดเลือดแดง เกิดการเกาะกลุ่มของพลาสมา และสามารถสร้างเอนไซม์ที่ปล่อยออกมาภายนอกเซลล์หลายชนิดรวมทั้ง toxin ของเชื้อ staphylococci มักพบเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษซึ่งเกิดจาก enterotoxin ของเชื้อที่ทนความร้อน ซึ่งเชื้อ staphylococci จะมีการพัฒนาการดื้อยาปฏิชีวนะอย่างรวดเร็วทำให้การรักษายากขึ้น (อรอนงค์ พริ้งสุกะ, 2556; Yang *et al.*, 2017)

2.5.1.1 *Staphylococcus aureus* มีลักษณะโคโลนีสีขาว จนถึงสีเหลืองทอง ขอบเรียบ มันวาว มีลักษณะคล้ายเนย (butyrous) ให้ผลโคแอกกูเลส (coagulase) เป็นบวก และทำให้พลาสมาเป็นลิ่ม *S. aureus* เป็นเชื้อก่อโรคที่มีความสำคัญมาก เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในร่างกายคน โดยจะพบที่บริเวณผิวหนัง (skin flora) และในรูจมูก (nasal carrier) ร้อยละ 20-40 ของคนปกติ โรคติดเชื้อที่มีสาเหตุจากเชื้อ *S. aureus* มีดังนี้



1) การติดเชื้อบริเวณผิวหนัง (skin infection) ฝี (boil, furuncle และ impetigo) เกิดการติดเชื้อที่บริเวณรูขน (hair follicle) ทำให้ผิวหนังเกิด การอักเสบ บวมแดงและเป็นหนอง ฝีฝักบัว (carbuncle) มีการติดเชื้อที่รูขน ต่อมไขมัน (sebaceous gland) ลักษณะฝีหลายอันมารวมกัน มองดูลักษณะคล้ายฝักบัว ผู้ป่วยจะมีการเจ็บปวดรุนแรงกว่าฝีธรรมดา และกุ้งยิง (sty; style) เป็นการติดเชื้อที่บริเวณหนังขอบตา ทำให้หนังขอบตาเกิดการอักเสบ บวมแดงและมีหนอง

2) การติดเชื้อบริเวณแผลผ่าตัด (wound infection) เป็นสาเหตุหนึ่งที่สำคัญของการติดเชื้อในโรงพยาบาล (nosocomial infection; hospital acquired infection) พบในผู้ป่วยที่เข้ารับการผ่าตัดแล้วมีการติดเชื้อ *S. aureus* ที่อาศัยอยู่บริเวณผิวหนังของผู้ป่วย หรือบุคลากรทางการแพทย์ หรือจากสิ่งแวดล้อม ทำให้แผลบริเวณผ่าตัดเกิดการอักเสบ บวมแดงและเป็นหนอง

3) โรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) เนื่องจากการรับประทานอาหารที่ปนเปื้อน staphylococcal enterotoxin ซึ่งเป็นสารพิษที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์ชนิดทนความร้อน (heat-stable exotoxin) ทำให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน อาหารที่พบบ่อยว่าเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ ได้แก่ อาหารสดที่ไม่ผ่านความร้อน อาหารที่มีการหยิบจับสัมผัสด้วยมือ เช่น กะทิสด ขนมจีน มายองเนส

4) กลุ่มอาการผิวหนังกำพวดหลุดลอกที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (staphylococcal scalded skin syndrome; ssss) หรือโรคริตเทอร์ (Ritter's disease) พบได้ในเด็กแรกเกิดและเด็กเล็ก มีสาเหตุจาก exfoliative toxin หรือ epidermolytic toxin ของเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นสารพิษที่มีฤทธิ์ในการทำลายผิวหนังชั้นหนังกำพวด (epidermal layer) โดยทำให้เกิดอาการหลุดลอกที่ผิวหนัง

5) กลุ่มอาการช็อกที่เกิดจากสารพิษ (toxin shock syndrome) เกิดจากร่างกายมีการดูดซึมสารพิษชนิด toxin shock syndrome toxin-1 (TSST-1) เข้าไปในร่างกาย มักพบในผู้หญิงที่ใช้ผ้าอนามัยแบบสอด (intra vaginal tampon) ที่มีการดูดซับเลือดประจำเดือนสูงซึ่งจะกระตุ้นให้เชื้อ *S. aureus* หลั่งสารพิษชนิดนี้ออกมา เมื่อมีการดูดซึมสารพิษนี้เข้าไปในร่างกายทำให้ผู้ป่วยมีอาการไข้สูง มีผื่น เจ็บคอ มีภาวะขาดน้ำ คลื่นไส้ อาเจียน ช็อก ตับและไตวาย (อรอนงค์ พริ้งสุลกะ, 2556; อิศยา จันทน์วิทยานุกิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2556; Menzies & Kourteva, 2000; Zhang *et al.*, 2017)

เชื้อ *S. aureus* เป็นเชื้อสาเหตุหลักสำคัญที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาล และในชุมชน นอกจากนี้ยังเป็นเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นในผิวหนังและโพรงจมูก หลอดลม ช่องคลอด ลำไส้ ซึ่งในร่างกายมนุษย์จะมีเชื้อชนิดนี้เจริญอยู่ประมาณ 15-36% (Botelho-Nevers *et al.*, 2017) นับว่าเป็นเชื้อชนิดหนึ่งที่นำกล้วสำหรับมนุษย์ เนื่องจากทำให้เกิดโรคผิวหนังอย่างรุนแรง ติดเชื้อที่บาดแผลอย่างรุนแรง หรืออาจทำให้อวัยวะหลายชนิดถูกทำลายได้ (Zhang *et al.*, 2017)

เชื้อ *S. aureus* เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อส่วนใหญ่ในสภาพที่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเล็กน้อย (microaerophilic) เจริญเร็วที่สุดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่สร้างรงควัตถุดีที่สุดที่อุณหภูมิห้อง (20-25 องศาเซลเซียส) โดยโคโลนีบนอาหารแข็งจะมีลักษณะกลม เรียบ ขุ่น นูน เล็กน้อย มีสีเหลืองทอง เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีประมาณ 1-4 มิลลิเมตร (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547) *S. aureus* เป็นเชื้อก่อโรคที่มีความสำคัญมาก เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในร่างกายคน โดยจะพบที่บริเวณผิวหนัง (skin flora) และในรูจมูก (nasal carrier) ร้อยละ 20-40 ของคนปกติ เชื้อนี้มีปัจจัยที่



ก่อให้เกิดความรุนแรงในการเกิดโรค (virulence factor) ดังนี้ (อิสยา จันทรวิทย์ยานุชิต และวัชรินทร์ รังษิภาณรัตน์, 2556)

1) โปรตีนที่ผนังเซลล์ (cell wall protein) ได้แก่ โปรตีนเอ (protein A) ทำหน้าที่เกาะติดกับส่วน Fc ของอิมมูโนโกลบูลินชนิด IgG (immunoglobulin; IgG) ป้องกันการกลืนกินของเม็ดเลือดขาว และ fibronectin-binding protein ทำหน้าที่เกาะกับไฟโบรเนกตินของเซลล์ (อิสยา จันทรวิทย์ยานุชิต และวัชรินทร์ รังษิภาณรัตน์, 2556)

2) สารพิษที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์หรือเอกโซทอกซิน (exotoxin) ดังนี้ (อิสยา จันทรวิทย์ยานุชิต และวัชรินทร์ รังษิภาณรัตน์, 2556)

2.1) สแตฟฟีโลค็อกคัลเอนเทอโรทอกซิน (staphylococcal enterotoxin) เป็นสารพิษที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์ชนิดทนความร้อน (heat-stable exotoxin) สแตฟฟีโลค็อกคัลเอนเทอโรทอกซิน แบ่งออกเป็น 5 ไทป์ (type) ได้แก่ ไทป์ เอ บี ซี (ซี₁, ซี₂, ซี₃) ดี อี (A, B, C; C₁, C₂, C₃, D, E) ไทป์ที่พบว่ามีอุบัติการณ์ในการก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) บ่อยที่สุดคือ ไทป์เอและอี สารพิษนี้สามารถทนความร้อนได้ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และยังทนต่อสภาวะความเป็นกรดและเอนไซม์ ในกระเพาะอาหารอีกด้วย ผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษนี้จะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อุจจาระร่วง ภายหลังจากได้รับสารพิษชนิดนี้เข้าสู่ร่างกายเป็นเวลา 1-6 ชั่วโมง

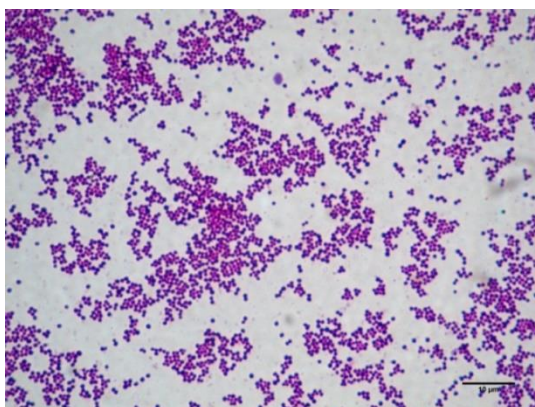
2.2) ทอกซิกช็อกซินโดรมทอกซิน-1 (toxic shock syndrome toxin-1; TSST-1) โดยจะพบการสร้างสารพิษชนิดนี้ในเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่อาศัยอยู่บริเวณช่องคลอด ทอกซิกช็อกซินโดรมทอกซิน-1 จัดเป็นซูเปอร์แอนติเจน (superantigen) มีความสามารถกระตุ้นระบบต่างๆ ของร่างกาย ทำให้ผู้ป่วยมีอาการไข้สูง มีผื่น เจ็บคอ อุจจาระร่วงชนิดเป็นน้ำ (watery diarrhea) มีภาวะขาดน้ำ (dehydration) คลื่นไส้ อาเจียน ในบางรายมีอาการรุนแรงอาจทำให้เกิดอาการช็อก ตับวาย ไตวาย และอาจจะทำให้เสียชีวิตในที่สุด

2.3) เอกโฟลิเอทีฟทอกซิน (exfoliative toxin) เป็นสารพิษที่มีฤทธิ์ในการทำลายผิวหนังชั้นหนังกำพร้า (epidermal layer) ทำให้หนังกำพร้าหลุดลอกออกไป ก่อให้เกิดกลุ่มอาการผิวหนังหลุดลอก (staphylococcal scalded skin syndrome; SSSS) หรือโรคริตเทอร์ (Ritter's disease)

2.4) ไซโทไลติกทอกซิน (cytolytic toxin) เป็นกลุ่มของสารพิษที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์เพื่อทำลายเซลล์ของร่างกาย ได้แก่ ฮีโมไลซิน (hemolysin) หรือสแตฟฟีโลไลซิน (staphylolysin) ชนิดแอลฟา บีตา และเดลตา โดยฮีโมไลซินจะทำลายเม็ดเลือดแดง

3) เอนไซม์ ได้แก่ โคแอกกูเลส ไฮยาลูโรนิเดส (hyaluronidase) ลิเพส (lipase) ดีเอ็นเอส (DNase) อาร์เอ็นเอส (RNase) ฟอสฟาเทส (phosphatase) ไฟบริโนไลซิน (fibrinolysin) เอนไซม์เหล่านี้มีบทบาททำให้เชื้อ *S. aureus* สามารถบุกรุกและทำลายเซลล์ได้ดียิ่งขึ้น





ภาพประกอบ 2.13 เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* (ที่มา: สุตานันท์ ธนาธัญญ์, 2557)

2.5.1.2 เชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ลักษณะโคโลนีมีสีขาว-เทา เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่พบบริเวณผิวหนังของคน ไม่มีการสร้างเอนไซม์โคแอกกูเลส (coagulase) ให้ผลโคแอกกูเลสเป็นลบ และไม่ทำให้เกิด hemolysis พบอุบัติการณ์ติดเชื้อในผู้ป่วยที่มีการใส่อุปกรณ์ทางการแพทย์เข้าสู่ร่างกายซึ่งแบคทีเรียจะเกาะอยู่เป็นไบโอฟิล์ม เช่น สายสวนปัสสาวะ ลิ้นหัวใจเทียม การใช้เครื่องช่วยหายใจ การให้สารน้ำทางหลอดเลือด เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะในผู้ป่วยที่นอนพักรักษาตัวในโรงพยาบาล (อรอนงค์ พริ้งศุลกะ, 2556; อิสยา จันทรวิธานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2556)

S. epidermidis เป็นเชื้อที่มีความสำคัญที่สุดในกลุ่ม coagulase negative *Staphylococcus* ซึ่งปกติถือว่าเป็นเชื้อประจำถิ่นของคน แต่บางครั้งอาจก่อโรคได้ มากกว่าร้อยละ 90 ของโรคติดเชื้อจาก coagulase negative *Staphylococcus* มักจะเป็นเชื้อนี้ *S. epidermidis* จะมีโคโลนีเป็นสีขาว มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2-4 มิลลิเมตร บางครั้งอาจพบมีการสลายเม็ดเลือดแดง ถ้าเพาะเชื้อบน blood agar ทำให้เห็นเป็นบริเวณใสรอบโคโลนี สามารถเจริญได้ทั้งในบรรยากาศที่มีหรือไม่มีออกซิเจน ไม่มีการสร้างสปอร์ สามารถพบทั่วไปตามธรรมชาติและที่สำคัญคือพบเป็นเชื้อประจำถิ่นดังนั้นจะพบเชื้อนี้ได้ทั่วไปตามผิวหนัง ลำคอ รูหู รูจมูก เพราะฉะนั้นในการเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยถ้ามีการเตรียมการไม่ดีจะมีการปนเปื้อนเชื้อนี้ได้ง่ายมาก ทำให้การอ่านผลผิดพลาดเพราะจะเกิดความสับสนว่าเชื้อมีการปนเปื้อนหรือเป็นเชื้อก่อโรคจริงๆ (พิมพ์พันธุ์ เลียงพิบูลย์ และคณะ, 2538)

คุณสมบัติในการก่อโรค: ในอดีต *S. epidermidis* ไม่ก่อโรค แต่ต่อมามีการใช้อวัยวะเทียมและการใส่สายต่างๆ เช่น สายสวนปัสสาวะเข้าไปในร่างกาย เนื่องจากวิทยาการทางการแพทย์เจริญก้าวหน้ามาก จึงสามารถพบว่าเชื้อนี้สามารถก่อโรคได้เช่นกัน พบว่าเชื้อสามารถสร้างเมือกเหลว เรียกว่า slime ซึ่งเป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรตทำให้สามารถจับตัวกับอวัยวะเทียมและสายสวนต่างๆ ได้ ตลอดจนเป็นการป้องกันตัวเชื้อเองไม่ให้ถูกจับกินโดยระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เช่น เม็ดเลือดขาวเป็นต้น และป้องกันการทำลายเชื้อโดยยาต้านจุลชีพในกรณีที่ผู้ป่วยได้รับยา

S. epidermidis จัดเป็นเชื้อที่มีความสามารถในการก่อโรคได้ต่ำมาก ดังนั้นในคนปกติจะไม่เกิดอาการของโรค ซึ่งเชื้อจะไม่มีการสร้าง alpha hemolysin เอนไซม์ coagulase หรือโปรตีนเอ ซึ่งเป็นปัจจัยในการก่อโรคของเชื้อ *S. aureus* แต่อย่างไรก็ตามเชื้อ *S. epidermidis* สามารถ



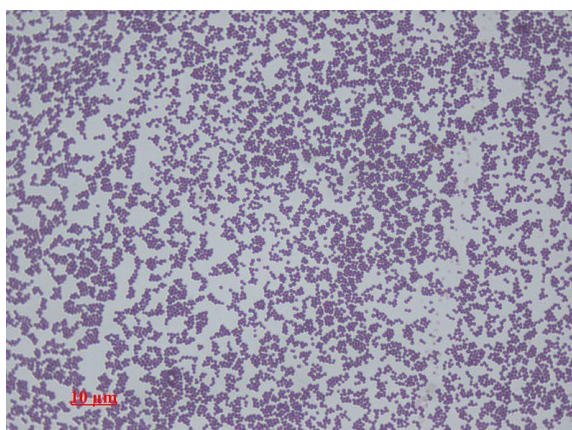
สร้าง hemolysin บางชนิด เช่น cytotoxin ซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์ชนิดไฟโบรบลาสต์ เอนไซม์บางชนิด เช่น hyaluronidase และ lipase แต่มีพิษไม่รุนแรงและไม่ทุกสายพันธุ์ของ *S. epidermidis* ที่สามารถสร้างได้ โดยโรคที่เกิดจาก *S. epidermidis* ที่สำคัญมีดังนี้

1) การติดเชื้อที่ลิ้นหัวใจ (endocarditis) อาจเป็นการติดเชื้อที่ลิ้นหัวใจธรรมชาติ หรือลิ้นหัวใจเทียม ถ้าเป็นลิ้นหัวใจธรรมชาตินักเกิดในลิ้นหัวใจที่มีความผิดปกติ เช่น มีการตีบหรือมีรูรั่ว ทำให้ผนังชั้นในของหัวใจไม่เรียบเชื้อจึงไปเกาะได้ หลังจากติดเชื้อแล้วจึงเจริญเพิ่มจำนวนตรงบริเวณนั้น เมื่อใดก็ตามที่เชื้อบางเซลล์หลุดเข้ากระแสเลือดก็จะทำให้ผู้ป่วยมีไข้ ซึ่งมักเป็นไข้ต่ำๆ มากกว่าไข้สูง ถ้าเป็นลิ้นหัวใจเทียมอาจเป็นไปได้ว่าเชื้อจากบริเวณอื่นหลุดพลัดเข้ามาในกระแสเลือดของผู้ป่วย เช่นขณะที่ถอนฟัน เชื้อ *S. epidermidis* ซึ่งเป็นเชื้อประจำถิ่นในลำคอหลุดเข้ามาในกระแสเลือดแล้วไปเกาะที่ผนังลิ้นหัวใจเทียม แต่เนื่องจากไม่มีเส้นเลือดไปหล่อเลี้ยงหัวใจเทียมเหมือนหัวใจธรรมชาติ ดังนั้นระบบกำจัดแบคทีเรีย โดยเม็ดเลือดขาวจึงไม่สามารถแทรกซึมไปยังลิ้นหัวใจเทียมได้

2) การติดเชื้อตามอวัยวะเทียม เช่น ใส่ข้อเทียม โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณสะโพกผู้ป่วยมักมีอาการปวดเฉพาะที่และการทำงานของข้อเทียมไม่ดี

3) โรคติดเชื้อจากการใส่สายยางหรือสายสวนต่างๆ ประมาณร้อยละ 20-65 เกิดจากเชื้อนี้ ได้แก่ผู้ป่วยที่ใส่สายสวนปัสสาวะ สายที่ให้น้ำเกลือ หรืออาหารแก่ผู้ป่วยหนักที่รับประทานอาหารเองไม่ได้ ผู้ป่วยที่ต้องล้างไตเป็นประจำอาจเกิดโรคเยื่อช่องท้องอักเสบ เชื้อพวกนี้มักจะเป็นเชื้อที่เกิดในโรงพยาบาลจึงดื้อยามาก

การดื้อยา: *S. epidermidis* ที่แยกได้จากชุมชนมักจะมีควมไวต่อยาในกลุ่ม penicillinase resistant penicillin เช่น เมธิซิลลิน (methicillin) ออกซาซิลลิน (oxacillin) และคลอกซาซิลลิน (cloxacillin) เป็นต้น เพราะส่วนใหญ่เชื้อยังไม่ดื้อยามาก แต่เชื้อที่แยกในโรงพยาบาลมักดื้อยาดังกล่าว ตลอดจนยาอื่นๆ



ภาพประกอบ 2.14 เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus epidermidis* (Wikipedia, 2015)



2.5.1.3 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) เป็นเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายกลุ่ม (multiple drug resistant) เช่น ยาเพนิซิลลิน (penicillins) เตตราไซคลิน (tetracyclines) ซัลโฟนาไมด์ (sulfonamides) ยาากลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ (aminoglycosides) มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (minimal inhibitory concentration ; MIC) ต่อยาเมทิซิลลิน (methicillin) มากกว่าหรือเท่ากับ 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือมีค่า MIC ต่อยาออกซาซิลลิน (oxacillin) มากกว่าหรือเท่ากับ 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเชื้อที่ไวต่อยาในกลุ่มเพนิซิลลินจะจัดอยู่ในกลุ่มที่เรียกว่า methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) เชื้อ MRSA มีกลไกในการดื้อยาดังนี้ (อิสยา จันทรวิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังษิภาณรัตน์, 2556)

1) การสังเคราะห์ เอนไซม์บีตา-แล็กทามเอส (β -lactamase) จะมีฤทธิ์ในการทำลายยาเพนิซิลลินและยาที่มีวงแหวนแล็กแทม (lactam ring) เป็นส่วนประกอบ ทำให้เชื้อดื้อยาในกลุ่มนี้ได้

2) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผนังเซลล์ ทำให้ที่รับ (receptor site) ของยาบนผนังเซลล์เปลี่ยนจาก penicillin-binding protein (PBP) เป็น penicillin-binding protein ชนิด 2a (PBP2a) ทำให้เชื้อมีการจับ (affinity) ยาในกลุ่มเพนิซิลลินลดลง ยาจึงไม่สามารถเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียได้ เชื้อจึงดื้อยา เชื้อ Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) จำแนกออกเป็นหลายประเภทตามกลไกการดื้อยาดังนี้ (อิสยา จันทรวิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังษิภาณรัตน์, 2556)

2.1) True methicillin-resistant *S. aureus* (true MRSA) มีกลไกการดื้อยา คือ ที่บริเวณผนังเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงเป็น PBP2a มีค่า MIC ของยาเมทิซิลลินมากกว่าหรือเท่ากับ 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือมีค่า MIC ต่อยาออกซาซิลลิน (oxacillin) มากกว่าหรือเท่ากับ 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2) Borderline resistant *S. aureus* (BORSA) ซึ่งจะมีกลไกการดื้อยาสังเคราะห์เอนไซม์บีตาแล็กทามเอสในปริมาณที่สูงมาก มีค่า MIC ของยาเมทิซิลลินเท่ากับ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือมีค่า MIC ต่อยาออกซาซิลลินน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.3) Modified-resistant *S. aureus* (MODSA) เชื้อกลุ่มนี้ที่ผนังเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงหรือเพิ่มปริมาณหรือการเพิ่มจำนวนของ PBP อื่นที่ไม่ใช่ PBP2a MODSA มีค่า MIC ของยาเมทิซิลลินและออกซาซิลลินอยู่ในระดับเดียวกันกับ BORSA

2.4) Methicillin aminoglycosides resistant *S. aureus* (MARSA) หมายถึงเชื้อ *S. aureus* ที่ผลิตเอนไซม์ aminoglycosides-modifying ชนิดที่เรียกว่า bifunctional enzyme โดยมีการสังเคราะห์เอนไซม์ ACC (6') และ APH (2") ร่วมกับการเปลี่ยนแปลงเป็น PBP2a ทำให้เชื้อในกลุ่มนี้ดื้อต่อยาเมทิซิลลินและยาากลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ได้

เชื้อ MRSA เป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลโดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ เช่น ผู้ป่วยที่มีแผลผ่าตัด แผลน้ำร้อนลวก ไฟไหม้ ผู้ป่วยที่มีการใส่สายสวน ปัสสาวะ การใช้เครื่องช่วยหายใจ นอกจากนี้ยังมีการติดต่อจากผู้ป่วยหนึ่งไปยังผู้ป่วยอื่นๆ หรือจากบุคลากรทางการแพทย์สู่ผู้ป่วยโดยการสัมผัส ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของเชื้อ MRSA ในโรงพยาบาลได้ (อิสยา จันทรวิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังษิภาณรัตน์, 2556)



2.5.2 *Bacillus* species

สกุล *Bacillus* จัดเป็นกลุ่ม aerobe รูปร่างท่อน แกรมบวก มักพบต่อกันเป็นสายโซ่ เป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสปอร์ได้ (spore-forming bacteria) เป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในนมพาสเจอร์ไรส์ ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มที่สลายซากพืชซากสัตว์ (saprophytic organism) ซึ่งพบมากในดิน น้ำ และอากาศ หรือบนผักผลไม้ เช่น *B. cereus* และ *B. subtilis* บางชนิดก่อโรคในแมลงโดย *B. anthracis* ยังเป็นสาเหตุของโรค anthrax นอกจากนี้ *B. cereus* ยังสามารถเจริญในอาหารและสร้าง enterotoxin หรือ emetic toxin ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ จุลินทรีย์เหล่านี้อาจก่อโรคในมนุษย์ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง ทำให้เป็นโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ เยื่อบุหัวใจอักเสบ การอักเสบในลูกตา (endophthalmitis) เยื่อบุตาอักเสบ (conjunctivitis) หรือโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบแบบเฉียบพลัน (acute gastroenteritis) (อรอนงค์ พริ้งศุลกะ, 2556; Aouadhi *et al.*, 2014)

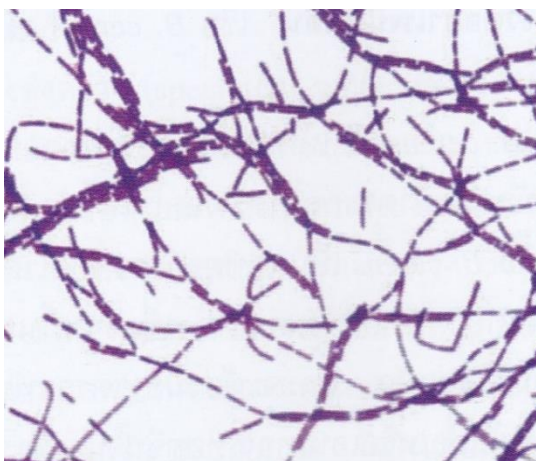
เชื้อ *B. cereus* เป็นแบคทีเรียรูปร่างท่อนขนาดใหญ่ที่สามารถสร้างสปอร์ได้ ติดสีแกรมบวก (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547) โดยเชื้อ *B. cereus* จะก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) พบว่ามีการระบาดเป็นครั้งคราว เนื่องจากการรับประทานอาหารประเภทข้าวผัดที่มีการปรุงเสร็จเรียบร้อยแล้วรอการจำหน่าย หรือรอที่จะรับประทานเป็นเวลานาน ก็จะทำให้เชื้อ *B. cereus* ที่มีการปนเปื้อนในอาหารสามารถสร้างสารพิษจำนวนมากได้ โดยจะก่อให้เกิดอาการ 2 แบบคือ แบบอาเจียน (emetic form) มีระยะฟักตัวสั้น 1-6 ชั่วโมงภายหลังการรับประทานอาหารนั้น โดยจะมีอาการอาเจียนหรืออุจจาระร่วง อีกแบบหนึ่งคือแบบอุจจาระร่วง (diarrheal form) มีระยะฟักตัวยาวนานกว่าประมาณ 10-12 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการปวดท้อง อุจจาระร่วงเป็นน้ำ นอกจากนี้เชื้อ *B. cereus* ยังก่อให้เกิดโรคติดเชื้อฉวยโอกาสได้ เช่น โรคโลหิตเป็นพิษ โรคกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ การติดเชื้อบริเวณบาดแผล และโรคปอดบวม (อิสยา จันทรวิธานุชิต และวัชรินทร์ รังษิภาณุรัตน์, 2556)

2.5.2.1 *Bacillus cereus*

เชื้อ *B. cereus* สามารถสร้างสารพิษ 2 ชนิด ได้แก่ อิมิติกทอกซิน (emetic toxin) ทำให้เกิดอาการอาเจียน และเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ทำให้เกิดอุจจาระร่วง นอกจากนี้ยังมีปัจจัยที่ก่อให้เกิดความรุนแรงอื่นๆ เช่น ฮีโมไลซินทำหน้าที่สลายเม็ดเลือดแดง เอนไซม์เลซิทีเนส โพรทีเอส และดีเอ็นเอส ทำหน้าที่ทำลายเลซิทีน โปรตีน และดีเอ็นเอของเซลล์ตามลำดับ เพนิซิลลินทำลายวงแหวนเล็กแถมของยาในกลุ่มเพนิซิลลิน ทำให้เชื้อ *B. cereus* ตื้อต่อยาในกลุ่มเพนิซิลลิน และเซฟาโลสปอรินส์ได้ (อิสยา จันทรวิธานุชิต และวัชรินทร์ รังษิภาณุรัตน์, 2556)

B. cereus เป็นสาเหตุที่สำคัญของการติดเชื้อในตา อาจเกิดกระจกตาอักเสบ การอักเสบในลูกตา (endophthalmitis) และการอักเสบทั้งตา (panophthalmitis) โดยทั่วไปเชื้อจะเข้าสู่ตาจากแผลบาดเจ็บ เชื้อ *B. cereus* มักทำให้เกิดการติดเชื้อเฉพาะที่ อย่างไรก็ตาม อาจทำให้เกิดการติดเชื้อทั้งระบบได้ เช่น เยื่อบุหัวใจอักเสบ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ กระดูกอักเสบ (เป็นหนอง) และปอดบวม การติดต่อของโรคมักมาจากการอุปการะทางการแพทย์หรือการฉีดยาที่มีการปนเปื้อนเชื้อเข้าเส้นเลือด (อรอนงค์ พริ้งศุลกะ, 2556)





ภาพประกอบ 2.15 การย้อมแกรมของเชื้อ *B. cereus* แสดงลักษณะแกรมบวก รูปแท่ง มีการเรียงตัวเป็นสาย (ที่มา: อีสยา จันทรวิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังษิภาณูรัตน์, 2556)

2.5.3 *Escherichia coli*

E. coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เซลล์เป็นรูปแท่ง ขนาด $1.1-1.5 \times 2.0-6.0$ ไมโครเมตร จัดเรียงตัวอาจอยู่แบบเซลล์เดี่ยว หรืออยู่เป็นคู่ มีลักษณะโคโลนีสีเหลืองอ่อน สามารถสร้างแคปซูลและสารพิษ อาจเคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลาหรือไม่เคลื่อนที่ สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือ ไร้ออกซิเจน เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (ภัทรชัย กิริตสิน, 2549; โสภณ คงสำราญ, 2524; Holt *et al.*, 1994) โคโลนีเรียบ ไม่มีสี เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 2-3 มิลลิเมตร เชื้อเจริญในเวลา 18 ชั่วโมง แต่ถ้าเลี้ยงในอาหารที่แสดงความแตกต่าง (differential media) เช่น Mac Conkey agar โคโลนีมีสีแดงชมพู ขนาดใหญ่ เนื่องจากเฟอร์เมนต์แล็กโทส หรือเลี้ยงในอาหาร Eosin methylene blue agar (EMB) และ Endo agar โคโลนีมีสีมันวาวคล้ายโลหะ (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

E. coli เป็นเชื้อประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหารโดยเฉพาะในลำไส้ใหญ่ สามารถก่อโรคได้บ่อยกว่าแบคทีเรียอื่นที่อยู่ในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* เหมือนกัน ซึ่งส่วนใหญ่ก่อโรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร แต่บางสายพันธุ์สามารถก่อโรคในระบบทางเดินอาหารได้ โดยโรคติดเชื้อ *E. coli* ที่สำคัญ ได้แก่ โรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ การติดเชื้อในกระแสโลหิต และโรคติดเชื้ออื่นที่พบได้ เช่น การติดเชื้อของบาดแผล ซึ่งก่อโรคได้ในคนปกติและคนที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง จัดเป็นเชื้อก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบบ่อยที่สุด (ภัทรชัย กิริตสิน, 2549; โสภณ คงสำราญ, 2524; Holt *et al.*, 1994)

E. coli ที่เป็นเชื้อประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหารส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ไม่ก่อโรค แต่ในบางบุคคล อาจพบสายพันธุ์ก่อโรคปนอยู่ได้ การเกิดโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะและการติดเชื้อในกระแสเลือดส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อประจำถิ่น เรียกการติดเชื้อแบบนี้ว่า endogenous infection พบบ่อยในผู้ป่วยมีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง ในขณะที่การก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจและเยื่อหุ้มสมอง มักเกิดจากการได้รับเชื้อก่อโรคจากภายนอก การก่อโรคในแต่ละระบบอาจเกิด

จาก *E. coli* ต่างสายพันธุ์ ที่มีกลไกการก่อโรคและสร้างปัจจัยก่อโรคที่แตกต่างกัน ดังต่อไปนี้ (ภัทรชัย กิริติสิน, 2549; โสภณ คงสำราญ, 2524; Holt *et al.*, 1994)

1) โรคทางเดินอาหารอักเสบ (gastroenteritis) เกิดจากการรับประทานอาหาร หรือดื่มน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อ โดยโรคที่พบบ่อย คือโรคท้องร่วง (diarrhea) เชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ที่ก่อโรคท้องร่วง (diarrheagenic *E. coli*) มีหลายสายพันธุ์ สามารถแบ่งตามกลไกการก่อโรคได้เป็น 5 กลุ่ม คือ enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteropathogenic *E. coli* (EPEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC), enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) และ enteroaggregative *E. coli* (EAEC) การวินิจฉัยแยก *E. coli* ที่เป็นสาเหตุก่อโรคท้องร่วงนั้น โดยทั่วไปอาศัยลักษณะอาการทางคลินิกเป็นสำคัญ การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อแยกกลุ่ม หรือ serogroup ส่วนใหญ่มีจุดประสงค์เฉพาะเพื่อการศึกษาทางระบาดวิทยา การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทำได้หลายวิธี ได้แก่ การเพาะเชื้อบน differential medium การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี การทดสอบทางน้ำเหลืองวิทยา (serology) และการทดสอบในระดับโมเลกุล ตามกลไกที่ทำให้เกิดอาการท้องร่วงร่วมกับอาการทางคลินิكدังนี้

1.1) Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) จัดเป็นเชื้อสำคัญที่ก่อให้เกิดการท้องเสียในเด็กทารก อาจทำให้เกิดการตายในเด็กทารกในประเทศกำลังพัฒนา แต่มักจะพบได้ยากในประเทศที่พัฒนาแล้ว EPEC มักจะเกิดการระบาดในสถานรับเลี้ยงเด็กอ่อนในประเทศที่กำลังพัฒนา เชื้อ EPEC จะเข้าเกาะกับ epithelial cell ของลำไส้เล็กโดยใช้ EPEC adhesion factor (EAF) จากนั้นจะปล่อยโมเลกุลที่เป็นพิษเข้าไปยัง enterocyte โดยใช้ระบบ type III secretion system ส่วนโครโมโซมของเชื้อจะช่วยสร้าง factor ให้เชื้อเกาะติดได้อย่างแน่นหนามากขึ้น ลักษณะของแผลยาลึกกลอง จุลทรรศน์อิเล็กตรอนจะพบแผลที่บริเวณลำไส้เล็ก การติดเชื้อของ EPEC จะทำให้เกิดการถ่ายเป็นน้ำซึ่งมักจะหายได้เองแต่สามารถเกิดเรื้อรังได้ อาการท้องเสียจาก EPEC มักเกิดจาก serotype ของ *E. coli* ที่จำเพาะซึ่งสามารถจัดจำแนกได้จาก O antigen และบางครั้งโดย H antigen อาการท้องเสียจากการติดเชื้อของ EPEC มักจะไม่นานและหากมีการเรื้อรังอาจใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษา

1.2) Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) การก่อโรคของแบคทีเรียกลุ่มนี้จะเกิดจาก enterotoxin LT ที่ไม่ทนความร้อน (จะถูกยับยั้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) และ toxins STa และ STb ที่ทนความร้อน (สามารถทนความร้อนได้สูงถึง 100 องศาเซลเซียส) บางสายพันธุ์สามารถสร้าง toxin ทั้ง 2 ชนิด บางสายพันธุ์อาจสร้างเพียงชนิดใดชนิดหนึ่งโดย LT toxin จะคล้ายคลึงกับ cholera toxin คือ จะจับที่ ganglioside ที่จำเพาะบน epithelial cell จากนั้นจะกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ adenylate cyclase เป็นผลให้เกิดการหลั่งของอิเล็คโตรไลต์และน้ำที่ผิดปกติเข้ามายัง lumen ของลำไส้ส่วน STa จะกระตุ้นการทำงานของ guanylate cyclase บนผิวของ epithelial cell ของลำไส้ การกระตุ้น guanylate cyclase จะทำให้เกิดการสร้าง cyclic guanosine monophosphate (cGMP) ซึ่งจะทำให้เกิดการปล่อยอิเล็คโตรไลต์และน้ำมายัง lumen ของลำไส้เล็กเช่นกัน ดังนั้นผู้ป่วยจะมีอาการท้องเสียชนิดถ่ายเป็นน้ำ การก่อโรคของ ETEC อาจมาจาก fimbriae ที่จำเพาะที่เรียกว่า colonizing factors (CFA) ทำให้แบคทีเรียเกาะกับ epithelial cell ของลำไส้เล็ก ซึ่งจะช่วยในการป้องกันการกำจัดเชื้อแบบรวดเร็วจากการเคลื่อนตัวของลำไส้ (intestinal peristalsis) สำหรับ enterotoxin และ CFA จะสร้างจากยีนบนพลาสมิด การติดเชื้อ ETEC จะมีลักษณะถ่ายเป็นน้ำปริมาณมาก โรคนี้สามารถพบได้ในทุกวัย ถ้าเกิดโรคนี้แล้วจะมีภูมิต้านทานเชื้อเป็นเวลา 2-3 เดือน



1.3) Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) แบคทีเรียกลุ่มนี้จะเคลื่อนที่เข้าสู่เยื่อเมือกบริเวณลำไส้ใหญ่ ทำให้เกิดแผลเปื่อย (ulcerous) เกิดการอักเสบ การก่อโรคของเชื้อนี้จะเหมือนกับโรคบิดที่เกิดจากแบคทีเรีย สายพันธุ์ EIEC มักไม่หมักน้ำตาลแลคโตส (lac-negative)

1.4) Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) แบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดโรค hemorrhagic colitis และกลุ่มอาการ hemolytic-uremic syndrome (HUS) ซึ่งมักเกิดขึ้นประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ของการติดเชื้อ EHEC อาการของ HUS คือ เกิดไตวายเฉียบพลัน, ภาวะเกล็ดเลือดน้อย (thrombocytopenia) และโลหิตจาง เชื้อ EHEC จะมี fimbriae ที่จำเพาะซึ่งสร้างจากยีนบนพลาสมิดเพื่อช่วยในการยึดเกาะกับ enterocyte นอกจากนี้ อาจเกิดจาก โพรเฟจ (prophage) ที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้าง cytotoxin (shiga-like toxins หรือ verocytotoxins) โดยอาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า VTEC (verotoxin-producing *E. coli*) สายพันธุ์ EHEC มักพบใน O serogroups O157, O26, O111, O145 และอื่น ๆ โดย serovar ที่พบบ่อยที่ทำให้เกิด HUS คือ O157:H

1.5) Enteroaggregative *E. coli* (EAaggEC) แบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดการท้องเสียเป็นน้ำและอาจมีเลือดปนและเกิดอาการท้องเสียในเด็กทารกและเด็กเล็ก สายพันธุ์นี้จะใช้ fimbriae ในการเข้าเกาะกับ enterocyte แบบจำเพาะ (อรอนงค์ พริ้งศุลกะ, 2556; Giron *et al.*, 2002; Wong *et al.*, 2011; Nada *et al.*, 2011)

2) โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ (urinary tract infection) พบในผู้หญิงได้มากกว่าผู้ชาย ผู้ป่วยมีอาการปัสสาวะบ่อยและแสบขัด พบเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวปนในปัสสาวะ ซึ่งจัดเป็น ascending infection ซึ่งเกิดจากการลุกลามของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ก่อโรค (uropathogenic *E. coli*) จากทางเดินอาหารผ่านทางอุจจาระของผู้ป่วยเข้าสู่ท่อปัสสาวะและย้อนขึ้นไปที่กระเพาะปัสสาวะ ทำให้เกิดโรคกระเพาะปัสสาวะอักเสบ (cystitis)

3) โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningitis) *E. coli* เป็นสาเหตุสำคัญของโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบในทารกแรกเกิด โดยได้รับเชื้อที่ปนเปื้อนอยู่ในช่องคลอด หรือทวารหนักของมารดาในระหว่างคลอด สายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคมักพบการสร้างแคปซูลที่แอนติเจนชนิด K1

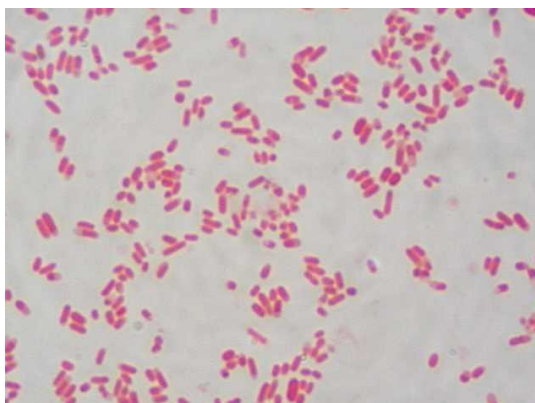
4) โรคปอดบวม (pneumonia) เป็นโรคติดเชื้อฉวยโอกาสในผู้ที่มีความผิดปกติของร่างกายอยู่เดิม เช่น ในผู้ป่วยโรคเบาหวาน ผู้ติดสุราเรื้อรัง และผู้ที่มีโรคเรื้อรังในระบบทางเดินหายใจ รวมถึงมักเป็นสาเหตุก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล เป็นผลให้การติดเชื้อรุนแรงและมีอัตราการตายสูง การได้รับเชื้อส่วนใหญ่เกิดจากการสำลักเชื้อในทางเดินหายใจส่วนบนลงสู่ทางเดินหายใจส่วนล่าง

5) การติดเชื้อในกระแสโลหิต (septicemia) ส่วนใหญ่มักเกิดจากการบุกรุกของเชื้อเข้าสู่กระแสโลหิตในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อเฉพาะที่อยู่ก่อน เช่น ผู้ป่วยที่มีโรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร และผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้ทะลุ ทำให้เชื้อประจำถิ่นรวมถึง *E. coli* สามารถเข้าสู่ช่องท้องและกระแสโลหิตได้ต่อไป ในรายที่มีอาการรุนแรงจะทำให้ความดันโลหิตลดต่ำจนเกิดภาวะช็อก (septic shock) และเสียชีวิตได้อย่างรวดเร็ว

E. coli สามารถเจริญได้ดีบนอาหารที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย หรืออาจเลือกใช้อาหารประเภท selective medium เช่น MacConkey agar เพราะมีสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกที่อาจปนเปื้อน อีกทั้งยังจัดเป็น differential medium เนื่องจาก *E. coli* สามารถ



สลายน้ำตาล lactose ในอาหารทำให้โคโลนีเปลี่ยนเป็นสีชมพูเข้ม (ภัทรชัย กิริตสิน, 2549; โสภณ คงสำราญ, 2524; Holt *et al.*, 1994)



ภาพประกอบ 2.16 เชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* (ที่มา: สุตฉันทน์ ธนาธัญญ์, 2557)

2.5.4 *Pseudomonas*

Pseudomonas จัดอยู่ในวงศ์ Pseudomonadaceae เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง เป็นกลุ่ม Gamma Proteobacteria กลุ่มนี้สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ แต่ใช้ไฮโดรเจนซัลไฟด์บางชนิดก่อโรค จำแนกเชื้อเป็น 6 กลุ่ม โดยอาศัยความเหมือนของลำดับเบส (DNA homology) ของยีน 16s rDNA ได้แก่ *P. aeruginosa* group, *P. stutzeri* group, *P. putida* group, *P. fluorescens* group, *P. chlororaphis* group, *P. syringae* group หรือจำแนกเชื้อเป็น 2 กลุ่ม ตามความสามารถในการผลิตรงควัตถุเรืองแสง ได้แก่ กลุ่มที่สามารถละลายน้ำได้และเรืองแสงสีเขียวแกมเหลือง (water-soluble, yellow-green fluorescent pigment) เมื่อส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเลตขนาดความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร ได้แก่ *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida* และกลุ่มที่ไม่สามารถผลิตรงควัตถุเรืองแสงชนิดไพโอเวอร์ดิน ได้แก่ *P. stutzeri*, *P. alcaligenes* และสปีชีส์อื่นๆ Huang *et al.*, 2017)

2.5.4.1 *Pseudomonas aeruginosa*

มีรูปร่างเป็นแท่งขนาดสั้น ขนาด $1.1-1.5 \times 2.0-6.0$ ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลา โคโลนีแบน ขอบไม่เรียบ สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ มีกลิ่นเฉพาะตัว ส่วนใหญ่มีกลิ่นอับคล้ายดินหรือคล้ายองุ่น สายพันธุ์ที่สร้างแคปซูลมักจะมีลักษณะโคโลนีเป็นเมือก สามารถสร้างรงควัตถุได้ คือ pyocyanin (สีเขียวน้ำเงิน) pyoverdine (สีเหลืองสะท้อนแสง) pyorubin (สีแดง) และ pyomelanin (สีน้ำตาลดำ) เป็นเชื้อฉวยโอกาสก่อโรคในคนที่มีร่างกายอ่อนแอ เช่น ในผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องหรือผู้ป่วยที่มี โรคเรื้อรังต้องรักษาตัวอยู่ในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อได้ในหลายระบบ เช่น ระบบทางเดินปัสสาวะ ชั้นผิวหนังหรือเยื่อปอด และกระแสโลหิต เป็นต้น *Ps. aeruginosa* สามารถดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถเจริญได้ดีในน้ำยาฆ่าเชื้อบางชนิดที่ใช้ฆ่าเครื่องมือทางการแพทย์และเครื่องใช้ของผู้ป่วยในโรงพยาบาล (ภัทรชัย กิริตสิน, 2549; Holt *et al.*, 1994)

P. aeruginosa ผลิตเอนไซม์ออกซิเดส ที่เคลื่อนที่ได้ โดยใช้แฟลกเจลลาชนิดโมนोटริคัส (monotrichous flagella) บางสายพันธุ์สร้างชั้นเมือกอยู่ภายนอกเซลล์มีลักษณะคล้าย



แคปซูล เรียกว่า surface slime เชื้อสามารถมีชีวิตและแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้ในสภาวะแวดล้อมที่มีสารอาหารเพียงเล็กน้อย ในช่วงอุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส จึงพบเชื้อได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติและในโรงพยาบาล

P. aeruginosa เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป โคโลนีมีลักษณะที่หลากหลาย เช่น แบนราบ ขอบไม่เรียบ รูปร่างเหลี่ยมขนมเปียกปูน มักจะเป็นแผ่นเล็กน้อยบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถสลายเม็ดเลือดแดงแบบบีต้า-ฮีโมไลซิส (β -hemolysis) ลักษณะโคโลนีบน MacConkey agar ไม่มีสี (non-lactose fermenting colonies; NLF) มีกลิ่นเฉพาะตัวคือ หอมคล้ายองุ่น (grap-like หรือ corn-taco like odor) เชื้อสามารถสร้างรงควัตถุเรืองแสงชนิดไฟโอเวอร์ดิน และชนิดไม่เรืองแสงได้หลายชนิด โดยเชื้อส่วนใหญ่จะสร้างรงควัตถุชนิดไฟโอไซยานิน (pyocyanin) จึงมักจะพบลักษณะโคโลนีมีสีเขียวแกมน้ำเงิน เชื้อส่วนน้อยจะสร้างรงควัตถุไฟโอรูบิน (pyorubin) หรือไฟโอเมลานิน (pyomelanin) ทำให้โคโลนีมีสีแดงหรือสีน้ำตาล-ดำ ตามลำดับ บางครั้งพบลักษณะเยิ้มเป็นมูก (mucoid type) ไม่มีสี ลักษณะโคโลนีบน blood agar และ triple sugar iron agar (TSI) เป็นมันวาวสีเทาดำสะท้อนแสงคล้ายโลหะ (metallic sheen) เชื้อนี้เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส ในเวลา 18-24 ชั่วโมง ยกเว้นสายพันธุ์ที่เป็นมูกเยิ้มอาจใช้เวลาถึง 48 ชั่วโมง

P. aeruginosa เป็นเชื้อก่อโรคแบบฉวยโอกาส เป็นสาเหตุสำคัญอันดับหนึ่งของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล แหล่งของเชื้ออาจมาจากสิ่งแวดล้อมภายในโรงพยาบาล น้ำยาและอุปกรณ์ทางการแพทย์ โดยเฉพาะบริเวณที่มีความชื้น เช่น อ่างล้างมือ น้ำกลั่น น้ำเกลือที่ใช้ทำความสะอาด สบู่เหลว ยาหยอดตา รวมถึงน้ำยาฆ่าเชื้อบางชนิด หรือจากผู้ป่วยคนอื่น หรือจากเชื้อภายในร่างกายผู้ป่วยเอง โดยพบว่าผู้ที่มีสุขภาพร่างกายปกติร้อยละ 5-10 สามารถตรวจพบเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ในระบบทางเดินอาหารและระบบทางเดินหายใจตอนบน และจะมีอุบัติการณ์ที่สูงขึ้นในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาวินิจฉัยในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน ซึ่ง *P. aeruginosa* เป็นสายพันธุ์ที่สำคัญในที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาล เป็นสาเหตุการติดเชื้อในเยื่อหุ้มสมอง ทำให้สมองอักเสบในผู้ใหญ่ (ABM) โรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบได้บ่อย เช่น การติดเชื้อบริเวณบาดแผลไฟไหม้น้ำร้อนลวก การติดเชื้อบริเวณแผลผ่าตัด ปอดบวม (hospital acquired pneumonia) การติดเชื้อในกระแสโลหิต การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะที่มีการใส่สายสวน การติดเชื้อบริเวณแผลกดทับ (bedsore) ส่วนโรคที่พบบ่อยในคนปกติทั่วไปคือหูชั้นนอกอักเสบ (otitis externa) ซึ่งมักจะพบในคนที่ชอบว่ายน้ำ เรียกว่า swimmer's ear กระเจกตาอักเสบในผู้ที่ใส่คอนแทกต์เลนส์ และการมีผื่นบริเวณผิวหนังในผู้ใช้ที่อ่างอาบน้ำ (Jacuzzi syndrome) และการติดเชื้อที่ฐานเล็บ (อิสยา จันทรวิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสี ภาณุรัตน์, 2556; Huang et al., 2017)





ภาพประกอบ 2.17 เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* (ที่มา: Kaiser, 2013)

2.5.5 ยีสต์ก่อโรค

2.5.5.1 สกุล Candida

เชื้อในสกุล *Candida* จัดเป็น Yeast-like fungi คือ ตัวเชื้อเป็นยีสต์เซลล์ มีรูปกลมหรือรีสืบพันธุ์โดยการแตกหน่อ (Budding) ได้เป็น blastoconidia และพบสร้างได้ทั้ง true hyphae และ pseudohyphae

เชื้อ *Candida* มีหลาย species ที่เป็นสาเหตุของโรคที่พบบ่อยๆ คือ *Candida albicans* (ประมาณร้อยละ 90 เปอร์เซนต์) รองลงมาได้แก่ เชื้อ *C. tropicalis*, *C. stellatoidea*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* และ *C. guilliermondii* เป็นต้น

แหล่งของเชื้อและการติดเชื้อ พบเชื้อก่อโรคได้ทั่วไปในธรรมชาติในน้ำ อาหาร ดิน และในร่างกายของคน เช่น ที่ผิวหนังในช่องปาก ทางเดินอาหาร ช่องคลอด โดยพบเชื้อได้เป็น normal flora ของคนปกติ การเกิดโรคนอกจากเกี่ยวข้องกับความรุนแรงของตัวเชื้อเองแล้ว ยังเกี่ยวกับสภาวะร่างกายของผู้ป่วยด้วย ผู้ที่เสี่ยงต่อการติดโรคคือ ผู้ที่มีความต้านทานของร่างกายต่ำ ได้แก่ผู้ป่วยโรคมะเร็ง เบาหวาน โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในกระแสเลือดในโรงพยาบาล และโดยเฉพาะอย่างยิ่งในหมู่ผู้ป่วยที่ป่วยหนักและผู้ที่ภูมิคุ้มกันบกพร่อง ผู้ป่วยที่มีการผ่าตัดทางช่องท้อง ผู้ป่วยที่รับยาปฏิชีวนะนาน ๆ สารเตียรอยด์ (steroid) ยาคุมกำเนิดและนอกจากนี้ยังพบบ่อยในเด็ก คนชรา หญิงมีครรภ์ คนอ้วน และในผู้ป่วยหลังการผ่าตัด เป็นต้น โรค candidosis เป็นได้รบบร่างกายทุกระบบ การติดเชื้อมักเป็นแบบ endogenous infection แต่บางครั้งอาจพบ exogenous infection ได้บ้าง (Pongracz *et al.*, 2015)

2.5.5.2 *Candida albicans* (บงกชวรรณ สุตะพาหะ, 2551)

Candida เป็นยีสต์ที่แพร่พันธุ์ด้วยการแตกหน่อคอดเป็นดิ่งเล็กๆ (budding) งอกจากด้านข้างของเซลล์แม่ที่มีลักษณะกลมหรือรี แล้วหลุดออกไปเจริญเป็นเซลล์แม่ตัวใหม่ เรียกสปอร์นี้ว่า blastoconidia ยีสต์ชนิดนี้จะสามารถสร้างสาหร่ายเทียม (pseudohyphae) ซึ่งเกิดจากการแตกหน่อที่ไม่หลุดออกจากกันทำให้เห็นเป็นเส้นยาวมีรอยคอดระหว่างรอยต่อของเซลล์ลักษณะคล้ายสายใส่กรอกที่มัดต่อกัน ณ จุดคอดนี้จะพบการแตกหน่อออกเป็นดิ่งเล็กๆ เกิดขึ้น สาหร่ายเทียมอาจสร้างผนังกัน



เซลล์กลายเป็นสายราแท้ (true hyphae) ได้ สายราแท่นี้อย่างเกิดได้จาก germ tube ที่ยืดยาวออกไป แล้วสร้างผนังกันเซลล์

ลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์ของ *C. albicans*: บน Cornmeal-Tween 80 agar หรือ Rice agar เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบเซลล์ยีสต์รูปร่างกลมถึงรี (3-6×6-10 ไมโครเมตร) เป็นเซลล์เดี่ยวหรืออยู่เป็นกลุ่มแตกหน่อบริเวณรอยคอดของ pseudohyphae และตรวจพบ true hyphae ได้ด้วย ที่ปลายสายราจะมี chlamydospore รูปร่างใหญ่ ผนังหนา สร้างบริเวณใกล้ขอบของ coverslip เช่นเดียวกับเชื้อ *C. dubliniensis* แต่ *C. albicans* มักสร้าง chlamydospore เป็นเซลล์เดี่ยวไม่ค่อยอยู่เป็นคู่หรือเป็นกลุ่ม

ลักษณะเด่นในการช่วยตรวจพิสูจน์: เชื้อเจริญเร็วใน 1-3 วัน โคลนีสีครีม นูน ผิวเรียบมัน ระยะแรกโคโลนีคล้ายเชื้อ Staphylococcus ต่อมาจะสังเกตเห็นเส้นของสายร่ายื่นออกมา รอบโคโลนี เมื่อแกว่งโคโลนีหายาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และเห็นสายราที่ยื่นเข้าไปในเนื้ออาหาร รุนมีลักษณะคล้ายขนนก

การก่อโรคในคน: เชื้อนี้อยู่เป็นปกติที่ผิวหนัง ปาก ช่องคลอด และทางเดินอาหาร เป็นสายพันธุ์ในตระกูล Candida ที่มีความรุนแรงในการก่อโรคสูงที่สุด โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ ในทารก คนชรา หรือผู้ที่เป็นเบาหวาน ลักษณะการเกิดโรคเป็นได้ทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง



ภาพประกอบ 2.18 เชื้อยีสต์ *Candida albicans* (Wikipedia, 2015)

2.5.6 *Microsporum canis*

Kingdom: Fungi

Division: Ascomycota

Class: Eurotiomycetes

Order: Onygenales

Family: Arthrodermataceae

Genus: *Microsporum*

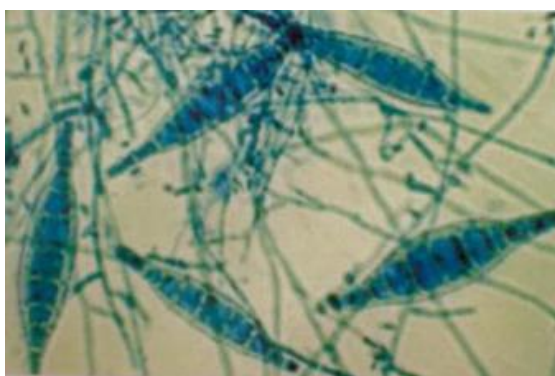
Species: *M. canis*





ภาพประกอบ 2.19 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *M. canis*

เชื้อ *M. canis* เป็นเชื้อราพวก dermatophytes มักจะก่อโรคในสัตว์ โดยเฉพาะแมว และสุนัข โดยแมวจะเป็นแหล่งของเชื้อราที่สำคัญ และสามารถติดสู่ผู้เลี้ยงได้ ซึ่งสามารถก่อให้เกิดโรคกลากที่ศีรษะ หนวด ตามตัวและเล็บ เชื้อ *M. canis* จะมีโคนิเดียขนาดใหญ่ (macroconidia) มีผนังหนา ผิวไม่เรียบ ภายในจะมีเซลล์อยู่ 5-15 เซลล์ ซึ่งโคนิเดียจะเป็นรูปกระสวย ปลายด้านหนึ่งงอคล้ายตะขอ ถ้าผ่าตามยาวโคนิเดียจะมีขนาดไม่เท่ากัน (Sharma *et al.*, 2007; Pasquetti *et al.*, 2017)



ภาพประกอบ 2.20 ลักษณะโคนิเดียของเชื้อรา *M. canis*

2.5.7 *Aspergillus fumigatus* (บงกชวรรณ สุตะพาหะ, 2551)

ลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์: สายราสีมีผนังกัน (2.5-8 ไมโครเมตร) ก้านชูสปอร์หรือ conidiophore อาจสั้นหรือยาว ผิวเรียบหรือผิวหยาบ ตั้งตรงขึ้นมาจาก foot cell ปลายของก้านชูสปอร์พองออกเป็น vesicle มี phialide รูปร่างคล้ายแจกันตั้งอยู่โดยรอบ แถวเดียวเรียก uniseriate phialide แต่บางสายพันธุ์มีเซลล์ที่เรียก metula รองชั้นอีกชั้น เรียก biseriate phialide ที่ปลาย phialide มี conidia รูปกลมหรือรี อาจเรียบหรือหยาบต่อกันเป็นแถวยาวคล้ายโซ่เรียงโดยรอบ *Aspergillus* แต่ละสายพันธุ์ มีลักษณะ conidial head แตกต่างกัน

ลักษณะเด่นในการช่วยตรวจพิสูจน์: เชื้อเจริญเร็วภายในเวลา 3 วัน ยกเว้นบางสายพันธุ์ ระยะแรกโคโลนีเป็นสีขาวซึ่งเป็นสีของสายรา เมื่อมีการสร้างสปอร์ โคโลนีจะมีสีต่างกันไปตามแต่

ละสายพันธุ์ เช่น เชื้อเหืองเหลือง ส้ม น้ำตาล ดำ ผิวโคลนึคัลลายกำมะหยี่ เม็ดทรายหรือปูย ใต้โคลนีส่วนใหญ่สีขาวบางชนิดสีเหลืองน้ำตาล

การก่อโรคในคน: เป็นราปนเปื้อนที่ก่อโรค Aspergillosis มักเกิดกับผู้ที่ภูมิคุ้มกันต่ำ ได้รับ corticosteroids ในปริมาณที่สูงหรือได้รับ cytotoxic drugs การเกิดโรคอาจเป็นแบบก่อภูมิแพ้ ก่อโรคเฉพาะแห่งหรือติดเชื้อแบบลุกลามไปตามอวัยวะต่างๆ เช่น ที่ปอด โพรงจมูก ตา หู เล็บ ผิวหนัง เยื่อเมือกและอวัยวะภายในอื่นๆ เชื้อ *Aspergillus* ที่รู้จักทั้งหมดประมาณ 175 สายพันธุ์ มีเชื้อที่สำคัญ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* และ *A. nidulans* ตรวจพบ dichotomous branching หรือแขนงสายราทำมุม 45 องศาใน tissue ได้



ภาพประกอบ 2.21 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus*

2.5.8 *Penicillium chrysogenum* (บงกชวรรณ สุตะพาหะ, 2551)

ลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์: สายราสีมีผนังกัน ก้านชูสปอร์ที่เรียก conidiophores อาจแตกแขนงหรือไม่ก็ได้ ก้านที่แยกออกไปอีกชั้นเรียก metula บน metula มี phialide รูปร่างคล้ายแจกันรองรับ conidia ที่มีรูปร่างกลม ผนังเรียบหรือหยาบ เรียงต่อกันยาวคล้ายสายโซ่ ลักษณะโดยรวมคล้ายแปรงหรือไม้กวาด (brush)

ลักษณะเด่นในการช่วยตรวจพิสูจน์: เชื้อเจริญเร็วภายใน 4 วัน ที่อุณหภูมิห้องแต่ไม่เจริญหรือเจริญได้ไม่ดีที่ 37°C โดยในระยะแรกโคโลนีสีขาวแล้วค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเขียวอมฟ้า (bluish green) ขอบสีขาว แต่มีบางสายพันธุ์ที่มีสีแตกต่างจากนี้ ผิวโคลนึคัลลายผงแป้ง ใต้โคลนีส่วน แต่หากพบใต้โคลนีส่วนเป็นสีแดงและสีซีดแผ่เข้าไปในเนื้อของอาหารวุ้นให้คำนึงถึงเชื้อ *Penicillium marneffei* ซึ่งเป็นราสองรูปร่าง (dimorphic fungi) ที่จะต้องนำมาทดสอบการเปลี่ยนเป็น yeast form ต่อไป

การก่อโรคในคน: เป็นราปนเปื้อนที่อาจกลายเป็นราฉวยโอกาสก่อโรคกับอวัยวะต่างๆ ของร่างกายได้กว้างขวางมากโดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง เกิดการติดเชื้อที่ กระบอกตา หู ผิวหนัง ระบบหายใจ ทางเดินปัสสาวะ และลึนหัวใจ บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษได้





ภาพประกอบ 2.22 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Penicillium chrysogenum*

2.6 สารต้านจุลชีพ (antimicrobial agent)

สารต้านจุลชีพ คือ สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญหรือทำลายเชื้อจุลชีพทั้งภายในและภายนอกร่างกาย โดยมีคุณสมบัติในอุดมคติคือ เลือกทำลายเฉพาะเชื้อก่อโรคโดยไม่ทำอันตรายต่อเซลล์ในร่างกายของคน (selective toxicity) และการเลือกทำลายนี้จะไม่เปลี่ยนแปลงแม้จะสัมผัสกับอาหาร สารต้านจุลชีพชนิดอื่น หรือสภาวะที่ร่างกายมีความผิดปกติ เป็นเบาหวานหรือโรคไต สารต้านจุลชีพนี้ควรจะละลายได้ในน้ำหล่อเลี้ยงอวัยวะภายในร่างกายเพื่อที่จะเข้าถึงตำแหน่งที่มีเชื้อได้ มีความเสถียรทั้งในกระแสรูทิต น้ำหล่อเลี้ยงอวัยวะภายในร่างกายและเนื้อเยื่อ และไม่ทำให้ผู้ป่วยเกิดอาการแพ้ สารต้านจุลชีพแต่ละชนิดจะมีฤทธิ์จำเพาะต่อจุลชีพประเภทเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ปรสิต และเชื้อไวรัส ซึ่งในที่นี้จะเน้นเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย (อิสยา จันทรวิทย์านุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2556)

2.6.1 แหล่งกำเนิดของสารต้านจุลชีพ (source of antimicrobial agent) (อิสยา จันทรวิทย์านุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2556)

2.6.1.1 จากธรรมชาติ (natural source) ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรียและเชื้อรา ซึ่งเรียกรวมสารต้านจุลชีพที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ในธรรมชาตินี้ว่า ยาปฏิชีวนะ (antibiotics) ได้แก่ ยาเพนิซิลลิน (penicillin) ผลิตจากเชื้อรา *Penicillium notatum* เซฟาโลสปอรินส์ (cephalosporins) ผลิตจากเชื้อรา *Cephalosporium* species คานาไมซิน (kanamycin) ผลิตได้จากเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces kanamyceticus* อีริโทรไมซิน (erythromycin) ผลิตจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces erythreus* เตตราไซคลิน (tetracycline) ผลิตจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces aureofaciens* และยาคลอแรมเฟนิคอล (chloramphenicol) ผลิตได้จากเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces venezuelae*

2.6.1.2 จากการสังเคราะห์ทางเคมี (chemical synthesis) เรียกว่า สารต้านจุลชีพชนิดเคมีสังเคราะห์ ได้แก่ ซัลฟาไดอะซีน (sulfadiazine) และกรดนาลิดิซิก (nalidixic acid)



2.6.2 การทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ (antimicrobial susceptibility testing)

เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดมีแบบแผนการตอบสนองต่อสารต้านจุลชีพที่แตกต่างกันทำให้ต้องมีการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพทางห้องปฏิบัติการ (in vitro) เพื่อนำผลการทดสอบที่ได้ไปใช้เป็นแนวทางในการรักษาผู้ป่วย (in vivo) อย่างถูกต้องต่อไป และช่วยลดปัญหาเชื้อดื้อยา วิธีทดสอบได้แก่ (อิสยา จันทรวิธานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2556)

1) Disk diffusion method (Kirby-Bauer method)

2) Dilution method

2.1) Broth dilution method

2.2) Agar dilution method

2.3) E test (Epsilonometer test)

2.4) ชุดทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพระบบอัตโนมัติ (automated antimicrobial susceptibility testing system)

1) Disk diffusion method (Kirby-Bauer method) Disk diffusion method เป็นวิธีการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพเชิงคุณภาพที่พัฒนาขึ้นมาโดย Kirby, Bauer, Sherris และ Turc ใน ค.ศ. 1966 และได้รับการรับรองเป็นวิธีมาตรฐานโดย Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (ชื่อเดิม National Committee for Clinical Laboratory Standards; NCCLS) เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย สะดวกรวดเร็ว ผลที่ได้มีค่าสอดคล้องกับค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ (minimal inhibitory concentration; MIC) และเป็นข้อมูลเบื้องต้นแก่แพทย์ในการเลือกใช้ยารักษาผู้ป่วย

การรายงานผล (reporting) การอ่านผลจะทำภายหลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 16-24 ชั่วโมง โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่เชื้อถูกยับยั้งการเจริญด้วยไม้บรรทัดหรือคาลิเปอร์ ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว เป็นหน่วยมิลลิเมตร นำผลที่ได้มาเทียบกับค่าในตารางแปลผลมาตรฐานของ CLSI (zone diameter interpretive standard) รายงานผลเป็นไว (susceptible; S) ไวปานกลาง (intermediate; I) หรือดื้อ (resistant; R)

2) Dilution method เป็นวิธีมาตรฐานในการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพเชิงปริมาณ ประกอบด้วยวิธี Broth dilution, agar dilution, Etest และ ชุดทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพระบบอัตโนมัติ ในที่นี้จะกล่าวถึงเพียงวิธี Broth dilution

2.1) Broth dilution method เป็นวิธีมาตรฐานในการทดสอบหาความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพเชิงปริมาณ โดยการเจือจางสารต้านจุลชีพในอาหารเหลวให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ครอบคลุมค่าความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพที่พบในซีรัมของผู้ป่วยหลังได้รับสารต้านจุลชีพชนิดนั้นในระดับปลอดภัย และเติมเชื้อแบคทีเรียลงไปปริมาณที่ถูกต้องภายหลังบ่มเชื้อเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ถ้าความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพสามารถยับยั้งหรือทำลายแบคทีเรียได้อาหารเหลวนั้นจะใสถ้ายับยั้งไม่ได้ อาหารเหลวนั้นจะขุ่น วิธีนี้จะรายงานในเชิงปริมาณหรือเป็นตัวเลข โดยรายงานเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้อย่างสมบูรณ์ (minimal inhibitory concentration; MIC) มีหน่วยเป็น ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ($\mu\text{g/ml}$) ซึ่งสามารถนำไปทดสอบต่อเพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลชีพที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (minimal



bactericidal concentration; MBC) มีหน่วยเป็น ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/ml}$) และสามารถแปลผล MIC ตาม CLSI guideline ทำให้รายงานผลเชิงคุณภาพได้

การรายงานผล (reporting) จะรายงานผลเชิงปริมาณเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้อย่างสมบูรณ์ โดยดูความใสในหลอดหรือหลุมทดลองด้วยตาเปล่า รายงานผลเป็นค่า MIC มีหน่วยเป็น ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/ml}$) และรายงานผลในเชิงคุณภาพ โดยนำค่า MIC ไปเปรียบเทียบกับตารางมาตรฐานของ CLSI รายงานเป็น S (ไว) I (ไวปานกลาง) และ R (ดื้อ) เช่น การทดสอบเชื้อ *P. aeruginosa* โดยใช้ยาอิมิเนม (Eminem) กำหนดให้ค่า MIC ≤ 4 , 8, ≥ 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นไว ไวปานกลาง และดื้อ ตามลำดับ ถ้าทดสอบแล้วได้ค่า MIC เท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รายงานค่า MIC ของเชื้อ *P. aeruginosa* ต่อยาอิมิเนมเท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แปลผลว่าเชื้อไวต่อยาอิมิเนม

การทดสอบ Broth dilution สามารถตรวจหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลชีพที่ฆ่าแบคทีเรียได้ร้อยละ 99.9 (minimal bactericidal concentration; MBC) โดยการเพาะเลี้ยงต่อจากอาหารเหลวที่ใสในหลอดหรือในหลุมทดลองบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่ไม่มีสารต้านจุลชีพ ได้แก่ trypticase soy agar หรือ blood agar ปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-24 ชั่วโมง อ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลชีพที่ไม่มีเชื้อเจริญหรือเจริญไม่เกินร้อยละ 0.1 (เชื้อเจริญน้อยกว่าหรือเท่ากับ 5 โคโลนี) รายงานผลเป็นค่า MBC มีหน่วยเป็น ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/ml}$) (อิสยา จันทรวิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภรณ์, 2556)

2.2) Agar dilution method หลักการก็จะเหมือนกับวิธี Broth dilution method แต่จะแตกต่างกันที่ขั้นตอนการผสมสารต้านจุลชีพความเข้มข้นต่างๆ รวมกับวุ้นหลอมเหลวให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อน แล้วเทวุ้นหลอมเหลวที่ผสมสารต้านจุลชีพลงในจานอาหาร รอให้อาหารแข็งก่อน จะเพาะเชื้อที่ต้องการทดสอบความไวต่อยาลงไป ภายหลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ถ้าความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพสามารถยับยั้งการเจริญได้ จะไม่เห็นโคโลนีเจริญขึ้นบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ รายงานผลความเข้มข้นต่ำสุด รายงานผลเป็นค่า MIC (Forbes *et al.*, 2007; Mahon *et al.*, 2011)

การรายงานผล (reporting) จะอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลชีพที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้คือ ไม่มีโคโลนีของแบคทีเรียขึ้นบริเวณรอยจุด เป็นค่า MIC โดยอ่านค่าผลเชื้อมาตรฐานควบคู่ไปด้วย รายงานผลเป็นค่า MIC และแปลผลในเชิงคุณภาพเหมือนวิธี broth dilution (อิสยา จันทรวิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภรณ์, 2556)

ข้อดีของวิธี agar dilution คือ สามารถรายงานผลได้ทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ ทำให้ทราบระดับดื้อสารต้านจุลชีพของแบคทีเรีย เป็นวิธีที่เหมาะสมกับการทดสอบเชื้อแบคทีเรียจำนวนหลายสายพันธุ์ และเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเหลวไม่ดี ได้แก่ *N.gonorrhoeae*, *Haemophilus*, *Nocardia* และ *Mycobacterium* spp.

ข้อจำกัดของวิธี agar dilution คือ วิธีการค่อนข้างยุ่งยาก มีหลายขั้นตอน ไม่เหมาะสมกับงานประจำ และเป็นวิธีที่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษในการเพาะเชื้อ คือ Steer's replicator

2.3) E test (Epsilometer test) เป็นการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของแบคทีเรียที่มีจำหน่ายในเชิงการค้า ซึ่งพัฒนาขึ้นมาโดยใช้หลักการแพร่กระจายของสารต้านจุลชีพ มีความสะดวกในการปฏิบัติเหมือนการทดสอบ disk diffusion method และรายงานผลเป็นค่า MIC เหมือนการทดสอบวิธี broth หรือ agar dilution method โดยการวางแถบพลาสติก (strip) ขนาด



5x50 มิลลิเมตร ที่ตรึงสารต้านจุลชีพความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นน้อยไปมากแบบต่อเนื่อง (continuous concentration gradient) บนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton agar ที่ทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีเดียวกับการทดสอบ disk diffusion method แล้วนำจานอาหารไปบ่มในสภาวะที่เหมาะสม ถ้าสารต้านจุลชีพสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ จะเกิดวงใสรูปรี (Inhibition ellipse zone) โดยตำแหน่งที่ขอบวงรีตัดกับแถบพลาสติกจะอ่านเป็น MIC วิธีนี้มีข้อดีคือ ทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว รายงานผลเป็นค่า MIC และสามารถนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียทั่วไป รวมทั้งแอนแอโรบส์ และไมโครแบคทีเรีย แต่มีข้อด้อยคือ ราคาของแถบพลาสติก E test ค่อนข้างแพง และแถบพลาสติก 1 แถบ จะประกอบด้วยสารต้านจุลชีพเพียงชนิดเดียว จึงทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียได้สายพันธุ์เดียว ทำให้ไม่เหมาะกับการประจำที่ต้องทดสอบกับสารต้านจุลชีพหลายชนิด (วันวิสาข์ ศิริวัฒนเมธานนท์, 2555)

2.4) การใช้ชุดทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพระบบอัตโนมัติ (automated antimicrobial susceptibility testing system)

VITEK 1 และ VITEK 2 System (bioMerieux, Vitex, Durham, NC.) เป็นการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพระบบอัตโนมัติที่มีจำหน่ายในเชิงการค้า ประกอบด้วยการ์ดพลาสติก (card) ขนาดเล็กที่มีหลุมบรรจุสารต้านจุลชีพความเข้มข้นระดับต่างๆ และหลอดสำหรับดูดเชื้อ (filling tube) ที่ปรับความสูงแล้ว มีปริมาตรที่แน่นอนใส่ในหลุมยาแต่ละหลุม แบบอัตโนมัติ และตู้บ่มสำหรับบ่มการวัด และอ่านผล (incubator reader module) วิธีการอ่านผลจะเทียบความสูงของเชื้อแบคทีเรียในแต่ละหลุม ทุก 15 นาที กับหลุมควบคุมที่ไม่มีสารต้านจุลชีพ ทำการวิเคราะห์และแปลผลด้วยระบบคอมพิวเตอร์ และรายงานผลเป็นค่า MIC ภายใน 4-18 ชั่วโมง

Microscan Walk Away System (Dade Behring, Sacramento, Calif.) ประกอบด้วยถาดขนาดเล็ก (microdilution tray format) ที่มีหลุมบรรจุสารต้านจุลชีพความเข้มข้นต่างๆ จำนวน 96 หลุม อุปกรณ์สำหรับดูดเชื้อ (multiprong device) ใส่ในถาดหลุม และอ่านผล ซึ่งอ่านผลการเจริญของเชื้อโดยใช้ระบบอัตโนมัติ (incubator-reader unit) ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ภายในระยะเวลา 18-24 ชั่วโมง หรือการอ่านผลด้วยระบบฟลูออโรมิเตอร์ (fluorometer) ภายในระยะเวลา 3.5-15 ชั่วโมง รายงานผลเป็นค่า MIC

2.7 ยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial drug)

ยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial drug) คือ ยาที่มีฤทธิ์ในการฆ่า ทำลาย หรือยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ตัวอย่าง เช่น ยาปฏิชีวนะ (ยาฆ่าเชื้อแบคทีเรีย หรือยาต้านแบคทีเรีย) ยาต้านเชื้อไวรัส (ยาฆ่าเชื้อไวรัส) และยาต้านเชื้อรา (ยาฆ่าเชื้อรา) มีชื่อที่ใช้เรียกแทนกันได้ คือ ยาฆ่าเชื้อ (Anti-infective drug) (คณะกรรมการประสานและบูรณาการงานด้านการดื้อยาต้านจุลชีพ, 2558)

ยาปฏิชีวนะ (Antibiotic) คือ ยาที่มีฤทธิ์ในการฆ่า ทำลาย หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ตัวอย่างเช่น penicillin, tetracycline, norfloxacin และ erythromycin เป็นต้น โดยมีชื่อที่ใช้เรียกแทนกันได้ คือ ยาฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และยาต้านเชื้อแบคทีเรีย (Anti-bacterial drug) (คณะกรรมการประสานและบูรณาการงานด้านการดื้อยาต้านจุลชีพ, 2558) ซึ่งยาปฏิชีวนะ แบ่งออกเป็นกลุ่มตามกลไกการออกฤทธิ์ ดังนี้ (กำธร มาลาธรรม, 2560)



2.7.1 ยาที่ยับยั้ง หรือขัดขวางการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย

2.7.1.1 β -lactams และยาอื่นที่มีโครงสร้างคล้ายกัน ได้แก่ ยากลุ่ม penicillins ทั้งหมด cephalosporins และ carbapenems

2.7.1.2 Glycopeptide ได้แก่ vancomycin และ teicoplanin

2.7.1.3 Fosfomycin

2.7.2 ยาที่ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน

2.7.2.1 Aminoglycoside

2.7.2.2 Macrolides ได้แก่ ยา erythromycin, roxithromycin, azithromycin, clarithromycin และ lincosamide (clindamycin)

2.7.2.3 Tetracycline เช่น tetracycline, minocycline, doxycycline

2.7.2.4 Glycylcyclines ชนิดนี้มีเพียงชนิดเดียวคือ tigecycline

2.7.3. ยาที่ยับยั้งการสังเคราะห์สารตั้งต้น ในกระบวนการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก ได้แก่ trimethoprim และ sulfa

2.7.4. ยาที่ขัดขวางกระบวนการแบ่งตัว และการถอดรหัสพันธุกรรม คือ ยากลุ่ม fluoroquinolone

2.7.5. ยาอื่น เช่น Metronidazole

2.7.1 ยาที่ยับยั้ง หรือขัดขวางการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย

2.7.1.1 ยาปฏิชีวนะในกลุ่ม β -lactams และยาอื่นๆ ที่มีโครงสร้างคล้ายกัน เป็นกลุ่มยาปฏิชีวนะที่มียาหลากหลายที่สุด และมีขอบเขตการออกฤทธิ์ครอบคลุมเชื้อได้ค่อนข้างกว้างขวางตามชนิดของยา ยาในกลุ่มนี้ ได้แก่

1) ยา Penicillin และ derivatives คือ ampicillin, amoxycillin (amoxicillin), cloxacillin และ piperacillin โดยทั่วไป ยากลุ่มนี้ออกฤทธิ์ต้านเชื้อแกรมบวก เช่น streptococci และ Gram-positive anaerobes ได้ดี ampicillin และ amoxycillin มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Enterococcus faecalis* ได้ดีกว่า penicillin อื่นๆ ส่วนยา cloxacillin นั้นเป็นยาที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ดีที่สุด piperacillin จัดเป็น anti-pseudomonal penicillin เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบดีกว่า penicillin อื่นรวมทั้งสามารถยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ได้ดีพอสมควร สำหรับ ampicillin, amoxycillin, และ piperacillin ได้มีการเติม sulbactam, clavulanate, และ tazobactam ตามลำดับ สารเหล่านี้เป็น β -lactamase inhibitor ที่โดยทั่วไปมีเพียงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ β -lactamase เท่านั้นไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (ยกเว้น sulbactam ที่อาจมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *A. baumannii* บางสายพันธุ์ได้) การเพิ่ม β -lactamase inhibitor เข้าไปทำให้ ampicillin และ amoxycillin มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* และแบคทีเรียแกรมลบได้ดีขึ้น และ tazobactam ก็ทำให้ piperacillin ทนต่อ β -lactamase ของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ และ anaerobes ในลำไส้ได้ดีขึ้น แต่ β -lactamase inhibitors เหล่านี้ ไม่สามารถยับยั้ง β -lactamase ของเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ (การรณมาลาธรรมชาติ, 2560)

2) Cephalosporins นิยมแบ่งยากลุ่มนี้ออกเป็นรุ่นตามขอบเขตการออกฤทธิ์ต้านเชื้อ คือรุ่นที่ 1 จะออกฤทธิ์ต้านเชื้อแกรมบวก รวมทั้ง *S. aureus* ได้ดี อาจต้านเชื้อแกรมลบได้เล็กน้อย ยาในรุ่นที่ 1 เช่น cefazolin เป็นยาฉีด และ cephalexin เป็นยารับประทาน cephalosporin รุ่นที่ 2



ด้านเชื้อแกรมลบได้ดีกว่ารุ่นที่ 1 ที่มีใช้ขณะนี้ คือ cefuroxime และ cefoxitin (cephamycin) และมีฤทธิ์ต้านเชื้อ anaerobes ได้ด้วย จึงเหมาะที่จะใช้รักษากำรติดเชื้อในช่องท้อง แต่จุดอ่อนของ cefoxitin คือทนต่อ β -lactamase ไม่ดี และชักนำให้เชื้อดื้อยาได้บ่อย จึงไม่เป็นที่นิยมใช้ และหากใช้ไม่ควรใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน ส่วน cephalosporins รุ่นที่ 3 แบ่งเป็นกลุ่มที่ต้านเชื้อแกรมบวกได้ ด้านเชื้อแกรมลบโดยทั่วไปได้ดีมาก แต่ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. aeruginosa* ซึ่งมีทั้งยาฉีด (ceftriaxone และ cefotaxime) และยารับประทาน (cefditoren, cefdinir, cefpodoxime, และ cefixime) กับกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. aeruginosa* ดี ด้านเชื้อแกรมลบอื่นได้ดีแต่อาจไม่เท่ากลุ่มแรก และด้านเชื้อแกรมบวกได้ไม่ดีพอที่จะใช้ในการรักษา ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ ceftazidime และ cefoperazone สำหรับ cefoperazone นั้น ยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อ anaerobes ได้ด้วย รุ่นที่ 4 ซึ่งเป็น anti-pseudomonal cephalosporin ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแกรมบวกได้ด้วย เช่น cefepime และ ceftazidime ยาทั้งสองชนิดนี้ครอบคลุม *P. aeruginosa* ได้ใกล้เคียงกับ ceftazidime ถ้าเชื้อคือ ceftazidime ก็มักจะดื้อยาทั้งสองนี้ไปด้วยกัน ในด้านของเชื้อแกรมบวกนั้น แม้ยาทั้งสองนี้จะยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ แต่ก็ต้องใช้ในระดับที่สูงกว่า cloxacillin คือมี minimal inhibitory concentration (MIC) 2-4 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ในขณะที่ MIC cloxacillin นั้น ประมาณ 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม เท่านั้น (กำธร มาลาธรรม, 2560)

2.7.1.2 Glycopeptides Vancomycin และ teicoplanin มีบทบาทมากขึ้นเมื่อมีการระบาดของเชื้อ MRSA จนทำให้แพทย์จำนวนมากเลือกใช้ยานี้เพื่อรักษาการติดเชื้อ *S. aureus* แต่ความจริงหากเชื้อไม่ดื้อต่อ β -lactams ยาในกลุ่ม glycopeptide จะทำลายเชื้อได้ไม่ดีเท่ากับ β -lactams ดังนั้นในขณะนี้ที่เชื้อ MRSA ส่วนใหญ่ยังจำกัดอยู่ในโรงพยาบาล จึงไม่ควรใช้ glycopeptide สำหรับการรักษาการติดเชื้อ *S. aureus* ที่มาจากชุมชน vancomycin เป็นยาที่มีโอกาสทำให้เกิดปฏิกิริยาการแพ้ได้ไม่บ่อยเท่า β -lactams แต่ต้องให้ทางหลอดเลือดดำช้าๆ เพราะหากให้เร็วจะกระตุ้นการหลั่ง histamine ทำให้หลอดเลือดขยายตัวคล้ายกับ anaphylaxis และอาจทำให้ความดันโลหิตตกได้ (กำธร มาลาธรรม, 2560)

ยาอื่นที่อาจใช้สำหรับการรักษาการติดเชื้อ MRSA มีหลายชนิด เช่น fosfomycin, fusidic acid, linezolid, tigecycline และเชื้อบางสายพันธุ์ยังอาจไวต่อ clindamycin ด้วย (กำธร มาลาธรรม, 2560)

2.7.2 ยาที่ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน

2.7.2.1 Aminoglycoside เป็นยาที่มีประโยชน์มากในการรักษาโรคติดเชื้อ เนื่องจากสามารถฆ่าเชื้อหลายชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ทั้งที่กลไกหลักในการออกฤทธิ์คือการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน ซึ่งเชื้อจะไม่ตาย (กำธร มาลาธรรม, 2560) ยาในกลุ่ม aminoglycosides ผลิตหรือสังเคราะห์ได้จากเชื้อแบคทีเรียใน family actinomycete genus คือ *Streptomyces* และ *Micromonospora* โดยจะสังเกตได้ว่ายาในกลุ่มนี้ที่ลงท้ายด้วย -mycin จะผลิตได้จากเชื้อใน genus *Streptomyces* แต่ถ้าลงท้ายด้วย -micin จะผลิตได้จากเชื้อใน genus *Micromonospora* ปัจจุบัน ยาในกลุ่ม aminoglycosides ที่นำมาใช้ทางคลินิกในปัจจุบันมี 13 ชนิด ได้แก่ Streptomycin, Neomycin, Kanamycin, Paromomycin, Spectinomycin, Gentamicin, Tobramycin, Sisomicin, Dibekacin, Amikacin, Netilmicin, Isepamicin และยา Arbekacin (Habekacin) ซึ่งยา amikacin, netilmicin, dibekacin, isepamicin และยา arbekacin จะเป็นยา



ในกลุ่ม semisynthetic aminoglycosides ยาชนิดอื่นๆ ที่เหลือในกลุ่มนี้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการ fermentation ที่มีสารเคมีอื่นๆ เป็นองค์ประกอบรวมด้วย 2-3 ชนิด ยาในกลุ่มนี้ที่ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยา ประเทศสหรัฐอเมริกา มี 9 ชนิด ยกเว้นยา sisomicin, dibekacin, isepamicin และ arbekacin ซึ่งได้รับการรับรองในประเทศญี่ปุ่นและประเทศทางแถบยุโรป (ศิริลักษณ์ อนันต์ณัฐศิริ และ เฟลินจันท์ เซษฐโชติศักดิ์, 2560)

กลไกการออกฤทธิ์ (Mechanism of action) ยาในกลุ่ม aminoglycosides มีฤทธิ์เป็น bactericidal drugs โดยยาจะจับกับ 30S ribosomal subunit ใน messenger RNA ที่ตำแหน่ง A ซึ่งอยู่ในส่วนของ 16S reverse transfer RNA ใน 30S ribosomal subunit ส่งผลให้กระบวนการ mRNA translation และ translocation เสียไป ทำให้มีการสร้างโปรตีนลดลงและสร้างโปรตีนที่ผิดปกติ คุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์เสียไปทำให้เกิดการรั่วไหลของสารที่มีประจุออกนอกเซลล์และยับยั้งการแบ่งตัวของ DNA ยาจะจับกับ ribosome ของ prokaryotic cells ได้ดีกว่าของ eukaryotic cells เนื่องจากการแทนที่ของ adenosine ที่ตำแหน่ง 1408 ด้วย guanosine ใน eukaryotic ribosome ทำให้ยาจับกับ ribosome ได้ลดลง (ศิริลักษณ์ อนันต์ณัฐศิริ และ เฟลินจันท์ เซษฐโชติศักดิ์, 2560)

การที่ยาจะเข้าไปจับกับ ribosome ได้นั้นต้องผ่านกระบวนการหลายขั้นตอน เริ่มต้นจากการจับของยากับผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียโดยอาศัยความแตกต่างของประจุ (electrostatic binding) ถ้าเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ยาจะไปจับกับส่วนที่เป็นประจุลบบน phospholipids, lipopolysaccharides (LPS) และ outer membrane protein ถ้าเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ยาจะไปจับกับส่วนที่เป็นประจุลบบน phospholipids และ teichoic acid ซึ่งขั้นตอนนี้จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและไม่ต้องใช้พลังงาน ยาจะไปแทนที่ Mg^{2+} และ Ca^{2+} ซึ่งเป็นตัวเชื่อมต่อระหว่างโมเลกุลของ LPS ทำให้การจัดเรียงตัวของ LPS เสียไป ผนังเซลล์ชั้นนอก (outer membrane) ฉีกขาด มีรูเกิดขึ้นและการควบคุมการซึมผ่านของสารต่างๆ เสียไป หลังจากนั้นยาจะเข้าสู่ periplasmic space กระบวนการต่อมาที่จะนำยาผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปเพื่อจับกับ ribosome ได้นั้นต้องอาศัยพลังงานที่ได้จากกระบวนการหายใจของเซลล์แบคทีเรีย ซึ่งแบ่งออกได้ 2 ระยะคือ ระยะแรก (energy-dependent phase I; EDP-I) เป็นกระบวนการที่นำยาผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่ cytoplasm เกิดขึ้นอย่างช้าๆ เป็น rate-limiting step ต้องอาศัยพลังงานที่ได้จาก electrochemical gradient ของ proton ที่ถูกสร้างขึ้นในระหว่างกระบวนการหายใจของเซลล์หรือกระบวนการ hydrolysis ของ ATP ระยะนี้สามารถถูกยับยั้งได้โดย divalent cations (Mg^{2+} และ Ca^{2+}) ภาวะ hyperosmolarity ภาวะเป็นกรด และภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (anaerobic condition) ในระยะนี้ยาจะเข้าสู่ cytoplasm ของเซลล์แบคทีเรียได้เพียงเล็กน้อยยาจะไปจับกับ ribosome ทำให้มีการสร้างสารโปรตีนที่ผิดปกติซึ่งจะถูกเซลล์แบคทีเรียนำไปใช้ในการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ส่งผลให้คุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียเสียไป เริ่มเข้าสู่ระยะที่ 2 (energy-dependent phase II; EDP-II) ซึ่งเป็นระยะที่มีการลำเลียงยาจำนวนมากผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียอย่างรวดเร็ว ระดับยานอกเซลล์ที่สูงจะทำให้ระดับยาภายในเซลล์สูงขึ้นเร็วตามไปด้วยจนถึงระดับที่ไปกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ EDP-II โดยทั่วไปเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่จะตายหลังจากเกิดกระบวนการ EDP-II ไปแล้วประมาณร้อยละ 25 ของ maximum EDP-II uptake ระดับของยาภายในเซลล์ที่สูงเป็นผลจากการที่ยาจะไปปิด voltage-gated channels ทำให้ยาถูกจับไว้ในเซลล์ (ศิริลักษณ์ อนันต์ณัฐศิริ และ เฟลินจันท์ เซษฐโชติศักดิ์, 2560)



1) Gentamicin ยังมีประโยชน์ในการรักษาการติดเชื้อแกรมบวกบางชนิด เช่น การติดเชื้อ *Enterococcus* spp. ที่รุนแรงเช่น bacteremia ใน immunocompromised host และ bacterial endocarditis จากเชื้อ streptococci ที่ไม่ไวต่อ penicillin มากนัก (MIC penicillin >0.06 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เชื้อ *Enterococcus* spp. และ *S. aureus* ในกรณีนี้ ต้องผ่านการทดสอบแล้วในห้องปฏิบัติการว่าจะเกิด synergistic effect ได้ คือไม่มีการดื้อยา aminoglycoside ระดับสูง และการให้ยาจะไม่ให้ในขนาดสูง คือให้เพียง 1 mg/kg/day แบ่งให้ทุก 8-12 ชั่วโมง (คำธรรมาลาธรรม, 2560)

ข้อจำกัดในการใช้ยาในกลุ่ม aminoglycosides คือในสภาวะแวดล้อมที่เป็นกรด เช่นในโพรงหนอง ยาจะออกฤทธิ์ได้ไม่ดี นอกจากนี้การที่ยาถูกขับถ่ายออกทางไตทั้งหมด จึงไม่เหมาะที่จะใช้รักษาการติดเชื้อในตับและทางเดินน้ำดี (คำธรรมาลาธรรม, 2560)

2.7.2.2 ยา Macrolides ได้แก่ยา erythromycin, roxithromycin, azithromycin, clarithromycin และ lincosamide (clindamycin) มีโครงสร้างต่างกัน แต่กลไกการออกฤทธิ์ และกลไกการดื้อยาเหมือนกัน ดังนั้นหากใช้ยาในกลุ่ม macrolides แล้วไม่ได้ผลก็ไม่ควรจะนำมาใช้อีก เชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เช่น streptococci และ staphylococci จะไวต่อยานี้อยู่พอสมควร แม้จะมีอัตราการดื้อยาสูงขึ้นบ้าง ยาในกลุ่ม macrolides ต่างจาก lincosamide คือ มีฤทธิ์ต้านเชื้อกลุ่ม “atypical” (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, และ *Legionella pneumophila*) ส่วนยา azithromycin และยา clarithromycin นั้น ยังมีประโยชน์ในการรักษาการติดเชื้อ non-tuberculous mycobacteria เช่น *M. avium-intracellulare* complex อีกด้วย (คำธรรมาลาธรรม, 2560)

2.7.2.3 Tetracycline เช่น tetracycline, minocycline, doxycycline ปัจจุบันมีที่ใช้ไม่มากเนื่องจากเชื้อมักจะดื้อต่อยา หากไม่มีปัญหานี้ โดยปกติยาในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อแกรมบวกเป็นส่วนใหญ่ ปัจจุบันมักใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ Rickettsia ซึ่งโดยส่วนใหญ่หากเป็น murine หรือ scrub typhus ใช้มักจะลดลงภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง หลังได้ยา doxycycline (คำธรรมาลาธรรม, 2560)

2.7.2.4 Glycylcyclines ขณะนี้มีเพียงชนิดเดียวคือ tigecycline เป็นอนุพันธ์ของ minocycline ที่ขณะนี้มีเพียงชนิดเดียวคือ tigecycline ยานี้สามารถยับยั้งเชื้อแกรมบวก ได้แก่ streptococci, enterococci รวมทั้งสายพันธุ์ที่ดื้อ vancomycin, staphylococci (methicillin-susceptible และ methicillin-resistant) และยังสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้หลายชนิด เช่น Enterobacteriaceae (with or without ESBL production) และมีรายงานว่าอาจมีฤทธิ์ต้าน *A. baumannii* ด้วย (คำธรรมาลาธรรม, 2560)

2.7.3 ยาที่ยับยั้งการสังเคราะห์สารตั้งต้น ในกระบวนการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก
ได้แก่ trimethoprim และ sulfa มียาเดี่ยวที่เคยใช้ในอดีต เช่น sulfadiazine แต่ในทางปฏิบัติ ยานี้ก็ต้องใช้ร่วมกับยาอื่น คือ pyrimethamine สำหรับการรักษา toxoplasmic encephalitis แต่เนื่องจากปัจจุบันไม่มี pyrimethamine ที่เป็นยาเดี่ยว sulfadiazine จึงไม่มีที่ใช้ ยาในกลุ่มนี้ในปัจจุบันมีเพียงยาผสมยา trimethoprim และ sulfamethoxazole (TMP/SMX) 80/400 มิลลิกรัม หรือยา co-trimoxazole ซึ่งมีข้อบ่งชี้ค่อนข้างจำกัด เช่น ใช้รักษาการติดเชื้อ *Nocardia* spp., *Pneumocystis jirovecii* หรือใช้ร่วมกับ ceftazidime ในการรักษาโรค melioidosis และป้องกันการเป็นโรคปอดบวม



จากเชื้อ *Pneumocystis jirovecii* ในผู้ป่วยโรคเอดส์ เป็นต้น ในอดีตเคยมีการใช้ยานี้ในการรักษาโรคติดเชื้อแกรมลบบางชนิด เช่น การติดเชื้อที่ระบบทางเดินปัสสาวะ ใช้ไทพอยด์ อูจจาระร่วงจากเชื้อ *Shigella* spp. แต่ในปัจจุบัน มีอัตราการดื้อยาค่อนข้างสูง จึงไม่นิยมใช้ TMP/SMX ในการรักษาโรคเหล่านี้โดยไม่ทราบผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยา อย่างไรก็ตาม หากตรวจพบว่าเชื้อไม่ดื้อยา หรือผู้ป่วยอยู่ในถิ่นที่มีปัญหาเชื้อดื้อยาไม่มากนัก ก็สามารถใช้นี้ในการรักษาโรคต่างๆ ดังกล่าวได้ ข้อดีของยานี้ คือหาได้ง่าย และมีทั้งในรูปแบบฉีดและยารับประทาน สามารถถูกดูดซึมได้ดีจากทางเดินอาหาร ทำให้ผู้ป่วยไม่จำเป็นต้องอยู่ในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน ข้อเสียคือ ผู้ป่วยบางกลุ่มอาจมีแนวโน้มที่จะแพ้ยาได้ ถ้าผู้ป่วยมีปฏิกิริยาการแพ้ที่รุนแรง เช่น Steven-Johnson's syndrome หรือ toxic epidermal necrolysis ถือเป็นข้อห้ามในการใช้นี้ อีกกรณีหนึ่งคือ fixed-drug eruption ซึ่งแม้จะไม่รุนแรง แต่ก็ยังเป็นปัญหากับผู้ป่วยมาก เป็นข้อห้ามในการใช้ต่อไปเช่นกัน (กัธธ มาลาธรรม, 2560)

2.7.4 ยาที่ขัดขวางกระบวนการแบ่งตัว และการถอดรหัสพันธุกรรม คือยาในกลุ่ม fluoroquinolone ยากลุ่มนี้คือ Fluoroquinolone ซึ่งได้จากการเติม fluorine เข้าไปในโมเลกุลของ nalidixic acid ซึ่งเป็น quinolone ตัวแรกที่ใช้ที่มีการเติม fluorine และ side chain อื่นๆ เข้าไป ทำให้ได้ fluoroquinolones ที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้มากขึ้น โอกาสการดื้อยาน้อยลง การดูดซึมและการกระจายตัวของยาเข้าไปในเนื้อเยื่อต่างๆ ดีขึ้น มี fluoroquinolones หลายชนิด บางชนิดถูกนำมาใช้เพียงไม่นานก็ต้องถูกระงับไป เนื่องจากผลข้างเคียงที่รุนแรง ยาที่มีใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ norfloxacin, ofloxacin, levofloxacin, ciprofloxacin, และ moxifloxacin ยาในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อแกรมลบได้ดี โดย ciprofloxacin นอกจากจะสามารถทำลายเชื้อแกรมลบโดยทั่วไปได้ดีแล้ว ยังมีคุณสมบัติต้านเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ levofloxacin ส่วน norfloxacin และ ofloxacin สามารถทำลายเชื้อแกรมลบอื่นๆ นอกจาก *P. aeruginosa* ได้ ยาที่ได้รับการพัฒนามาภายหลัง เช่นยา levofloxacin และยา moxifloxacin จะมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่า fluoroquinolones รุ่นแรกๆ และยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อกลุ่มที่ก่อโรค atypical pneumonia เช่น *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, และ *Chlamydia pneumoniae* ได้ดี จึงอาจเรียกยาทั้งสองนี้ว่า respiratory fluoroquinolones โดยที่ยา moxifloxacin จะมี MIC ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกต่ำกว่า MIC ของยา levofloxacin เชื้อชนิดอื่นๆ ที่ไวต่อยาในกลุ่มนี้ ได้แก่ *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium-intracellulare*, *Brucella* spp.

ข้อบ่งชี้การใช้ยากลุ่ม fluoroquinolones ได้แก่ การรักษาภาวะติดเชื้อรื้อกลับในระบบอวัยวะต่างๆ เช่น ปอด ทางเดินปัสสาวะ ตับ และทางเดินน้ำดี (ciprofloxacin, moxifloxacin) อาจใช้เป็นยาสำรองในการรักษาวัณโรคในกรณีที่ผู้ป่วยแพ้ยาอื่นหรือเชื้อดื้อยาอื่น ซึ่งจะต้องใช้ร่วมกับยาหลายชนิดเสมอ และประสิทธิภาพในการรักษา จะไม่ดีเท่ากับสูตรยามาตรฐาน จึงต้องยืดระยะเวลาการรักษาออกไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าผู้ป่วยไม่ได้รับยา isoniazid, rifampicin อย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้งสองอย่าง สำหรับการติดเชื้อในระบบประสาทส่วนกลาง อาจมีปัญหาการซึมผ่านของยา และยังไม่มีความเพียงพอในแง่ประสิทธิภาพของยากลุ่มนี้ และเนื่องจากในปัจจุบัน อัตราการดื้อยาของเชื้อในชุมชนเริ่มสูงขึ้น จึงไม่ควรใช้นี้เป็นยาเดี่ยวในการรักษาผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อรุนแรงจากชุมชน (กัธธ มาลาธรรม, 2560)



2.7.5 ยาอื่น เช่น Empirical therapy การให้ยาปฏิชีวนะที่ตรงกับเชื้อก่อโรคโดยเร็วที่สุด เป็นปัจจัยสำคัญอย่างยิ่งในการรักษาโรคติดเชื้อให้ได้ผลดี ในทางปฏิบัติแพทย์อาจไม่สามารถทราบชนิดของเชื้อก่อโรคได้ทันที ดังนั้นส่วนใหญ่จึงมักต้องให้ยาไปก่อนที่จะทราบชนิดของเชื้อก่อโรค (Empirical therapy) ซึ่งบ่อยครั้งต้องอาศัยการเพาะเชื้อในห้องปฏิบัติการ ใช้เวลาประมาณ 3-5 วัน ในสถานการณ์จริง เราไม่สามารถรอได้นานเท่านั้น การให้ยาแบบ empirical therapy จึงมีความจำเป็นในกรณีนี้ แพทย์ควรสามารถให้การวินิจฉัยกลุ่มอาการของการติดเชื้อ รวมทั้งระบบอวัยวะที่มีการติดเชื้อ ตลอดจนโรคระบาดวิทยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบบแผนความไวของเชื้อก่อโรคต่อยาปฏิชีวนะในพื้นที่ที่ตนเองปฏิบัติงานอยู่ ทั้งนี้เพราะแม้จะเป็นเชื้อชนิดเดียวกัน แต่ในสถานที่ต่างๆ เชื้ออาจมีแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะต่างกัน (กัทร มาลาธรรม, 2560)

2.7.6 ยาคีโตโคนาโซล (Ketoconazole) เป็นยาที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาตั้งแต่ปี ค.ศ.1976 มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ป้องกันและรักษาการติดเชื้อราทางผิวหนัง มีการนำยานี้มาใช้รักษาเชื้อรากับผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันต้านทานโรคบกพร่อง หรือผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งที่อยู่ในช่วงการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด รูปแบบของยาที่มีวางขายตามร้านขายยาและสถานพยาบาล เช่น แชมพูขจัดรังแค ยาครีมทาผิวหนัง ยาเม็ดสำหรับรับประทาน ยานี้สามารถดูดซึมได้ดีในภาวะที่เป็นกรด จึงมีการแนะนำไม่ให้อาหารรับประทานพร้อมกับยาลดกรดด้วยทำให้การดูดซึมลดลง (อภัย ราชวรวิจิตร, 2560)

ยาคีโตโคนาโซลถูกขับออกจากร่างกายทางน้ำดีและทางปัสสาวะ มีการทดสอบการใช้ยากับสัตว์ทดลองที่ตั้งครรภ์พบว่าก่อให้เกิดความพิการของตัวอ่อนในครรภ์ จึงห้ามใช้ยาคีโตโคนาโซลชนิดรับประทานในหญิงมีครรภ์ ด้วยอาจก่อให้เกิดความพิการต่อทารกหรืออาจทำให้ทารกเสียชีวิตได้ ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยในการใช้ยาควรต้องได้รับคำปรึกษาจากแพทย์หรือเภสัชกรเท่านั้น ยาคีโตโคนาโซล ออกฤทธิ์โดยยับยั้งการสังเคราะห์สารอาหารในเชื้อรา พร้อมกับลดการลำเลียงสารอาหารที่ผนังเซลล์ของเชื้อรา จนทำให้เชื้อราขาดสารอาหารและหยุดการเจริญเติบโตในที่สุด (อภัย ราชวรวิจิตร, 2560)



บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (experimental research) เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ของพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางยา โดยวิธีการวิจัยได้นำเสนอตามลำดับ ดังนี้

3.1 วัสดุอุปกรณ์

3.1.1 แบคทีเรีย รา และยีสต์ที่ใช้ในการทดลอง

- 1) *Staphylococcus aureus* DMST4212
- 2) *Staphylococcus epidermidis* DMST518
- 3) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20625
- 4) *Bacillus cereus* DMST5040
- 5) *Escherichia coli* ATCC25922
- 6) *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739
- 7) *Candida albicans* NCYC854
- 8) *Microsporum canis*
- 9) *Aspergillus fumigatus* TISTR3464
- 10) *Penicillium chrysogenum* TISTR3555

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

- 1) Nutrient Broth (NB) (Himedia)
- 2) Nutrient Agar (NA) (Himedia)
- 3) Muller Hinton Broth (MHB) (Himedia)
- 4) Muller Hinton Agar (MHA) (Himedia)
- 5) Sabouraud Dextrose Broth (SDB) (Himedia)
- 6) Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (Himedia)
- 7) Potato Dextrose Agar (PDA) (Himedia)
- 8) Potato Dextrose Broth (PDB) (Himedia)

3.1.3 ยาปฏิชีวนะ

- 1) Gentamicin (T.P. drug laboratories) ความเข้มข้น 0.015 mg/ml (ใช้เป็น positive control สำหรับเชื้อแบคทีเรีย)
- 2) Ketoconazole (Sigma-Aldrich) ความเข้มข้น 80 µg/ml (ใช้เป็น positive control สำหรับเชื้อยีสต์ และเชื้อรา)



3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- 1) Ethanol 95% (merck)
- 2) Ethanol 95% (merck)
- 3) แอลกอฮอล์ 70%
- 4) สารละลาย Normal saline solution (0.85%)
- 5) 10% DMSO (Dimethyl sulfoxide) (Sigma-Aldrich)
- 6) Tween 80
- 7) McFarland Standard No. 0.5
- 8) $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (barium chloride) (merck)
- 9) H_2SO_4 (sulfuric acid) (merck)
- 10) Agar

3.1.5 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- 1) ไม้พันสำลี (swab)
- 2) จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- 3) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
- 4) กระบอกตวง (Cylinder)
- 5) Cork borer No.4
- 6) กระบอกฉีดยา
- 7) ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 8) กรวยแก้ว
- 9) ปีกเกอร์ (Beaker)
- 10) ปิเปต (Pipette)
- 11) ปีกเกอร์สแตนเลส
- 12) ลูป (Loop)
- 13) เข็มเย็บเย็บ (Needle)
- 14) หัวกรองน้ำเชื้อ Whatman 0.45 μm
- 15) กระดาษกรอง Whatman No.1
- 16) หลอดทดลอง
- 17) ไมโครปิเปต
- 18) คีมคีบ (Forceps)
- 19) ถังพลาสติกและหนังยาง
- 20) เวอร์เนียคาลิเปอร์ (vernier caliper)
- 21) ตู้เย็บเย็บ



3.1.6 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

- 1) เครื่องชั่งสาร (Balance)
- 2) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- 3) หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) รุ่น ES-315 บริษัท Tomy
- 4) ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar air flow cabinet)
- 5) ตู้อบไอร้อน (Hot air oven)
- 6) ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) รุ่น INE 200 บริษัท Memmert
- 7) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
- 8) เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator)
- 9) เครื่องนับจำนวนเซลล์ (Haemocytometer)
- 10) กล้องจุลทรรศน์

3.1.7 สมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง

- 1) ดีปลี (ผลแก่)
- 2) มะตูม (ผลแก่)
- 3) ใบหม่อน (ใบ)
- 4) ใบชา (ชาเขียว และชาอู่หลง)
- 5) ดอกคำฝอย (ดอก)
- 6) มะนาว (เปลือกมะนาวสด)
- 7) ใบชะพลู (ใบแก่)
- 8) ดอกแค (ดอกบาน)
- 9) ใบยอ (ใบแก่)
- 10) ใบเตย (ใบแก่)

3.2 วิธีดำเนินการทดลอง

3.2.1 เก็บรวบรวมตัวอย่างพืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง

ทำการเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร (ใบยอ ชะพลู ใบเตย แคบ้าน และ มะนาว) และเลือกซื้อสมุนไพร (ใบหม่อน ดอกคำฝอย ใบชา (ชาเขียว และ ชาอู่หลง) มะตูม และ ดีปลี) ในช่วงเดือนมกราคม ถึง มีนาคม พ.ศ. 2559 สถานที่เก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร และ แหล่งที่ขายพืชตัวอย่าง แสดงในตาราง ภาคผนวก ก.1

3.2.2 สายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ

เชื้อแบคทีเรียทดสอบ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* DMST4212, *Staphylococcus epidermidis* DMST518, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20625, *Bacillus cereus* DMST5040, *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739 และเชื้อยีสต์ *Candida albicans* NCYC854 ได้รับความอนุเคราะห์จากกระทรวง



สาธารณสุข กรุงเทพมหานครฯ เชื้อรา ได้แก่ *Aspergillus fumigatus* TISTR3464 และ *Penicillium chrysogenum* TISTR3555 ซึ่งมาจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย และ เชื้อกลาก *Microsporum canis*

3.2.3 การเตรียมสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบ

1) การสกัดสมุนไพรด้วยน้ำ นำสมุนไพรสดมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่องอบไอร้อน (Hot air oven) บดตัวอย่างให้ละเอียด พืชสมุนไพรที่นำมาให้นำไปบดให้ละเอียด แล้วสกัดด้วยน้ำในอัตราส่วนสมุนไพรต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 5 นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที กรองด้วยผ้าขาวบางแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เพื่อกำจัดเศษตะกอนขนาดเล็กๆ ของสมุนไพร นำส่วนของน้ำสมุนไพรที่กรองไว้ มาทำการระเหยเอาส่วนที่เป็นตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่อง rotary evaporator ระเหยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้สารที่มีลักษณะเหนียวเหนียวเก็บใส่ขวดสีชานำไปแช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการจะใช้สารสกัดสมุนไพรในการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ นำสารสกัดนั้นไปละลายใน 10% DMSO โดยใช้ในอัตราส่วน 500 mg/ml แล้วจึงเตรียมสารสกัดสมุนไพรเป็น stock solution ความเข้มข้น 500 mg/ml กรองด้วยหัวกรองฆ่าเชื้อขนาด 0.45 ไมโครเมตร เพื่อให้ stock solution ปราศจากเชื้อ (Djeussi *et al.*, 2013)

2) การสกัดสมุนไพรด้วยเมทานอล และเอทานอล นำพืชสมุนไพรสดมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่องอบไอร้อน (Hot air oven) บดตัวอย่างให้ละเอียด พืชสมุนไพรที่นำมาให้นำไปบดให้ละเอียด แล้วนำไปแช่ในเมทานอล และ เอทานอล ด้วยอัตราส่วนสมุนไพรต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1 ต่อ 5 หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน กรองด้วยผ้าขาวบาง กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำส่วนของน้ำสมุนไพรที่กรองไว้ มาทำการระเหยเอาส่วนที่เป็นสารละลายออก โดยใช้เครื่อง rotary evaporator ระเหยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้สารที่มีลักษณะเหนียวเหนียวเก็บใส่ขวดสีชานำไปแช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการจะใช้สารสกัดสมุนไพรในการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ นำสารสกัดนั้นไปละลายใน 10% DMSO โดยใช้ในอัตราส่วน 500 mg/ml แล้วจึงเตรียมสารสกัดสมุนไพรเป็น stock solution ความเข้มข้น 500 mg/ml กรองด้วยหัวกรองฆ่าเชื้อขนาด 0.45 ไมโครเมตร เพื่อให้ stock solution ปราศจากเชื้อ (Djeussi *et al.*, 2013)

3.2.4 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

เตรียมเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, *S. epidermidis* และ MRSA โดยเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหาร Nutrient agar (NA) (ใช้ปริมาตรวุ้นหลอมเหลว 25 ml) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงมาทำการละลายเซลล์ด้วย 0.85 % NaCl ที่เตรียมไว้ แล้ววัดความขุ่นให้ได้เท่ากับ McFarland standard No. 0.5 โดยวัดค่า OD ที่ 600 นาโนเมตร ให้ได้ 0.1 จะมีความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 1.5×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (CFU/mL) (Rahman *et al.*, 2014; Balouiri *et al.*, 2016)

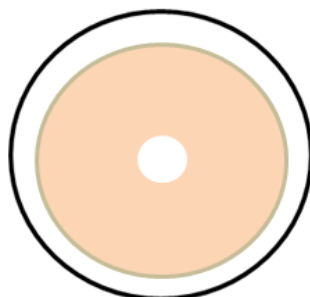


3.2.5 การเตรียมเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการทดสอบ

เตรียมเชื้อยีสต์ *C. albicans* โดยเฉพาะเลี้ยงบนอาหาร Sabouraud Dextrose agar (SDA) (ใช้ปริมาตรวุ้นหลอมเหลว 25 ml) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำเชื้อมาละลายเซลล์ด้วย 0.85 % NaCl ที่เตรียมไว้ แล้ววัดความขุ่นให้ได้เท่ากับ 0.6 ที่ 450 นาโนเมตร ซึ่งจะมีความขุ่นของเซลล์เท่ากับ 1.5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (CFU/mL) (Rahman *et al.*, 2014; Balouiri *et al.*, 2016)

3.2.6 การเตรียมเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบ

1) เตรียมเชื้อรา *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium chrysogenum* และ *Microsporum canis* โดยเฉพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose agar (PDA) (ใช้ปริมาตรวุ้นหลอมเหลว 25 ml) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer เจาะเชื้อ แล้วนำไปวางบนอาหาร SDA (ใช้ปริมาตรวุ้นหลอมเหลว 25 mL) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน หรือจนเชื้อมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 นิ้ว ดัดแปลงจาก Rahmand *et al.*, 2014; Balouiri *et al.*, 2016 (ภาพประกอบ 3.1)

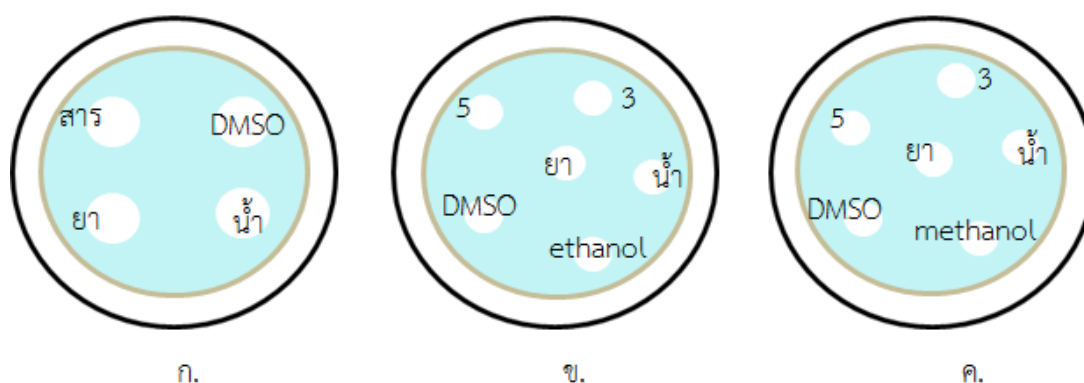


ภาพประกอบ 3.1 เจาะเชื้อราไปวางบนอาหาร SDA

3.2.7 การศึกษาผลของสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธี

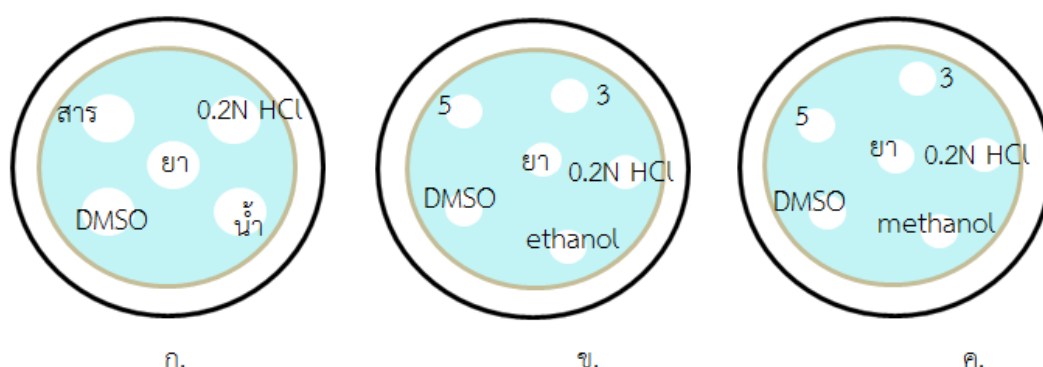
Agar well diffusion นำเชื้อแบคทีเรียที่ผ่านการละลายเซลล์ใน 0.85 เปอร์เซ็นต์ NaCl ในข้อ 3.2.4 - 2) มาศึกษาผลของสารสกัดต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion โดยใช้ไม้พิน สาลี่ปลอดเชื้อชุบสารละลายเซลล์ของแบคทีเรียที่เตรียมไว้แล้วเกลี่ยให้ทั่วบนอาหาร Muller Hinton agar หลังจากนั้นเจาะหลุมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ด้วย Cork borer No.4 แล้วเติมสารสกัดสมุนไพรความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตรหลุมละ 100 ไมโครลิตร และในแต่ละจานทดลองจะมี gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml เป็น positive control 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% และน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ เป็น negative control แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการตรวจวัดผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (Inhibition zone) โดยวัดคร่อมหลุมในแนว 3 ระนาบ ในแต่ละตัวอย่างจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ (Rahman *et al.*, 2014; Balouiri *et al.*, 2016) (ภาพประกอบ 3.2)





ก. = สกัดด้วยน้ำ ข. = สกัดด้วยเอทานอล ค. = สกัดด้วยเมทานอล
ภาพประกอบ 3.2 แสดงตำแหน่งที่จะหยดสารสกัด และ control ของเชื้อแบคทีเรีย

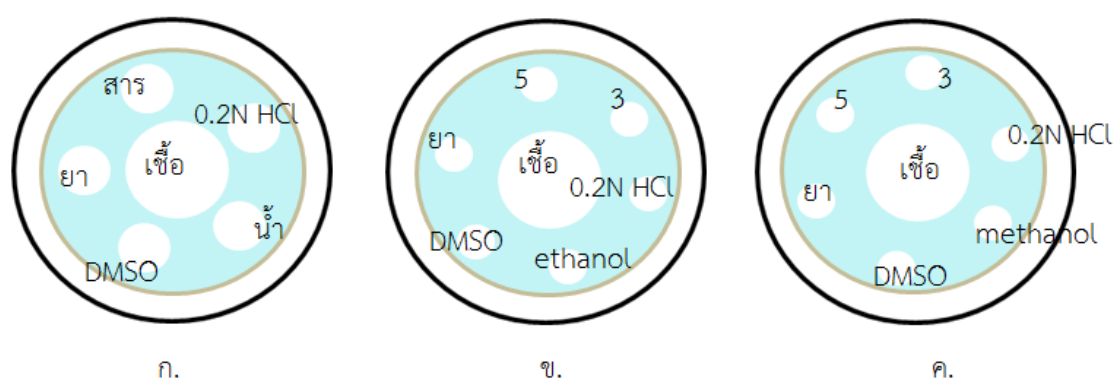
3.2.8 การศึกษาผลของสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ด้วยวิธี Agar well diffusion นำเชื้อยีสต์ที่ผ่านการละลายเซลล์ใน 0.85 เปอร์เซ็นต์ NaCl ในข้อ 3.2.5 -2) มาศึกษาผลของสารสกัดต่อการเจริญของเชื้อยีสต์ด้วยวิธี Agar well diffusion โดยใช้ไม้ปั่นสำลีปลอดเชื้อชุบสารละลายเซลล์ของยีสต์ที่เตรียมไว้แล้วเกลี่ยให้ทั่วบนอาหาร Sabouraud Dextrose agar (ใช้ปริมาณร่วนหลอมเหลว 25 ml) หลังจากนั้นเจาะหลุมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ด้วย Cork borer No.4 เติมสารสกัดสมุนไพรความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตรหลุมละ 100 ไมโครลิตร และในแต่ละจานทดลองจะมี ketoconazole ความเข้มข้น 80 $\mu\text{g/ml}$ เป็น positive control 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% และ 0.2N HCl เป็น negative control แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจวัดผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (Inhibition zone) โดยวัดคร่อมหลุมในแนว 3 ระนาบ ในแต่ละตัวอย่างจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ (Rahman *et al.*, 2014; Balouiri *et al.*, 2016) (ภาพประกอบ 3.3)



ก. = สกัดด้วยน้ำ ข. = สกัดด้วยเอทานอล ค. = สกัดด้วยเมทานอล
ภาพประกอบ 3.3 แสดงตำแหน่งที่จะหยดสารสกัด และ control ของเชื้อยีสต์



3.2.9 การศึกษาผลของสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยวิธี Poisoned food method เพาะเลี้ยงเส้นใยราบนอาหาร SDA เป็นเวลา 3 วัน หรือจนเส้นใยยืดยาว ออกมารัศมีประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วใช้ cork borer No.4 เจาะหลุมวงให้ห่างจากขอบเส้นใยรา ประมาณ 1 เซนติเมตร ใส่สารสกัดสมุนไพรความเข้มข้นต่างๆ ลงในหลุม ปริมาตรหลุมละ 100 ไมโครลิตร และในแต่ละจานทดลองจะมีตัว control คือ ketoconazole เป็น positive control ใช้ 10% DMSO น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ เอทานอล 95% หรือเมทานอล 95% และ 0.2 N HCl เป็น negative control บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจวัดผลโดยวัดขนาดบริเวณยับยั้ง ในแต่ละตัวอย่างจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ (Rahman *et al.*, 2014; Balouiri *et al.*, 2016) (ภาพประกอบ 3.4)



ก. = สกัดด้วยน้ำ ข. = สกัดด้วยเอทานอล ค. = สกัดด้วยเมทานอล
ภาพประกอบ 3.4 แสดงตำแหน่งที่จะหยดสารสกัด และ control ของเชื้อรา

3.2.10 วิธีการทดสอบหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (ดัดแปลงมาจาก National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2008)

1) เตรียมสารสกัดสมุนไพรความเข้มข้นต่างๆ โดยเตรียมหลอด micro-centrifuge tube ปลอดเชื้อจำนวน 11 หลอด ใส่อาหารเหลว MHB ทุกหลอด หลอดละ 0.7 ml ใช้ automatic pipettes ดูดสารสกัดสมุนไพรปริมาตร 0.7 ml ลงไปในหลอดที่ 1 ผสมสารสกัดสมุนไพรกับอาหารให้เข้ากันดีแล้วดูดออกมา 0.7 ml ลงไปในหลอดที่ 2 ทำ two-fold dilution ให้มีความเข้มข้น 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625, 7.8, 3.9, 1.95, 0.975, 0.488 และ 0.244 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาพประกอบ 3.5)

2) ปรับความขุ่นของเชื้อแบคทีเรียให้เท่ากับ McFarland standard no. 0.5 (1.5×10^8 CFU/ml) แล้ว dilute 1:2000 ด้วย MHB

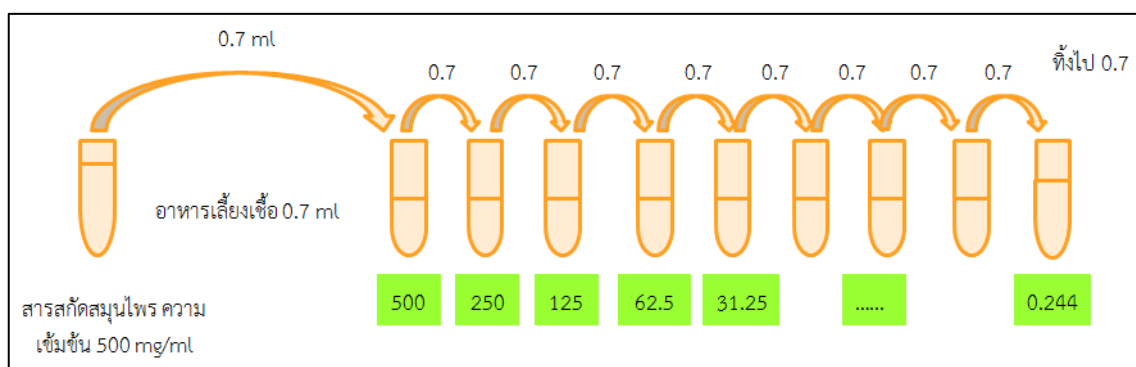
3) ใส่สารสกัดสมุนไพรความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.1 ml ลงในหลอดแก้วปราศจากเชื้อ ขนาด 12x75 mm จากนั้นใส่เชื้อที่เจือจางแล้วปริมาตร 0.9 ml ลงไป ผสมเชื้อกับสารสกัดสมุนไพรให้เข้ากัน สารสกัดพืชสมุนไพรก็จะมีค่าความเข้มข้น 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0.39, 0.195, 0.098, 0.0488 และ 0.0244 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมี negative control เป็นอาหารเหลวกับเชื้อ



แบคทีเรีย และ positive control เป็นยา gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml กับเชื้อแบคทีเรีย (ภาพประกอบ 3.6)

4) นำไปบ่ม ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และอ่านผลโดยสังเกตความขุ่นของอาหารที่เกิดจากเชื้อเจริญ ค่า MIC คือความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (อ่านผลหลอดสุดท้ายที่ใส คือไม่มีเชื้อเจริญให้เห็นด้วยตาเปล่า)

5) นำหลอดที่ใสมา spread ลงบน MHA plate เพื่อดูว่า plate ใดไม่มีเชื้อขึ้นเลย ให้อ่านค่า MBC (Minimal Bactericidal Concentration) เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (ภาพประกอบ 3.7)



ภาพประกอบ 3.5 การเจือจางสารสกัดพืชสมุนไพรความเข้มข้นต่างๆ แบบ two-fold dilution

3.2.11 วิธีการทดสอบหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimum Fungicidal Concentration (MFC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (ดัดแปลงมาจาก National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2008)

1) เตรียมสารสกัดสมุนไพรความเข้มข้นต่างๆ โดยเตรียมหลอด micro-centrifuge tube ปลอดเชื้อจำนวน 11 หลอด จากนั้นใส่น้ำ DI ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อทุกหลอด หลอดละ 0.7 ml ใช้ automatic pipettes ดูดสารสกัดสมุนไพรปริมาตร 0.7 ml ลงไปในหลอดที่ 1 ผสมสารสกัดสมุนไพรกับอาหารให้เข้ากันดีแล้วดูดออกมา 0.7 ml ลงไปในหลอดที่ 2 ทำ two-fold dilution ให้มีความเข้มข้น 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625, 7.8, 3.9, 1.95, 0.975, 0.488 และ 0.244 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาพประกอบ 3.5)

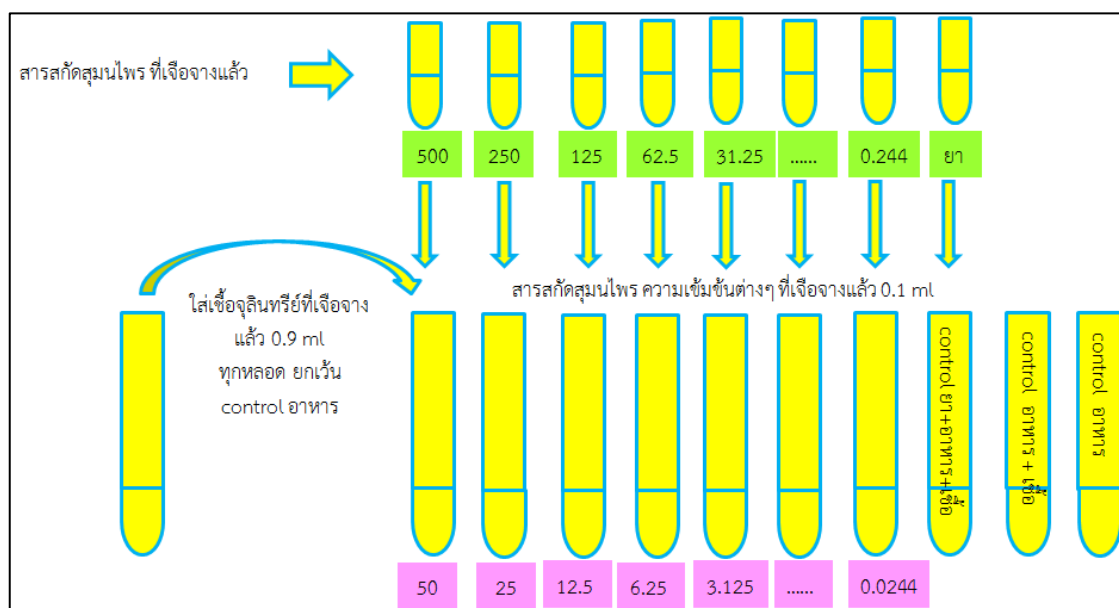
2) ปรับความขุ่นของเชื้อราให้เท่ากับ McFarland standard no. 0.5 (1.5×10^6 CFU/ml) แล้ว dilute 1:2000 ด้วย SDB

3) ใส่สารสกัดสมุนไพรความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.1 ml ลงในหลอดแก้วปราศจากเชื้อขนาด 12x75 mm จากนั้นใส่เชื้อราที่เจือจางแล้วปริมาตร 0.9 ml ลงไป ผสมเชื้อรากับสารสกัดสมุนไพรให้เข้ากัน สารสกัดพืชสมุนไพรก็จะมีค่าความเข้มข้น 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0.39, 0.195, 0.098, 0.0488 และ 0.0244 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมี negative control เป็นอาหารเหลวกับเชื้อรา และ positive control เป็นยา ketoconazole ความเข้มข้น 80 µg/ml กับเชื้อรา (ภาพประกอบ 3.6)

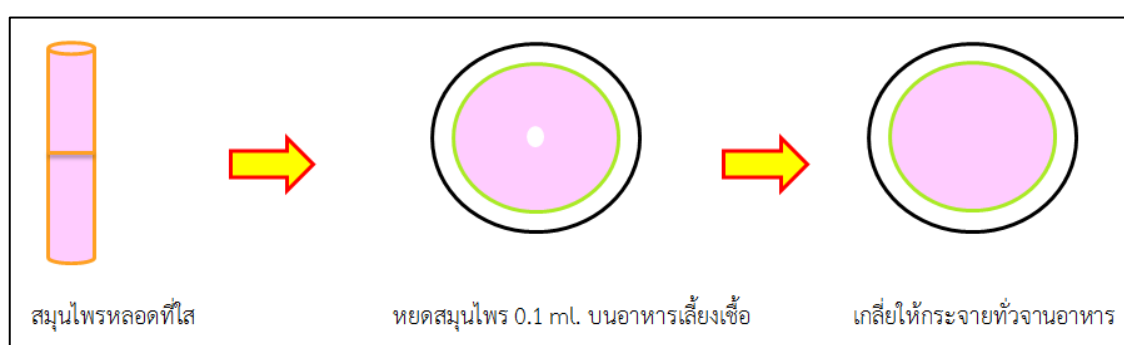


4) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง และอ่านผลโดยสังเกตความขุ่นของอาหารที่เกิดจากเชื้อเจริญ ค่า MIC คือความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเราได้ (อ่านผลหลอดสุดท้ายที่ใส คือไม่มีเชื้อเจริญให้เห็นด้วยตาเปล่า)

5) นำหลอดที่ใส (ปริมาตร 10 ไมโครลิตร) มา spread ลงบน SDA plate เพื่อดูว่า จานอาหารเลี้ยงเชื้อจานไหนไม่มีเชื้อเจริญ ให้อ่านค่า MFC (Minimal Fungicidal Concentration) เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถฆ่าเชื้อเราได้ (ภาพประกอบ 3.7)



ภาพประกอบ 3.6 แสดงวิธีการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC)



ภาพประกอบ 3.7 แสดงวิธีการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) ยีสต์ และ ราได้ (Minimum Fungicidal Concentration; MFC)



3.2.12 การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยเทคนิค Drop plate

เตรียมอาหาร MHA (ใช้ปริมาตรวุ้นหลอมเหลว 25 ml) เมื่อนำออกจากหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ตั้งทิ้งไว้จนอาหารมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส แล้วเติมสารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ ปริมาตร 2.5 ml ผสมกับวุ้นหลอมเหลวปริมาตร 25 ml เขย่าให้เข้ากัน เทอาหารลงในจานเพาะเชื้อ ปล่อยให้อาหารเย็นและแข็งตัว หลังจากนั้นใช้ micropipette ดูดสารละลายเซลล์แบคทีเรียที่เตรียมไว้ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนผิวหน้าอาหาร (แต่ละจานทดลองสามารถหยดเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด) โดยมี positive control คืออาหาร MHA ที่ผสมยา gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml และ ให้อาหาร MHA สูตรปกติ เป็น negative control หลังจากหยดเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ ลงบนผิวหน้าอาหารแล้ว นำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ดูการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแล้วบันทึกผลการทดลอง ในแต่ละตัวอย่างจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ (Naghili *et al.*, 2013)

3.2.13 การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ โดยเทคนิค Drop plate

เตรียมอาหาร SDA (ใช้ปริมาตรวุ้นหลอมเหลว 25 ml) เมื่อนำออกจากหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ตั้งทิ้งไว้จนอาหารมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส แล้วเติมสารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้ ปริมาตร 2.5 ml ผสมกับวุ้นหลอมเหลวปริมาตร 25 ml เขย่าให้เข้ากัน เทอาหารลงในจานเพาะเชื้อ ปล่อยให้อาหารเย็นและแข็งตัว หลังจากนั้นใช้ micropipette ดูดสารละลายเซลล์ยีสต์ที่เตรียมไว้ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนผิวหน้าอาหาร โดยมี positive control คืออาหาร SDA ที่ผสมยา ketoconazole ความเข้มข้น 80 µg/ml และ ให้อาหาร SDA สูตรปกติ เป็น negative control หลังจากหยดเชื้อยีสต์ลงบนผิวหน้าอาหารแล้ว นำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ดูการเจริญของเชื้อยีสต์ แล้วบันทึกผลการทดลอง ในแต่ละตัวอย่างจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ (Naghili *et al.*, 2013)

3.2.14 การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยใช้ cork borer เจาะเชื้อวางลงบนจานอาหาร

เตรียมอาหาร SDA (ใช้ปริมาตรวุ้นหลอมเหลว 25 ml) เมื่อนำออกจากหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ตั้งทิ้งไว้จนอาหารมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส แล้วเติมสารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ ปริมาตร 2.5 ml ผสมกับวุ้นหลอมเหลวปริมาตร 25 ml เขย่าให้เข้ากัน เทอาหารลงในจานเพาะเชื้อ ปล่อยให้อาหารเย็นและแข็งตัว หลังจากนั้นใช้ cork borer เจาะเชื้อรา แล้ววางลงบนจานอาหาร (แต่ละจานทดลองสามารถวางเชื้อราได้หลายชนิด) โดยมี positive control คืออาหาร SDA ที่ผสมยา ketoconazole ความเข้มข้น 80 µg/ml และ ให้อาหาร SDA สูตรปกติ เป็น negative control หลังจากวางเชื้อราชนิดต่างๆ ลงบนจานอาหารแล้ว นำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ดูการเจริญของเชื้อราแล้วบันทึกผลการทดลอง ในแต่ละตัวอย่างจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ (Naghili *et al.*, 2013)



3.2.15 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS 14.0 for Windows Evaluation Version โดยใช้สถิติแบบไม่อิงพารามิเตอร์ (Nonparametric test) Krustal-wallis H



บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพร

ทำการเก็บรวบรวมพืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งมีพืชสมุนไพรทั้งที่ซื้อมาจากห้างแม็คโคร ร้านค้า และที่เก็บมาจากท้องถิ่น (ตารางภาคผนวก ก.1) โดยพืชสมุนไพรที่เก็บมาจากท้องถิ่นจะนำมา หั่นไปเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน หรือจนสมุนไพรแห้ง ปริมาณ น้ำหนักสดของสมุนไพรที่นำมาอบแห้ง และปริมาณน้ำหนักแห้งที่ได้จากการอบแห้ง (ตาราง 4.1)

ตาราง 4.1 น้ำหนักพืชสมุนไพรสดก่อนอบแห้ง และน้ำหนักสมุนไพรหลังอบแห้ง (หน่วยเป็นกรัม)

สมุนไพร	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง
เปลือกมะนาวสด	4,000	768.57
ใบชะพลูแก่	4,500	568.42
ดอกแค (ดอกบาน)	4,500	559.78
ใบยอ	4,000	526.32
ใบเตย	4,000	675.24

4.2 ผลการสกัดสารสกัดพืชสมุนไพร

สกัดสารสกัดพืชสมุนไพรด้วยวิธี แขนในเอทานอล 95% เมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน และต้มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที ได้ปริมาณสารสกัดที่แตกต่างกัน คิดเป็นร้อยละของปริมาณสารสกัดที่ได้ (% yield) อยู่ระหว่าง 18.342-33.284 (ตาราง 4.2) ซึ่งพบว่า ส่วนมากสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำร้อนมีปริมาณสารสกัดที่สกัดได้ (% yield) มากกว่าสารสกัดที่สกัดด้วย เอทานอล และ เมทานอล 95% ยกเว้นสมุนไพรดีปลี ชาเขียว และมะนาว ที่สกัดที่สกัดด้วยเอทานอล และ เมทานอล 95% มีปริมาณสารสกัดที่สกัดได้ (% yield) มากกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำร้อน (ตาราง 4.2) นอกจากนี้ยังพบว่าลักษณะ crude ของสารสกัดส่วนมากจะมีลักษณะเป็นสารหนืดสีดำ ยกเว้น ลักษณะ crude ของสมุนไพรดีปลี มะตูม และดอกคำฝอย ที่มีลักษณะเป็นสารหนืดสีน้ำตาลเข้ม (ตาราง 4.2)

สูตรการคำนวณหาร้อยละของปริมาณสารสกัดที่ได้ (% yield)

$$\% \text{ yield ของสารสกัด} = \frac{\text{น้ำหนัก crude}}{\text{น้ำหนักพืชที่ใช้สกัด}} \times 100$$



ตาราง 4.2 พืชที่ใช้ในการศึกษา และปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัด

ชื่อพืช	ส่วนที่ใช้ศึกษา	ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด	% yield ของสารที่สกัดได้	ลักษณะ crude ของสารสกัด
ดีปลี	ผลแก่	น้ำ	24.734	สารหนืดสีน้ำตาลเข้ม
		Ethanol 3 Day	24.203	
		Ethanol 5 Day	22.917	
		Methanol 3 Day	24.227	
		Methanol 5 Day	20.640	
มะตูม	ผลแก่	น้ำ	24.768	สารหนืดสีน้ำตาลเข้ม
		Ethanol 3 Day	26.704	
		Ethanol 5 Day	25.068	
		Methanol 3 Day	24.826	
		Methanol 5 Day	24.867	
ใบหม่อน	ใบ	น้ำ	28.522	สารหนืดสีดำ
		Ethanol 3 Day	24.837	
		Ethanol 5 Day	24.362	
		Methanol 3 Day	26.176	
		Methanol 5 Day	23.918	
ชาเขียว	ใบ	น้ำ	26.936	สารหนืดสีดำ
		Ethanol 3 Day	30.172	
		Ethanol 5 Day	25.816	
		Methanol 3 Day	28.775	
		Methanol 5 Day	27.484	
ชาอู่หลง	ใบ	น้ำ	26.022	สารหนืดสีดำ
		Ethanol 3 Day	25.132	
		Ethanol 5 Day	18.926	
		Methanol 3 Day	24.932	
		Methanol 5 Day	25.414	
ดอกคำฝอย	ดอก	น้ำ	24.324	สารหนืดสีน้ำตาลเข้ม
		Ethanol 3 Day	18.374	
		Ethanol 5 Day	18.034	
		Methanol 3 Day	21.466	
		Methanol 5 Day	19.562	

หมายเหตุ : Ethanol คือ Ethanol 95%

Methanol คือ Methanol 95%



ตาราง 4.2 พืชที่ใช้ในการศึกษา และปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัด (ต่อ)

ชื่อพืช	ส่วนที่ใช้ศึกษา	ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด	% yield ของสารที่สกัดได้	ลักษณะ crude ของสารสกัด
มะนาว	เปลือกมะนาวสด	น้ำ	19.504	สารหนืดสีดำ
		Ethanol 3 Day	23.540	
		Ethanol 5 Day	24.728	
		Methanol 3 Day	27.172	
		Methanol 5 Day	27.004	
ชะพลู	ใบแก่	น้ำ	28.733	สารหนืดสีดำ
		Ethanol 3 Day	26.664	
		Ethanol 5 Day	27.492	
		Methanol 3 Day	26.586	
		Methanol 5 Day	26.280	
ดอกแคบ้าน	ดอกบาน	น้ำ	28.536	สารหนืดสีดำ
		Ethanol 3 Day	23.880	
		Ethanol 5 Day	22.023	
		Methanol 3 Day	21.408	
		Methanol 5 Day	22.611	
ใบยอ	ใบแก่	น้ำ	33.284	สารหนืดสีดำ
		Ethanol 3 Day	25.336	
		Ethanol 5 Day	27.356	
		Methanol 3 Day	26.678	
		Methanol 5 Day	28.305	
ใบเตย	ใบแก่	น้ำ	24.862	สารหนืดสีดำ
		Ethanol 3 Day	22.231	
		Ethanol 5 Day	21.243	
		Methanol 3 Day	18.342	
		Methanol 5 Day	20.566	

หมายเหตุ : Ethanol คือ Ethanol 95%

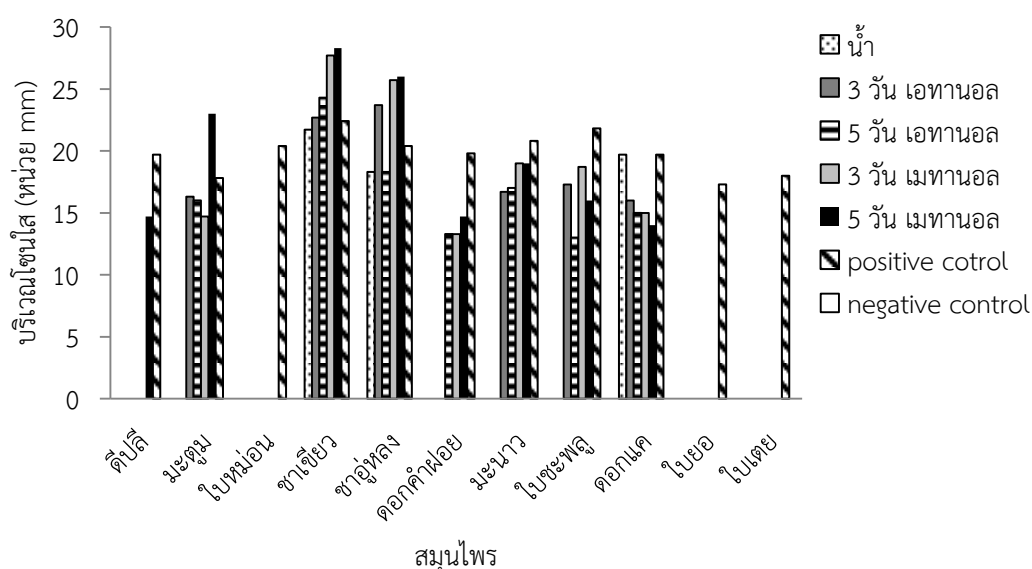
Methanol คือ Methanol 95%



4.3 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar well diffusion

การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดพืชสมุนไพร 10 ชนิด (ผลดีป्ली ผลมะตูม ใบหม่อน ใบชา (ชาเขียว และชาอู่หลง) ดอกคำฝอย เปลือกมะนาว ใบชะพลู ดอกแค ใบยอ และ ใบเตย) ที่สกัดด้วยวิธีแช่ในเอทานอล 95% เมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน และต้มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที ใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาหยอดลงหลุม หลุมละ 100 ไมโครลิตร ในเชื้อ และในแต่ละจานทดลองจะมีตัว control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml เป็น positive control 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% และน้ำกลั่นหนึ่งหลุมเชื้อ เป็น negative control แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* DMST4212 จากผลการศึกษาพบว่าชาเขียวที่สกัดด้วย เมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* DMST4212 ได้ดีที่สุด มีโซนยับยั้งเท่ากับ 28.3 ± 0.58 มิลลิเมตร (ตาราง 4.3) รองลงมาคือ ชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน ชาอู่หลงที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน และ 3 วัน (ภาพประกอบ 4.1) มีโซนยับยั้งเท่ากับ 27.7 ± 0.58 26 ± 1 และ 25.7 ± 1.15 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีบริเวณโซนยับยั้งที่มากกว่า positive control (22.5 ± 5.41 และ 20.5 ± 0.40 มิลลิเมตร) ซึ่งพบว่าสารสกัดชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 และ 5 วัน และ สารสกัดชาอู่หลงที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* DMST4212 ได้ดี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (ตาราง 4.3)



ภาพประกอบ 4.1 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST4212 ด้วยวิธี Agar well diffusion

หมายเหตุ : เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* จึงไม่ปรากฏแท่งกราฟ

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

เชื้อ *S. aureus* คือ *Staphylococcus aureus* DMST4212



ตาราง 4.3 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST4212 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย						Positive control	Negative control
	Water	Ethanol 95%		Methanol 95%				
		3 Day	5 Day	3 Day	5 Day			
ดีป्ली	-	-	-	-	14.33±0.58 ^g	19.7±2.57 ^{cd}	-	
มะตูม	-	16.3±0.58 ^{ef}	16±1 ^f	14.7±0.58 ^{fg}	23±1 ^{bc}	17.9±1.85 ^{de}	-	
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	20.3±1 ^{cd}	-	
ชาเขียว	21.67±1.53 ^c	22.7±2.31 ^{bc}	24.3±1.15 ^b	27.7±0.58 ^a	28.3±0.58 ^a	22.5±5.41 ^{bc}	-	
ชาอู่หลง	18.3±0.58 ^{de}	23.7±0.58 ^{bc}	18.3±0.58 ^{de}	25.7±1.15 ^{ab}	26±1 ^a	20.5±0.40 ^{cd}	-	
ดอกคำฝอย	-	-	13.3±0.58 ^g	13.3±0.58 ^g	14.7±0.58 ^{fg}	19.9±1.25 ^{cd}	-	
เปลือกมะนาว	-	16.7±1.95 ^{ef}	17±1.73 ^{ef}	19±1 ^{de}	19±1 ^{de}	20.8±0.81 ^{cd}	-	
ใบชะพลู	-	17.3±1.15 ^{ef}	13±1 ^g	16.7±0.58 ^{ef}	16±1 ^f	21.8±1.08 ^{bc}	-	
ดอกแค	19.7±1.15 ^{cd}	16±1 ^f	15±1 ^{fg}	15±1 ^{fg}	14±1 ^g	19.7±1.82 ^{cd}	-	
ใบยอ	-	-	-	-	-	17.3±2.37 ^{ef}	-	
ใบเตย	-	-	-	-	-	18±1.53 ^{de}	-	

หมายเหตุ : - คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST4212 ได้

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

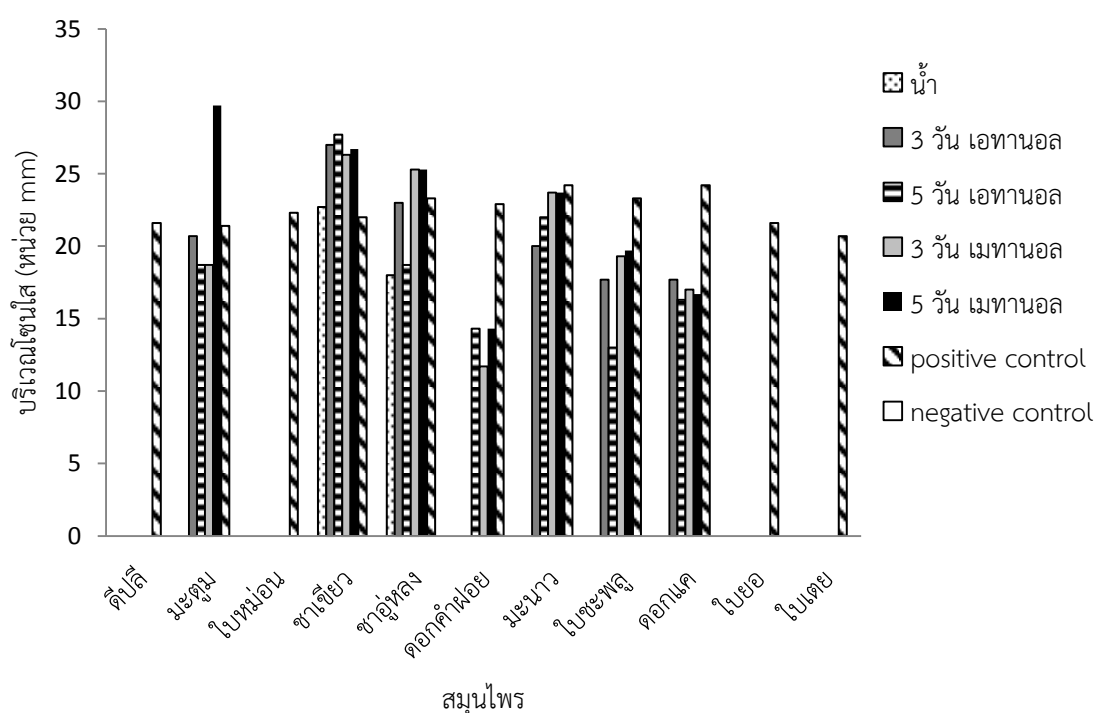
negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% และน้ำกลั่นนิ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* จึงได้จัดมาอยู่ด้วยกัน)

ค่าเฉลี่ยบริเวณโซนยับยั้งได้มาจากข้อมูลในตารางภาคผนวก ง.1

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

a, b, c, d, e, f, g อักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* DMST518 จากผลการศึกษาพบว่ามะตูมที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* DMST518 ได้ดีที่สุด มีโซนยับยั้งเท่ากับ 29.7 ± 1.2 มิลลิเมตร (ตาราง 4.4) รองลงมาคือ ชาเขียวที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน และ 3 วัน ชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน และ 3 วัน (ภาพประกอบ 4.2) มีโซนยับยั้งเท่ากับ 27.7 ± 1.2 27 ± 1 26.7 ± 1.5 และ 26.3 ± 0.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ และ ชาอู่หลงที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วันซึ่งมีค่าโซนยับยั้งเท่ากับ 25.3 ± 0.6 และ 25.3 ± 1.5 มิลลิเมตร (ตาราง 4.4) ซึ่งมีบริเวณโซนยับยั้งที่มากกว่า positive control (21.4 ± 3.4 22 ± 2 และ 23.3 ± 1.8 มิลลิเมตร) ซึ่งพบว่า สารสกัดมะตูมที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ชาเขียวที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน และ 3 วัน ชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน และ 3 วัน และ ชาอู่หลงที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน สามารถยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* DMST518 ได้ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 แต่พบว่า ชาเขียวที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน และ 3 วัน ชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน และ 3 วันสามารถยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* DMST518 ได้ดี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (ตาราง 4.4)



ภาพประกอบ 4.2 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* DMST518 ด้วยวิธี Agar well diffusion

หมายเหตุ : เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* จึงไม่ปรากฏแท่งกราฟ

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

เชื้อ *S. epidermidis* คือ *Staphylococcus epidermidis* DMST518



ตาราง 4.4 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* DMST518 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย						Positive control	Negative control
	Water	Ethanol 95%		Methanol 95%				
		3 Day	5 Day	3 Day	5 Day			
ดีปลี	-	-	-	-	-	21.6±2.6 ^{bcde}	-	
มะตูม	-	20.7±0.6 ^{bcde}	18.7±0.6 ^{cde}	18.7±1.2 ^{cde}	29.7±1.2 ^a	21.4±3.4 ^{bcde}	-	
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	22.3±1.7 ^{bcd}	-	
ชาเขียว	22.7±1.5 ^{bcd}	27±1 ^{ab}	27.7±1.2 ^{ab}	26.3±0.6 ^{ab}	26.7±1.5 ^{ab}	22±2 ^{bcde}	-	
ชาอู่หลง	18±1 ^{de}	23±2 ^{bcd}	18.7±1.5 ^{cde}	25.3±0.6 ^{abc}	25.3±1.5 ^{abc}	23.3±1.8 ^{bc}	-	
ดอกคำฝอย	-	-	14.3±0.6 ^e	11.7±1.2 ^f	14.3±1.2 ^e	22.5±0.7 ^{bcd}	-	
เปลือกมะนาว	-	20±1 ^{bcde}	22±2 ^{bcde}	23.7±0.6 ^{bc}	23.7±1.2 ^{bc}	24.2±1.9 ^{bc}	-	
ใบชะพลู	-	17.7±0.6 ^{de}	13±1 ^{ef}	19.3±1.2 ^{cde}	19.7±0.6 ^{cde}	23.3±3.5 ^{bc}	-	
ดอกแค	-	17.7±2.3 ^{de}	16.3±1.2 ^{de}	17±1 ^{de}	16.7±0.6 ^{de}	23.1±1.8 ^{bc}	-	
ใบยอ	-	-	-	-	-	21.5±1.1 ^{bcde}	-	
ใบเตย	-	-	-	-	-	20.7±2.6 ^{bcde}	-	

หมายเหตุ :- คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* DMST518 ได้

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

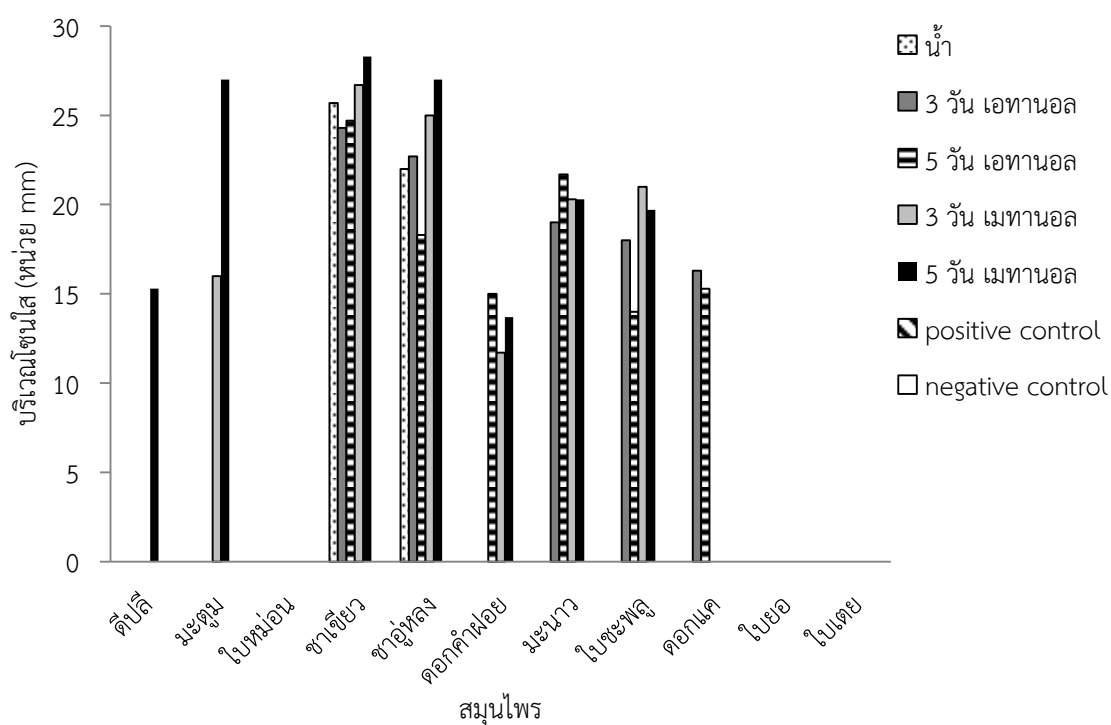
negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% และน้ำกลั่นนิ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* จึงได้จัดมาอยู่ด้วยกัน)

ค่าเฉลี่ยบริเวณโซนยับยั้งได้มาจากข้อมูลในตารางภาคผนวก ง.2

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

a, b, c, d, e, f อักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ MRSA DMST20625 จากผลการศึกษาพบว่าชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ MRSA DMST20625 ได้ดีที่สุด มีโซนยับยั้งเท่ากับ 28.3 ± 0.6 มิลลิเมตร (ตาราง 4.5) รองลงมาคือ ชาอู่หลงที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน มะตูมที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน และ ชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน (ภาพประกอบ 4.3) มีโซนยับยั้ง เท่ากับ 27 ± 1 , 27 ± 1 และ 26.7 ± 0.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตาราง 4.5) ซึ่งมีบริเวณโซนยับยั้งที่มากกว่า positive control เนื่องจาก positive control ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ MRSA DMST20625 ได้ ซึ่งพบว่า สารสกัดชาเขียวที่สกัดด้วย เมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ชาอู่หลงที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน มะตูมที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน และ ชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน สามารถยับยั้งเชื้อ MRSA DMST20625 ได้ดี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (ตาราง 4.5)



ภาพประกอบ 4.3 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20625 ด้วยวิธี Agar well diffusion

หมายเหตุ : เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ MRSA จึงไม่ปรากฏแท่งกราฟ

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

เชื้อ MRSA คือ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20625



ตาราง 4.5 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20625 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย					Positive control	Negative control
	Water	Ethanol 95%		Methanol 95%			
		3 Day	5 Day	3 Day	5 Day		
ดีปลี	-	-	-	-	15.3±0.6 ^f	-	-
มะตูม	-	-	-	16±1 ^f	27±1 ^a	-	-
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-
ชาเขียว	25.7±0.6 ^a	24.3±1.5 ^b	24.7±1.5 ^b	26.7±0.6 ^a	28.3±0.6 ^a	-	-
ชาอู่หลง	22±1 ^{bc}	22.7±0.6 ^b	18.3±0.6 ^e	25±1 ^b	27±1 ^a	-	-
ดอกคำฝอย	-	-	15±1 ^f	11.7±0.6 ^f	13.7±0.6 ^f	-	-
เปลือกมะนาว	-	19±1 ^{de}	21.7±1.5 ^c	20.3±0.6 ^{de}	20.3±0.6 ^{de}	-	-
ใบชะพลู	-	18±2 ^e	15±2 ^f	21±1.73 ^{cd}	19.7±2.3 ^{de}	-	-
ดอกแค	-	16.3±0.6 ^f	15.3±0.6 ^f	-	-	-	-
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	-
ใบเตย	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : - คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20625 ได้

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

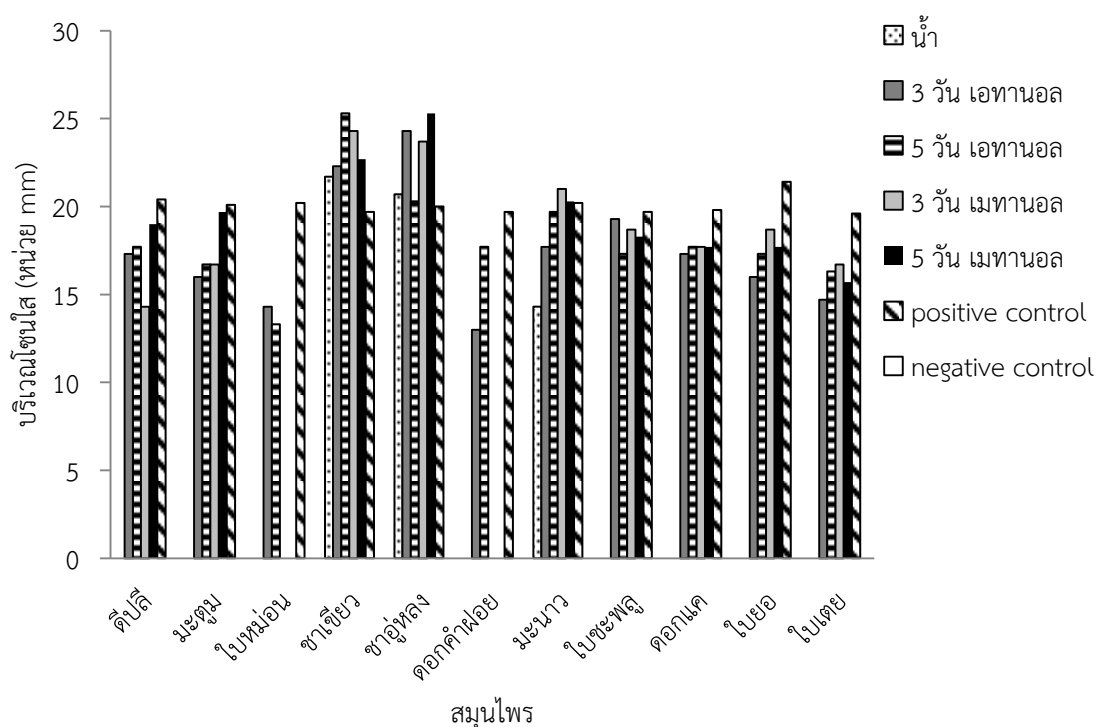
negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% และน้ำกลั่นนิ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20625 จึงได้จัดมาอยู่ด้วยกัน)

ค่าเฉลี่ยบริเวณโซนยับยั้งได้มาจากข้อมูลในตารางภาคผนวก ง.3

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

a, b, c, d, e, f อักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* DMST5040 จากผลการศึกษาพบว่าชาเขียวที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน และชาอู่หลงที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* DMST5040 ได้ดีที่สุด มีโซนยับยั้งเท่ากับ 25.3 ± 0.6 มิลลิเมตร (ตาราง 4.6) รองลงมาคือ ชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ ชาอู่หลงที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน มีโซนยับยั้งเท่ากับ 24.3 ± 0.6 มิลลิเมตร และชาอู่หลงที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน (ภาพประกอบ 4.4) มีโซนยับยั้งเท่ากับ 23.7 ± 0.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีบริเวณโซนยับยั้งที่มากกว่า positive control (19.7 ± 0.9 และ 19.9 ± 1.3 มิลลิเมตร) ซึ่งพบว่า สารสกัดชาเขียวที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน และชาอู่หลงที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* DMST5040 ได้ดี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 และ สารสกัดชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน ชาอู่หลงที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ ชาอู่หลงที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* DMST5040 ได้ดี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (ตาราง 4.6)



ภาพประกอบ 4.4 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* DMST5040 ด้วยวิธี Agar well diffusion

หมายเหตุ : เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* จึงไม่ปรากฏแท่งกราฟ

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

เชื้อ *B. cereus* คือ *Bacillus cereus* DMST5040



ตาราง 4.6 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* DMST5040 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย						Positive control	Negative control
	Water	Ethanol 95%		Methanol 95%				
		3 Day	5 Day	3 Day	5 Day			
ดีป्ली	-	17.3±0.6 ^{def}	17.7±0.6 ^{de}	14.3±0.6 ^{ef}	19±1 ^{cde}	20.7±0.7 ^{bcde}	-	
มะตูม	-	16±1 ^{ef}	16.7±0.6 ^{ef}	16.7±0.6 ^{ef}	19.7±0.6 ^{bcde}	20.1±1.6 ^{bcde}	-	
ใบหม่อน	-	14.3±1.5 ^{ef}	13.3±0.6 ^f	-	-	20.3±0.7 ^{bcde}	-	
ชาเขียว	21.7±1.5 ^{bcde}	22.3±1.5 ^{abcde}	25.3±0.6 ^{ab}	24.3±0.6 ^{abcd}	22.7±0.6 ^{abcde}	19.7±0.9 ^{bcde}	-	
ชาอู่หลง	20.7±0.6 ^{bcde}	24.3±1.2 ^{abcd}	20.3±1.5 ^{bcde}	23.7±0.6 ^{abcd}	25.3±0.6 ^{ab}	19.9±1.3 ^{bcde}	-	
ดอกคำฝอย	-	13±1 ^f	17.7±0.6 ^{de}	-	-	19.7±1.8 ^{bcde}	-	
เปลือกมะนาว	14.3±1.2 ^{ef}	17.7±0.6 ^{de}	19.7±0.6 ^{bcde}	21±1 ^{bcde}	20.3±0.6 ^{bcde}	20.2±0.7 ^{bcde}	-	
ใบชะพลู	-	19.3±1.2 ^{bcde}	17.3±0.6 ^{def}	18.7±0.6 ^{cde}	18.3±1.5 ^{cde}	19.6±2.5 ^{bcde}	-	
ดอกแค	-	17.3±0.6 ^{def}	17.7±0.6 ^{de}	17.7±0.6 ^{de}	17.7±0.6 ^{de}	19.8±0.2 ^{bcde}	-	
ใบยอ	-	16±1 ^{ef}	17.3±1.5 ^{def}	18.7±1.2 ^{cde}	17.7±0.6 ^{de}	21.4±1.2 ^{bcde}	-	
ใบเตย	-	14.7±0.6 ^{ef}	16.3±0.6 ^{ef}	16.7±0.6 ^{ef}	15.7±0.6 ^{ef}	19.5±0.4 ^{bcde}	-	

หมายเหตุ : - คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* DMST5040 ได้

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

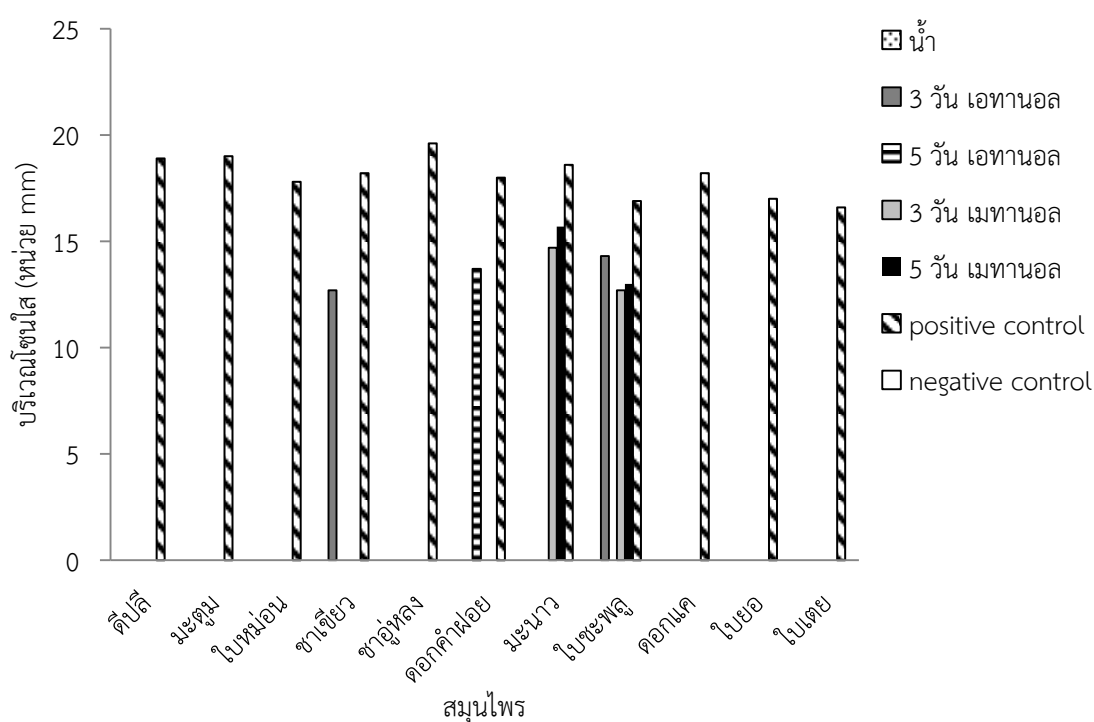
negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% และน้ำกลั่นนิ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* DMST5040 จึงได้จัดมาอยู่ด้วยกัน)

ค่าเฉลี่ยบริเวณโซนยับยั้งได้มาจากข้อมูลในตารางภาคผนวก ง.4

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

a, b, c, d, e, f อักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC25922 จากผลการศึกษาพบว่ามะนาวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ได้ดีที่สุด มีโซนยับยั้งเท่ากับ 15.7 ± 0.6 มิลลิเมตร (ตาราง 4.7) รองลงมาคือ มะนาวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน ใบชะพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และดอกคำฝอยที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน (ภาพประกอบ 4.5) มีโซนยับยั้งเท่ากับ 14.7 ± 0.6 14.3 ± 0.6 และ 13.7 ± 1.2 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับ positive control พบว่ามีบริเวณโซนยับยั้งที่น้อยกว่า positive control (18.6 ± 0.8 16.9 ± 1.1 และ 18 ± 0.9 มิลลิเมตร) ซึ่งพบว่า สารสกัดทั้งสี่ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ได้ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (ตาราง 4.7)



ภาพประกอบ 4.5 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* ATCC25922 ด้วยวิธี Agar well Diffusion

หมายเหตุ : เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* จึงไม่ปรากฏแท่งกราฟ

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

เชื้อ *E. coli* คือ *Escherichia coli* ATCC25922



ตาราง 4.7 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* ATCC25922 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพร เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย						Positive control	Negative control
	Water	Ethanol 95%		Methanol 95%				
		3 Day	5 Day	3 Day	5 Day			
ดีปลี	-	-	-	-	-	18.9±1.2 ^a	-	
มะตูม	-	-	-	-	-	19±0.9 ^a	-	
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	17.8±0.9 ^a	-	
ชาเขียว	-	12.7±0.6 ^e	-	-	-	18.2±0.2 ^a	-	
ชาอู่หลง	-	-	-	-	-	19.5±2.4 ^a	-	
ดอกคำฝอย	-	-	13.7±1.2 ^d	-	-	18±0.9 ^a	-	
เปลือกมะนาว	-	-	-	14.7±0.6 ^c	15.7±0.6 ^b	18.6±0.8 ^a	-	
ใบชะพลู	-	14.3±0.6 ^c	-	12.7±0.6 ^e	13±1.5 ^e	16.9±1.1 ^a	-	
ดอกแค	-	-	-	-	-	18.2±1.6 ^a	-	
ใบยอ	-	-	-	-	-	17±0.9 ^a	-	
ใบเตย	-	-	-	-	-	16.6±1 ^a	-	

หมายเหตุ : - คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ได้

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

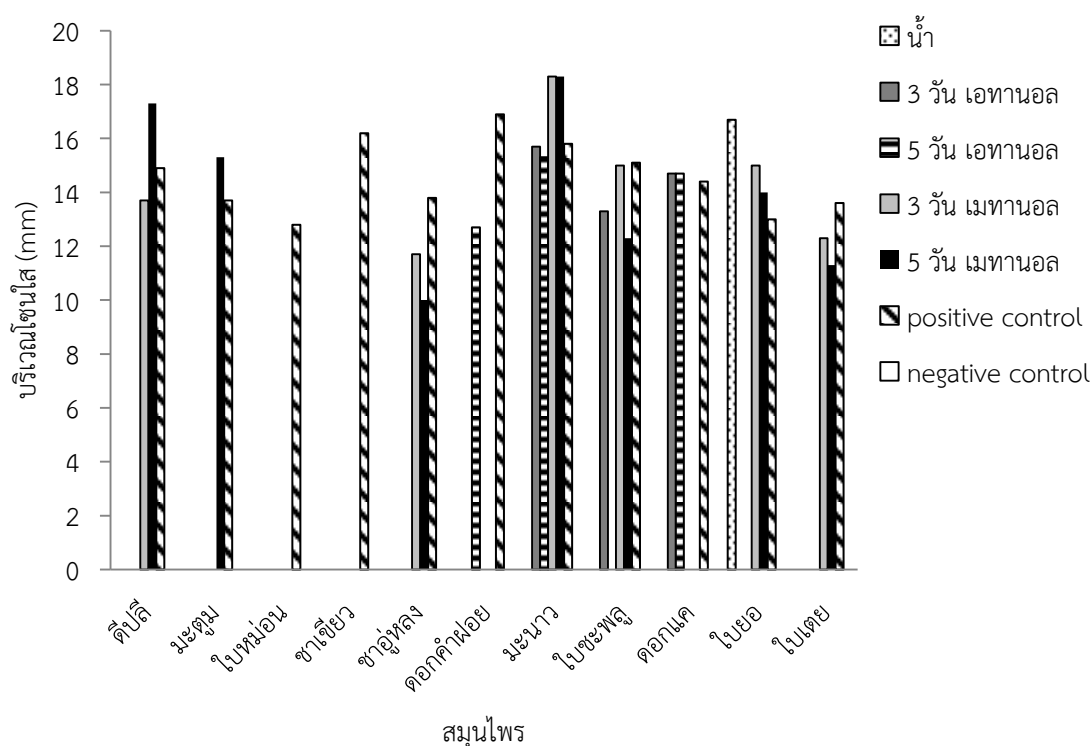
negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% และน้ำกลั่นนิ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ATCC25922 จึงได้จัดมาอยู่ด้วยกัน)

ค่าเฉลี่ยบริเวณโซนยับยั้งได้มาจากข้อมูลในตารางภาคผนวก ง.5

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

^{a, b, c, d, e} อักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Ps. aeruginosa* DMST4739 จากผลการศึกษาพบว่าเปลือกมะนาวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ps. aeruginosa* DMST4739 ได้ดีที่สุด มีโซนยับยั้งเท่ากับ 18.3 ± 0.6 มิลลิเมตร (ตาราง 4.8) รองลงมาคือ ดิปลีที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน และ ใบยอที่สกัดด้วยน้ำ (ภาพประกอบ 4.6) มีโซนยับยั้งเท่ากับ 17.3 ± 0.6 และ 16.7 ± 0.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีบริเวณโซนยับยั้งที่มากกว่า positive control (15.8 ± 1.5 และ 14.9 ± 0.8 มิลลิเมตร) ซึ่งพบว่า สารสกัดเปลือกมะนาวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน และ ดิปลีที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน สามารถยับยั้งเชื้อ *Ps. aeruginosa* DMST4739 ได้ดี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (ตาราง 4.8)



ภาพประกอบ 4.6 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739 ด้วยวิธี Agar well Diffusion

หมายเหตุ : เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ps. aeruginosa* DMST4739 จึงไม่ปรากฏแท่งกราฟ
positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml
เชื้อ *Ps. aeruginosa* คือ *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739



ตาราง 4.8 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย						
	Water	Ethanol 95%		Methanol 95%		Positive control	Negative control
		3 Day	5 Day	3 Day	5 Day		
ดีป्ली	-	-	-	13.7±0.6 ^{de}	17.3±0.6 ^a	14.9±0.8 ^{bc}	-
มะตูม	-	-	-	-	15.3±1.2 ^{ab}	13.6±1.5 ^e	-
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	12.9±2.8 ^e	-
ชาเขียว	-	-	-	-	-	16.2±1.3 ^{ab}	-
ชาอู่หลง	-	-	-	11.7±0.6 ^e	10±1 ^f	13.8±1 ^{de}	-
ดอกคำฝอย	-	-	12.7±0.6 ^e	-	-	16.9±1.7 ^{ab}	-
เปลือกมะนาว	-	15.7±1.2 ^{ab}	15.3±1.5 ^{ab}	18.3±0.6 ^a	18.3±0.6 ^a	15.8±1.5 ^{ab}	-
ใบชะพลู	-	13.3±0.6 ^e	-	15±2 ^{bc}	12.3±0.6 ^e	15.1±0.7 ^{bc}	-
ดอกแค	-	14.7±0.6 ^{bcd}	14.7±0.6 ^{bcd}	-	-	14.4±1.2 ^{bcde}	-
ใบยอ	16.7±0.6 ^{ab}	-	-	15±2 ^{bc}	14±1.7 ^{cde}	15.2±2 ^{bc}	-
ใบเตย	-	-	-	12.3±0.6 ^e	11.3±0.6 ^f	13.6±2.4 ^e	-

หมายเหตุ : - คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ps. aeruginosa* DMST4739 ได้

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% และน้ำกลั่นนิ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ps. aeruginosa* DMST4739 จึงได้จัดมาอยู่ด้วยกัน)

ค่าเฉลี่ยบริเวณโซนยับยั้งได้มาจากข้อมูลในตารางภาคผนวก ง.6

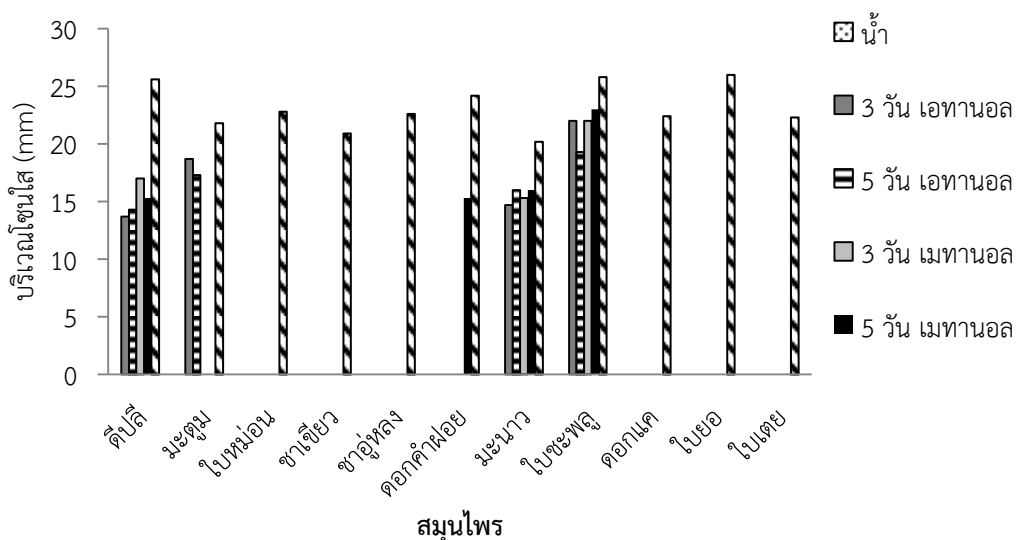
3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

a, b, c, d, e, f อักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

4.4 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ ด้วยวิธี Agar well Diffusion

การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดพืชสมุนไพร 10 ชนิด (ผลดีป्ली ผลมะตูม ใบหม่อน ใบชา (ชาเขียว และชาอู่หลง) ดอกคำฝอย เปลือกมะนาว ใบชะพลู ดอกแค ใบยอ และ ใบเตย) ที่สกัดด้วยวิธีแช่ในเอทานอล 95% เมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน และต้มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที ใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาหยอดลงหลุม หลุมละ 100 ไมโครลิตร ในแต่ละจานทดลองจะมีตัว control คือ ketoconazole ความเข้มข้น 80 µg/ml เป็น positive control 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% 0.2N HCl และน้ำกลั่นหนึ่งหลุม เป็น negative control แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* NCYC854 จากผลการศึกษาพบว่าใบชะพลูที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* NCYC854 ได้ดีที่สุด มีโซนยับยั้งเท่ากับ 23 ± 1 มิลลิเมตร รองลงมาคือ ใบชะพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ ใบชะพลูที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน มีโซนยับยั้งเท่ากับ 22 ± 1 มิลลิเมตร (ตาราง 4.9) ใบชะพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน และ มะตูมที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน (ภาพประกอบ 4.7) มีโซนยับยั้งเท่ากับ 19.3 ± 1.2 และ 18.7 ± 0.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ positive control พบว่ามีบริเวณโซนยับยั้งที่น้อยกว่า positive control (19.7 ± 0.9 และ 19.9 ± 1.3 มิลลิเมตร) ซึ่งพบว่า สารสกัดใบชะพลูที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน และ ใบชะพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* NCYC854 ได้ดี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (ตาราง 4.9)



ภาพประกอบ 4.7 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* NCYC854 ด้วยวิธี Agar well Diffusion

หมายเหตุ : เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* NCYC854 จึงไม่ปรากฏแท่งกราฟ
positive control คือ ketoconazole ความเข้มข้น 80 µg/ml
เชื้อ *C. albicans* คือ *Candida albicans* NCYC854



ตาราง 4.9 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* NCYC854 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย						Positive control	Negative control
	Water	Ethanol 95%		Methanol 95%				
		3 Day	5 Day	3 Day	5 Day			
ดีป्ली	-	13.7±0.6 ^f	14.3±0.6 ^f	17±1.7 ^c	15.3±0.6 ^{de}	25.6±2.2 ^a	-	
มะตูม	-	18.7±0.6 ^b	17.3±0.6 ^c	-	-	21.8±3.3 ^a	-	
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	22.8±1.7 ^a	-	
ชาเขียว	-	-	-	-	-	20.9±4.9 ^b	-	
ชาอู่หลง	-	-	-	-	-	22.6±2.6 ^a	-	
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	15.3±1.5 ^{de}	24.2±0.7 ^a	-	
เปลือกมะนาว	-	14.7±0.6 ^f	16±1 ^d	15.3±0.6 ^{de}	16±1 ^d	20.2±0.5 ^b	-	
ใบชะพลู	-	22±1 ^a	19.3±1.2 ^b	22±1 ^a	23±1 ^a	25.8±5.4 ^a	-	
ดอกแค	-	-	-	-	-	22.4±2.4 ^a	-	
ใบยอ	-	-	-	-	-	26±4.7 ^a	-	
ใบเตย	-	-	-	-	-	22.4±3.8 ^a	-	

หมายเหตุ : - คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* NCYC854 ได้

positive control คือ ketoconazole ความเข้มข้น 80 µg/ml

negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% 0.2N HCl และน้ำกลั่นหนึ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อ

การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* NCYC854 จึงได้จัดมาอยู่ด้วยกัน)

ค่าเฉลี่ยบริเวณโซนยับยั้งได้มาจากข้อมูลในตารางภาคผนวก ง.7

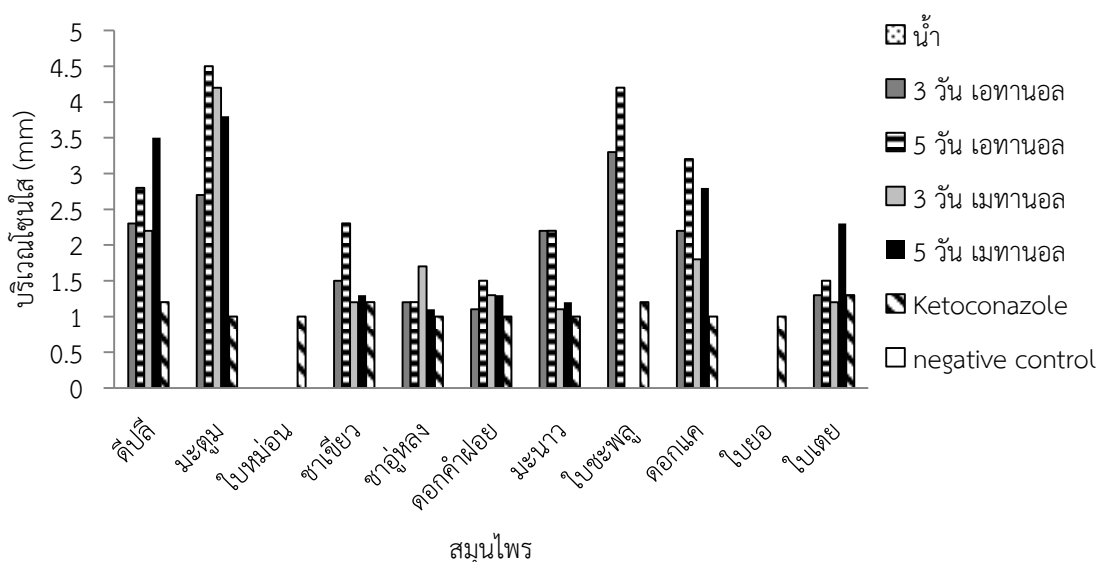
3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

a, b, c, d, e, f อักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

4.5 ผลการศึกษาสารสกัดต่อการเจริญของเชื้อรา ด้วยวิธี Poisoned food method

การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดพืชสมุนไพร 10 ชนิด (ผลดีปลี ผลมะตูม ใบหม่อน ใบชา (ชาเขียว และชาอู่หลง) ดอกคำฝอย เปลือกมะนาว ใบชะพลู ดอกแค ใบยอ และ ใบเตย) ที่สกัดด้วยวิธีแช่ในเอทานอล 95% เมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน และต้มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที ใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาหยอดลงหลุม หลุมละ 100 ไมโครลิตร ในแต่ละจานทดลองจะมีตัว control คือ ketoconazole ความเข้มข้น 80 µg/ml เป็น positive control 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% 0.2N HCl และน้ำกลั่นหนึ่งฝาเชื้อ เป็น negative control แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *M. canis* จากผลการศึกษาพบว่ามะตูมที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. canis* ได้ดีที่สุด มีระยะห่างระหว่างปากหลุมและเส้นใยราเท่ากับ 4.5 ± 0.5 มิลลิเมตร (ตาราง 4.10) รองลงมาคือ มะตูมที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ ใบชะพลูที่สกัดด้วย เอทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน มีระยะห่างระหว่างปากหลุมและเส้นใยราเท่ากับ 4.2 ± 0.8 มิลลิเมตร มะตูม และ ดีปลีที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน (ภาพประกอบ 4.8) มีระยะห่างระหว่างปากหลุมและเส้นใยราเท่ากับ 3.8 ± 0.8 และ 3.5 ± 0.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีระยะห่างระหว่างปากหลุมและเส้นใยรามากกว่า positive control (1 ± 0 และ 1.2 ± 0.4 มิลลิเมตร) ซึ่งพบว่า สารสกัดมะตูม และ ใบชะพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน มะตูมที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน สามารถยับยั้งเชื้อ *M. canis* ได้ดี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (ตาราง 4.10)



ภาพประกอบ 4.8 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Microsporium canis* ด้วยวิธี Poisoned food method

หมายเหตุ : เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. canis* จึงไม่ปรากฏแท่งกราฟ

positive control คือ ketoconazole ความเข้มข้น 80 µg/ml

เชื้อ *M. canis* คือ *Microsporium canis*



ตาราง 4.10 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Microsporium canis* ด้วยวิธี Poisoned food method สารสกัดพืชสมุนไพร เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย						Positive control	Negative control
	Water	Ethanol 95%		Methanol 95%				
		3 Day	5 Day	3 Day	5 Day			
ดีปลี	-	2.3±0.3 ^{cd}	2.8±0.3 ^{bc}	2.2±0.3 ^{cde}	3.5±0.5 ^{ab}	1.2±0.4 ^f	-	
มะตูม	-	2.7±0.3 ^{bc}	4.5±0.5 ^a	4.2±0.8 ^a	3.8±0.8 ^a	1±0 ^f	-	
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	1±0 ^f	-	
ชาเขียว	-	1.5±0.5 ^{ef}	2.3±0.3 ^{cd}	1.2±0.3 ^f	1.3±0.3 ^f	1.2±0.3 ^f	-	
ชาอู่หลง	-	1.2±0.3 ^f	1.2±0.3 ^f	1.7±0.3 ^{def}	1.1±0.2 ^f	1±0 ^f	-	
ดอกคำฝอย	-	1.1±0.2 ^f	1.5±0.5 ^{ef}	1.3±0.3 ^f	1.3±0.3 ^f	1±0 ^f	-	
เปลือกมะนาว	-	2.2±1 ^{cde}	2.2±0.3 ^{cde}	1.1±0.1 ^f	1.1±0.2 ^f	1±0 ^f	-	
ใบชะพลู	-	3.3±0.3 ^b	4.2±0.8 ^a	-	-	1.2±0.4 ^f	-	
ดอกแค	-	2.2±0.3 ^{cde}	3.2±0.3 ^b	1.8±1 ^{def}	2.8±0.3 ^{bc}	1±0 ^f	-	
ใบยอ	-	-	-	-	-	1±0 ^f	-	
ใบเตย	-	1.3±0.3 ^f	1.5±0.5 ^{ef}	1.2±0.3 ^f	2.3±0.3 ^{cd}	1.3±0.3 ^f	-	

หมายเหตุ : - คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. canis* ได้

positive control คือ ketoconazole ความเข้มข้น 80 µg/ml

negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% 0.2N HCl และน้ำกลั่นหนึ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อ

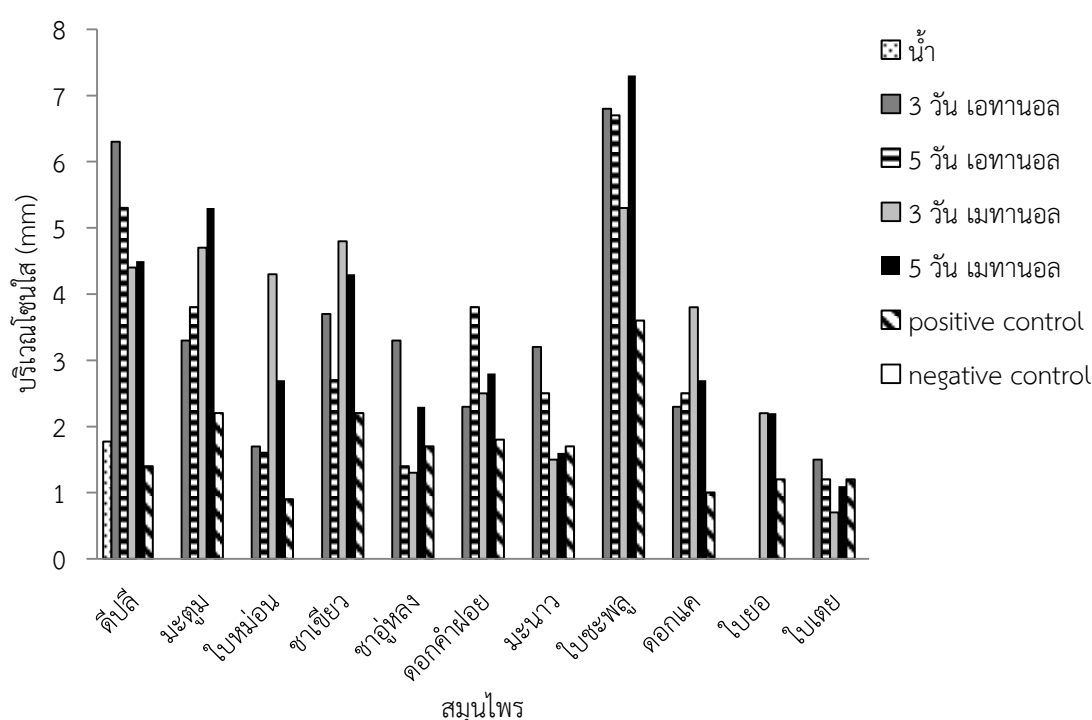
การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. canis* จึงได้จัดมาอยู่ด้วยกัน)

ค่าเฉลี่ยบริเวณโซนยับยั้งได้มาจากข้อมูลในตารางภาคผนวก ง.8

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

a, b, c, d, e, f อักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *A. fumigatus* TISTR3464 จากผลการศึกษพบว่าใบชะพลู สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. fumigatus* TISTR3464 ได้ดีที่สุด มีระยะห่างระหว่างปากหลุมและเส้นใยราเท่ากับ 7.3 ± 0.6 มิลลิเมตร (ตาราง 4.11) รองลงมาคือ ใบชะพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน และ ดิปลี่ที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน (ภาพประกอบ 4.9) มีระยะห่างระหว่างปากหลุมและเส้นใยราเท่ากับ 6.8 ± 0.3 6.7 ± 0.8 และ 6.3 ± 0.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีระยะห่างระหว่างปากหลุมและเส้นใยรามากกว่า positive control (3.6 ± 2.5 และ 1.4 ± 1.1 มิลลิเมตร) ซึ่งพบว่า สารสกัดใบชะพลูที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ใบชะพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน และ ดิปลี่ที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน สามารถยับยั้งเชื้อ *A. fumigatus* TISTR3464 ได้ดี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (ตาราง 4.11)



ภาพประกอบ 4.9 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aspergillus fumigatus* TISTR3464 ด้วยวิธี Poisoned food method

หมายเหตุ : เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. fumigatus* TISTR3464 จึงไม่ปรากฏแท่งกราฟ
positive control คือ ketoconazole ความเข้มข้น 80 $\mu\text{g/ml}$
เชื้อ *A. fumigatus* คือ *Aspergillus fumigatus* TISTR3464



ตาราง 4.11 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aspergillus fumigatus* TISTR3464 ด้วยวิธี Poisoned food method สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย						Positive control	Negative control
	Water	Ethanol 95%		Methanol 95%				
		3 Day	5 Day	3 Day	5 Day			
ตีปัส	1.8±0.3 ^{efg}	6.3±0.6 ^a	2.8±0.3 ^{cde}	4.4±0.3 ^{ab}	4.5±0.5 ^{ab}	1.4±1.1 ^{fg}	-	
มะตูม	-	3.3±0.6 ^{bcd}	4.5±0.5 ^{ab}	4.7±1.5 ^a	5.3±1.2 ^a	2.2±1.3 ^{def}	-	
ใบหม่อน	-	1.7±0.3 ^{efg}	-	4.3±1.2 ^{ab}	2.7±1.2 ^{cde}	0.9±0.2 ^g	-	
ชาเขียว	-	3.7±1.2 ^{bcd}	2.3±0.3 ^{def}	4.8±0.3 ^a	4.3±1 ^{ab}	2.2±0.5 ^{def}	-	
ชาอู่หลง	-	3.3±0.3 ^{bcd}	1.2±0.3	1.3±0.3 ^{fg}	2.3±1 ^{def}	1.7±0.6 ^{efg}	-	
ดอกคำฝอย	-	2.3±0.6 ^{def}	1.5±0.5 ^{efg}	2.5±0.5 ^{cdef}	2.8±0.8 ^{cde}	1.8±0.7 ^{efg}	-	
เปลือกมะนาว	-	3.2±1 ^{bcd}	2.2±0.3 ^{def}	1.5±0.1 ^{efg}	1.6±0.1 ^{efg}	1.7±0.6 ^{efg}	-	
ใบชะพลู	-	6.8±0.3 ^a	6.7±0.8 ^a	5.3±1.2 ^a	7.3±0.6 ^a	3.6±2.5 ^{bcd}	-	
ดอกแค	-	2.3±0.6 ^{def}	3.2±0.3 ^{bcd}	3.8±0.3 ^{bc}	2.7±0.6 ^{cde}	1±0 ^g	-	
ใบยอ	-	-	-	2.2±0.3 ^{def}	2.2±0.3 ^{def}	1.2±0.4 ^g	-	
ใบเตย	-	1.5±0.5 ^{efg}	1.5±0.5 ^{efg}	0.7±0.2 ^g	1.1±0.2 ^g	1.2±0.7 ^g	-	

หมายเหตุ : - คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. fumigatus* TISTR3464 ได้

positive control คือ ketoconazole ความเข้มข้น 80 µg/ml

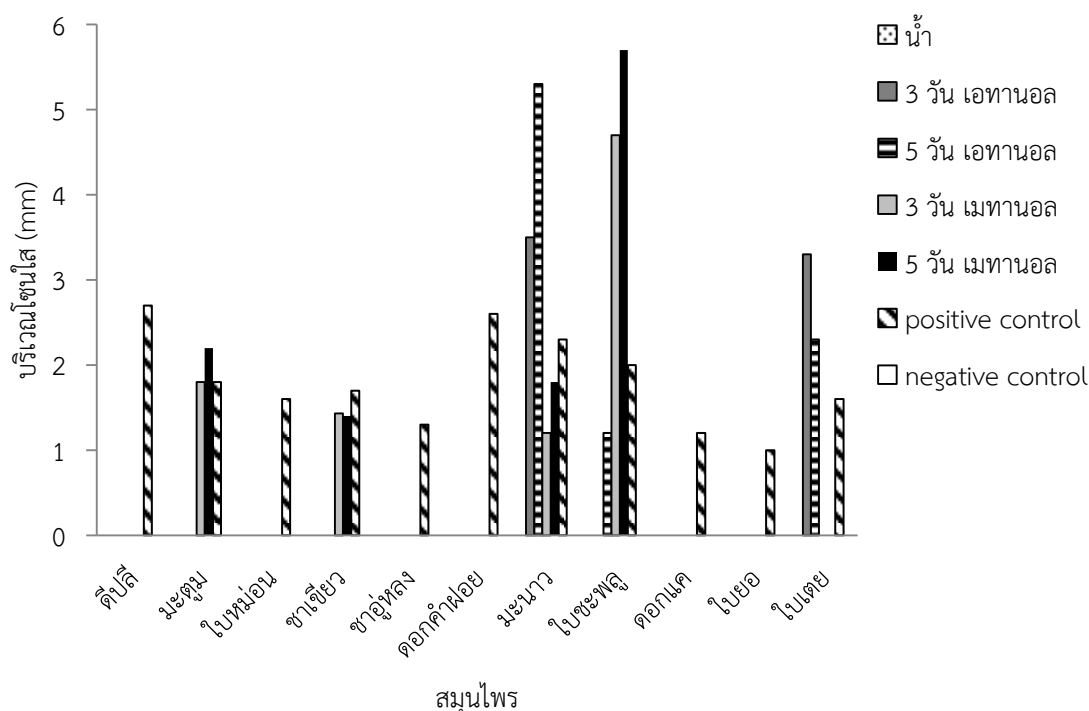
negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% 0.2N HCl และน้ำกลั่นหนึ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. fumigatus* TISTR3464 จึงได้จัดมาอยู่ด้วยกัน)

ค่าเฉลี่ยบริเวณโซนยับยั้งได้มาจากข้อมูลในตารางภาคผนวก ง.9

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

a, b, c, d, e, f, g อักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *P. chrysogenum* TISTR3555 จากผลการศึกษาพบว่าใบชะพลูสกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. chrysogenum* TISTR3555 ได้ดีที่สุด มีระยะห่างระหว่างปากหลุมและเส้นใยรา เท่ากับ 7.3 ± 0.6 มิลลิเมตร (ตาราง 4.12) รองลงมาคือ เปลือกมะนาวที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ใบชะพลูที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และเปลือกมะนาวที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน (ภาพประกอบ 4.10) มีระยะห่างระหว่างปากหลุมและเส้นใยราเท่ากับ 5.3 ± 0.3 , 4.7 ± 0.6 และ 3.5 ± 0.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตาราง 4.12) ซึ่งมีระยะห่างระหว่างปากหลุมและเส้นใยรามากกว่า positive control (2 ± 0.4 และ 2.3 ± 1.4 มิลลิเมตร) ซึ่งพบว่า สารสกัดใบชะพลูที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน สามารถยับยั้งเชื้อ *P. chrysogenum* TISTR3555 ได้ดี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 สารสกัดใบเตย และ เปลือกมะนาวที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วันสามารถยับยั้งเชื้อ *P. chrysogenum* TISTR3555 ได้ดี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05



ภาพประกอบ 4.10 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Penicillium chrysogenum* TISTR3555 ด้วยวิธี Poisoned food method

หมายเหตุ : เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. chrysogenum* TISTR3555 จึงไม่ปรากฏแท่งกราฟ

positive control คือ ketoconazole ความเข้มข้น $80 \mu\text{g/ml}$

เชื้อ *P. chrysogenum* คือ *Penicillium chrysogenum* TISTR3555



ตาราง 4.12 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Penicillium chrysogenum* TISTR3555 ด้วยวิธี Poisoned food method สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย						
	Water	Ethanol 95%		Methanol 95%		Positive control	Negative control
		3 Day	5 Day	3 Day	5 Day		
ดีปลี	-	-	-	-	-	2.8±0.8 ^{bc}	-
มะตูม	-	-	-	1.8±0.3 ^{de}	2.2±0.3 ^{cd}	1.8±0.7 ^{de}	-
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	1.6±1 ^{ef}	-
ชาเขียว	-	-	-	1.7±0.3 ^{ef}	1.4±0.1 ^f	1.7±0.7 ^{ef}	-
ชาอู่หลง	-	-	-	-	-	1.3±0.6 ^f	-
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	-	2.6±0.3 ^{bc}	-
เปลือกมะนาว	-	3.5±0.5 ^b	5.3±0.3 ^a	1.2±0.3	1.8±0.3 ^{de}	2.3±1.4 ^c	-
ใบชะพลู	-	-	1.2±0.3 ^f	4.7±0.6 ^a	5.7±0.6 ^a	2±0.4 ^{cd}	-
ดอกแค	-	-	-	-	-	1.2±0.3 ^f	-
ใบยอ	-	-	-	-	-	1±0 ^f	-
ใบเตย	-	3.3±0.3 ^b	2.3±0.3 ^c	-	-	1.6±1 ^{ef}	-

หมายเหตุ : - คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. chrysogenum* TISTR3555 ได้

positive control คือ ketoconazole ความเข้มข้น 80 µg/ml

negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% 0.2N HCl และน้ำกลั่นหนึ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. chrysogenum* TISTR3555 จึงได้จัดมาอยู่ด้วยกัน)

ค่าเฉลี่ยบริเวณโซนยับยั้งได้มาจากข้อมูลในตารางภาคผนวก ง.10

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

a, b, c, d, e, f อักษรเหมือนกัน คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

4.6 ผลการทดสอบหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macrodilution test

ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพร 10 ชนิด (ผลดีปลี ผลมะตูม ใบหม่อน ใบชา (ชาเขียว และชาอู่หลง) ดอกคำฝอย เปลือกมะนาว ใบชะพลู ดอกแค ใบยอ และ ใบเตย) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Broth macrodilution test (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) (mg/ml) ผลการทดสอบค่า MIC และค่า MBC ของเชื้อ *S. aureus* ATCC4212 พบว่า ชาเขียวและชาอู่หลงที่สกัดด้วยน้ำ มีค่า MIC ต่ำที่สุดเท่ากับ 1.56 mg/ml และมีค่า MBC มากกว่า 50 mg/ml (ตาราง 4.13) ผลการทดสอบค่า MIC และค่า MBC ของเชื้อ *S. epidermidis* ATCC518 พบว่า ชาอู่หลงที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน มีค่า MIC ต่ำที่สุดเท่ากับ 0.78 mg/ml และมีค่า MBC มากกว่า 50 mg/ml (ตาราง 4.14) ผลการทดสอบค่า MIC และค่า MBC ของเชื้อ MRSA DMST20625 พบว่า ชาอู่หลงที่สกัดด้วยน้ำ มีค่า MIC ต่ำที่สุดเท่ากับ 0.78 mg/ml และมีค่า MBC มากกว่า 50 mg/ml (ตาราง 4.15) ผลการทดสอบค่า MIC และค่า MBC ของเชื้อ *B. cereus* ATCC5040 พบว่า ชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน มีค่า MIC ต่ำที่สุดเท่ากับ 3.12 mg/ml และมีค่า MBC มากกว่า 50 mg/ml (ตาราง 4.16) ผลการทดสอบค่า MIC และค่า MBC ของเชื้อ *E. coli* ATCC25922 พบว่า ชาเขียวที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ ใบชะพลูที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน มีค่า MIC ต่ำที่สุดเท่ากับ 12.5 mg/ml และมีค่า MBC มากกว่า 50 mg/ml (ตาราง 4.17) ผลการทดสอบค่า MIC และค่า MBC ของเชื้อ *Ps. aeruginosa* ATCC4739 พบว่า ดีปลี ชาอู่หลง และ ใบเตยที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน และ เปลือกมะนาวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน มีค่า MIC ต่ำที่สุดเท่ากับ 12.5 mg/ml และมีค่า MBC มากกว่า 50 mg/ml (ตาราง 4.18)



ตาราง 4.13 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST4212 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST4212 Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลายที่ใช้สกัดและระยะเวลาที่สกัด									
	Water		Ethanol 95%				Methanol 95%			
			3 Day		5 Day		3 Day		5 Day	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
ดีป्ली	-	-	-	-	-	-	-	-	25	>50
มะตูม	-	-	12.5	>50	12.5	>50	12.5	>50	6.25	>50
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ชาเขียว	1.56	>50	12.5	>50	6.25	>50	3.12	>50	3.12	>50
ชาอู่หลง	1.56	>50	12.5	>50	6.25	>50	3.12	>50	3.12	>50
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	12.5	>50	12.5	>50	6.25	>50
เปลือกมะนาว	-	-	25	>50	12.5	>50	12.5	>50	6.25	>50
ใบชะพลู	-	-	12.5	>50	12.5	>50	12.5	>50	6.25	>50
ดอกแค	6.25	>50	6.25	>50	6.25	>50	6.25	>50	6.25	>50
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบเตย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : 3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

MIC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Inhibitory Concentration)

MBC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Bactericidal Concentration)

ตาราง 4.14 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* DMST518 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* DMST518 Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลายที่ใช้สกัดและระยะเวลาที่สกัด									
	Water		Ethanol 95%				Methanol 95%			
			3 Day		5 Day		3 Day		5 Day	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
ดีปลี	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
มะตูม	-	-	25	>50	25	>50	25	>50	25	>50
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ชาเขียว	1.56	>50	12.5	>50	6.25	>50	1.56	>50	1.56	25
ชาอู่หลง	3.12	>50	12.5	>50	6.25	>50	1.56	>50	0.78	>50
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	12.5	>50	12.5	>50	6.25	>50
เปลือกมะนาว	-	-	12.5	>50	12.5	>50	25	>50	12.5	>50
ใบชะพลู	-	-	25	>50	12.5	>50	25	>50	12.5	>50
ดอกแค	-	-	25	>50	25	>50	12.5	>50	25	>50
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบเตย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : 3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

MIC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Inhibitory Concentration)

MBC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Bactericidal Concentration)

ตาราง 4.15 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20625 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20625 Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลายที่ใช้สกัดและระยะเวลาที่สกัด									
	Water		Ethanol 95%				Methanol 95%			
			3 Day		5 Day		3 Day		5 Day	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
ดีปลี	-	-	-	-	-	-	-	-	25	>50
มะตูม	-	-	-	-	-	-	25	>50	12.5	>50
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ชาเขียว	1.56	>50	6.25	>50	12.5	>50	3.12	>50	3.12	>50
ชาอู่หลง	0.78	>50	12.5	>50	6.25	>50	3.12	>50	3.12	>50
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	25	>50	12.5	>50	12.5	>50
เปลือกมะนาว	-	-	25	>50	12.5	>50	12.5	>50	6.25	>50
ใบชะพลู	-	-	25	>50	25	>50	25	>50	12.5	>50
ดอกแค	-	-	12.5	>50	12.5	>50	-	-	-	-
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบเตย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : 3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

MIC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Inhibitory Concentration)

MBC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Bactericidal Concentration)

ตาราง 4.16 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* DMST5040 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ *Bacillus cereus* DMST5040 Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลายที่ใช้สกัดและระยะเวลาที่สกัด									
	Water		Ethanol 95%				Methanol 95%			
			3 Day		5 Day		3 Day		5 Day	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
ดีปลี	-	-	25	>50	12.5	>50	25	>50	25	>50
มะตูม	-	-	12.5	>50	12.5	>50	12.5	>50	6.25	>50
ใบหม่อน	-	-	25	>50	25	>50	-	-	-	-
ชาเขียว	6.25	>50	6.25	>50	12.5	>50	3.12	>50	3.12	>50
ชาอู่หลง	12.5	>50	12.5	>50	6.25	>50	6.25	>50	6.25	>50
ดอกคำฝอย	-	-	25	>50	12.5	>50	-	-	-	-
เปลือกมะนาว	25	>50	25	>50	12.5	>50	12.5	>50	6.25	>50
ใบชะพลู	-	-	25	>50	25	>50	25	>50	25	>50
ดอกแค	-	-	12.5	>50	6.25	>50	12.5	>50	12.5	>50
ใบยอ	-	-	25	>50	12.5	>50	25	>50	12.5	>50
ใบเตย	-	-	25	>50	25	>50	25	>50	25	>50

หมายเหตุ : 3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

MIC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Inhibitory Concentration)

MBC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Bactericidal Concentration)

ตาราง 4.17 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* ATCC25922 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ *Escherichia coli* ATCC25922 Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลายที่ใช้สกัดและระยะเวลาที่สกัด									
	Water		Ethanol 95%				Methanol 95%			
			3 Day		5 Day		3 Day		5 Day	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
ดีปลี	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
มะตูม	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ชาเขียว	-	-	12.5	>50	-	-	-	-	-	-
ชาอู่หลง	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	25	>50	-	-	-	-
เปลือกมะนาว	-	-	-	-	-	-	25	>50	25	>50
ใบชะพลู	-	-	25	>50	-	-	12.5	>50	25	>50
ดอกแค	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบเตย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : 3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

MIC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Inhibitory Concentration)

MBC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Bactericidal Concentration)

ตาราง 4.18 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739 Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลายที่ใช้สกัดและระยะเวลาที่สกัด									
	Water		Ethanol 95%				Methanol 95%			
			3 Day		5 Day		3 Day		5 Day	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
ดีปลี	-	-	-	-	-	-	12.5	>50	12.5	>50
มะตูม	-	-	-	-	-	-	-	-	25	>50
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ชาเขียว	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ชาอู่หลง	-	-	-	-	-	-	12.5	>50	12.5	>50
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	25	>50	-	-	-	-
เปลือกมะนาว	-	-	25	>50	25	>50	25	>50	12.5	>50
ใบชะพลู	-	-	25	>50	-	-	25	>50	25	>50
ดอกแค	-	-	25	>50	25	>50	-	-	-	-
ใบยอ	25	>50	-	-	-	-	25	>50	25	>50
ใบเตย	-	-	-	-	-	-	12.5	>50	12.5	>50

หมายเหตุ : 3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

MIC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Inhibitory Concentration)

MBC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Bactericidal Concentration)

4.7 ผลการทดสอบหาค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimum Fungicidal Concentration (MFC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test

ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพร 10 ชนิด (ผลดีป्ली ผลมะตูม ใบหม่อน ใบชา (ชาเขียว และชาอู่หลง) ดอกคำฝอย เปลือกมะนาว ใบชะพลู ดอกแค ใบยอ และ ใบเตย) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) โดยวิธี Broth macrodilution test และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อราได้ (Minimum Fungicidal Concentration; MFC) (mg/ml) ซึ่งผลจากการทดสอบต่อเชื้อ *C. albicans* NCYC854 พบว่า ดีป्ली ที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน และ เปลือกมะนาวที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน มีค่า MIC ต่ำที่สุด เท่ากับ 12.5 mg/ml และมีค่า MFC มากกว่า 50 mg/ml (ตาราง 4.19) ผลการทดสอบค่า MIC และค่า MFC ของเชื้อ *M. canis* พบว่า ชาเขียว ดอกคำฝอย และ ใบเตย ที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน มีค่า MIC ต่ำที่สุด เท่ากับ 3.12 mg/ml และมีค่า MFC เท่ากับ 12.5 6.25 และ 12.5 mg/ml ตามลำดับ (ตาราง 4.20) ผลการทดสอบค่า MIC และค่า MFC ของเชื้อ *A. fumigatus* TISTR3464 พบว่า ดีป्लीที่สกัดด้วยเอทานอล 95% และ เมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน มีค่า MIC ต่ำที่สุด เท่ากับ 3.12 mg/ml และมีค่า MFC เท่ากับ 6.25 mg/ml (ตาราง 4.21) ผลการทดสอบค่า MIC และค่า MFC ของเชื้อ *P. chrysogenum* TISTR3555 พบว่า ใบชะพลูที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน มีค่า MIC ต่ำที่สุด เท่ากับ 3.12 mg/ml และมีค่า MFC เท่ากับ 6.25 mg/ml (ตาราง 4.22)



ตาราง 4.19 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* NCYC854 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ *Candida albicans* NCYC854 Minimum Fungicidal Concentration (MFC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลายที่ใช้สกัดและระยะเวลาที่สกัด									
	Water		Ethanol 95%				Methanol 95%			
			3 Day		5 Day		3 Day		5 Day	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
ดีปลี	-	-	12.5	>50	12.5	>50	25	>50	25	>50
มะตูม	-	-	25	>50	25	>50	-	-	-	-
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ชาเขียว	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ชาอู่หลง	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	-	-	-	-	25	>50
เปลือกมะนาว	-	-	25	>50	25	>50	25	>50	25	>50
ใบชะพลู	-	-	12.5	>50	25	>50	25	>50	25	>50
ดอกแค	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบเตย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : 3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

MIC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ (Minimum Inhibitory Concentration)

MFC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อราได้ (Minimum Fungicidal Concentration)

ตาราง 4.20 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Microsporium canis* (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ *Microsporium canis* Minimum Fungicidal Concentration (MFC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลายที่ใช้สกัดและระยะเวลาที่สกัด									
	Water		Ethanol 95%				Methanol 95%			
			3 Day		5 Day		3 Day		5 Day	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
ดีป्ली	-	-	6.25	12.5	6.25	12.5	6.25	12.5	6.25	12.5
มะตูม	-	-	6.25	12.5	6.25	12.5	6.25	12.5	6.25	12.5
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ชาเขียว	-	-	6.25	12.5	6.25	12.5	6.25	12.5	3.12	12.5
ชาอู่หลง	-	-	6.25	12.5	6.25	12.5	3.12	12.5	6.25	12.5
ดอกคำฝอย	-	-	6.25	1.25	3.12	6.25	6.25	12.5	3.12	6.25
เปลือกมะนาว	-	-	6.25	12.5	6.25	12.5	6.25	12.5	6.25	12.5
ใบชะพลู	-	-	6.25	12.5	6.25	12.5	-	-	-	-
ดอกแค	-	-	6.25	25	6.25	25	6.25	50	12.5	50
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบเตย	-	-	6.25	12.5	6.25	12.5	3.12	12.5	3.12	12.5

หมายเหตุ : 3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

MIC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ (Minimum Inhibitory Concentration)

MFC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อราได้ (Minimum Fungicidal Concentration)

ตาราง 4.21 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aspergillus fumigatus* TISTR3464 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ *Aspergillus fumigatus* TISTR3464 Minimum Fungicidal Concentration (MFC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลายที่ใช้สกัดและระยะเวลาที่สกัด									
	Water		Ethanol 95%				Methanol 95%			
			3 Day		5 Day		3 Day		5 Day	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
ดีปลี	6.25	12.5	6.25	12.5	3.12	6.25	6.25	12.5	3.12	6.25
มะตูม	-	-	6.25	25	6.25	12.5	6.25	25	6.25	12.5
ใบหม่อน	-	-	25	50	12.5	25	12.5	50	6.25	25
ชาเขียว	-	-	12.5	250	6.25	50	6.25	25	6.25	50
ชาอู่หลง	-	-	12.5	25	6.25	25	12.5	25	6.25	25
ดอกคำฝอย	-	-	6.25	25	6.25	12.5	12.5	25	6.25	12.5
เปลือกมะนาว	-	-	12.5	25	6.25	12.5	12.5	25	6.25	25
ใบชะพลู	-	-	6.25	12.5	6.25	12.5	12.5	25	6.25	25
ดอกแค	-	-	6.25	25	6.25	12.5	6.25	25	6.25	12.5
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	6.25	25	6.25	25
ใบเตย	-	-	12.5	25	6.25	25	6.25	25	12.5	25

หมายเหตุ : 3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

MIC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ (Minimum Inhibitory Concentration)

MFC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อราได้ (Minimum Fungicidal Concentration)

ตาราง 4.22 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Penicillium chrysogenum* TISTR3555 (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดพืชสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อ *Penicillium chrysogenum* TISTR3555 Minimum Fungicidal Concentration (MFC) ของสารสกัดโดยวิธี Broth Macro dilution test (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลายที่ใช้สกัดและระยะเวลาที่สกัด									
	Water		Ethanol 95%				Methanol 95%			
			3 Day		5 Day		3 Day		5 Day	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
ดีป्ली	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
มะตูม	-	-	-	-	-	-	12.5	50	6.25	25
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ชาเขียว	-	-	-	-	-	-	6.25	25	6.25	25
ชาอู่หลง	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เปลือกมะนาว	-	-	12.5	>50	6.25	50	12.5	50	12.5	25
ใบชะพลู	-	-	-	-	6.25	12.5	12.5	25	3.12	6.25
ดอกแค	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบเตย	-	-	50	>50	25	>50	-	-	-	-

หมายเหตุ : 3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

MIC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ (Minimum Inhibitory Concentration)

MFC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อราได้ (Minimum Fungicidal Concentration)

4.8 ผลการทดสอบสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยเทคนิค Drop plate

การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยเทคนิค Drop plate เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดว่ามีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียหรือไม่ ซึ่งทำการทดลองโดยนำสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ มาผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นทำการเจือจางเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้นเท่ากับ McFarland standard No. 0.5 ซึ่งจะมีค่าความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 1.5×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนผิวหน้าอาหาร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ซึ่งจากการทดลองพบว่า สารสกัดสมุนไพรดีป्लीที่สกัดด้วยเอทานอล 3 วัน เมทานอล 3 วัน ชาเขียวและชาอู่หลงที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 วิธี มะนาวที่สกัดด้วยเอทานอล 3 และ 5 วัน เมทานอล 3 และ 5 วัน และดอกแคที่สกัดด้วยเอทานอล 3 วัน ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย และพบว่าสารสกัดจากสมุนไพรมะตูมที่สกัดด้วยเอทานอล 3 และ 5 วัน ใบหม่อนที่สกัดด้วยเอทานอล 3 และ 5 วัน สารสกัดจากใบยอที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 วิธี และสารสกัดจากใบเตยที่สกัดโดยใช้เอทานอล 3 วัน เชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญได้ทั้ง 6 สายพันธุ์ (ตาราง 4.23)

สารสกัดจากสมุนไพรดีป्लीที่สกัดด้วยเอทานอล 5 วัน สารสกัดจากใบชะพลู และ ใบเตยสกัดโดยใช้เมทานอล 3 วัน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ (ตาราง 4.23)

สารสกัดจากสมุนไพรดีป्ली มะตูม ใบหม่อน ดอกคำฝอย ใบชะพลู ใบเตย ที่สกัดด้วยน้ำ และ ใบหม่อนที่สกัดด้วยเมทานอล 3 และ 5 วัน ไม่ได้ทำการทดลอง เนื่องจากสารสกัดจากสมุนไพรที่สกัดด้วยวิธีดังกล่าวไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ จึงไม่ได้ทำการทดลองต่อ และให้สัญลักษณ์แทนด้วย n

ตาราง 4.23 การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยเทคนิค Drop plate (ใช้เชื้อที่เจือจางหยดลงไป 10 ไมโครลิตร)

สมุนไพร	วิธีการสกัด	เชื้อจุลินทรีย์					
		<i>S. au</i>	<i>S. epi</i>	MRSA	<i>B. ce</i>	<i>E. co</i>	<i>Ps.</i>
ดีป्ली	น้ำ	n	n	n	n	n	n
	3E	0	0	0	0	0	0
	5E	0	0	0	0	+	+
	3M	0	0	0	0	0	0
	5M	+	+	+	0	+	+

หมายเหตุ n = ไม่ได้ทำการทดลองเนื่องจากพบว่าไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้, + = มีเชื้อเจริญ และ 0 = ไม่มีเชื้อเจริญ

S. au คือ *Staphylococcus aureus* DMST4212

S. epi คือ *Staphylococcus epidermidis* DMST518

MRSA คือ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20625

B. ce คือ *Bacillus cereus* DMST5040

E. co คือ *Escherichia coli* ATCC25922

Ps. คือ *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739

น้ำ คือ สกัดด้วยน้ำ

3E คือ สกัดด้วยเอทานอล 95% 3 วัน

5E คือ สกัดด้วยเอทานอล 95% 5 วัน

3M คือ สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน

5M คือ สกัดด้วยเมทานอล 95% 5 วัน



ตาราง 4.23 การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยเทคนิค Drop plate (ใช้เชื้อที่เจือจางหยดลงไป 10 ไมโครลิตร) (ต่อ)

สมุนไพร	วิธีการสกัด	เชื้อจุลินทรีย์					
		<i>S. au</i>	<i>S. epi</i>	MRSA	<i>B. ce</i>	<i>E. co</i>	<i>Ps.</i>
มะตูม	น้ำ	n	n	n	n	n	n
	3E	+	+	+	+	+	+
	5E	+	+	+	+	+	+
	3M	0	0	+	0	+	+
	5M	+	+	+	0	+	+
ใบหม่อน	น้ำ	n	n	n	n	n	n
	3E	+	+	+	+	+	+
	5E	+	+	+	+	+	+
	3M	n	n	n	n	n	n
	5M	n	n	n	n	n	n
ชาเขียว	น้ำ	0	0	0	0	0	0
	3E	0	0	0	0	0	0
	5E	0	0	0	0	0	0
	3M	0	0	0	0	0	0
	5M	0	0	0	0	0	0
ชาอู่หลง	น้ำ	0	0	0	0	0	0
	3E	0	0	0	0	0	0
	5E	0	0	0	0	0	0
	3M	0	0	0	0	0	0
	5M	0	0	0	0	0	0
ดอกคำฝอย	น้ำ	n	n	n	n	n	n
	3E	+	+	+	0	+	+
	5E	+	+	+	0	+	+
	3M	0	+	+	+	+	0
	5M	+	0	+	0	+	+

หมายเหตุ n = ไม่ได้ทำการทดลองเนื่องจากไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้, + = มีเชื้อเจริญ และ

0 = ไม่มีเชื้อเจริญ

S. au คือ *Staphylococcus aureus* DMST4212

S. epi คือ *Staphylococcus epidermidis* DMST518

MRSA คือ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20625

B. ce คือ *Bacillus cereus* DMST5040

E. co คือ *Escherichia coli* ATCC25922

Ps. คือ *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739

น้ำ คือ สกัดด้วยน้ำ

3E คือ สกัดด้วยเอทานอล 95% 3 วัน

5E คือ สกัดด้วยเอทานอล 95% 5 วัน

3M คือ สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน

5M คือ สกัดด้วยเมทานอล 95% 5 วัน



ตาราง 4.23 การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยเทคนิค Drop plate (ใช้เชื้อที่เจือจางหยดลงไป 10 ไมโครลิตร) (ต่อ)

สมุนไพร	วิธีการสกัด	เชื้อจุลินทรีย์					
		<i>S. au</i>	<i>S. epi</i>	MRSA	<i>B. ce</i>	<i>E. co</i>	<i>Ps.</i>
มะนาว	น้ำ	+	+	+	0	+	+
	3E	0	0	0	0	0	0
	5E	0	0	0	0	0	0
	3M	0	0	0	0	0	0
	5M	0	0	0	0	0	0
ชะพลู	น้ำ	n	n	n	n	n	n
	3E	+	+	+	0	+	+
	5E	+	+	+	0	+	+
	3M	0	0	0	0	+	+
	5M	0	0	0	+	0	0
ดอกแค	น้ำ	+	0	+	0	+	0
	3E	0	0	0	0	0	0
	5E	0	0	+	0	+	+
	3M	0	0	+	0	+	0
	5M	+	+	+	0	+	+
ใบยอ	น้ำ	+	+	+	+	+	+
	3E	+	+	+	+	+	+
	5E	+	+	+	+	+	+
	3M	+	+	+	+	+	+
	5M	+	+	+	+	+	+
ใบเตย	น้ำ	n	n	n	n	n	n
	3E	+	+	+	+	+	+
	5E	+	+	+	0	+	+
	3M	0	0	0	0	+	+
	5M	+	+	+	0	+	+

หมายเหตุ n = ไม่ได้ทำการทดลองเนื่องจากไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้, + = มีเชื้อเจริญ และ 0 = ไม่มีเชื้อเจริญ

S. au คือ *Staphylococcus aureus* DMST4212

S. epi คือ *Staphylococcus epidermidis* DMST518

MRSA คือ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20625

B. ce คือ *Bacillus cereus* DMST5040

E. co คือ *Escherichia coli* ATCC25922

Ps. คือ *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739

น้ำ คือ สกัดด้วยน้ำ

3E คือ สกัดด้วยเอทานอล 95% 3 วัน

5E คือ สกัดด้วยเอทานอล 95% 5 วัน

3M คือ สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน

5M คือ สกัดด้วยเมทานอล 95% 5 วัน



4.9 ผลการทดสอบสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ โดยเทคนิค Drop plate

การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ โดยเทคนิค Drop plate เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดว่ามีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์หรือไม่ ซึ่งทำการทดลองโดยนำสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้ มาผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นทำการเจือจางเชื้อยีสต์ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ McFarland standard No. 0.5 ซึ่งจะมีค่าความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 1.5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนผิวหน้าอาหาร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งจากการทดลองพบว่า สารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วยเอทานอล 3 วัน 5 วัน และเมทานอล 5 วัน ดอกคำฝอยที่สกัดด้วยเมทานอล 5 วัน มะนาวที่สกัดด้วยเมทานอล 3 และ 5 วัน และใบชะพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 5 วัน เมทานอล 3 และ 5 วัน ไม่มีการเจริญของเชื้อยีสต์ (ตาราง 4.24)

สารสกัดจากสมุนไพรที่สกัดด้วยเอทานอล 3 วัน มะตูม และมะนาวที่สกัดด้วยเอทานอล 3 และ 5 วัน และใบชะพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 3 เชื้อยีสต์สามารถเจริญได้ (ตาราง 4.24)

สารสกัดจากสมุนไพรทุกชนิดที่สกัดด้วยน้ำ ใบหม่อน ชาเขียว ชาอู่หลง ดอกแค ใบยอ และใบเตย ที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 วิธี มะตูมที่สกัดด้วยเมทานอล 3 และ 5 วัน และดอกคำฝอยที่สกัดด้วยเอทานอล 3 และ 5 วัน และสกัดด้วยเมทานอล 3 วัน ไม่ได้ทำการทดลอง เนื่องจากสารสกัดจากสมุนไพรที่สกัดด้วยวิธีดังกล่าวไม่สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ได้ จึงไม่ได้ทำการทดลองต่อ และให้สัญลักษณ์แทนด้วย n



ตาราง 4.24 การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ โดยเทคนิค Drop plate (ใช้เชื้อที่เจือจางหยดลงไป 10 ไมโครลิตร)

สมุนไพร	วิธีการสกัด				
	น้ำ	เอทานอล		เมทานอล	
		3 วัน	5 วัน	3 วัน	5 วัน
ดีปลี	n	0	0	+	0
มะตูม	n	+	+	n	n
ใบหม่อน	n	n	n	n	n
ชาเขียว	n	n	n	n	n
ชาอู่หลง	n	n	n	n	n
ดอกคำฝอย	n	n	n	n	0
มะนาว	n	+	+	0	0
ใบชะพลู	n	+	0	0	0
ดอกแค	n	n	n	n	n
ใบยอ	n	n	n	n	n
ใบเตย	n	n	n	n	n

หมายเหตุ n = ไม่ได้ทำการทดลองเนื่องจากไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้, + = มีเชื้อเจริญ และ

0 = ไม่มีเชื้อเจริญ

น้ำ คือ สกัดด้วยน้ำ

3E คือ สกัดด้วยเอทานอล 95% 3 วัน

5E คือ สกัดด้วยเอทานอล 95% 5 วัน

3M คือ สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน

5M คือ สกัดด้วยเมทานอล 95% 5 วัน



4.10 ผลการทดสอบสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยใช้ cork borer เจาะ เชื้อวาลงบนจานอาหาร

การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยใช้ cork borer เจาะ เชื้อวาลงบนจานอาหาร เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดว่ามีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราหรือไม่ ซึ่งนำสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ มาผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราลงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร เจาะเชื้อรา แล้ววางลงบนจานอาหาร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ในแต่ ละจานอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถวางเชื้อราได้หลายชนิด) ซึ่งจากการทดลองพบว่า สารสกัดสมุนไพรดีป्ली และชาอู่หลงที่สกัดด้วยเมทานอล 5 วัน มะตูมที่สกัดด้วยเมทานอล 3 วัน ชาเขียวที่สกัดด้วยเอทานอล 3 และ 5 วัน ดอกคำฝอย และมะนาวที่สกัดด้วยเอทานอล 3 วัน และดอกแคที่สกัดด้วยเอทานอล 5 วัน ไม่มีการเจริญของเชื้อรา (ตาราง 4.25)

สารสกัดจากสมุนไพรใบหม่อน และใบเตยที่สกัดด้วยเอทานอล 3 และ 5 วัน เมทานอล 3 และ 5 วัน มะนาว และใบยอที่สกัดด้วยเมทานอล 3 วัน ชาอู่หลงที่สกัดด้วยน้ำ และเอทานอล 3 วัน และสารสกัดจากสมุนไพรชะพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 3 วัน พบว่าเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถเจริญได้ สารสกัดสมุนไพรดอกคำฝอยที่สกัดด้วยเมทานอล 5 วัน ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. chrysogenum* ได้ แต่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. canis* และเชื้อ *A. fumigatus* ได้ (ตาราง 4.25)

สารสกัดสมุนไพรดีป्लीที่สกัดด้วยน้ำ สารสกัดสมุนไพรดีป्ली และดอกแคที่สกัดด้วยเอทานอล 3 วัน สารสกัดสมุนไพรดีป्ली มะตูม ดอกคำฝอย มะนาว และใบชะพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 5 วัน สารสกัดสมุนไพรดีป्ली ชาอู่หลง และใบชะพลูที่สกัดด้วยเมทานอล 3 วัน สารสกัดสมุนไพรมะตูม และใบชะพลูที่ สกัดด้วยเมทานอล 5 วัน ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. canis* ได้ แต่สามารถยับยั้งการเจริญ ของเชื้อ *P. chrysogenum* และเชื้อ *A. fumigatus* ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากสมุนไพรมะตูม ที่สกัดด้วยเอทานอล 3 วัน และชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอล 5 วัน ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. fumigatus* ได้แต่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. chrysogenum* และเชื้อ *M. canis* (ดังแสดงใน ตาราง 4.25)

สารสกัดจากสมุนไพรมะตูม ดอกคำฝอย มะนาว ใบชะพลู ใบยอ และใบเตยที่สกัดด้วยน้ำ และสารสกัดสมุนไพรใบยอที่สกัดด้วยเอทานอล 3 และ 5 วัน ไม่ได้ทำการทดลอง เนื่องจากสารสกัด จากสมุนไพรที่สกัดด้วยวิธีดังกล่าวไม่สามารถยับยั้งเชื้อราได้จากการทดสอบด้วยวิธี Poisoned food method จึงไม่ได้ทำการทดลองโดยใช้ cork borer เจาะเชื้อวาลงบนจานอาหารต่อ และให้สัญลักษณ์ แทนด้วย n



ตาราง 4.25 การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยใช้ cork borer เจาะ
เชื้อวาลงบนจานอาหารที่ผสมสารสกัดสมุนไพร

สมุนไพร	วิธีการสกัด	เชื้อรา		
		<i>M. ca</i>	<i>As.</i>	<i>Pe.</i>
ดีปลี	น้ำ	+	0	0
	3E	+	0	0
	5E	+	0	0
	3M	+	0	0
	5M	0	0	0
มะตูม	น้ำ	n	n	n
	3E	0	+	0
	5E	+	0	0
	3M	0	0	0
	5M	+	0	0
ใบหม่อน	น้ำ	n	n	n
	3E	+	+	+
	5E	+	+	+
	3M	+	+	+
	5M	+	+	+
ชาเขียว	น้ำ	+	0	+
	3E	0	0	0
	5E	0	0	0
	3M	+	0	+
	5M	0	+	0
ชาอู่หลง	น้ำ	+	+	+
	3E	+	+	+
	5E	+	+	0
	3M	+	0	0
	5M	0	0	0

หมายเหตุ n = ไม่ได้ทำการทดลองเนื่องจากไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้, + = มีเชื้อเจริญ และ
0 = ไม่มีเชื้อเจริญ

M. ca คือ *Microsporum canis*

As. คือ *Aspergillus fumigatus* TISTR3464

Pe. คือ *Penicillium chrysogenum* TISTR3555

น้ำ คือ สกัดด้วยน้ำ

3E คือ สกัดด้วยเอทานอล 95% 3 วัน

3M คือ สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน

5E คือ สกัดด้วยเอทานอล 95% 5 วัน

5M คือ สกัดด้วยเมทานอล 95% 5 วัน



ตาราง 4.25 การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยใช้ cork borer เจาะ
เชื้อวาลงบนจานอาหารที่ผสมสารสกัดสมุนไพร (ต่อ)

สมุนไพร	วิธีการสกัด	เชื้อรา		
		<i>M. ca</i>	<i>As.</i>	<i>Pe.</i>
ดอกคำฝอย	น้ำ	n	n	n
	3E	0	0	0
	5E	+	0	0
	3M	+	+	0
	5M	0	0	+
มะนาว	น้ำ	n	n	n
	3E	0	0	0
	5E	+	0	0
	3M	+	+	+
	5M	+	0	+
ใบชะพลู	น้ำ	n	n	n
	3E	+	+	+
	5E	+	0	0
	3M	+	0	0
	5M	+	0	0
ดอกแค	น้ำ	+	0	+
	3E	+	0	0
	5E	0	0	0
	3M	+	+	0
	5M	+	+	0

หมายเหตุ n = ไม่ได้ทำการทดลองเนื่องจากไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้, + = มีเชื้อเจริญ และ
0 = ไม่มีเชื้อเจริญ

M. ca คือ *Microsporum canis*

As. คือ *Aspergillus fumigatus* TISTR3464

Pe. คือ *Penicillium chrysogenum* TISTR3555

น้ำ คือ สกัดด้วยน้ำ

3E คือ สกัดด้วยเอทานอล 95% 3 วัน

5E คือ สกัดด้วยเอทานอล 95% 5 วัน

3M คือ สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน

5M คือ สกัดด้วยเมทานอล 95% 5 วัน



ตาราง 4.25 การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยใช้ cork borer เจาะ
เชื้อวาลงบนจานอาหารที่ผสมสารสกัดสมุนไพร (ต่อ)

สมุนไพร	วิธีการสกัด	เชื้อรา		
		<i>M. ca</i>	<i>As.</i>	<i>Pe.</i>
ใบยอ	น้ำ	n	n	n
	3E	n	n	n
	5E	n	n	n
	3M	+	+	+
	5M	0	+	+
ใบเตย	น้ำ	n	n	n
	3E	+	+	+
	5E	+	+	+
	3M	+	+	+
	5M	+	+	+

หมายเหตุ n = ไม่ได้ทำการทดลองเนื่องจากไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้, + = มีเชื้อเจริญ และ
0 = ไม่มีเชื้อเจริญ

M. ca คือ *Microsporum canis*

As. คือ *Aspergillus fumigatus* TISTR3464

Pe. คือ *Penicillium chrysogenum* TISTR3555

น้ำ คือ สกัดด้วยน้ำ

3E คือ สกัดด้วยเอทานอล 95% 3 วัน

5E คือ สกัดด้วยเอทานอล 95% 5 วัน

3M คือ สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน

5M คือ สกัดด้วยเมทานอล 95% 5 วัน



บทที่ 5

บทสรุป

5.1 สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

5.1.1 ผลการออกฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อจุลินทรีย์

จากการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพร 10 ชนิด (ติปลี มะตูม ใบหม่อน ใบชา (ชาเขียว และ ชาอู่หลง) ดอกคำฝอย มะนาว ใบชะพลู ดอกแค ใบยอ และใบเตย) สกัดโดย 3 วิธีที่แตกต่างกัน (ต้มในน้ำเดือด แช่ในเอทานอล 3 และ 5 วัน และแช่ในเมทานอล 3 และ 5 วัน) พบว่ามีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แตกต่างกัน ทั้งนี้มีรายงานเกี่ยวกับการใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในการสกัดสารจากพืชชนิดต่างๆ พบว่ามีการใช้ ethanol ในการสกัดสารจากมะนาว (Pathan *et al.*, 2012) มีรายงานการใช้ ethanol และ methanol สกัดสารสกัดจากมะตูม (Mishra *et al.*, 2010; Prasannabalaji *et al.*, 2012; Dahiya *et al.*, 2015) มีรายงานการใช้ methanol สกัดสารสกัดจากยอ (ทัศนีย์ ปัญจานนท์ และคณะ, 2548) รายงานการใช้ methanol สกัดสารสกัดจากดอกแค (China *et al.*, 2012) Gupta and Kumar, 2017 ใช้ methanol สกัดสารสกัดจากชาเขียว Tran *et al.*, 2017 ได้ใช้ methanol ในการสกัดสารสกัดจากใบหม่อน

การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางยา พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบได้ แต่มีประสิทธิภาพแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด และสายพันธุ์ของสมุนไพรรวมถึงเชื้อแบคทีเรียที่นำมาศึกษา โดยรวมพบว่า สารสกัดจากสมุนไพรไทยทุกชนิดสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Parekh *et al.* (2005) ที่พบว่า สารสกัดสมุนไพรส่วนใหญ่ให้ผลยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกประกอบด้วยสารหลัก คือ เพปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) ในขณะที่โครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีความซับซ้อนกว่าโดยประกอบด้วยสารหลักคือเมมเบรนชั้นนอก (outer membrane) ประมาณร้อยละ 80 และเพปทิโดไกลแคนประมาณร้อยละ 20 (วัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์ และคณะ, 2559)

ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย พบว่า ชาเขียว ที่สกัดด้วย เมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* DMST4212 และ เชื้อ MRSA DMST20625 ได้ดีที่สุด มีโซนยับยั้งเท่ากับ 28.3 ± 0.58 และ 28.3 ± 0.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ มีค่า MIC คือ 3.12 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มีค่า MBC มากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มะตูมที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* DMST518 ได้ดีที่สุด มีโซนยับยั้งเท่ากับ 29.7 ± 1.2 มิลลิเมตร มีค่า MIC คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า MBC มากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ชาเขียวที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน และชาอู่หลงที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* DMST5040 ได้ดีที่สุด มีโซนยับยั้งเท่ากับ 25.3 ± 0.6 มิลลิเมตร มีค่า MIC คือ 12.5 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า MBC มากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เปลือกมะนาวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ยับยั้ง



เชื้อ *E. coli* ATCC25922 ได้ดีที่สุด มีโซนยับยั้งเท่ากับ 15.7 ± 0.6 มิลลิเมตร มีค่า MIC คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า MBC มากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เปลือกมะนาวที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ps. aeruginosa* DMST4739 ได้ดีที่สุด มีโซนยับยั้งเท่ากับ 18.3 ± 0.6 มิลลิเมตร มีค่า MIC คือ 25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า MBC มากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ผลการศึกษาศาสตร์สกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* NCYC854 พบว่า ใบชะพลูที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* NCYC854 ได้ดีที่สุด มีโซนยับยั้งเท่ากับ 23 ± 1 มิลลิเมตร มีค่า MIC คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า MBC มากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ ใบชะพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ ใบชะพลูที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน มีโซนยับยั้งเท่ากับ 22 ± 1 มิลลิเมตร มีค่า MIC คือ 12.5 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า MBC มากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใบชะพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน และ มะตูมที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน มีโซนยับยั้งเท่ากับ 19.3 ± 1.2 และ 18.7 ± 0.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 2 วิธีการสกัดมีค่า MIC คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ มีค่า MBC มากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ผลการศึกษาศาสตร์สกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา พบว่า มะตูมที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. canis* ได้ดีที่สุด มีระยะห่างระหว่างปากหลุมและเส้นใยราเท่ากับ 4.5 ± 0.5 มิลลิเมตร มีค่า MIC คือ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ มีค่า MBC เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ มะตูมที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ ใบชะพลูที่สกัดด้วย เอทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน มีระยะห่างระหว่างปากหลุมและเส้นใยราเท่ากับ 4.2 ± 0.8 มิลลิเมตร ซึ่งทั้ง 2 วิธีการสกัดมีค่า MIC คือ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ มีค่า MBC เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใบชะพลูสกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. fumigatus* TISTR3464 และ *P. chrysogenum* TISTR3555 ได้ดีที่สุด มีระยะห่างระหว่างปากหลุมและเส้นใยราเท่ากับ 7.3 ± 0.6 และ 7.3 ± 0.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ มีค่า MIC คือ 6.25 และ 3.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ มีค่า MBC เท่ากับ 25 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ รองลงมาคือ ใบชะพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และ 5 วัน และ ดิบลิที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน มีระยะห่างระหว่างปากหลุมและเส้นใยราเท่ากับ 6.8 ± 0.3 6.7 ± 0.8 และ 6.3 ± 0.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 3 วิธีการสกัดมีค่า MIC คือ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ มีค่า MBC เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เปลือกมะนาวที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 5 วัน ใบชะพลูที่สกัดด้วยเมทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน และเปลือกมะนาวที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 3 วัน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. chrysogenum* TISTR3555 ได้ ซึ่งมีระยะห่างระหว่างปากหลุมและเส้นใยราเท่ากับ 5.3 ± 0.3 4.7 ± 0.6 และ 3.5 ± 0.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ MIC คือ 6.25 12.5 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และ มีค่า MBC เท่ากับ 50 25 และ มากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ



5.1.2 ผลการทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยเทคนิค Drop plate

การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยเทคนิค Drop plate เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดว่ามีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียหรือไม่ ซึ่งจากการทดลองพบว่า อาหารที่ผสมสารสกัดสมุนไพรดีป्लीที่สกัดด้วยเอทานอล 3 วัน เมทานอล 3 วัน ชาเขียวและชาอู่หลงที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด มะนาวที่สกัดด้วยเอทานอล 3 และ 5 วัน เมทานอล 3 และ 5 วัน และดอกแคที่สกัดด้วยเอทานอล 3 วัน ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Kumar *et al.* (2012) ที่ได้ทำการทดสอบสารสกัดจากชาเขียวผสมลงไป ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นหยอดเชื้อจุลินทรีย์ลงไป ใช้เชื้อปริมาตร 10 20 และ 30 ไมโครลิตร จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ เชื้อ *Staphylococcus* spp., *Streptococci* spp., *Pseudomonas* spp., *E.coli*, *Bacillus* spp. และ *Proteus* spp. และจากการทดลองไม่มีการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus* spp., *Streptococci* spp., *Pseudomonas* spp., *E.coli*, *Bacillus* spp. และ *Proteus* spp.

5.1.3 ผลการทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ โดยเทคนิค Drop plate

การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ โดยเทคนิค Drop plate เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดว่ามีผลต่อการเจริญของเชื้อยีสต์หรือไม่ ซึ่งจากการทดลองพบว่า อาหารที่ผสมสารสกัดสมุนไพรดีป्लीที่สกัดด้วยเอทานอล 3 วัน 5 วัน และเมทานอล 5 วัน ดอกคำฝอยที่สกัดด้วยเมทานอล 5 วัน มะนาวที่สกัดด้วยเมทานอล 3 และ 5 วัน และใบชะพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 5 วัน เมทานอล 3 และ 5 วัน ไม่มีการเจริญของเชื้อยีสต์

5.1.4 ผลการทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยใช้ cork borer เจาะเชื้อวางลงบนจานอาหาร

การทดสอบสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยใช้ cork borer เจาะเชื้อวางลงบนจานอาหารที่ผสมสารสกัดพืชสมุนไพร เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดว่ามีผลต่อการเจริญของเชื้อราหรือไม่ ซึ่งจากการทดลองพบว่า สารสกัดสมุนไพรดีป्ली และชาอู่หลงที่สกัดด้วยเมทานอล 5 วัน มะตูมที่สกัดด้วยเมทานอล 3 วัน ชาเขียวที่สกัดด้วยเอทานอล 3 และ 5 วัน ดอกคำฝอย และมะนาวที่สกัดด้วยเอทานอล 3 วัน และดอกแคที่สกัดด้วยเอทานอล 5 วัน ไม่มีการเจริญของเชื้อรา *Microsporum canis*, *Aspergillus fumigatus* TISTR3464 และ *Penicillium chrysogenum* TISTR3555



5.1.5 ข้อเสนอแนะ

5.1.5.1 ควรศึกษาสารสกัดจากชาชนิดอื่นๆ เพิ่มเติม เพื่อที่จะเป็นองค์ความรู้และพัฒนาความรู้ไปสู่สังคมต่อไป

5.1.5.2 เมื่อเปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของสารสกัดพืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองกับยาต้านเชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน พบว่าต้องใช้สารสกัดในปริมาณความเข้มข้นที่สูงกว่ายา ดังนั้นหากจะศึกษาสารสกัดเหล่านี้เพื่อพัฒนาปรับปรุงเป็นยา หรือสารสกัดยับยั้งจุลชีพก่อโรค จะต้องทำการแยกสารสกัดหยาบให้บริสุทธิ์ แล้วจึงนำมาทดสอบอีกครั้ง

5.1.5.3 ควรมีการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหลายๆ ด้าน เช่น ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การต้านการอักเสบ หรือฤทธิ์การฆ่าแมลง เป็นต้น

5.1.5.4 องค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ยังไม่สามารถนำไปใช้ในการรักษา และใช้เป็นยาต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ จะต้องมีการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัด และทดสอบด้านอื่นๆ ให้ปลอดภัยก่อน จึงจะนำไปใช้ได้จริง

5.1.5.5 ควรมีการศึกษาพิษวิทยาของพืชสมุนไพรไทย เพื่อความปลอดภัยในการนำไปใช้ประโยชน์ในผู้บริโภค

5.1.5.6 ควรมีการศึกษากลไกการทำลายเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา เพื่อจะได้ทราบว่าสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษาสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา ได้อย่างไร และมีกลไกในการทำลายส่วนไหนของเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา



เอกสารอ้างอิง



เอกสารอ้างอิง

กิตติศักดิ์ แคล้วจันทร์สุข (2560) การสกัดแยกและพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารสำคัญจากสมุนไพร.

(ออนไลน์). ได้จาก: http://www.teacher.ssru.ac.th/kittisak_ja/pluginfile.php/98/block_html/content/4-%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%AA%E0%B8%81%E0%B8%B1%E0%B8%94%E0%B9%81%E0%B8%A2%E0%B8%81%E0%B9%81%E0%B8%A5%E0%B8%B0%E0%B8%9E%E0%B8%B4%E0%B8%AA%E0%B8%B9%E0%B8%88%E0%B8%99%E0%B9%8C%E0%B9%80%E0%B8%AD%E0%B8%81%E0%B8%A5%E0%B8%B1%E0%B8%81%E0%B8%A9%E0%B8%93%E0%B9%8C%E0%B8%82%E0%B8%AD%E0%B8%87%E0%B8%AA%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%AA%E0%B8%B3%E0%B8%84%E0%B8%B1%E0%B8%8D%E0%B8%88%E0%B8%B2%E0%B8%81%E0%B8%AA%E0%B8%A1%E0%B8%B8%E0%B8%99%E0%B9%84%E0%B8%9E%E0%B8%A3-kitthisak.pdf [สืบค้นเมื่อวันที่ 20 เดือนตุลาคม พ.ศ. 2560].

กัณธร มาลาธรรม (2560) หลักการใชยาปฏิชีวนะในเวชปฏิบัติทั่วไป. (ออนไลน์). ได้จาก:

<file:///C:/Users/ASUS/Desktop/Antibiotics%20%E0%B8%AD%20%E0%B8%81%E0%B8%B3%E0%B8%98%E0%B8%A3.pdf> [สืบค้นเมื่อวันที่ 20 เดือนตุลาคม พ.ศ. 2560].

กัลทิมา พิชัย (2555) รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ การศึกษาการใช้สารสกัดพืชสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา สาเหตุโรคพืชที่สำคัญในพื้นที่สละวง อ.แม่อรม จ.เชียงใหม่ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ท้องถิ่น. เชียงใหม่, มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

เกศรินทร์ รามณี (2552) การยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษแอฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* โดยสารสกัดจากพืชตระกูลส้ม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

คณะกรรมการประสานและบูรณาการงานด้านการต่อต้านจุลชีพ (2558) ภูมิทัศน์ของสถานการณ์และการจัดการ การต่อต้านจุลชีพในประเทศไทย. กรุงเทพฯ, สำนักพิมพ์อักษรกราฟิก แอนด์ดีไซน์.

จรินทร์ ต้นตึกกิจศิริวงศ์ (2556) วิธีแห่งชา. กรุงเทพฯ, Feel good.

จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร (2559) การสกัดสารฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเพกา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารบัณฑิต. มหาวิทยาลัยบูรพา.

จุไรรัตน์ เกิดดอนแฝก (2552) สมุนไพรบำบัดเบาหวาน 105 ชนิด. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ, เซเว่นพรินติ้ง กรุ๊ป.

ทัศนีย์ ปัญจนาท, กันทิมา ชูแสง และธีรกุล อาภรณ์สุวรรณ (2548) ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากผลยอ. วารสารสมุนไพร, 12(1), 19-29.

ธนพร วงษ์เอี่ยม และชลธิชา บัวตะมะ (2558) ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดหยาบใบเตย ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิด. โครงการวิจัยปริญญาโทบริหารบัณฑิต. มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.



- ธนารัตน์ รอสณา (2549) *ชาเครื่องดื่มสมุนไพรบำรุงสุขภาพ*. กรุงเทพฯ, ไพลิน.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ (2547) *แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค*. พิมพ์ครั้งที่3. กรุงเทพฯ, noble print.
- บงกชวรรณ สุตะพาหะ (2551) *การตรวจพิสูจน์เชื้อราก่อโรคทางห้องปฏิบัติการ*. พิมพ์ครั้งที่2. เชียงใหม่, ห้างหุ้นส่วนจำกัด ดาราวรรณการพิมพ์.
- ปาจริย์ ขาวสุด (2557) *ผลการต้านจุลชีพของสมุนไพรไทยในวงศ์ Lamiaceae, Piperaceae และ Zingiberaceae ต่อเชื้อก่อโรคในช่องปาก*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ปรมาภรณ์ เกิดทรัพย์ และ พิสุทธิ หนักแน่น (2556) *โครงการการพัฒนาสารเคลือบผิวต้านจุลินทรีย์ที่เติมสารสกัดใบหม่อนและใบกระเพราเพื่อการประยุกต์ใช้เป็นสารเคลือบผิวเพื่อยืดอายุการเก็บรักษามะม่วง*. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2556. สนับสนุนโดย สำนักงานบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา.
- พัชรินทร์ บุญหล้า เหมิน ผดุงกิจ อุดมศักดิ์ มหาวิวัฒน์ และ จิตารัตน์ สมดี (2557) *ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดใบชะพลู*. วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน, (10) 3, 283-294
- พร้อมจิต ศรีลัมพ์ (2548) *สมุนไพรสวนสิริรุกชาติ*. กรุงเทพมหานคร, ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- พเยาว เหมือนวงศญาติ (2537) *คู่มือสมุนไพรไทย*. กรุงเทพฯ, อักษรพัฒนา.
- พเยาว์ เหมือนวงศญาติ (2537) *สมุนไพรก้าวใหม่*. กรุงเทพฯ, ทีพีพรินท์.
- พิมพ์ร ลีลาพรพิสิฐ (2547) *เครื่องสำอางค์ธรรมชาติ ผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหน้า*. กรุงเทพฯ, โอ เอส พรินต์ติ้ง เฮาส์.
- พิมพ์พันธุ์ เลียงพิบูลย์, ณัฐวิวรรณ ปุ่นวัน และชินฤดี ไชยวสุ (2538) *เอกสารประกอบการสอนชุดวิทยาการทางคลินิกเกี่ยวกับจุลชีว ปรสิตร และภูมิคุ้มกัน*. พิมพ์ครั้งที่ 2. สุโขทัย, มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.
- ภัทรชัย กิรติสิน (2549) *ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์*. กรุงเทพฯ, ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.
- ยศ สันติสมบัติ (2544) *มนุษย์กับวัฒนธรรม*. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัทธิธรรมศาสตร์.
- รักษ์เกียรติ จิรันธร (2560) มะตูม. (ออนไลน์). ได้จาก: <http://pcog2.pharmacy.psu.ac.th/thi/Article/2549/04-2549/Aegle-marmelos.pdf> [สืบค้นเมื่อวันที่ 20 เดือนตุลาคม พ.ศ. 2560].
- รัตนา อินทราภรณ์ (2547) *การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร*. กรุงเทพฯ, สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.



- วัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์ พัทรี กัมมารเจษฎากุล และอิสยา จันทรวิธานุชิต (2559)ฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรไทย 10 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli* ATCC 25922. วารสาร มฉก.วิชาการ, 38 (19), 35-48.
- วันดี กฤษณพันธ์ (2538) สมุนไพรสารพัดประโยชน์. กรุงเทพฯ, ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- วันดี แสงสุวรรณ (2549) กระบวนการผลิตชาใบหม่อนผงสำเร็จรูป. กรุงเทพฯ, วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง.
- วันวิสาห์ ศิริวัฒนเมธานนท์ (2555) เอกสารประกอบการสอนรายวิชา จุลชีววิทยาทางการแพทย์. มหาสารคาม, ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.
- วุฒิ วุฒิธรรมเวช (2540) สารานุกรมไทยรวมหลักเภสัชกรรมไทย. กรุงเทพฯ, โอ เอส พริ้นติ้งเฮาส์.
- วีระสิทธิ์ กัลยาณฤดี และวรศักดิ์ ช่างภา (2553) อิทธิพลของสารสกัดหยาบสมุนไพรต่อจุลินทรีย์ในลูกแพ้ง. เรื่องเติมการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48. 3-5 กุมภาพันธ์ 2553, กรุงเทพฯ, สาขาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 211-217.
- ศิริพร หมาดหล้า และพจนพร ไกรดิษฐ์ (2559) สารอัลคาลอยด์จากพืช และกลไกการออกฤทธิ์ระดับโมเลกุลในการต้านมะเร็ง. สงขลานครินทร์เวชสาร, 35(1), 83-94.
- ศิริลักษณ์ อนันต์ณัฐศิริ และเพลินจันทร์ เซษฐโชติศักดิ์ (2560) ยาปฏิชีวนะกลุ่ม Aminoglycosides. (ออนไลน์). ได้จาก: www.ped.si.mahidol.ac.th/site_data/mykku_med/701000033/Aminoglycosides.doc [สืบค้นเมื่อวันที่ 12 กันยายน 2560].
- ศุภนารถ เกตุเจริญ และอัญชลี พัดมีเทศ (2560) ชา (ออนไลน์). ได้จาก: http://eto.ku.ac.th/neweto/e-book/plant/tree_fruit/fruit17.pdf [สืบค้นเมื่อวันที่ 12 กันยายน 2560].
- สุตานันท์ ธนาธัญญ์ (2557) องค์การอนามัยโลกแจ้ง ยาปฏิชีวนะเสียคุณสมบัติในการรักษาแล้วทั่วโลก. (ออนไลน์). ได้จาก: <http://www.vcharkarn.com/vnews/448658> [สืบค้นเมื่อวันที่ 12 กันยายน 2558].
- สิริแข พงษ์สวัสดิ์ และ ทรงพล จำดิษฐ์ (2015) ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของเปลือกผลไม้บางชนิดต่อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Antibacterial Activities of Some Fruit Peels against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Science and Technology RMUTT Journal, 5(1), 63-69.
- สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร และสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2550) เศรษฐกิจสมุนไพรไทย ปี 2549/50 กรณีศึกษา: กระเจี๊ยบแดง ดอกคำฝอย และกวาวเครือขาว. (ออนไลน์). ได้จาก: http://www.oae.go.th/download/resech/edu_50.pdf. [สืบค้นเมื่อวันที่ 12 กันยายน 2558].
- โสภณ คงสำราญ (2524) แบคทีเรียทางการแพทย์. กรุงเทพฯ, คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.



- อภัย ราษฎร์วิจิตร (2560) คีโตโคนาโซล (Ketoconazole). (ออนไลน์). ได้จาก: <http://haamor.com/th/%E0%B8%84%E0%B8%B5%E0%B9%82%E0%B8%95%E0%B9%82%E0%B8%84%E0%B8%99%E0%B8%B2%E0%B9%82%E0%B8%8B%E0%B8%A5/#article103> [สืบค้นเมื่อวันที่ 12 กันยายน 2558].
- อรอนงค์ พริ้งสุกละ (2556) จุลชีววิทยาทางการแพทย์: แบคทีเรียก่อโรค. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ, จรัสสนิทวงศ์การพิมพ์.
- อริญญา มโนสร้อย และจิระเดช มโนสร้อย (2548) น้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากสมุนไพรไทย การใช้ทางยาและเครื่องสำอาง. เชียงใหม่, ครองช่าง.
- อิสยา จันทน์วิทยานุกิต และวัชรินทร์ รังษิภาณรัตน์ (2556) แบคทีเรียทางการแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- โอภา วัชรคุปต์ (2549) สารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพฯ, พี เอส พรินท์.
- Abraham J and Thomas TD (2012) Antibacterial activity of medicinal plant *Cyclea peltata* (Lam) Hooks & Thoms. *Journal of Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, S280-S284.
- Aibinu I, Adenipekun T, Adelowotan T, Ogunsanya T and Odugbemi T (2007) Evaluation of the Antimicrobial Properties of Different Parts of *Citrus aurantifolia* (Lime Fruit) as Used Locally. *Journal of African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, 4(2), 185–190.
- Aouadhi C, Maaroufi A and Mejri S (2014). Incidence and characterisation of aerobic spore-forming bacteria originating from dairy milk in Tunisia. *Journal of International Dairy Technology*, 67, 95-102.
- Apisariyakul A (1984) Investigation of fractions isolated from Thai medicinal plants affecting isolated rat ileum. In: Proceedings of the 10th Conference of Science and Technology of Thailand. *Journal of Chiangmai*, 450-451.
- Apisariyakul A and Anantasarn V (1984) A pharmacological study of the Thai medicinal plants used as cathartics and antispasmodics. In: Proceedings of the 10th Conference of Science and Technology of Thailand, *Journal of Chiangmai*, 452-453.
- Balakumar S, Rajan S, Thirunalasundari T and Jeeva S (2011) Antifungal activity of *Aegle marmelos* (L.) Correa (Rutaceae) leaf extract on dermatophytes. *Journal of Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(4), 309–312.
- Botelho-Nevers E, Gagnaire J, Verhoeven PO, Cazorla C, Grattard F, Pozzetto B, Berthelot P and Lucht F (2017) Decolonization of *Staphylococcus aureus* carriage. *Journal of Medicine et maladies infectieuses*, 42, 305-310.
- Balouiri M, Sadiki M and Ibensouda SK (2016) Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6, 71-79.



- China R, Mukherjee S, Sen S, Bose S, Datta S and Koley H (2012) Antimicrobial activity of *Sesbania grandiflora* flower polyphenol extracts on some pathogenic bacteria and growth stimulatory effect on the probiotic organism *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Microbiological Research*, 167, 500-506.
- Dahiya R, Tomar RS and Shrivastava V (2015) Evaluation of Antimicrobial Potential of *Aegle marmelos* Fruit Extract against Selected Microorganisms. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(9), 681-684.
- Das K, Tiwari R and Shrivastava DK (2010) Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(2), 104-111.
- Djeussi DE, Noumedem JAK, Seukep JA, Fankam AG, Voukeng IK, Tankeo SB, Nkuete AHL and Kuete V (2013) Antibacterial activities of selected edible plants extracts against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *Journal of BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13, 164.
- Enejoh OS, Ogunyemi IO, Bala MS, Oruene IS, Suleiman MM and Ambali SF (2015) Ethnomedical Importance of *Citrus Aurantifolia* (Christm) Swingle. *Journal of The Pharma Innovation Journal*, 4(8), 1-6.
- Eric WCC, Soh EY, Tie PP and Law YP (2011) Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*. *Journal of Pharmacognosy Research*, 3(4), 266-272.
- Farjana A, Zerín N and Kabir S (2014) Antimicrobial activity of medicinal plant leaf extracts against pathogenic bacteria. *Journal of Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(2), S920-S923.
- Fernandez L, Daruliza K, Sudhakaran S and Jegathambigai R (2012) Antimicrobial activity of the crude extract of *Piper sarmentosum* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Escherichia coli*, *Vibrio cholera* and *Streptococcus pneumonia*. *Journal of European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 16(Suppl 3), 105-111.
- Fisher K and Phillips C (2006) The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems. *Journal of Applied Microbiology*, 101(6), 1232-1240.
- Giron JA, Torres AG, Freer E and Kaper JB (2002) The flagella of enteropathogenic *Escherichia coli* mediate adherence to epithelial cells. *Journal of Molecular Microbiology*, 44 (2), 361-479.



- Gupta D and Kumar M (2017) Evaluation of in vitro antimicrobial potential and GC–MS analysis of *Camellia sinensis* and *Terminalia arjuna*. *Journal of Biotechnology Reports*, 13, 19–25.
- Han G, Ma Y and Li C (1992) The studies of natural PAFantagonistic neolignans from *Piper* genus and their struc-ture-activity relationships. *Journal of Beijing Yike Daxue Xuebo*, 24, 347-50.
- Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB and Kromhout D (1993) Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease. *Journal of Lancet*, 342, 1007-1011.
- Hirano R, Momiyama Y, Takahashi R, Taniguchi H, Kondo K, Nakamura H and Ohusuzu F (2002) Comparison of green tea intake in Japanese patients with and without angiographic coronary artery disease. *Journal of American Journal of Cardiology*, 90, 1150-1153.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT and Williams ST (1994) *Bergey's Manual of determinative bacteriology*. 9th edition. Williams and Wilkins, Baltimore, MD. pp. 787.
- Huang CR, Lien CY, Tsai WC, Lai WA, Hsu CW, Tsai NW, Chang CC, Lu CH, Chien CC and Chang WN (2017) The clinical characteristics of adult bacterial meningitis caused by non-*Pseudomonas (Ps.) aeruginosa Pseudomonas* species: A clinical comparison with *Ps. aeruginosa* meningitis. *Journal of Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 1-7.
- Jha S and Srivastava AK (2013) Antibacterial, antifungal and pesticidal activity of plant *Morus alba*- A novel approach in post harvest technology. *Journal of International Journal of Agricultural Science and Research (IJASR)*, 3, 157-162.
- Jungmin O, Heonjoo J, Ah-Reum C, Kim SJ and Jaejoon H (2013) Antioxidant and antimicrobial activities of various leafy herbal teas. *Journal of Food Control*, 31, 403-409.
- Kaiser D (2013) *Pseudomonas aeruginosa*. [Online]. Available from: <https://germsandworms.wordpress.com/microbes/nonfermentative-bacilli/pseudomonas-aeruginosa/> [Cited 10 September 2015].
- Kao YH, Chang HH, Lee MJ and Chen CL (2006) Tea, obesity, and diabetes. *Journal of Molecular Nutrition and Food Research*, 50, 188–210.
- Kimura T, Nakagawa K, Kubota H, Kojima Y, Goto Y and Yamagishi K (2007) Food-grade mulberry powder enriched with 1-deoxynojirimycin suppresses the elevation of postprandial blood glucose in human. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 5869-5874.



- Kumar A, Kumar A, Thakur P, Patil S, Payal C, Kumar A and Sharma P (2012) Antibacterial activity of green tea (*Camellia sinensis*) extracts against various bacteria isolated from environmental sources. *Journal of Recent research in science and technology*, 4(1), 19-23.
- Lee SK, Park JH and Kim YT (2009) A Study on the Antioxidation and Antimicrobial Effect of “Megmoondong (*Liriope platyphylla* Wang et Tang)” Water Extracts. *Journal of Food and nutrition*, 22(2), 279-285.
- Nada RA, Shaheen HI and Khalil SB (2011) Discovery and phylogenetic analysis of Novel members of class benterotoxigenic *Escherichia coli* adhesive fimbriae. *Journal of Clinical Microbiology*, 49, 1403-1410.
- Naghili H, Tajik H, Mardani K, Rouhani SMR, Ehsani A and Zare P (2013) Validation of drop plate technique for bacterial enumeration by parametric and nonparametric tests. *Journal of veterinary research forum*, 4(3), 179-183.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (2008) *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Second Edition*: proposed standard NCCLS document M38-A2 (ISBN 1-56238-469-4): Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania 19087, USA.
- Noormandi A and Dabaghzadeh F (2015) Effects of green tea on *Escherichia coli* as a uropathogen. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5, 15-20.
- Manea AM, Vasile BS and Meghea A (2014) Antioxidant and antimicrobial activities of green tea extract loaded into nanostructured lipid carriers. *Journal of C. R. Chimie*, 17, 331-341.
- Mehrabian S, Majd A and Majd I (2000) Antimicrobial effects of three plants (*Rubia tinctorum*, *Carthamus tinctorius* and *Juglans regia*) on some airborne microorganisms. *Journal of Aerobiologia*, 16, 455-458.
- Menzies BE and Kourteva I (2000) *Staphylococcus aureus* alpha-toxin induces apoptosis in endothelial cells. *Journal of FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 29, 39-45.
- Mishra BB, Kishore N, Tiwari VK, Singh DD and Tripathi V (2010) A novel antifungal anthraquinone from seeds of *Aegle marmelos* Correa (family Rutaceae). *Journal of Fitoterapia*, 81, 104-107.
- Palombo EA and Semple SJ (2001) Antibacterial activity of traditional Australian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 77, 151-157.
- Parekh J, Jadeja D and Chanada S (2005) Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antimicrobial activity. *Journal of Turkish Journal Biology*, 29, 203-210.



- Pasquetti M, Min ARM, Scacchetti S, Dogliero A and Peano A (2017) Infection by *Microsporium canis* in Paediatric Patients: A Veterinary Perspective. *Journal of Veterinary sciences*, 46(4), 1-6.
- Pathan RK, Gali PR, Pathan P, Gowtham T and Pasupuleti S (2012) *In vitro* Antimicrobial Activity of *Citrus aurantifolia* and its Phytochemical Screening. *Journal of Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, S328-S331.
- Patel SH, Suthar JV, Patel RK, Zankharia US, Jani VR and Gajjar KN (2015) Antimicrobial activity investigation of *Aegle marmelos*, *Couroupita guianensis*, *Manilkara hexandra*, ow Urine and Dung. *Journal of Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 6(4), 1014-1022.
- Peungvicha P, Thirawarapan SS, TemsiririrkkulR, Watanabe H, Prasain JK, Kadota S (1998) Hypoglycemic effect of the water extract of *Piper sarmentosum* in rats. *Journal of Ethanopharmacol*, 60, 27-32.
- Pongmarutai M (1989) Study on antidiabetic action of *Piper sarmentosum*. In: Research Abstracts and Text Books 1969-1989, Prince of Songkhla University, Thailand, 15.
- Pongracz J, Juhasz E, Ivan M and Kristof K (2015) Significance of yeasts in bloodstream infection: epidemiology and predisposing factors of *Candidaemia* in adult patients at a university hospital (2010-2014). *Journal of Acta Microbiology et Immunologica Hungarica*, 62 (3), 317-329.
- Poonkothai M and Saravanan M (2008) Antibacterial activity of *Aegle marmelos* against leaf, bark and fruit extracts. *Journal of Ancient Science of Life*, 3, 15-18.
- Prasannabalaji N, Muralitharan G, Sivanandan RN, Kumaran S and Pugazhvendan SR (2012) Antibacterial activities of some Indian traditional plant extracts. *Journal of Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, S291-S295.
- Puchadapirom P, Temcharoen P, Kongtim S, Himakoun L, Peungvicha P, Temsiririrkkul R (2004) Effect of the water extract of Chaplu (*Piper sarmentosum*) on the chromosomal damage of the bone marrow cells in rats by using micronucleus test. *Journal of Thai Journal of Phytopharmacy*, 11(1), 11-19.
- Radji M, Agustama RA, Elya B, Tjampakasari CR (2013) Antimicrobial activity of green tea extract against isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(8), 663-667.
- Rains TM, Agarwal S and Maki KC (2011) Antiobesity effects of green tea catechins: a mechanistic review. *Journal of The Journal of Nutritional Biochemistry*, 22, 1-7.



- Rahman SFSA, Sijam K and Omar D (2014) Identification and Antibacterial Activity of Phenolic Compounds in Crude Extracts of *Piper sarmentosum* (Kadok). *Journal of pure and applied microbiology*, 2(8), 483-490.
- Rukachaisirikul T, Siri wattanakit P, Sukcharoenphol K, Wongvein C, Ruttanaweang P, Wongwattana vuch P and Suksamrarn A (2004) Chemical constituents and bioactivity of *Piper sarmentosum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 93, 173–176.
- Sarwar S and Lockwood B (2010) Herbal teas. *Journal of Nutra foods*, 9(2), 7-17.
- Sasakia H, Matsumotoa M, Tanakac T, Maedac M, Nakaic M, Hamadab S and Ooshimaa T (2004) Antibacterial Activity of Polyphenol Components in Oolong Tea Extract against *Streptococcus mutans*. *Journal of Caries research*, 38, 2-8.
- Sharma A, Gupta S, Sarethy IP, Dang S and Gabrani R (2012) Green tea extract: Possible mechanism and antibacterial activity on skin pathogens. *Journal of Food Chemistry*, 135, 672-675.
- Sharma R, Hoog SD, Presber W and Graser Y (2007) A virulent genotype of *Microsporium canis* is responsible for the majority of human infections. *Journal of Medical Microbiology*, 56, 1377-1385.
- Silpasuwan S (1979) Studies of the effects of some medicinal plants on growth of some bacteria in the family Enterobacteriaceae. MS Thesis, Chiangmai University.
- Sohn HY, Son KH, Kwon CS, Kwon GS and Kang SS (2004) Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medical plant: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussnetia papyrifera* (L.) Vent *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis* Nikai. *Journal of Phytomedicine*, 11, 666-672.
- Sumonrat C, Suphitchaya C and Tipparat H (2008) Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical *Citrus* spp. against food-related microorganisms. *Journal of Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 30(1), 125-131.
- Sunbhanich M, Pongmarutai M, Ridditid W (1988) A Preliminary study on pharmacological effect of *Piper sarmentosum* Roxb. *Journal of Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 10, 305-312.
- Suwimol T, Supaporn S, Pisanthana L and Watcharee K (2010) Antimicrobial effects of *Boesenbergia pandurata* and *Piper sarmentosum* leaf extracts on planktonic cells and biofilm of oral pathogens. *Journal of Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 23(2), 224-231.
- Temsiririkkul R (2002) Acute and chronic toxicity of *Piper sarmentosum* extract. The report of National Research Council of Thailand.



- Tran HNK, Nguyen VT, Kim JA, Rho SS, Woo MH, Choi JS, Lee JH and Min BS (2010) Anti-inflammatory activities of compounds from twigs of *Morus alba*. *Journal of Fitoterapia*, 120, 17–24.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G and Kaur H (2011) Phytochemical screening and extraction: A Review. *Journal of Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98-106.
- Verena S, Lorenz M and Stangl K (2006) The role of tea and tea flavonoids in cardiovascular health. *Journal of Molecular Nutrition and Food Research*, 50, 218-228.
- Wang MY and Su C (2001) Cancer preventive effect of *Morinda citrifolia* (Noni). *Journal of Ann N Y Acad Science*, 952, 161-168.
- Wang R, Zhou W and Jiang X (2008) Mathematical modeling of the stability of green tea catechin epigallocatechin gallate (EGCG) during bread baking. *Journal of Food Engineering*, 87, 505-513.
- Wong ARC, Pearson JS and Bright MD (2011) Enteropathogenic and Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: even more subversive elements. *Journal of Molecular Microbiology*, 80 (6), 1420-1438.
- Wikipedia (2015) *Candida albicans*. [Online]. Available from: https://en.wikipedia.org/wiki/Candida_albicans [Cited 10 September 2015].
- Yam TS, Shah S and Hamilton-Miller JMT (1997) Microbiological activity of whole and fractionated crude extracts of tea (*Camellia sinensis*), and of tea components. *Journal of FEMS Microbiology Letters*, 152, 169-174.
- Yang Y, Hu Z, Shang W, Hu Q, Zhu J, Yang J, Peng H, Zhang X, Liu H, Cong Y, Li S, Hu X, Zhou R and Rao X, 2017. Molecular and phenotypic Characterization revealed high prevalence of multidrug-resistant methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in Chongqing, Southwestern China. *Journal of Microbial Drug Resistance*, 23, 241-246.
- Yuan JM, Sun C and Butler LM (2011) Tea and cancer prevention: Epidemiological studies. *Journal of Pharmacological Research*, 64, 123-135.
- Zhang X, Hu X and Rao X (2017) Apoptosis induced by *Staphylococcus aureus* toxins. *Journal of Microbiological Research*, 205, 19-24.
- Zin ZM, Abdul-Hamid A and Osman A (2002) Antioxidative activity of extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, fruit and leaf. *Journal of Food Chemistry*, 78, 227-231.



ภาคผนวก



ภาคผนวก ก
ทะเบียนตัวอย่างพันธุ์พืชอ้างอิง



ตารางภาคผนวก ก. 1 ทะเบียนตัวอย่างพันธุ์พืชอ้างอิง

Coll. No.	Scientific name	Locality
MSU-Jeeranun- 01	<i>Aegle marmelos</i> (L.) Corrêa	ซื้อมาจากห้างแม็คโคร สาขาร้อยเอ็ด วันที่ 1 เดือนเมษายน ปี พ.ศ. 2559
MSU-Jeeranun- 02	<i>Carthamus tinctorius</i> L.	ซื้อมาจากห้างแม็คโคร สาขาร้อยเอ็ด วันที่ 1 เดือนเมษายน ปี พ.ศ. 2559
MSU-Jeeranun- 03	<i>Morus alba</i> L.	ซื้อมาจากห้างแม็คโคร สาขาร้อยเอ็ด วันที่ 1 เดือนเมษายน ปี พ.ศ. 2559
MSU-Jeeranun- 04	<i>Camellia sinensis</i> (Green Tea)	ซื้อจากร้านชาดอยแม่สลอง (www.Doimaesalongtea.com) วันที่ 20 เดือนมีนาคม ปี พ.ศ. 2559
MSU-Jeeranun- 05	<i>Camellia sinensis</i> (Oolong Tea)	ซื้อจากร้านชาดอยแม่สลอง (www.Doimaesalongtea.com) วันที่ 20 เดือนมีนาคม ปี พ.ศ. 2559
MSU-Jeeranun- 06	<i>Piper longum</i> L.	ซื้อจากร้าน Pa-Pum Garden (www.Facebook.com/ Pa-Pum Garden) วันที่ 15 เดือนมีนาคม ปี พ.ศ. 2559
MSU-Jeeranun- 07	<i>Piper sarmentosum</i> Roxb.	บ. ก้างปลา ต. หนองไผ่ อ. ธวัชบุรี จ. ร้อยเอ็ด
MSU-Jeeranun- 08	<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swingle	บ. ก้างปลา ต. หนองไผ่ อ. ธวัชบุรี จ. ร้อยเอ็ด
MSU-Jeeranun- 09	<i>Sesbania grandiflora</i> (L.) Pers.	บ. ก้างปลา ต. หนองไผ่ อ. ธวัชบุรี จ. ร้อยเอ็ด
MSU-Jeeranun- 010	<i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb.	บ. ก้างปลา ต. หนองไผ่ อ. ธวัชบุรี จ. ร้อยเอ็ด
MSU-Jeeranun- 011	<i>Morinda citrifolia</i> L.	บ. ก้างปลา ต. หนองไผ่ อ. ธวัชบุรี จ. ร้อยเอ็ด

ภาคผนวก ข
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ และการเตรียมสารเคมี



1. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

Nutrient Agar (NA)

Beef extract	3 กรัม
Peptone	5 กรัม
Agar	15 กรัม
Distilled water	1000 มิลลิลิตร

ปรับค่า pH ให้เป็น 6.8 นำไปต้มให้วุ้นละลายแล้วใส่ลงไปในขวด จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที จากนั้นปล่อยให้เย็นให้ขวดอาหารมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส นำไปเทลงในจานเพาะเชื้อแล้วปล่อยให้เย็นอาหารแข็งจึงนำไปใช้

Mueller Hinton Agar (MHA)

Beef infusion	300 กรัม
Casamino acids	17.5 กรัม
Starch	1.5 กรัม
Agar	15 กรัม
Distilled water	1000 มิลลิลิตร

ปรับค่า pH ให้เป็น 6.8 นำไปต้มให้วุ้นละลายแล้วตวงใส่หลอด หลอดละ 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที จากนั้นปล่อยให้เย็นให้หลอดอาหารมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส นำไปเทลงในจานเพาะเชื้อแล้วปล่อยให้เย็นอาหารแข็งจึงนำไปใช้

2. อาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ และเชื้อรา

Potato Dextrose Agar (PDA)

Potato	200 กรัม
Dextrose	20 กรัม
Agar	15 กรัม
Distilled water	1000 มิลลิลิตร

ปรับค่า pH ให้เป็น 6.8 นำไปต้มให้วุ้นละลายแล้วใส่ลงไปในขวด จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที จากนั้นปล่อยให้เย็นให้ขวดอาหารมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส นำไปเทลงในจานเพาะเชื้อแล้วปล่อยให้เย็นอาหารแข็งจึงนำไปใช้



Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

Dextrose	40 กรัม
Peptone	10 กรัม
Agar	15 กรัม
Distilled water	1000 มิลลิลิตร

ปรับค่า pH ให้เป็น 6.8 นำไปต้มให้ส่วนผสมละลายแล้วตวงใส่หลอด หลอดละ 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที จากนั้นปล่อยให้เย็นให้หลอดอาหารมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส นำไปเทลงในจานเพาะเชื้อแล้วปล่อยให้เย็นอาหารแข็งจึงนำไปใช้

3. การเตรียมสารเคมี**Normol saline solution**

NaCl	0.85 กรัม
Distilled water	100 มิลลิลิตร

จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

McFarland standard No. 0.5

1% Sulfuric acid	9.95 มิลลิลิตร
1.175% Barium chloride	0.05 มิลลิลิตร

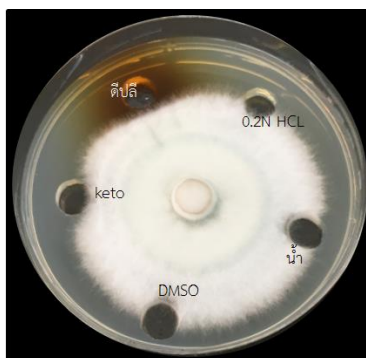
ตารางภาคผนวก ข. 1 การเตรียม McFarland standard

สารเคมี ปริมาณความหนาแน่น	McFarland standard No.				
	0.5	1	2	3	4
1.175% Barium chloride dehydrate (ml.)	0.05	0.10	0.20	0.30	0.40
1% Sulfuric acid (ml.)	9.95	9.90	9.80	9.70	9.60
ปริมาณความหนาแน่นของเซลล์แบคทีเรีย (1×10^8 CFU/ml.)	1.5	3	6	9	12
% การแพร่กระจาย	74.35	55.6	35.6	26.4	21.5
การดูดกลืนแสง 660 nm	0.132	0.257	0.451	0.582	0.669



ภาคผนวก ค
รูปภาพแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชสมุนไพร

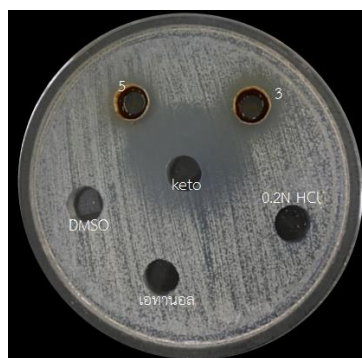




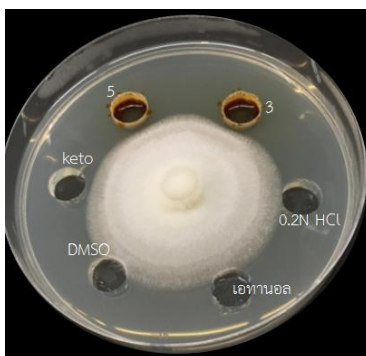
A. fumigatus (ตีปัสกัดด้วยน้ำ)



B. cereus (ตีปัสกัดด้วยเอทานอล)



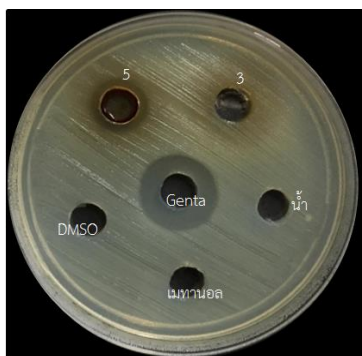
C. albicans (ตีปัสกัดด้วยเอทานอล)



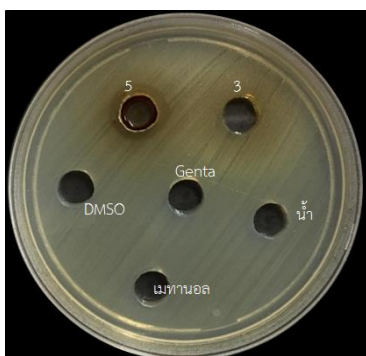
M. canis (ตีปัสกัดด้วยเอทานอล)



A. fumigatus (ตีปัสกัดด้วยเอทานอล)



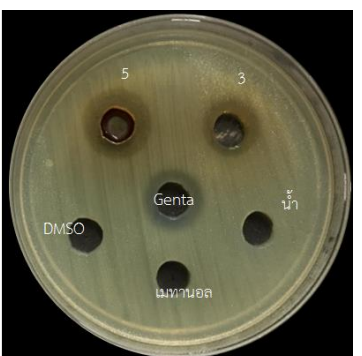
S. aureus (ตีปัสกัดด้วยเอทานอล)



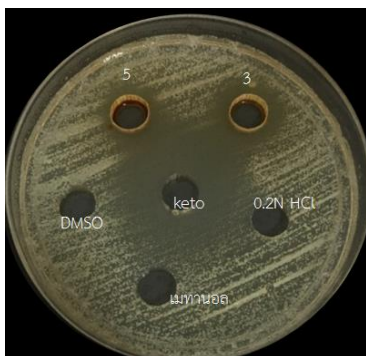
MRSA (ตีปัสกัดด้วยเอทานอล)



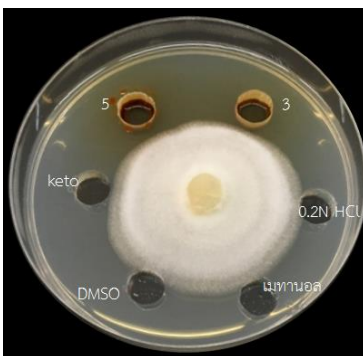
B. cereus (ตีปัสกัดด้วยเอทานอล)



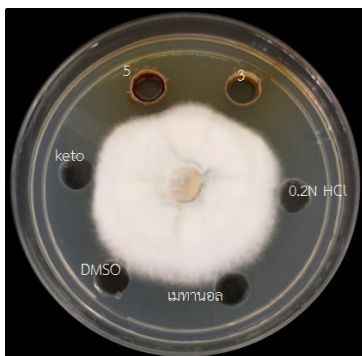
Ps. aeruginosa (ตีปัสกัดด้วยเอทานอล)



C. albicans (ตีปัสกัดด้วยเอทานอล)



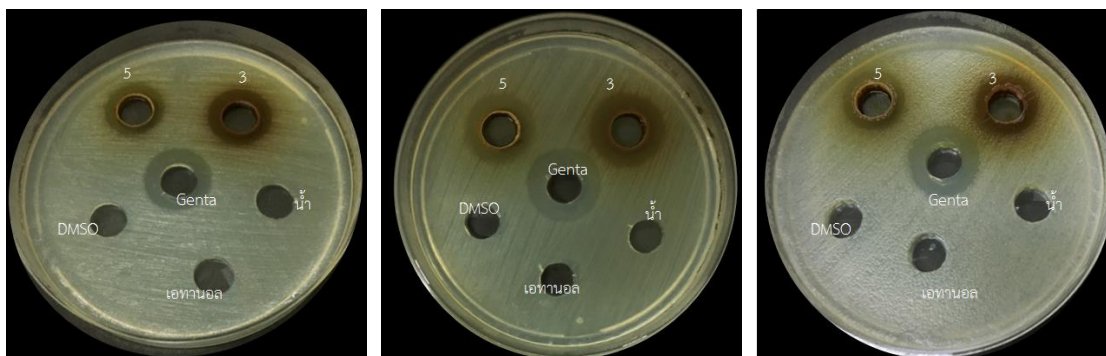
M. canis (ตีปัสกัดด้วยเอทานอล)



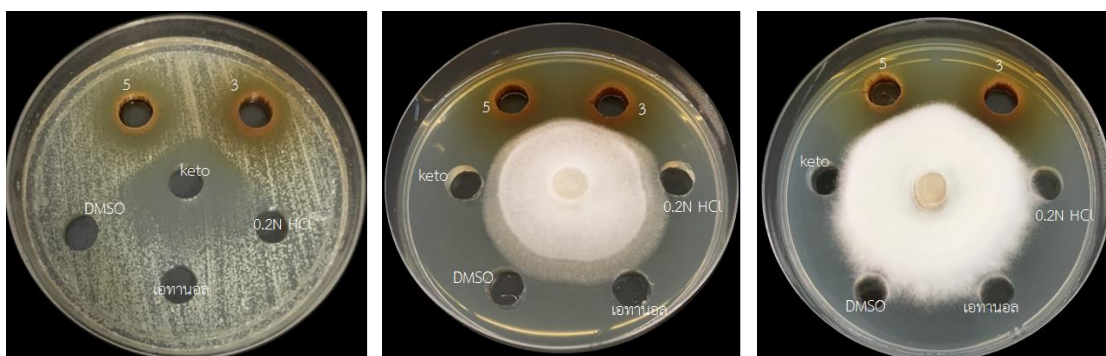
A. fumigatus (ตีปัสกัดด้วยเอทานอล)

ภาพภาคผนวก ค. 1 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรตีปัส

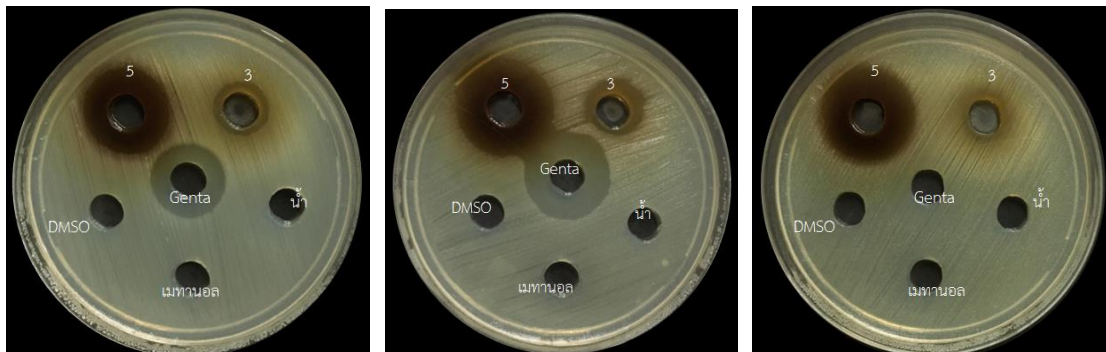




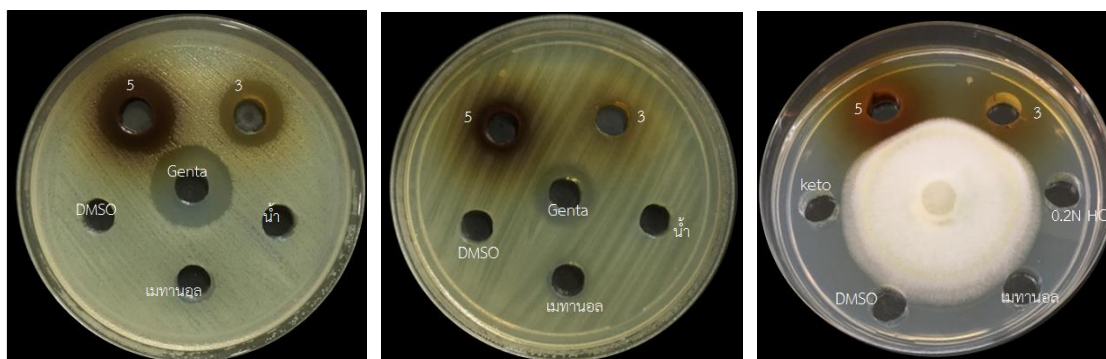
S. aureus (มะตูมสกัดด้วยเอทานอล) *S. epidermidis* (มะตูมสกัดด้วยเอทานอล) *B. cereus* (มะตูมสกัดด้วยเอทานอล)



C. albicans (มะตูมสกัดด้วยเอทานอล) *M. canis* (มะตูมสกัดด้วยเอทานอล) *A. fumigatus* (มะตูมสกัดด้วยเอทานอล)



S. aureus (มะตูมสกัดด้วยเมทานอล) *S. epidermidis* (มะตูมสกัดด้วยเมทานอล) MRSA (มะตูมสกัดด้วยเมทานอล)



B. cereus (มะตูมสกัดด้วยเมทานอล) *Ps. aeruginosa* (มะตูมสกัดด้วยเมทานอล) *M. canis* (มะตูมสกัดด้วยเมทานอล)

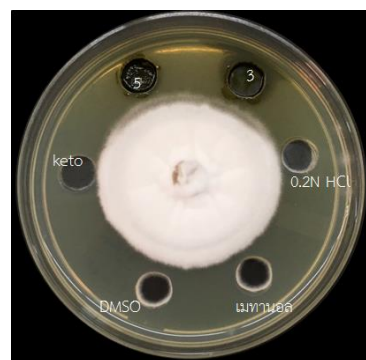
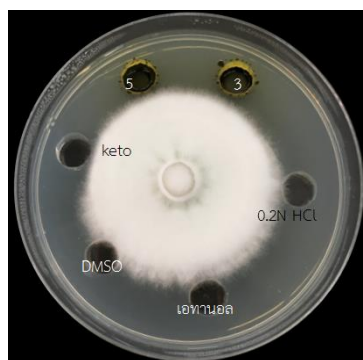
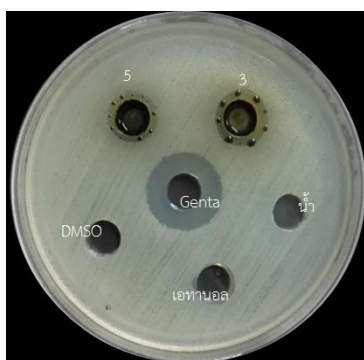
ภาพภาคผนวก ค. 2 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรมะตูม





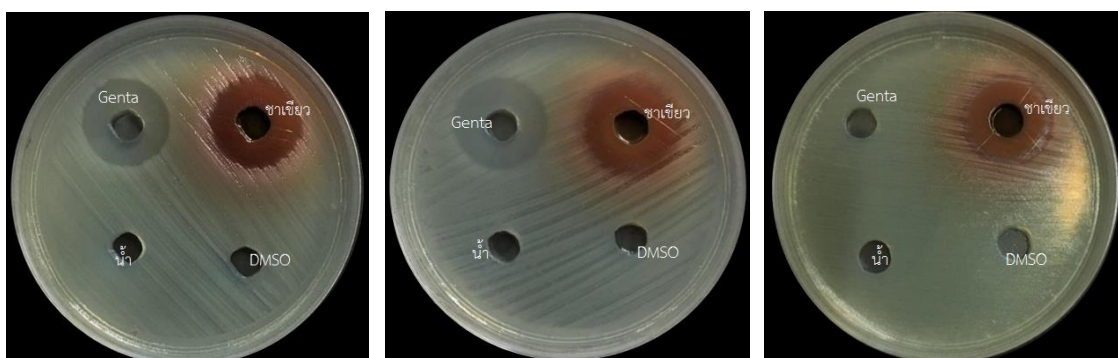
A. fumigatus (มะตูมสกัดด้วยเมทานอล)

ภาพภาคผนวก ค. 2ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรมะตูม (ต่อ)

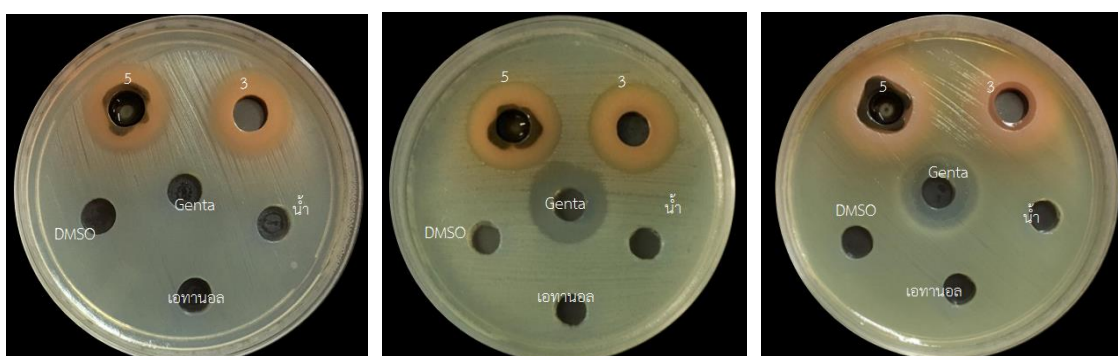


B. cereus (หม่อนสกัดด้วยเอทานอล) *A. fumigatus* (หม่อนสกัดด้วยเอทานอล) *A. fumigatus* (หม่อนสกัดด้วยเมทานอล)

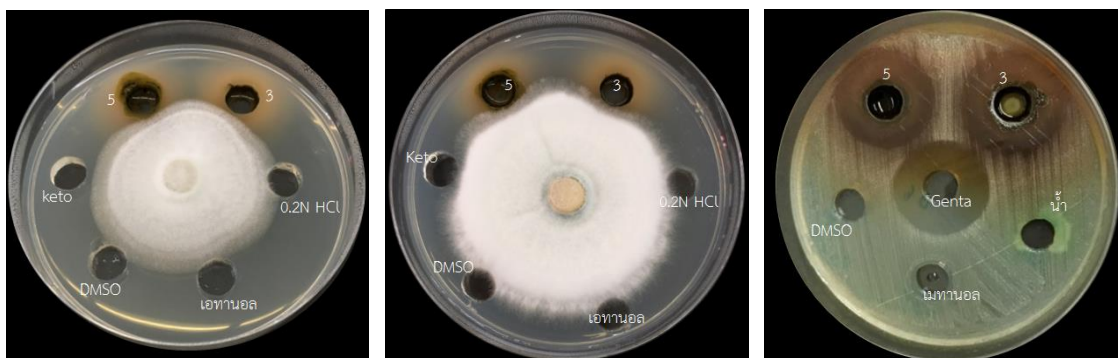
ภาพภาคผนวก ค. 3 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรใบหม่อน

*S. aureus* (ชาเขียวสกัดด้วยน้ำ)*S. epidermidis* (ชาเขียวสกัดด้วยน้ำ)

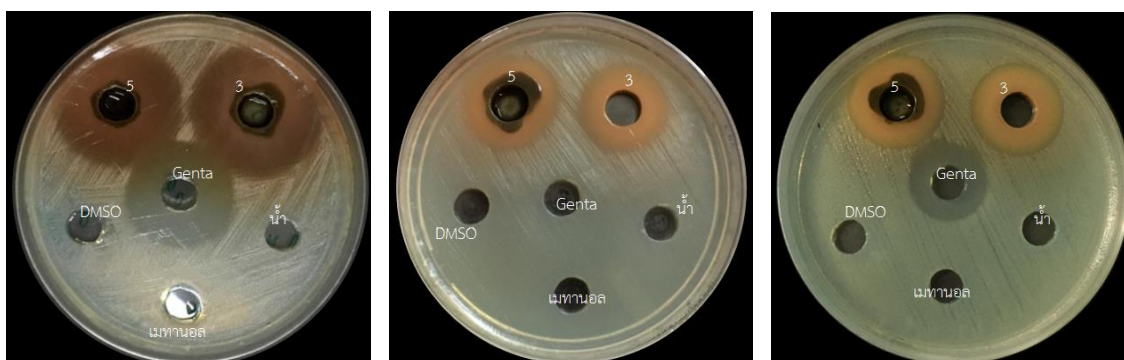
MRSA (ชาเขียวสกัดด้วยน้ำ)

*B. cereus* (ชาเขียวสกัดด้วยน้ำ)*S. aureus* (ชาเขียวสกัดด้วยเอทานอล)*S. epidermidis* (ชาเขียวสกัดด้วยเอทานอล)

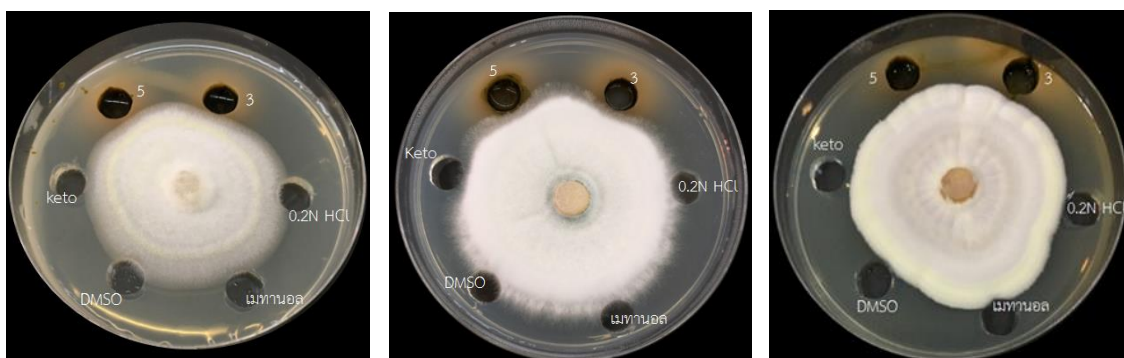
MRSA (ชาเขียวสกัดด้วยเอทานอล)

B. cereus (ชาเขียวสกัดด้วยเอทานอล)*E. coli* (ชาเขียวสกัดด้วยเอทานอล)*M. canis* (ชาเขียวสกัดด้วยเอทานอล)*A. fumigatus* (ชาเขียวสกัดด้วยเอทานอล)*S. aureus* (ชาเขียวสกัดด้วยเอทานอล)

ภาพภาคผนวก ค. 4ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรชาเขียว



S. epidermidis (ชาเขียวสกัดด้วยเมทานอล) MRSA (ชาเขียวสกัดด้วยเมทานอล) *B. cereus* (ชาเขียวสกัดด้วยเมทานอล)



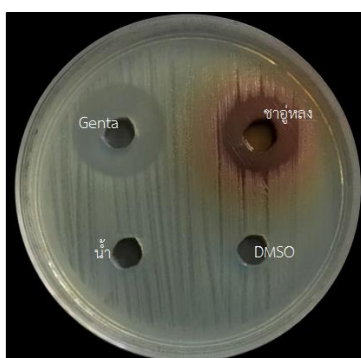
M. canis (ชาเขียวสกัดด้วยเมทานอล) *A. fumigatus* (ชาเขียวสกัดด้วยเมทานอล) *P. chrysogenum* (ชาเขียวสกัดด้วยเมทานอล)

ภาพภาคผนวก ค. 4ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรชาเขียว (ต่อ)

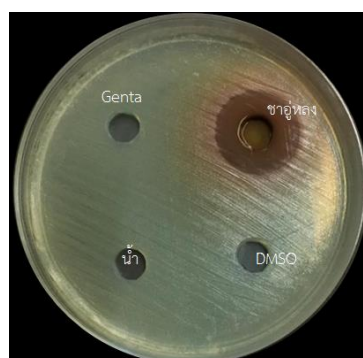




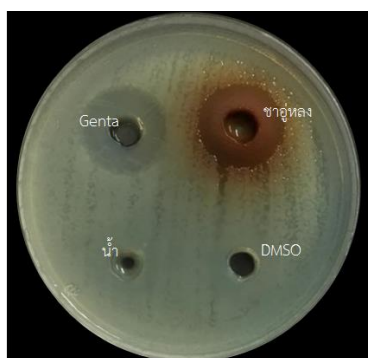
S. aureus (ขาؤولงสกัดด้วยน้ำ)



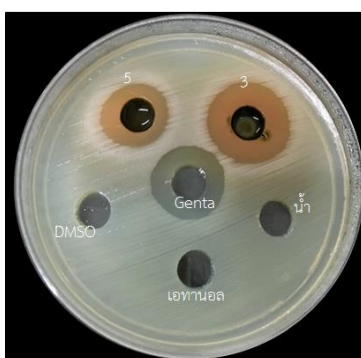
S. epidermidis (ขาؤولงสกัดด้วยน้ำ)



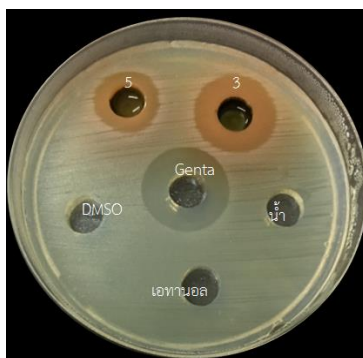
MRSA (ขาؤولงสกัดด้วยน้ำ)



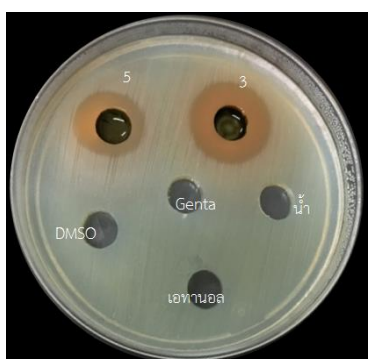
B. cereus (ขาؤولงสกัดด้วยน้ำ)



S. aureus (ขาؤولงสกัดด้วยเอทานอล)



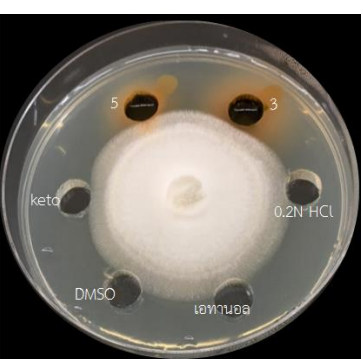
S. epidermidis (ขาؤولงสกัดด้วยเอทานอล)



MRSA (ขาؤولงสกัดด้วยเอทานอล)



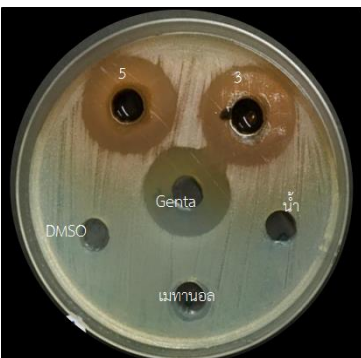
B. cereus (ขาؤولงสกัดด้วยเอทานอล)



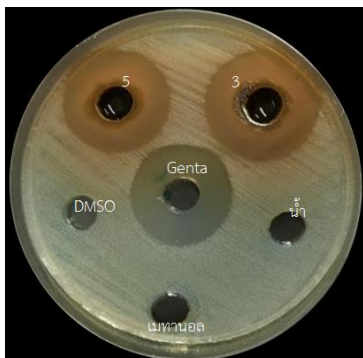
M. canis (ขาؤولงสกัดด้วยเอทานอล)



A. fumigatus (ขาؤولงสกัดด้วยเอทานอล)



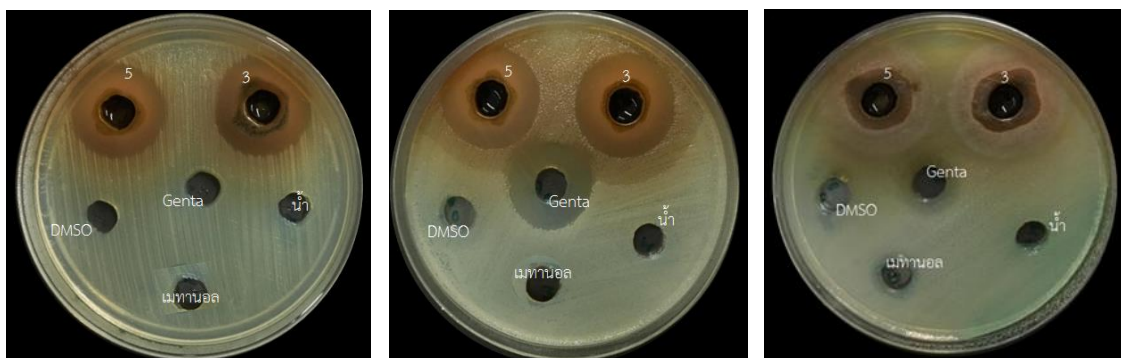
S. aureus (ขาؤولงสกัดด้วยเมทานอล)



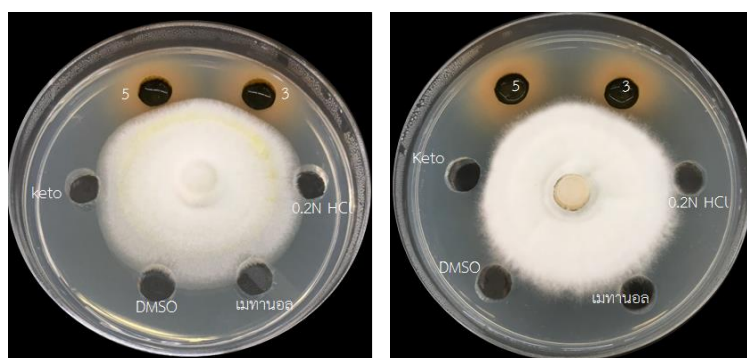
S. epidermidis (ขาؤولงสกัดด้วยเมทานอล)

ภาพภาคผนวก ค. 5ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรขาؤولง





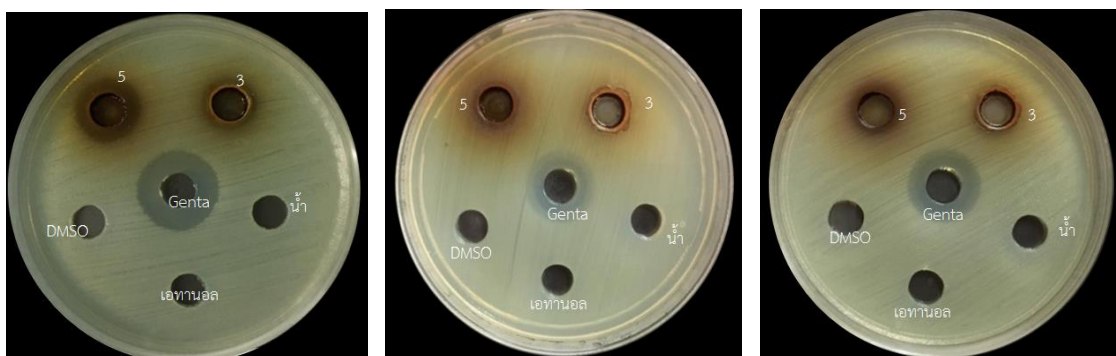
MRSA (เชื้อหลงสกัดด้วยเมทานอล)

B. cereus (เชื้อหลงสกัดด้วยเมทานอล)*Ps. aeruginosa* (เชื้อหลงสกัดด้วยเมทานอล)*M. canis* (เชื้อหลงสกัดด้วยเมทานอล)*A. fumigatus* (เชื้อหลงสกัดด้วยเมทานอล)

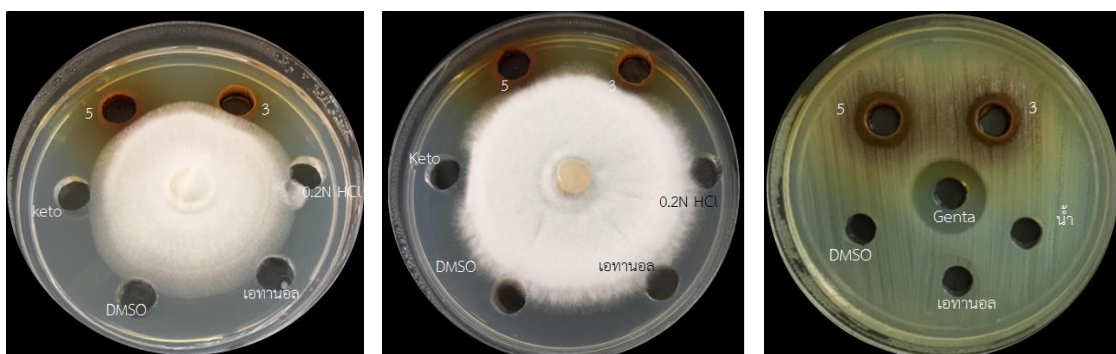
ภาพภาคผนวก ค. 5 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรชาอู่หลง (ต่อ)



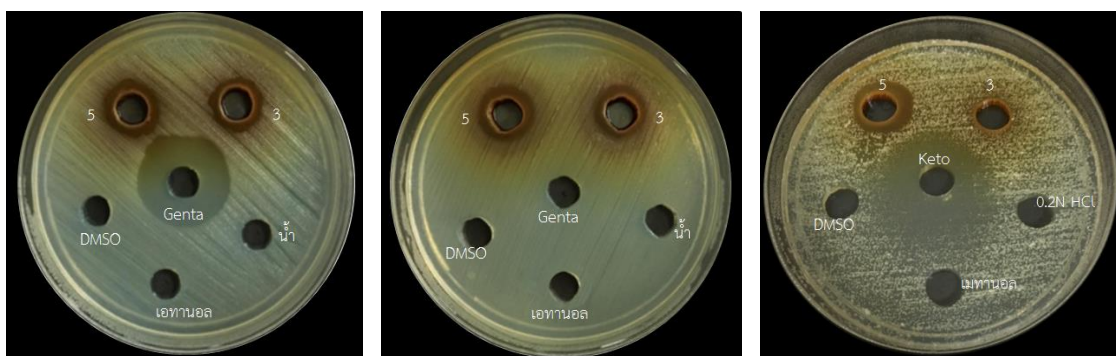
S. aureus (คำฝอยสกัดด้วยเอทานอล) *S. epidermidis* (คำฝอยสกัดด้วยเอทานอล) MRSA (คำฝอยสกัดด้วยเอทานอล)



B. cereus (คำฝอยสกัดด้วยเอทานอล) *E. coli* (คำฝอยสกัดด้วยเอทานอล) *Ps. aeruginosa* (คำฝอยสกัดด้วยเอทานอล)



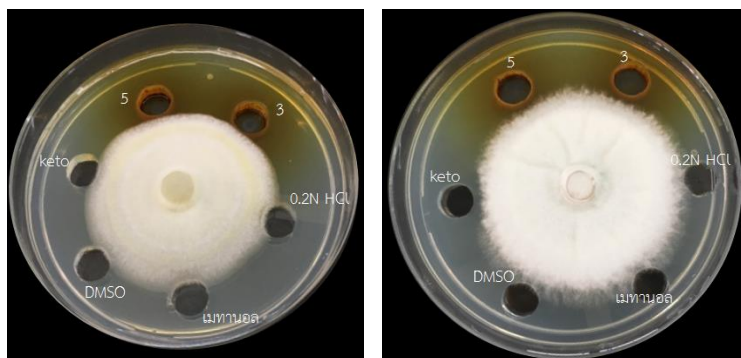
M. canis (คำฝอยสกัดด้วยเอทานอล) *A. fumigatus* (คำฝอยสกัดด้วยเอทานอล) *S. aureus* (คำฝอยสกัดด้วยเมทานอล)



S. epidermidis (คำฝอยสกัดด้วยเมทานอล) MRSA (คำฝอยสกัดด้วยเมทานอล) *C. albicans* (คำฝอยสกัดด้วยเมทานอล)

ภาพภาคผนวก ค. 6 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรดอกคำฝอย

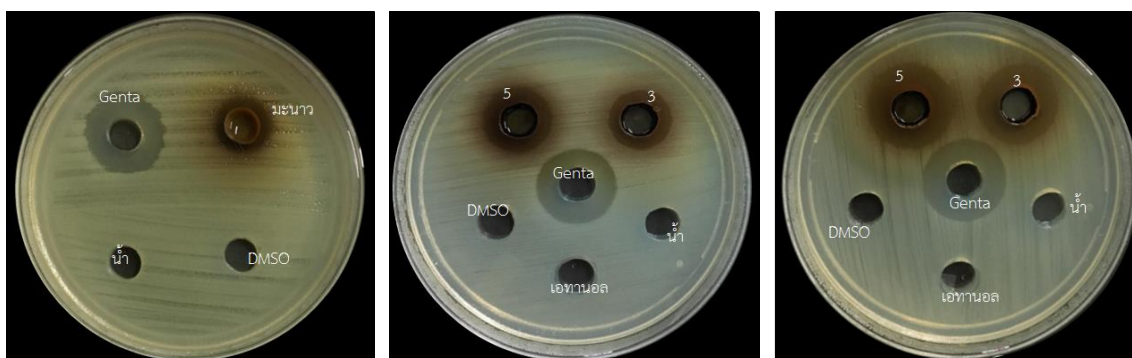




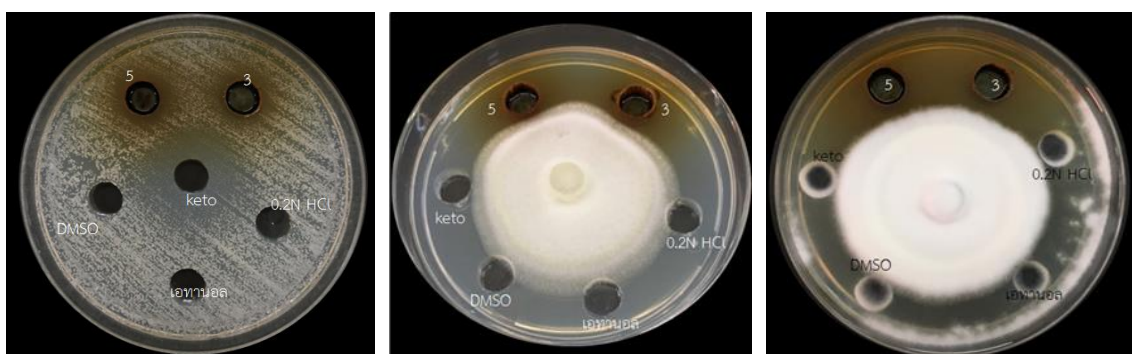
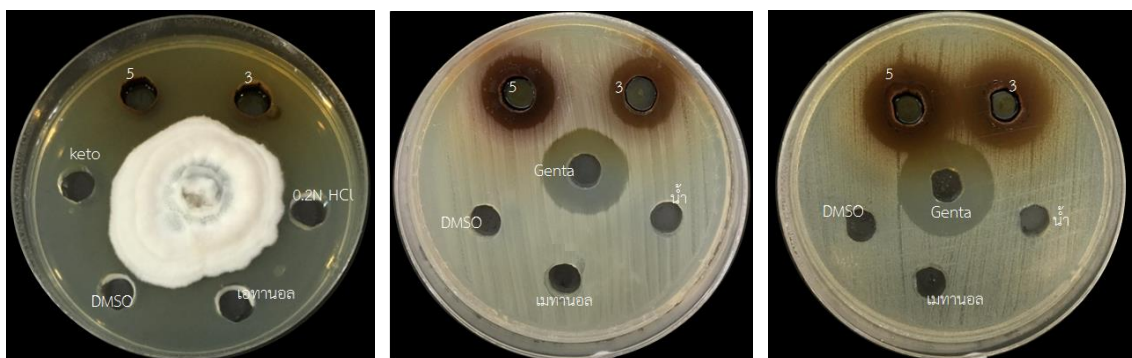
M. canis (คำฝอยสกัดด้วยเมทานอล) *A. fumigatus* (คำฝอยสกัดด้วยเมทานอล)

ภาพภาคผนวก ค. 6 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรดอกคำฝอย (ต่อ)



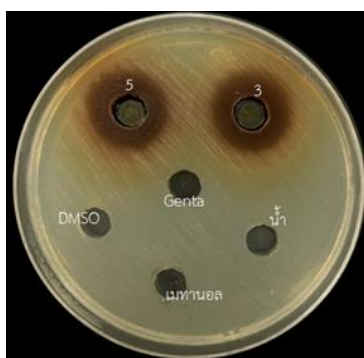
*B. cereus* (มะนาวสกัดด้วยน้ำ)*S. aureus* (มะนาวสกัดด้วยเอทานอล) *S. epidermidis* (มะนาวสกัดด้วยเอทานอล)

MRSA (มะนาวสกัดด้วยเอทานอล)

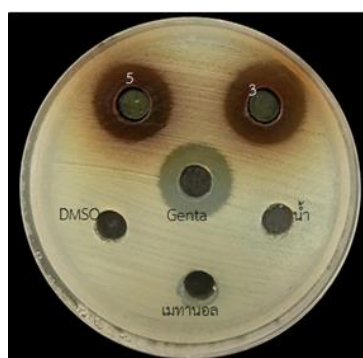
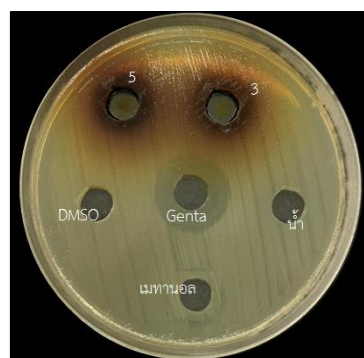
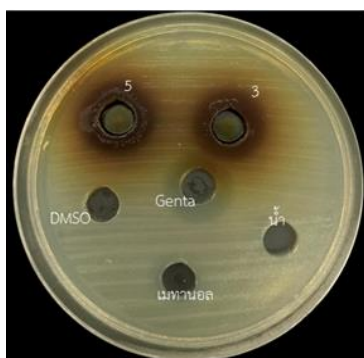
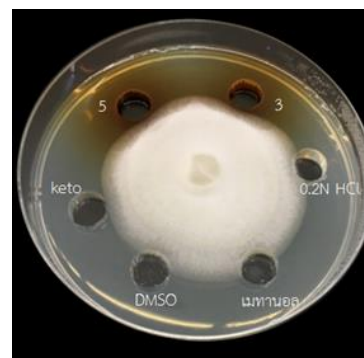
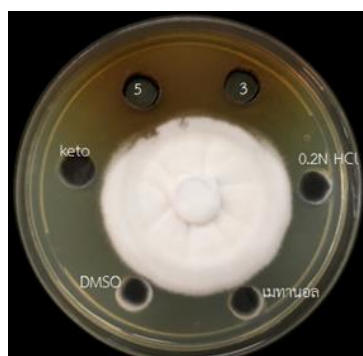
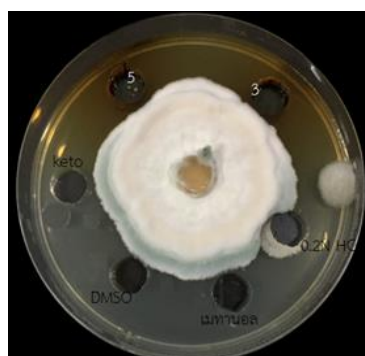
B. cereus (มะนาวสกัดด้วยเอทานอล) *Ps. aeruginosa* (มะนาวสกัดด้วยเอทานอล)*C. albicans* (มะนาวสกัดด้วยเอทานอล) *M. canis* (มะนาวสกัดด้วยเอทานอล) *A. fumigatus* (มะนาวสกัดด้วยเอทานอล)*P. chryso* (มะนาวสกัดด้วยเอทานอล) *S. aureus* (มะนาวสกัดด้วยเอทานอล) *S. epider* (มะนาวสกัดด้วยเอทานอล)

ภาพภาคผนวก ค. 7 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรมะนาว

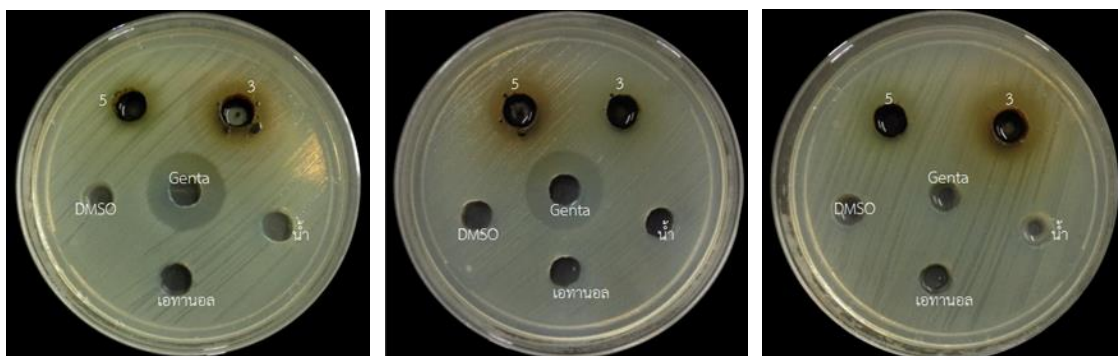




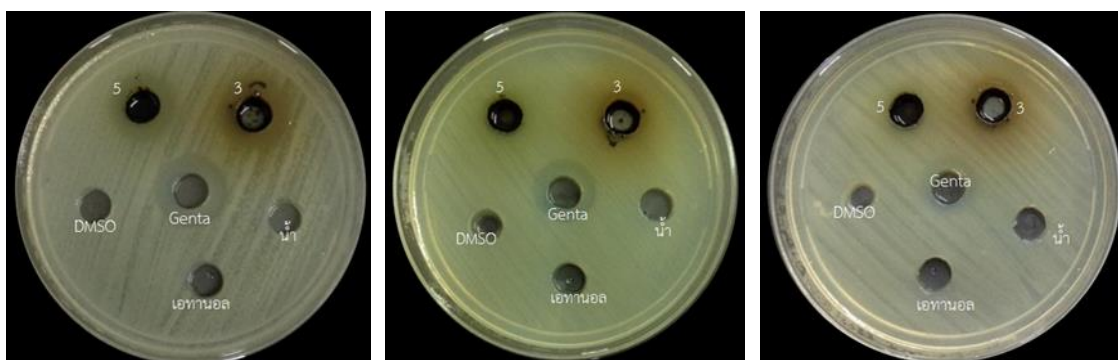
MRSA (মনোবাস্তিত্ব মেথানোল)

*B. cereus* (মনোবাস্তিত্ব মেথানোল)*E. coli* (মনোবাস্তিত্ব মেথানোল)*Ps. aerugi* (মনোবাস্তিত্ব মেথানোল)*C. albicans* (মনোবাস্তিত্ব মেথানোল)*M. canis* (মনোবাস্তিত্ব মেথানোল)*A. fumigatus* (মনোবাস্তিত্ব মেথানোল)*P. chryso* (মনোবাস্তিত্ব মেথানোল)

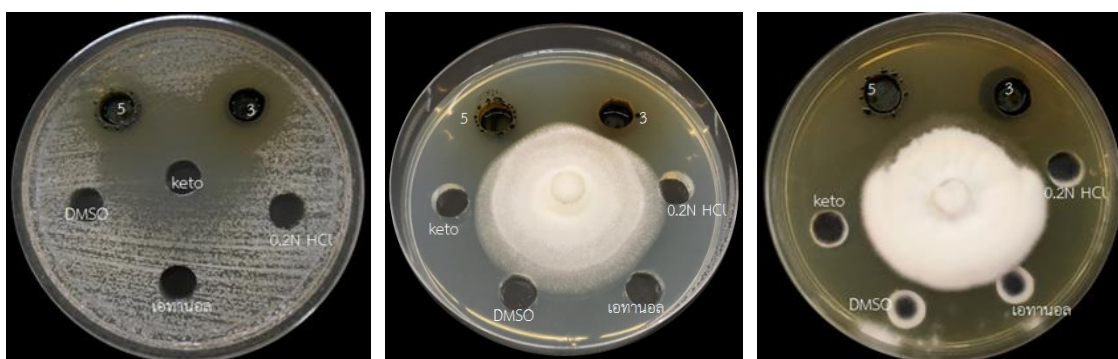
ภาพภาคผนวก ค. 7 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรมะนาว (ต่อ)



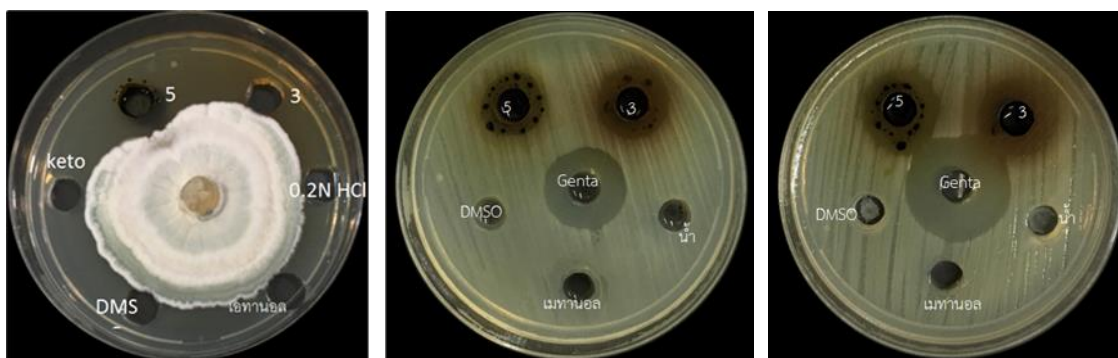
S. aureus (ชะพลูสกัดด้วยเอทานอล) *S. epidermidis* (ชะพลูสกัดด้วยเอทานอล) MRSA (ชะพลูสกัดด้วยเอทานอล)



B. cereus (ชะพลูสกัดด้วยเอทานอล) *E. coli* (ชะพลูสกัดด้วยเอทานอล) *Ps. aeruginosa* (ชะพลูสกัดด้วยเอทานอล)



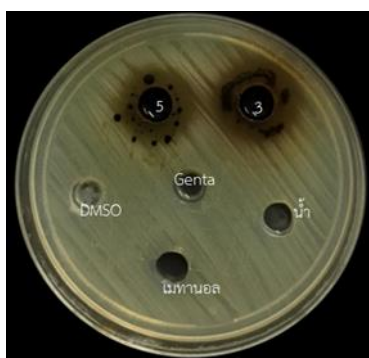
C. albicans (ชะพลูสกัดด้วยเอทานอล) *M. canis* (ชะพลูสกัดด้วยเอทานอล) *A. fumigatus* (ชะพลูสกัดด้วยเอทานอล)



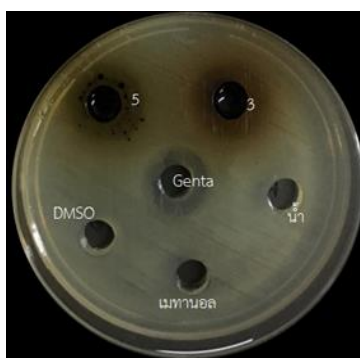
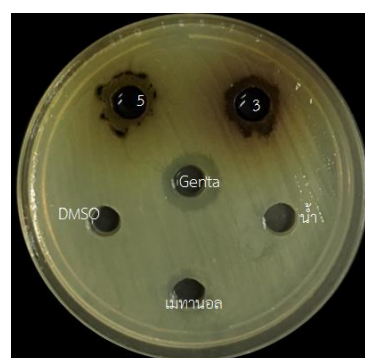
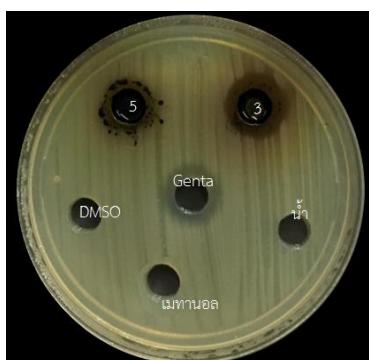
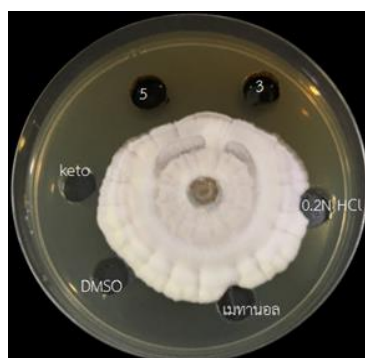
P. chryso (ชะพลูสกัดด้วยเอทานอล) *S. aureus* (ชะพลูสกัดด้วยเมทานอล) *S. epider* (ชะพลูสกัดด้วยเมทานอล)

ภาพภาคผนวก ค. 8 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรชะพลู

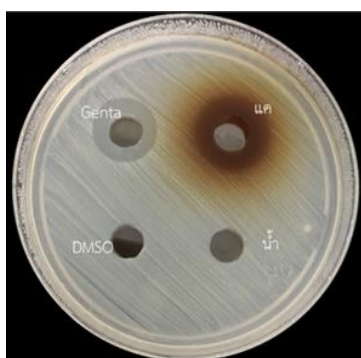




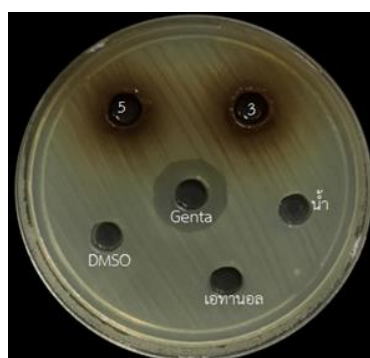
MRSA (ชะพลูสกัดด้วยเมทานอล)

*B. cereus* (ชะพลูสกัดด้วยเมทานอล)*E. coli* (ชะพลูสกัดด้วยเมทานอล)*Ps. aerugi* (ชะพลูสกัดด้วยเมทานอล)*C. albicans* (ชะพลูสกัดด้วยเมทานอล)*A. fumigatus* (ชะพลูสกัดด้วยเมทานอล)*P. chryso* (ชะพลูสกัดด้วยเมทานอล)

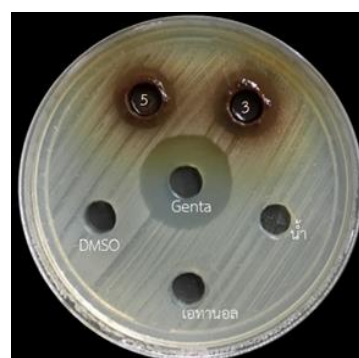
ภาพภาคผนวก ค. 8 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรชะพลู (ต่อ)



S. aureus (แคสกัต์ด้วยน้ำ)



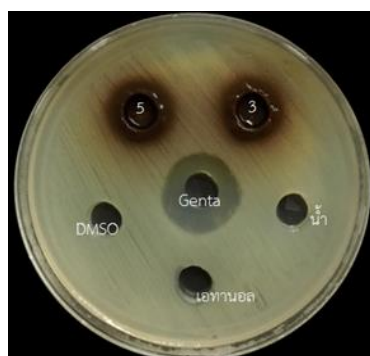
S. aureus (แคสกัต์ด้วยเอทานอล)



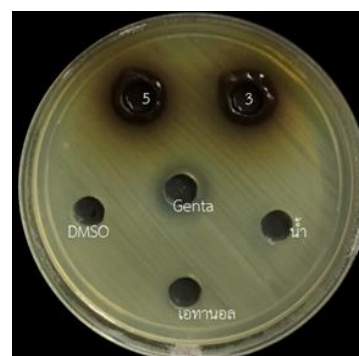
S. epidermidis (แคสกัต์ด้วยเอทานอล)



MRSA (แคสกัต์ด้วยเอทานอล)



B. cereus (แคสกัต์ด้วยเอทานอล)



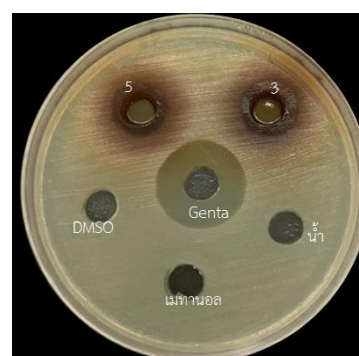
Ps. aeruginosa (แคสกัต์ด้วยเอทานอล)



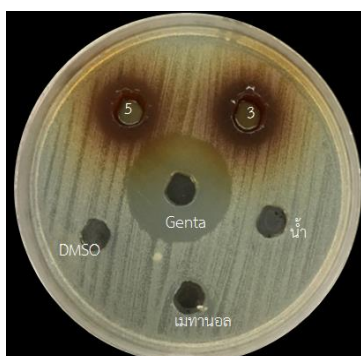
M. canis (แคสกัต์ด้วยเอทานอล)



A. fumigatus (แคสกัต์ด้วยเอทานอล)



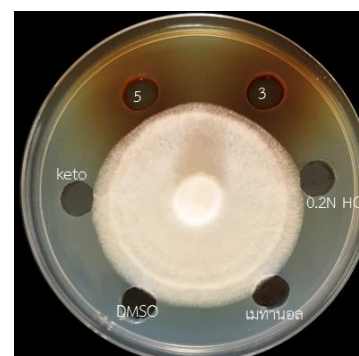
S. aureus (แคสกัต์ด้วยเมทานอล)



S. epidermidis (แคสกัต์ด้วยเมทานอล)



B. cereus (แคสกัต์ด้วยเมทานอล)



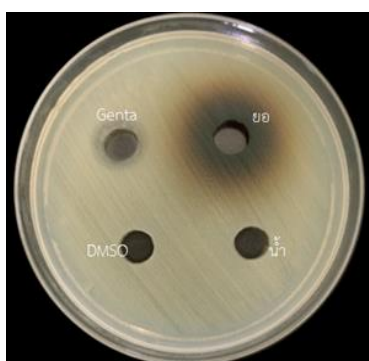
M. canis (แคสกัต์ด้วยเมทานอล)

ภาพภาคผนวก ค. 9 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรแค



A. fumigatus (แคสกับด้วยเมทานอล)

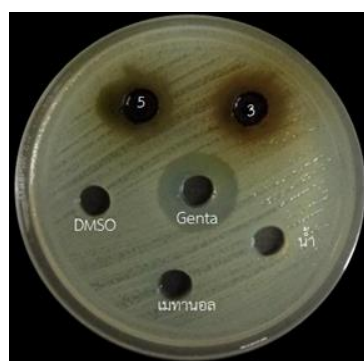
ภาพภาคผนวก ค. 9 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรแค (ต่อ)



Ps. aeruginosa (ยอสกัดด้วยน้ำ)



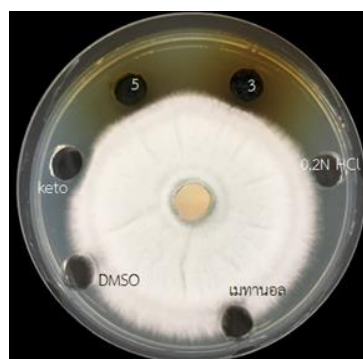
B. cereus (ยอสกัดด้วยเอทานอล)



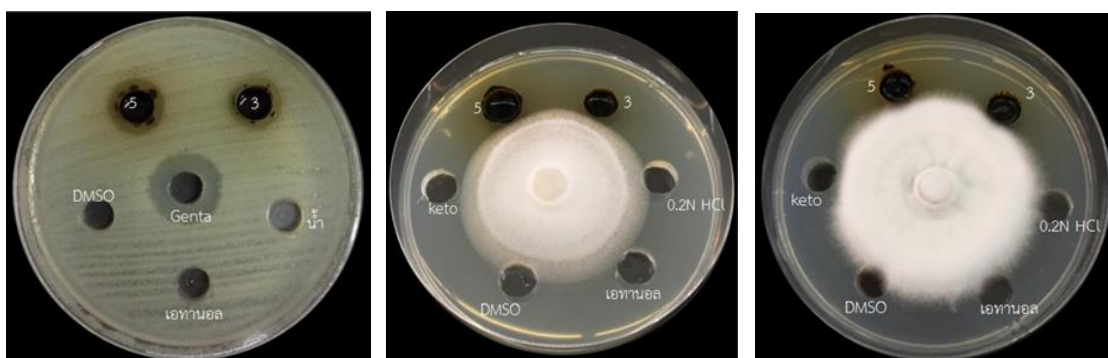
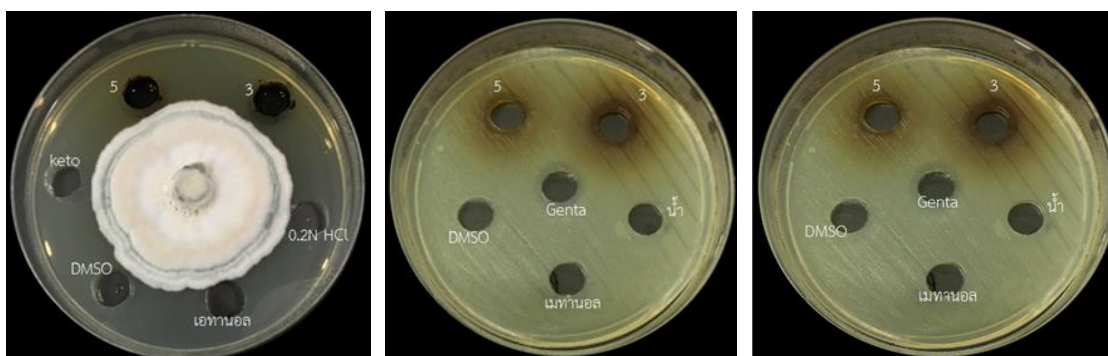
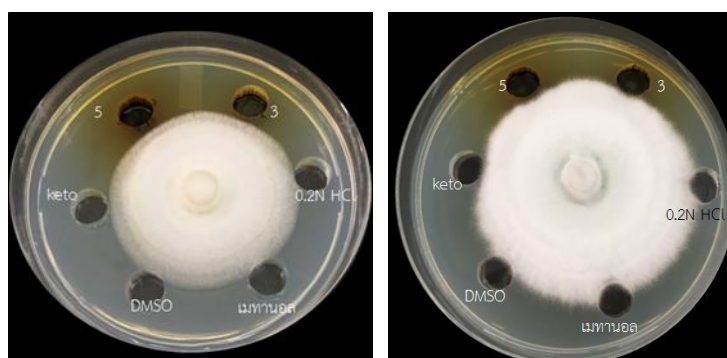
B. cereus (ยอสกัดด้วยเมทานอล)



Ps. aeruginosa (ยอสกัดด้วยเมทานอล) *A. fumigatus* (ยอสกัดด้วยเมทานอล)



ภาพภาคผนวก ค. 10 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรไผ่ใบยอ

*B. cereus* (ใบเตยสกัดด้วยเอทานอล)*M. canis* (ใบเตยสกัดด้วยเอทานอล)*A. fumigatus* (ใบเตยสกัดด้วยเอทานอล)*P. chryso* (ใบเตยสกัดด้วยเอทานอล)*B. cereus* (ใบเตยสกัดด้วยเมทานอล)*Ps. aeruginosa* (ใบเตยสกัดด้วยเมทานอล)*M. canis* (ใบเตยสกัดด้วยเมทานอล)*A. fumigatus* (ใบเตยสกัดด้วยเมทานอล)

ภาพภาคผนวก ค. 11 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดสมุนไพรใบเตย

ภาคผนวก ง
ตารางแสดงผลของสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์



ตารางภาคผนวก ง.1 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST4212 ด้วยวิธี Agar well diffusion
สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย															Positive control (Gentamicin)		
	water			ethanol 95%						methanol 95%								
				3 Day			5 Day			3 Day			5 Day					
	ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่					
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ดีป्ली	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14	15	14	16.7	21	21.3
มะตูม	-	-	-	16	17	16	16	17	15	15	14	15	22	24	23	16	18	19.7
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21.7	20.3	19.3
ชาเขียว	23	22	20	24	20	24	25	23	25	28	27	28	28	29	28	19	19.7	28.7
ชาอู่หลง	18	19	18	24	24	23	18	18	19	25	25	27	25	27	26	20.7	20.7	20
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	-	-	13	13	14	13	13	14	15	14	15	20.7	19.3	19
เปลือกมะนาว	-	-	-	18	16	16	18	15	18	20	18	19	19	20	18	20.3	20.3	21.7
ใบชะพลู	-	-	-	16	18	18	12	13	14	18	19	19	16	17	15	23	21	20.7
ดอกแค	21	19	19	17	16	15	16	15	14	14	16	15	13	15	14	17.7	20	21.3
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18	14.7	19.3
ใบเตย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19.3	18.3	16.3

หมายเหตุ :- คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% และน้ำกลั่นนิ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจึงไม่ปรากฏข้อมูลในตาราง)

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

ตารางภาคผนวก ง.2 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* DMST518 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย															Positive control (Gentamicin)		
	water			ethanol 95%						methanol 95%								
				3 Day			5 Day			3 Day			5 Day					
	ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่					
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ดีป्ली	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18.7	23.7	22.3
มะตูม	-	-	-	21	21	20	19	18	19	18	20	18	29	31	29	19.7	19.7	20.7
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20.7	24	22.3
ชาเขียว	24	21	23	28	26	27	29	27	27	26	26	27	25	28	27	20	22	24
ชาอู่หลง	17	18	19	21	23	25	17	19	20	25	26	25	25	24	27	21.7	23	26.3
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	-	-	15	14	14	13	11	11	15	15	13	23.3	22.3	23
เปลือกมะนาว	-	-	-	19	20	21	20	22	24	24	24	23	23	25	23	23.7	22.7	26.3
ใบชะพลู	-	-	-	18	18	17	14	13	12	20	18	20	19	20	20	20	23	27
ดอกแค	-	-	-	19	19	15	17	17	15	16	18	17	17	16	17	21.3	25	26.3
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22	20.3	22.3
ใบเตย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22.7	21.7	17.7

หมายเหตุ :- คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% และน้ำกลั่นนิ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจึงไม่ปรากฏข้อมูลในตาราง)

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

ตารางภาคผนวก ง.3 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20625 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย															Positive control (Gentamicin)		
	water			ethanol 95%						methanol 95%								
				3 Day			5 Day			3 Day			5 Day					
	ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่					
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ดีป्ली	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15	16	15	-	-	-
มะตูม	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15	17	16	27	26	28	-	-	-
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ชาเขียว	26	25	26	23	24	26	23	25	26	27	26	27	29	28	28	-	-	-
ชาอู่หลง	21	23	22	23	23	22	18	18	19	25	26	24	26	28	27	-	-	-
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	-	-	15	16	14	12	12	11	13	14	14	-	-	-
เปลือกมะนาว	-	-	-	19	20	18	23	22	20	20	21	20	20	21	20	-	-	-
ใบชะพลู	-	-	-	18	16	20	13	14	15	22	22	19	21	20	18	-	-	-
ดอกแค	-	-	-	16	16	17	15	15	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ใบเตย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ :- คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% และน้ำกลั่นนิ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจึงไม่ปรากฏข้อมูลในตาราง)

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

ตารางภาคผนวก ง.4 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* DMST5040 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย															Positive control (Gentamicin)		
	water			ethanol 95%						methanol 95%								
				3 Day			5 Day			3 Day			5 Day					
	ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่					
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ดีปลี	-	-	-	17	18	17	18	17	18	14	14	15	19	20	18	19.7	21	20.7
มะตูม	-	-	-	15	17	16	16	17	17	17	16	17	20	20	19	18.3	21.3	20.7
ใบหม่อน	-	-	-	16	14	13	13	13	14	-	-	-	-	-	-	21	19.7	20
ชาเขียว	22	20	23	24	22	21	26	25	25	24	24	25	23	23	22	19.3	20.7	19
ชาอู่หลง	21	21	20	25	23	25	22	19	20	24	23	24	25	26	25	19	19.7	21.3
ดอกคำฝอย	-	-	-	12	13	14	17	18	18	-	-	-	-	-	-	17.7	20	21.3
เปลือกมะนาว	15	13	15	18	17	18	20	19	20	21	22	20	20	21	20	21	20	19.7
ใบชะพลู	-	-	-	20	20	18	17	18	17	19	19	19	20	18	17	22.3	19.3	17.3
ดอกแค	-	-	-	17	17	18	17	18	18	18	18	17	18	18	17	19.7	19.7	20
ใบยอ	-	-	-	15	17	16	16	19	17	18	18	20	18	17	18	22.7	21.3	20.3
ใบเตย	-	-	-	15	14	15	17	16	16	16	17	17	16	15	16	20	19.3	19.3

หมายเหตุ :- คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% และน้ำกลั่นนิ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจึงไม่ปรากฏข้อมูลในตาราง)

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

ตารางภาคผนวก ง.5 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* ATCC25922 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย															Positive control (Gentamicin)		
	water			ethanol 95%						methanol 95%								
				3 Day			5 Day			3 Day			5 Day					
	ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่					
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ดีป्ली	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17.7	20	19
มะตูม	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19.3	18	19.7
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18.3	18.3	16.7
ชาเขียว	-	-	-	13	12	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18.3	18.3	18
ชาอู่หลง	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19.3	17.3	22
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	-	-	14	13	14	-	-	-	-	-	-	18.3	17	18.7
เปลือกมะนาว	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14	15	15	14	16	17	17.7	19.3	18.7
ใบชะพลู	-	-	-	14	15	14	-	-	-	13	12	13	12	13	14	17.7	17.3	15.7
ดอกแค	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17	17.7	20
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16	17.3	17.7
ใบเตย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.7	17.7	16.3

หมายเหตุ :- คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% และน้ำกลั่นนิ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจึงไม่ปรากฏข้อมูลในตาราง)

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

ตารางภาคผนวก ง.6 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย															Positive control (Gentamicin)		
	water			ethanol 95%						methanol 95%								
				3 Day			5 Day			3 Day			5 Day					
	ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่					
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ดีป्ली	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14	13	14	17	18	17	14	15.3	15.3
มะตูม	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14	16	16	13.3	12.3	15.3
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14.3	14.7	9.3
ชาเขียว	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.7	17.3	15.3
ชาอู่หลง	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	11	12	10	9	11	14.7	12.7	14
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	-	-	13	12	13	-	-	-	-	-	-	16.7	18.7	15.3
เปลือกมะนาว	-	-	-	15	15	17	14	15	17	18	18	19	18	18	19	16.3	17.3	14.4
ใบชะพลู	-	-	-	14	13	13	-	-	-	13	15	17	12	12	13	15.3	15.7	14.3
ดอกแค	-	-	-	15	15	14	15	15	14	-	-	-	-	-	-	13.3	14.7	15.3
ใบยอ	17	16	17	-	-	-	-	-	-	15	13	17	13	13	16	13.3	10.7	15
ใบเตย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	13	12	11	11	12	14	15.7	11

หมายเหตุ :- คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

positive control คือ gentamicin ความเข้มข้น 0.015 mg/ml

negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% และน้ำกลั่นนิ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจึงไม่ปรากฏข้อมูลในตาราง)

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

ตารางภาคผนวก ง.7 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* NCYC854 ด้วยวิธี Agar well diffusion สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย															Positive control (Gentamicin)		
	water			ethanol 95%						methanol 95%								
				3 Day			5 Day			3 Day			5 Day					
	ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่					
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ดีป्ली	-	-	-	14	13	14	14	15	14	16	16	19	15	16	15	23.3	25.8	27.7
มะตูม	-	-	-	19	18	19	18	17	17	-	-	-	-	-	-	18.7	25.3	21.3
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21.7	24.7	22
ชาเขียว	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.3	24.3	23
ชาอู่หลง	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19.7	23.3	24.7
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14	15	17	23.7	25	24
เปลือกมะนาว	-	-	-	15	15	14	17	16	15	15	15	16	16	17	15	19.7	20.7	20.3
ใบชะพลู	-	-	-	23	22	21	20	20	18	21	22	23	23	24	22	21	31.7	24.7
ดอกแค	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22.3	20.3	25
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21	30.3	26.7
ใบเตย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20.7	26.7	19.7

หมายเหตุ :- คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

positive control คือ ketoconazole ความเข้มข้น 80 µg/ml

negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% 0.2N HCl และน้ำกลั่นหนึ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจึงไม่ปรากฏข้อมูลในตาราง)

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

ตารางภาคผนวก ง.8 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Microsporium canis* ด้วยวิธี Poisoned food method สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย															Positive control (Gentamicin)		
	water			ethanol 95%						methanol 95%								
				3 Day			5 Day			3 Day			5 Day					
	ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่					
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ดีป्ली	-	-	-	2.5	2	2.5	3	2.5	3	2	2	2.5	3	4	3.5	1	1.7	1
มะตูม	-	-	-	3	2.5	2.5	5	4	4.5	3.5	5	4	4.5	3	4	1	1	1
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1
ชาเขียว	-	-	-	1	2	1.5	2	2.5	2.5	1	1.5	1	1.5	1	1.5	1	1.5	2.7
ชาอู่หลง	-	-	-	1	1.5	1	1.5	1	1	2	1.5	1.5	1	1.3	1	1	1	1
ดอกคำฝอย	-	-	-	1	1.3	1	2	1	1.5	1.5	1	1.5	1	1.5	1.5	1	1	1
เปลือกมะนาว	-	-	-	3	1	2.5	2	2.5	2	1.2	1	1	1	1	1.3	1	1	1
ใบชะพลู	-	-	-	3	3.5	3.5	3.5	5	4	-	-	-	-	-	-	1	1.7	1
ดอกแค	-	-	-	2	2	2.5	3	3.5	3	3	1	1.5	2.5	3	3	1	1	1
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1
ใบเตย	-	-	-	1	1.5	1.5	2	1	1.5	1.5	1	1	2.5	2	2.5	1	1.3	1.5

หมายเหตุ :- คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

positive control คือ ketoconazole ความเข้มข้น 80 µg/ml

negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% 0.2N HCl และน้ำกลั่นหนึ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจึงไม่ปรากฏข้อมูลในตาราง)

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

ตารางภาคผนวก ง.9 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aspergillus fumigatus* TISTR3464 ด้วยวิธี Poisoned food method สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย															Positive control (Gentamicin)		
	water			ethanol 95%						methanol 95%								
				3 Day			5 Day			3 Day			5 Day					
	ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่					
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ดีปลี	2	1.5	1.8	6	7	6	5	5	6	4.8	4.2	4.3	5	4	4.5	0.6	2.7	1
มะตูม	-	-	-	3	4	3	4	3.8	3.5	6	3	5	6	4	6	1.6	1.3	3.7
ใบหม่อน	-	-	-	1.7	2	1.5	1.5	1.8	1.5	3	5	5	2	4	2	0.6	1	1
ชาเขียว	-	-	-	3	5	3	2	4	2	5	4.5	5	3.5	5.5	4	1.8	2	2.7
ชาอู่หลง	-	-	-	3.5	3.5	3	1.8	1	1.5	1.5	1	1.5	3.5	1.5	2	1	2	2
ดอกคำฝอย	-	-	-	3	2	2	4.5	3	4	3	2	2.5	3.5	2	3	1	2.2	2.2
เปลือกมะนาว	-	-	-	4	3.5	2	3	3	1.5	1.5	1.5	1.6	1.6	1.7	1.5	2	1	2.2
ใบชะพลู	-	-	-	7	7	6.5	6	7	7	6	4	6	7	7	8	6	3.8	1
ดอกแค	-	-	-	2	2	3	2	3	2.5	3.5	4	4	3	2	3	1	1	1
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2.5	2	2.5	2	2	1	1	1.7
ใบเตย	-	-	-	2	1	1.5	1	1.5	1	0.6	0.6	1	1.3	1	1	2	0.6	1

หมายเหตุ :- คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

positive control คือ ketoconazole ความเข้มข้น 80 µg/ml

negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% 0.2N HCl และน้ำกลั่นหนึ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจึงไม่ปรากฏข้อมูลในตาราง)

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

ตารางภาคผนวก ง.10 ผลการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Penicillium chrysogenum* TISTR3555 ด้วยวิธี Poisoned food method สารสกัดพืชสมุนไพรเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

สมุนไพร	ตัวทำละลาย															Positive control (Gentamicin)		
	water			ethanol 95%						methanol 95%								
				3 Day			5 Day			3 Day			5 Day					
	ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่			ครั้งที่					
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ดีป्ली	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2.9	3.3
มะตูม	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.5	2	2	2.5	2	2	1	2.3	2
ใบหม่อน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.9	1	1
ชาเขียว	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.5	2	1.5	1.5	1.3	1.5	2.3	1	1.8
ชาอู่หลง	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	1
ดอกคำฝอย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.7	2.8	2.3
เปลือกมะนาว	-	-	-	3.5	3	4	5.5	5	5.5	1	1.5	1	2	1.5	2	1	3.8	2.2
ใบชะพลู	-	-	-	-	-	-	1	1.5	1	4	5	5	6	5	6	1.5	2.2	2.3
ดอกแค	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1.7
ใบยอ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1
ใบเตย	-	-	-	3.5	3	3.5	2.5	2	2.5	-	-	-	-	-	-	1	2.8	1

หมายเหตุ :- คือ สารสกัดพืชสมุนไพรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

positive control คือ ketoconazole ความเข้มข้น 80 µg/ml

negative control คือ 10% DMSO เอทานอล 95% เมทานอล 95% 0.2N HCl และน้ำกลั่นหนึ่งฆ่า (เนื่องจาก negative control ทุกชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจึงไม่ปรากฏข้อมูลในตาราง)

3 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 3 วัน 5 Day คือ สกัดด้วยการแช่เป็นเวลา 5 วัน

ภาคผนวก จ

ผลการทดสอบสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้เทคนิค Drop plate
และใช้ cork borer เจาะเชื้อวางลงบนจานอาหาร





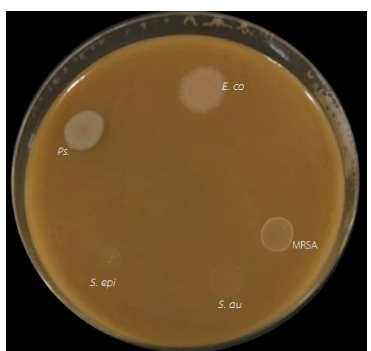
ดื่ปลี 3E



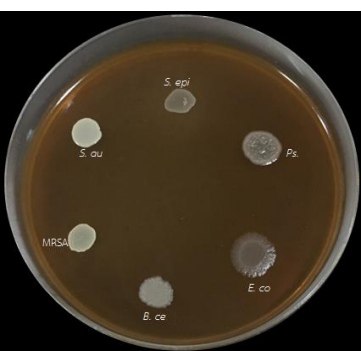
ดื่ปลี 5E



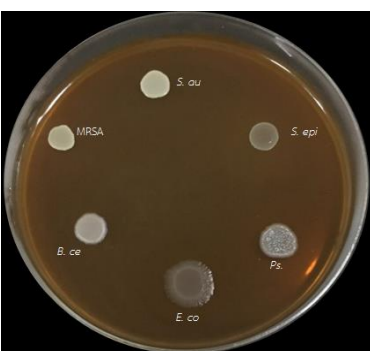
ดื่ปลี 3M



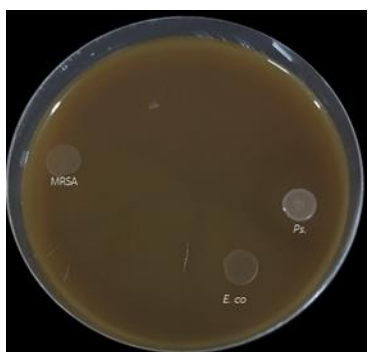
ดื่ปลี 5M



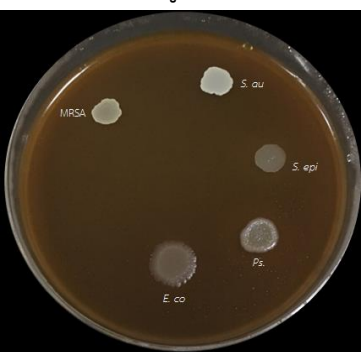
มะตูม 3E



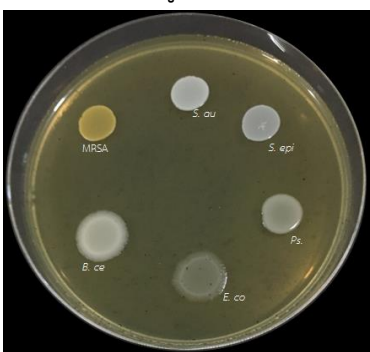
มะตูม 5E



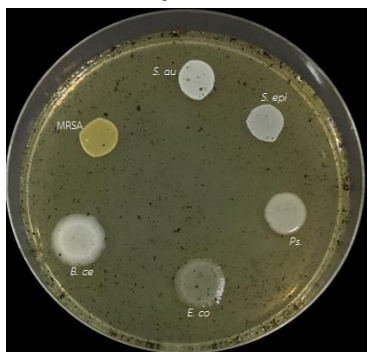
มะตูม 3M



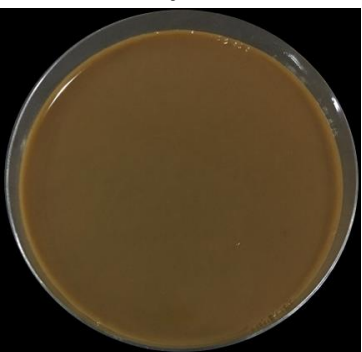
มะตูม 5M



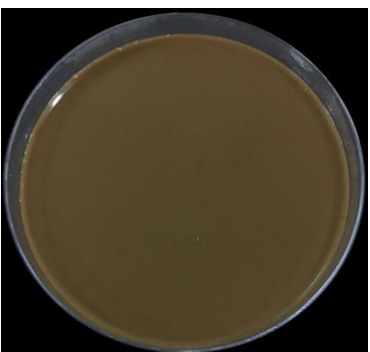
หม่อน 3E



หม่อน 5E



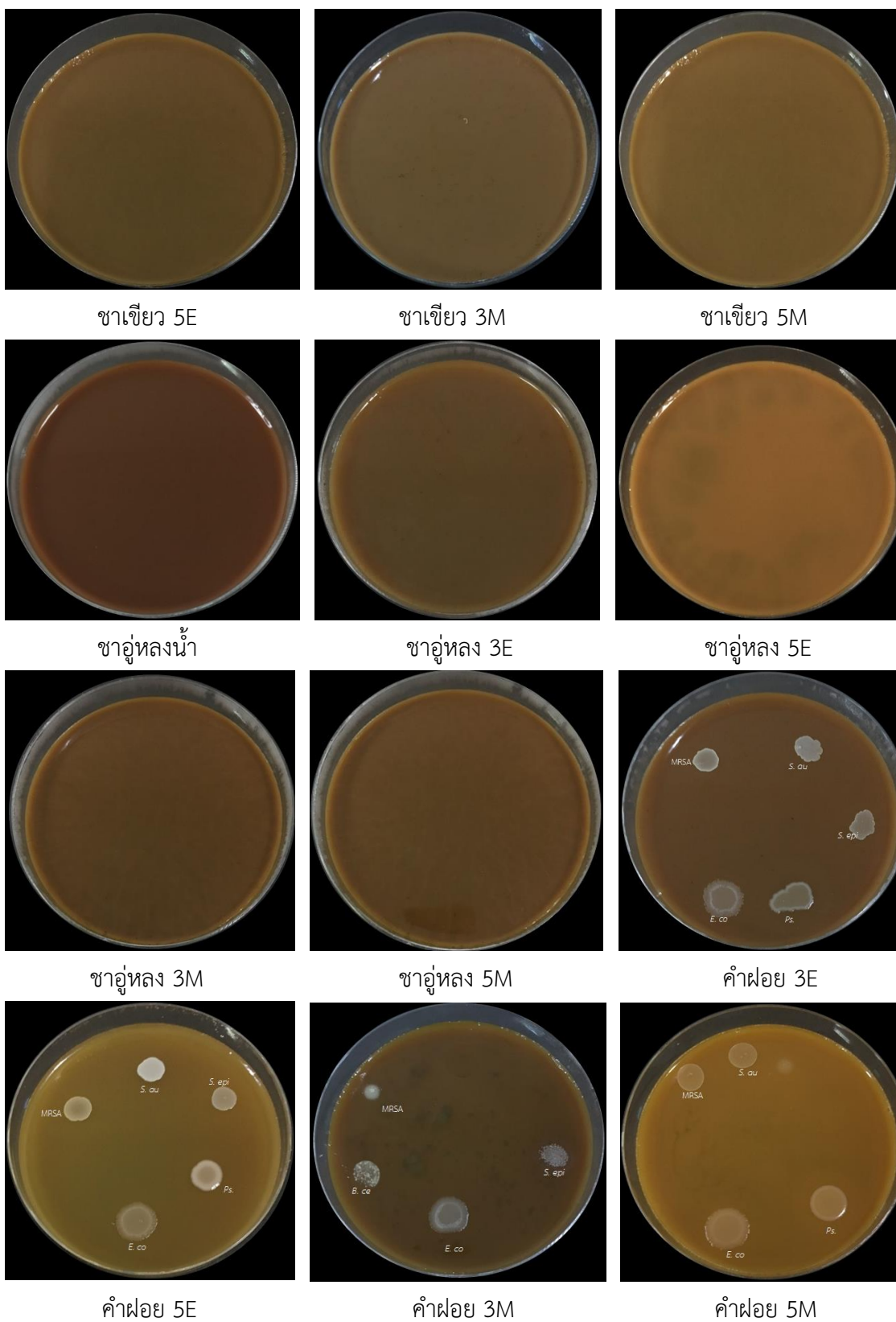
ชาเขียว น้ำ



ชาเขียว 3E

ภาพภาคผนวก จ. 1 ผลทดสอบการ Drop plate เชื้อแบคทีเรีย

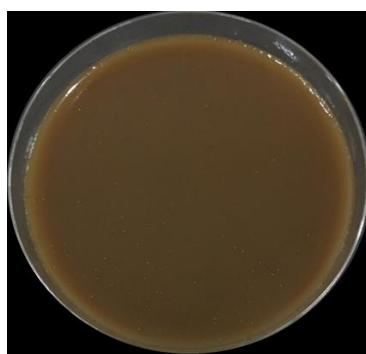




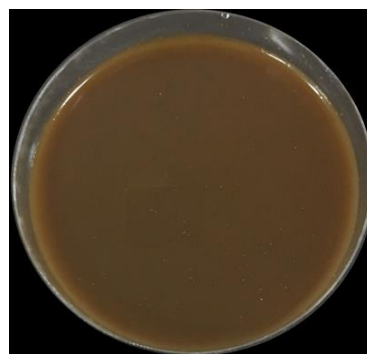
ภาพภาคผนวก จ. 1 ผลทดสอบการ Drop plate เชื้อแบคทีเรีย (ต่อ)



มะนาวน้ำ



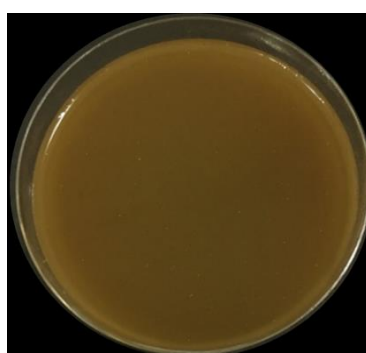
มะนาว 3E



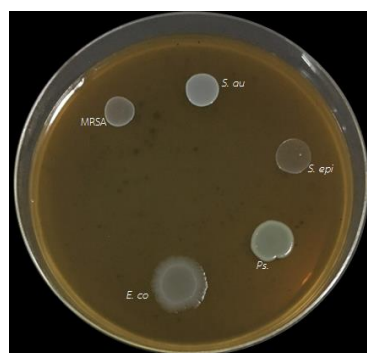
มะนาว 5E



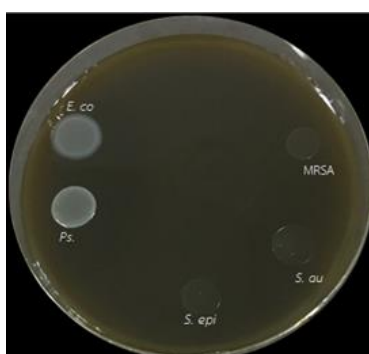
มะนาว 3M



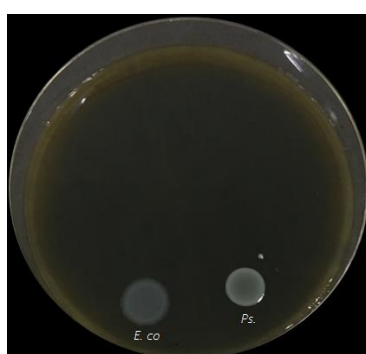
มะนาว 5M



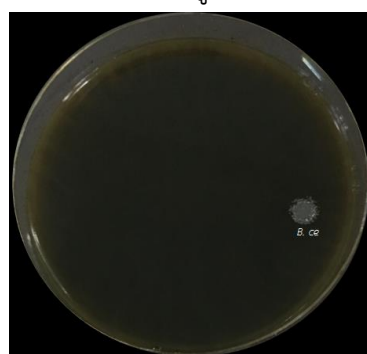
ชะพลู 3E



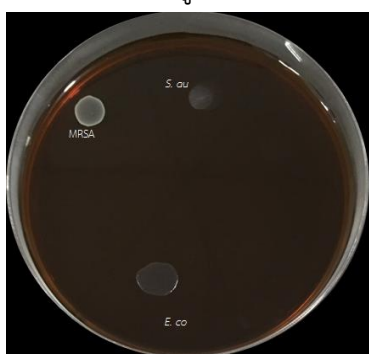
ชะพลู 5E



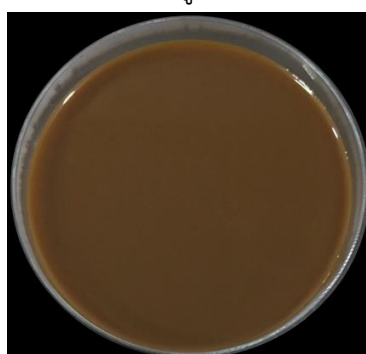
ชะพลู 3M



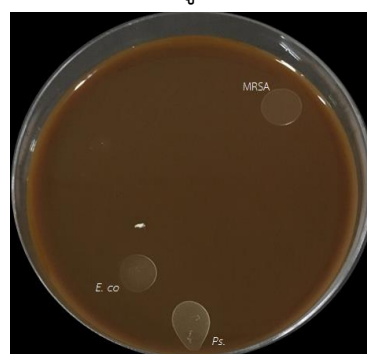
ชะพลู 5M



ดอกแค น้ำ

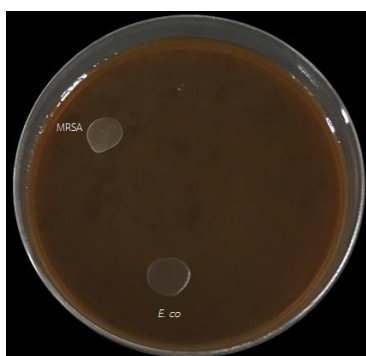


ดอกแค 3E



ดอกแค 5E

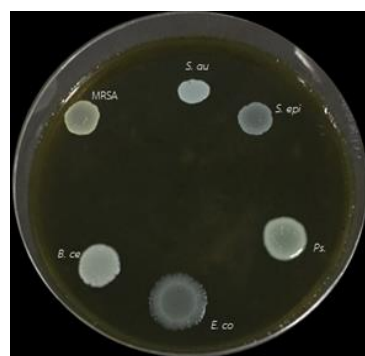
ภาพภาคผนวก จ. 1 ผลทดสอบการ Drop plate เชื้อแบคทีเรีย (ต่อ)



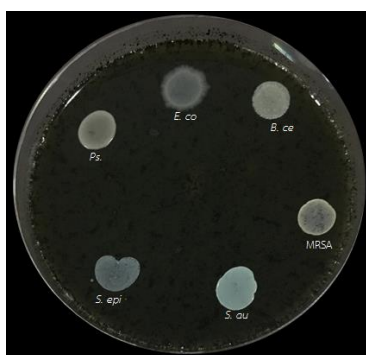
ดอกแค 3M



ดอกแค 5M



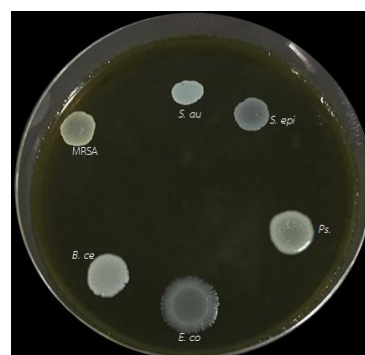
ไบยอน้ำ



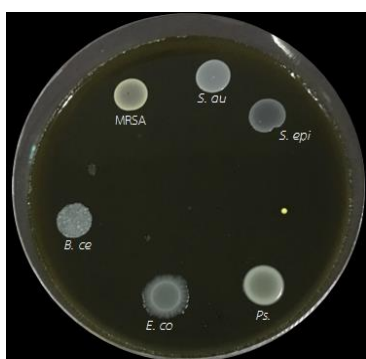
ไบยอ 3E



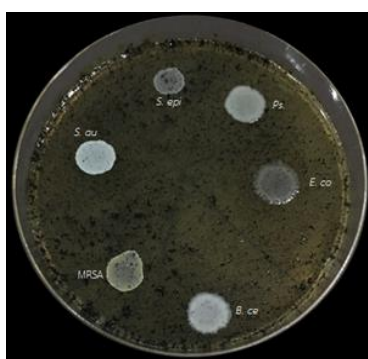
ไบยอ 5E



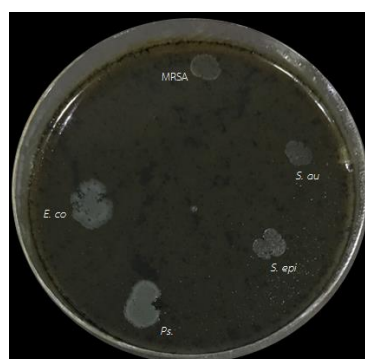
ไบยอ 3M



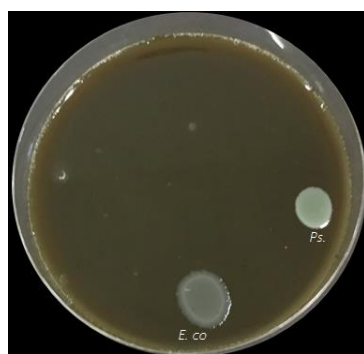
ไบยอ 5M



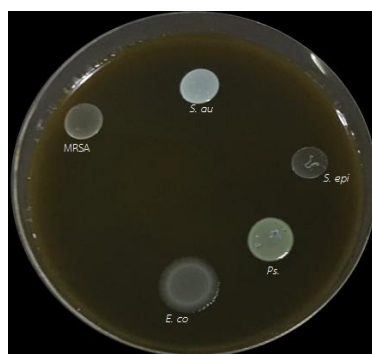
ไบเตย 3E



ไบเตย 5E



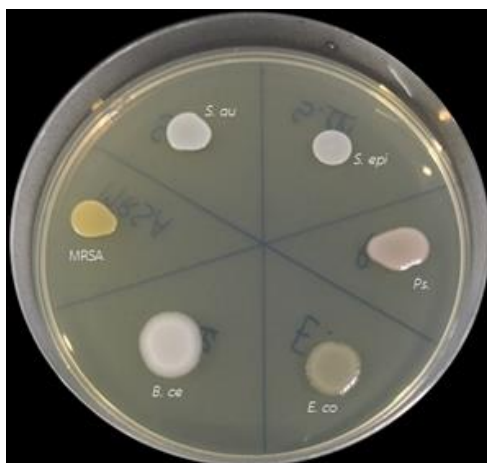
ไบเตย 3M



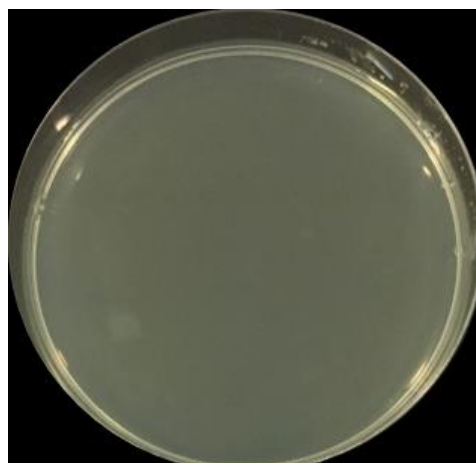
ไบเตย 5M

ภาพภาคผนวก จ. 1 ผลทดสอบการ Drop plate เชื้อแบคทีเรีย (ต่อ)





Negative control (อาหาร)

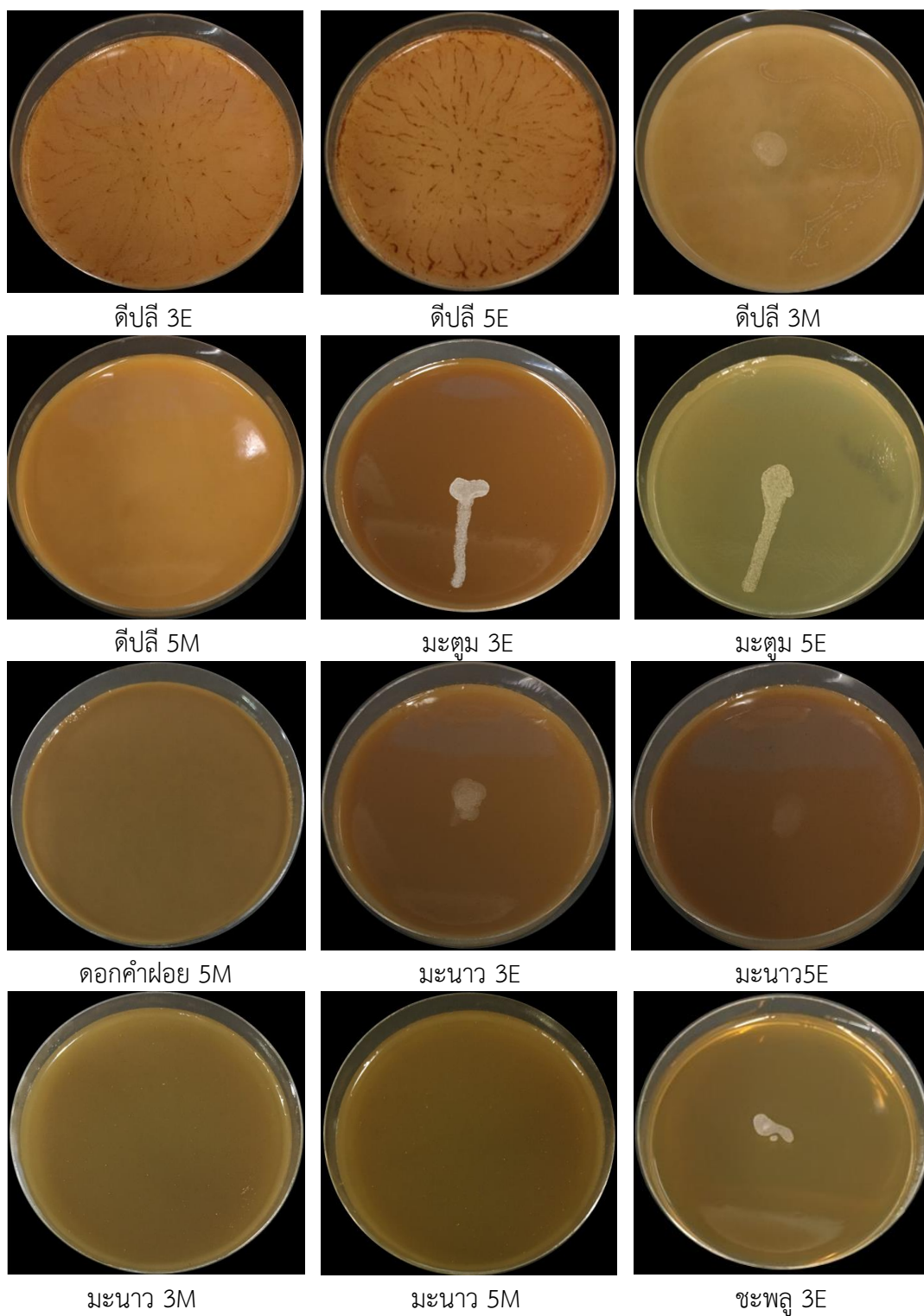


Positive control (อาหาร + gentamicin)

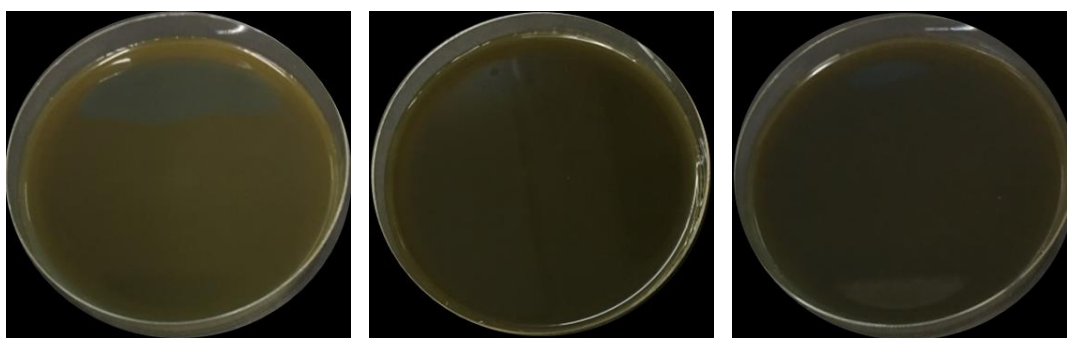
ภาพภาคผนวก จ. 1 ผลทดสอบการ Drop plate เชื้อแบคทีเรีย (ต่อ)

หมายเหตุ น้ำ = สกัดด้วยน้ำ 3E = สกัดด้วยเอทานอล 3 วัน 5E = สกัดด้วยเอทานอล 5 วัน
3M = สกัดด้วยเมทานอล 3 วัน 5M = สกัดด้วยเมทานอล 5 วัน





ภาพภาคผนวก จ. 2 ผลทดสอบการ Drop plate เชื้อยีสต์



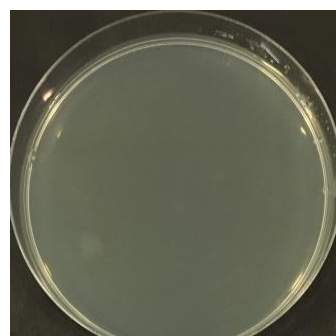
ชะพลู 5E

ชะพลู 3M

ชะพลู 5M



Negative control (อาหาร)

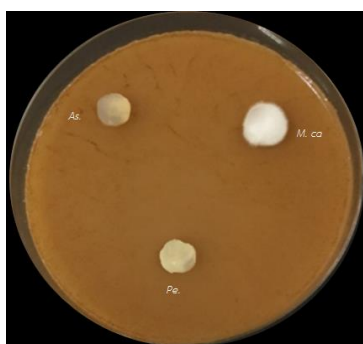
Positive control
(อาหาร + ketoconazole)

ภาพภาคผนวก จ. 2 ผลทดสอบการ Drop plate เชื้อยีสต์ (ต่อ)

หมายเหตุ น้ำ = สกัดด้วยน้ำ 3E = สกัดด้วยเอทานอล 3 วัน 5E = สกัดด้วยเอทานอล 5 วัน

3M = สกัดด้วยเมทานอล 3 วัน 5M = สกัดด้วยเมทานอล 5 วัน





ดื่ปลี่น้ำ



ดื่ปลี่ 3E



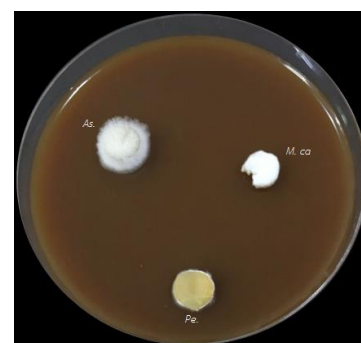
ดื่ปลี่ 5E



ดื่ปลี่ 3M



ดื่ปลี่ 5M



มะตูม 3E



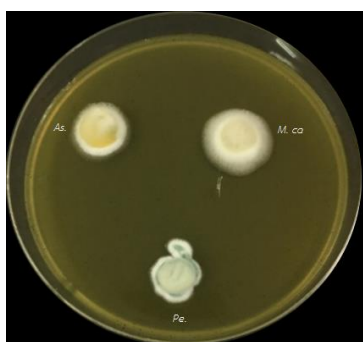
มะตูม 5E



มะตูม 3M



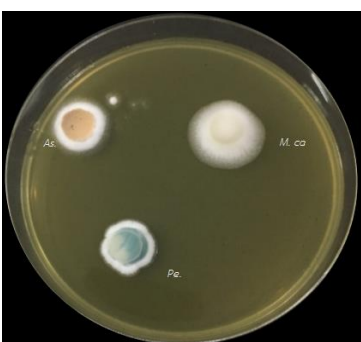
มะตูม 5M



หม่อน 3E



หม่อน 5E



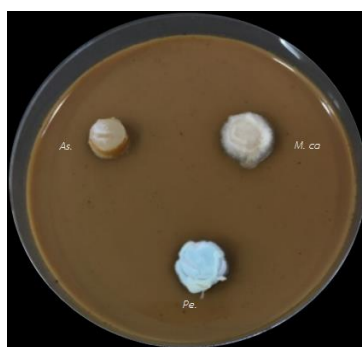
หม่อน 3M

ภาพภาคผนวก จ. 3 ผลทดสอบการ Drop plate เชื้อรา





หม่อน 5M



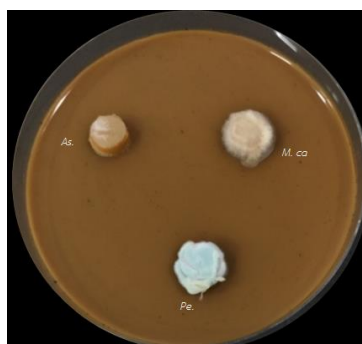
ชาเขียว น้ำ



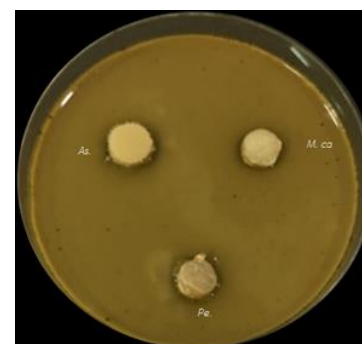
ชาเขียว 3E



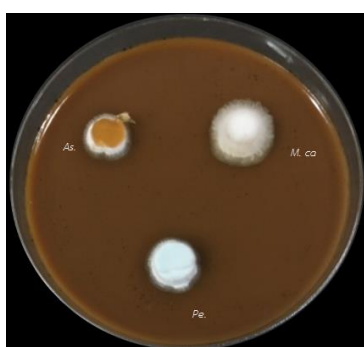
ชาเขียว 5E



ชาเขียว 3M



ชาเขียว 5M



ชาอู่หลง น้ำ



ชาอู่หลง 3E



ชาอู่หลง 5E



ชาอู่หลง 3M



ชาอู่หลง 5M



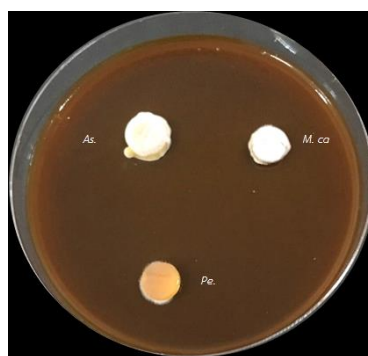
คำฝอย 3E

ภาพภาคผนวก จ. 3 ผลทดสอบการ Drop plate เชื้อรา (ต่อ)





คำฝอย 5E



คำฝอย 3M



คำฝอย 5M



มะนาว 3E



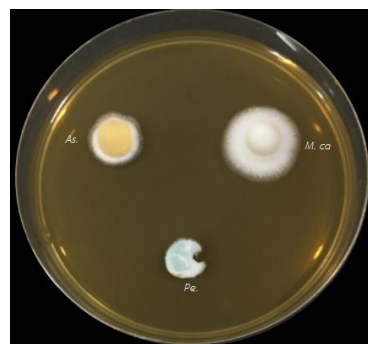
มะนาว 5E



มะนาว 3M



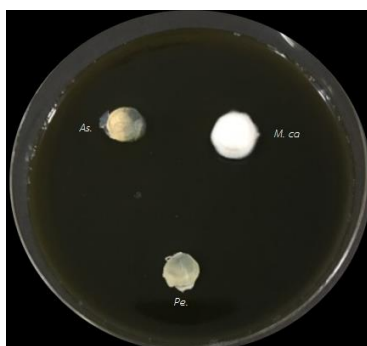
มะนาว 5M



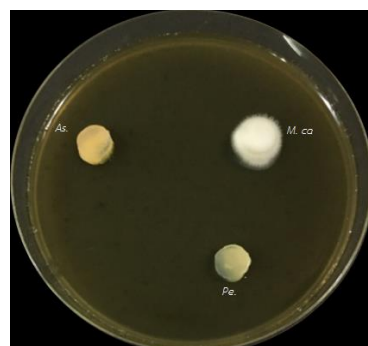
ชะพลู 3E



ชะพลู 5E



ชะพลู 3M



ชะพลู 5M



ดอกแค 3E

ภาพภาคผนวก จ. 3 ผลทดสอบการ Drop plate เชื้อรา (ต่อ)





ดอกแค 5E

ดอกแค 3M

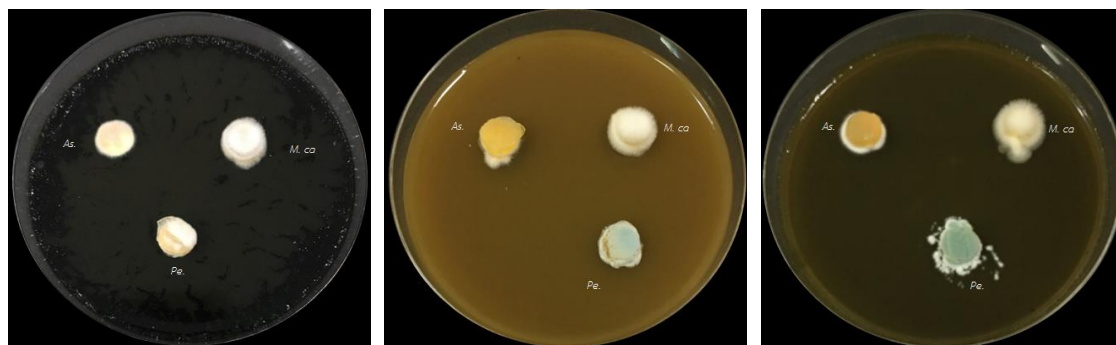
ดอกแค 5M



ใบยอ 3M

ใบยอ 5M

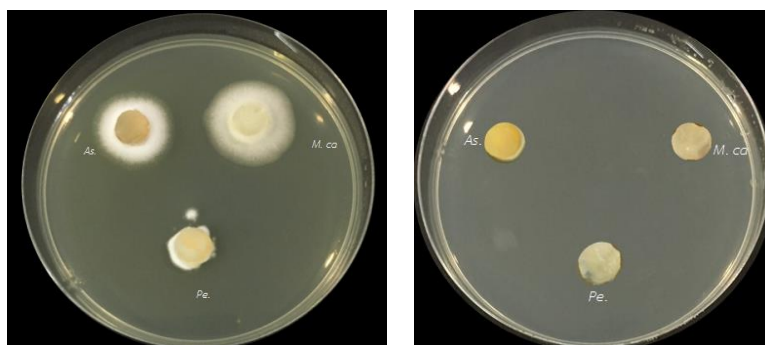
ใบเตย 3E



ใบเตย 5E

ไบเทตย 3M

ไบเตย 5M



Negative control (อาหาร)

Positive control
(อาหาร + ketoconazole)

ภาพภาคผนวก จ. 3 ผลทดสอบการ Drop plate เชื้อรา (ต่อ)

หมายเหตุ น้ำ = สกัดด้วยน้ำ 3E = สกัดด้วยเอทานอล 3 วัน 5E = สกัดด้วยเอทานอล 5 วัน
3M = สกัดด้วยเมทานอล 3 วัน 5M = สกัดด้วยเมทานอล 5 วัน

ประวัติย่อผู้วิจัย



ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ นามสกุล

นางสาวจิรนนท์ อันทะชัย

วัน เดือน ปีเกิด

วันที่ 15 ตุลาคม พ.ศ. 2534

จังหวัด และประเทศที่เกิด

อำเภอธวัชบุรี จังหวัดร้อยเอ็ด ประเทศไทย

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2547 ชั้นประถมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนเมืองร้อยเอ็ด

จังหวัดร้อยเอ็ด

พ.ศ. 2553 ชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนร้อยเอ็ดวิทยาลัย

จังหวัดร้อยเอ็ด

พ.ศ. 2557 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาวิชาชีววิทยา

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม

พ.ศ. 2561 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.)

สาขาวิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม

ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้

บ้านเลขที่ 4 หมู่ 6 ตำบลหนองไผ่ อำเภอธวัชบุรี จังหวัดร้อยเอ็ด

45170

