

ผลของสารสกัดจากชาต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร Effects of Tea Extracts for Inhibition of Enteropathogenic Bacteria

วนิดา ชื่นชื่น^{1*} ดลยา ภักดี¹ ลาวลย์ ฟุ้งจร¹ และ สมศักดิ์ อยู่บุรีรัมย์¹

Wanida Chuenchan¹ Donlaya Phakdee¹ Lawan Fungkajorn¹ and Somsak Yooboriboon¹

¹สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

¹Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya Rajabhat University

วันที่ส่งบทความ : 6 มิถุนายน 2562 วันที่แก้ไขบทความ : 22 เมษายน 2563 วันที่ตอบรับบทความ : 28 เมษายน 2563

Received: 6 June 2019, Revised: 22 April 2020, Accepted: 28 April 2020

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลการยับยั้งของสารสกัดจากชา 4 ชนิด คือ ชาขาว ชาเขียว ชาดำ และชาอู่หลง ต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ เชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae* และ *Pseudomonas aeruginosa* ด้วยวิธี agar well diffusion technique ผลการทดลองพบว่า สารสกัดชาขาว ยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. flexneri* และ *S. typhi* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ชาอู่หลงและชาเขียว ในระดับความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากัน ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งของสารสกัดชาขาว ต่อการเจริญของเชื้อ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. flexneri* และ *S. typhi* มีค่าเท่ากับ 31.50 ± 0.50 , 15.50 ± 0.50 , 13.58 ± 0.38 และ 11.58 ± 0.38 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดชาอู่หลงมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 27.33 ± 0.57 , 12.33 ± 0.28 , 10.83 ± 0.28 และ 6.33 ± 0.57 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดชาเขียว มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 23.67 ± 1.25 , 11.67 ± 0.76 , 9.50 ± 0.50 และ 5.17 ± 0.28 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดชาดำไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เลย นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดชาทั้ง 4 ชนิด ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ได้ จากการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) พบว่า สารสกัดชาขาวมีค่า MBC ต่อการยับยั้ง เชื้อ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. flexneri* และ *S. typhi* เท่ากับ 450, 450, 500 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดชาอู่หลง มีค่า MBC เท่ากับ 500, 500, 500 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสารสกัดชาเขียว มีค่า MBC เท่ากับ 600, 500, 500, และ 550 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การศึกษาครั้งนี้จึงสนับสนุนแนวคิดในการค้นคว้าพัฒนาการใช้สารสกัดจากชาขาว ชาอู่หลง และชาเขียว เพื่อใช้ในการป้องกันและรักษาโรคในระบบทางเดินอาหาร

คำสำคัญ : สารสกัดจากชา แบคทีเรียก่อโรค โรคในระบบทางเดินอาหาร

*ที่อยู่ติดต่อ E-mail address: Wanida.ch@bsru.ac.th

Abstract

The objective of this research was to study the antimicrobial effect of crude extracts obtained from white tea, green tea, black tea and oolong tea against bacteria causing gastrointestinal diseases including; *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. Agar well diffusion technique was used for cell enumeration and minimum bactericidal concentration (MBC) was determined. The results showed that *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. flexneri* and *S. typhi* were inhibited by white tea, oolong tea and green tea extracts at same concentration. Inhibition zone diameter of white tea extract of *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. flexneri* and *S. typhi* were 31.50 ± 0.50 , 15.50 ± 0.50 , 13.58 ± 0.38 and 11.58 ± 0.38 mm, respectively. Inhibition zone diameter of oolong tea extract were 27.33 ± 0.57 , 12.33 ± 0.28 , 10.83 ± 0.28 and 6.33 ± 0.57 mm. Inhibition zone diameter of green tea extract are 23.67 ± 1.25 , 11.67 ± 0.76 , 9.50 ± 0.50 and 5.17 ± 0.28 mm., whereas black tea extract did not show any growth inhibition of enteropathogenic bacteria. *E. coli* and *K. pneumonia* growths cannot be inhibited by all four tea extracts. The white tea extract showed antibacterial activity on *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. flexneri* and *S. typhi* with minimum bactericidal concentration (MBC) of 450, 450, 500 and 500 mg/mL, respectively. Oolong tea extract showed antibacterial activity on four bacteria with MBC of 500, 500, 500 and 500 mg/mL, and green tea extract were showed MBC 600, 500, 500 and 550 mg/mL to inhibit *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. flexneri* and *S. typhi*, respectively. The current study thus supported the trend of exploiting antimicrobial effects of white tea, oolong tea and green tea extracts for gastrointestinal disease prevention and therapy.

Keywords: Tea extracts, Pathogenic bacteria, Gastrointestinal tract diseases

1. บทนำ

เชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารสามารถพบได้ทั่วไปทั้งในดิน น้ำ อากาศ เช่น *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Salmonella* และ *Shigella* และเป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อจากการปนเปื้อนของแบคทีเรียในอาหาร โดยเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวสามารถรุกรานเข้าไปทำลายเยื่อบุลำไส้ทำให้เกิดมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องเสีย มีไข้ และปวดศีรษะ นอกจากนี้เชื้อบางชนิดสามารถผลิตสารเอ็นเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ที่ทำให้เกิดความเป็นพิษในลำไส้ แม้ยาสังเคราะห์ที่ใช้ในการรักษาอาการติดเชื้อในทางเดินอาหารปัจจุบันจะให้ผลดี หากแต่ยาสังเคราะห์เหล่านี้ อาจก่อผลเสียข้างเคียงกับผู้ป่วยและสามารถเป็นสาเหตุให้เกิดการดื้อต่อยาของเชื้อดังกล่าวได้ ด้วยเหตุนี้สารสกัดจากธรรมชาติที่ไม่มี

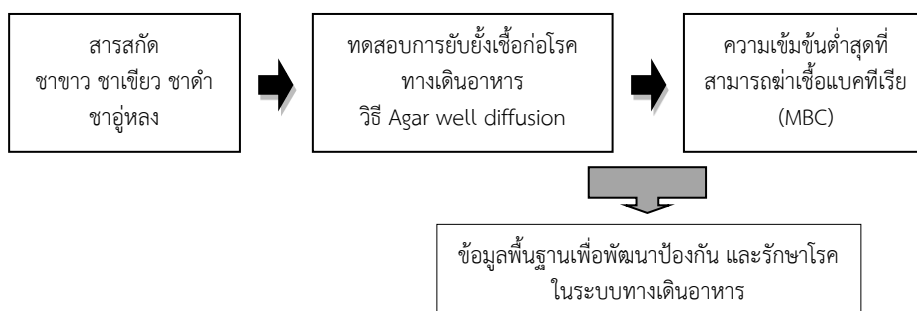
ผลข้างเคียงและปลอดภัยต่อผู้ป่วยจึงกลายมาเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการรักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์

ชาเป็นพืชชนิดหนึ่งมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Camellia sinensis* [1] ผลิตได้จากใบ ยอดอ่อน และก้านของต้นชา นำมาผ่านกรรมวิธีแปรรูปหลากหลาย เป็นเครื่องดื่มที่มีกลิ่นหอม นำมาชงหรือต้มกับน้ำร้อน นอกจากนี้ชายังเป็นเครื่องดื่มที่มีการบริโภคมากที่สุดเป็นอันดับ 2 รองจากน้ำเปล่า ที่พบทั่วไป ได้แก่ ชาขาว ชาเขียว ชาอู่หลง และชาดำ ซึ่งชาทุกชนิดสามารถผลิตได้จากต้นชาต้นเดียวกัน แต่ผ่านกรรมวิธีแตกต่างกันออกไป ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสนใจและมีแนวโน้มบริโภคชาเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีผลการวิจัยที่แสดงถึงคุณประโยชน์ของสารพฤกษเคมีในชา ชามีสารพอลิฟีนอล (polyphenols) ที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) [2] ป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง [3] ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง [4] ลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ [5] และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial) หลายชนิด [6] เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า ชา สามารถยับยั้งการทำงานของแอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) ในลำไส้และยังมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร [7] ได้

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชาแต่ละชนิดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร โดยใช้ชาทั้งหมด 4 ชนิด คือ ชาขาว ชาเขียว ชาดำ และชาอู่หลง เพื่อนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้สำหรับรักษาโรคในระบบทางเดินอาหารและเป็นแนวทางในการเลือกบริโภคชาที่ให้ประโยชน์สูงสุดในการรักษาโรคต่อไป

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 กรอบแนวคิดของการวิจัย



2.2 การเตรียมวัตถุดิบ

เตรียมตัวอย่างชา 4 ชนิด ได้แก่ ชาขาว ชาเขียว ชาอู่หลง เป็นชาสายพันธุ์จีน (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) และชาดำ เป็นชาสายพันธุ์อัสสัม (*Camellia sinensis* var. *assamica*) โดยชาทั้งหมดเป็นแบบชนิดผงบรรจุซอง (tea bag) ที่วางขายตามท้องตลาด

2.3 การเตรียมสารสกัดหยาบจากชา

1) ชั่งตัวอย่างชาละ 50 กรัม ใส่ลงในขวดแก้วปากกว้าง เติมน้ำละลายเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:4) ปิดฝาให้สนิท นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 40 [8]

2) นำมาระเหยสารละลายเอทานอลออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสาร ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนได้สารเข้มข้น

3) เก็บสารสกัดของชาในขวดแก้วสีชา แช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.4 เชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร

เชื้อแบคทีเรียทดสอบจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603, *Shigella flexneri*, และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ได้รับความอนุเคราะห์จาก สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ และสาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา นำเชื้อแบคทีเรียเลี้ยงในอาหาร tryptic soy broth (TSB) หมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.5 การทดสอบหาบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) เชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ด้วยวิธี agar well diffusion

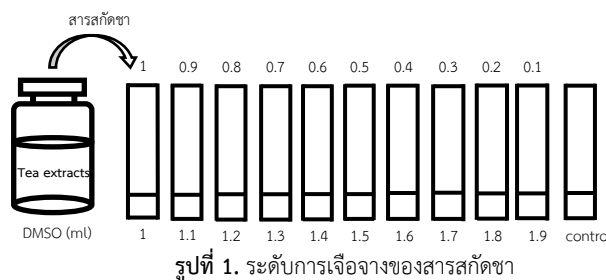
1) นำเชื้อแบคทีเรียมาเพิ่มปริมาณในอาหาร tryptic soy broth (TSB) หมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2) วัดความขุ่นของเซลล์แบคทีเรีย ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ปรับค่าโอดี (optical density) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่าความขุ่นเทียบเท่า McFarland standard No. 0.5 (ประมาณ 1×10^8 CFU/mL)

3) จุ่มไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อลงในเชื้อที่เตรียมไว้จากข้อ 2) นำมาเกลี่ยให้เต็มพื้นผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy agar (TSA) ในจานเพาะเชื้อ โดยเกลี่ยแบบ 3 ระบาย ทั้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง

4) นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปใช้ในการทดสอบโดยใช้ที่เจาะจุกก๊อก เบอร์ 2 ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เจาะบนผิวหน้าอาหารจำนวนจานละ 4 จุด

5) เจือจางสารสกัดจากชาให้ได้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดชาต่อไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) เท่ากับ 800, 750, 700, 650, 600, 550, 500, 450, 400 และ 350 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รวมปริมาตรแต่ละหลอดเท่ากับ 2 มิลลิลิตร (รูปที่ 1)



2.6 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (minimum inhibitory concentration: MIC) ด้วยวิธี broth dilution technique [9]

1) เตรียมซัสเพนชันเชื้อในอาหาร TSB ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และวัดความขุ่นของเซลล์ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ปรับค่าโอดีที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่าประมาณ 0.1

2) เจือจางสารสกัดขา (stock solution) ต่ออาหาร TSB รวมปริมาตรแต่ละหลอดเท่ากับ 2 มิลลิลิตร โดยเปลี่ยนจากโดเมทิลซัลฟอกไซด์ฆ่าเชื้อเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB แทน หลอดสุดท้ายใช้เป็นหลอดควบคุม โดยไม่ใส่สารสกัดจากขา

3) ใช้ไมโครปิเปตต์ ดูดซัสเพนชันเชื้อใส่ในหลอดทดลองที่มีสารสกัดจากขาที่มีความเข้มข้นต่างๆ หลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4) บันทึกผล โดยสังเกตความขุ่นในแต่ละหลอด อ่านและบันทึกค่า MIC

2.7 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (minimum bactericidal concentration: MBC) ด้วยวิธี agar dilution technique [10]

1) นำหลอดที่ไม่มีความขุ่น จากการทดสอบ MIC มาทำการทดสอบ MBC โดยใช้ไมโครปิเปตต์ ดูดสารละลายมา 0.1 มิลลิลิตร นำไปเกลี่ยลงบนอาหาร TSA ด้วยเทคนิค spread plate

2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหาร (ต้องไม่เกิน 50 โคโลนี) บันทึกผล

2.8 การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ CRD (completely random design) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี One – way ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$

3. ผลการวิจัย

3.1 ผลการทดสอบหาบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) เชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารด้วยวิธี agar well diffusion technique

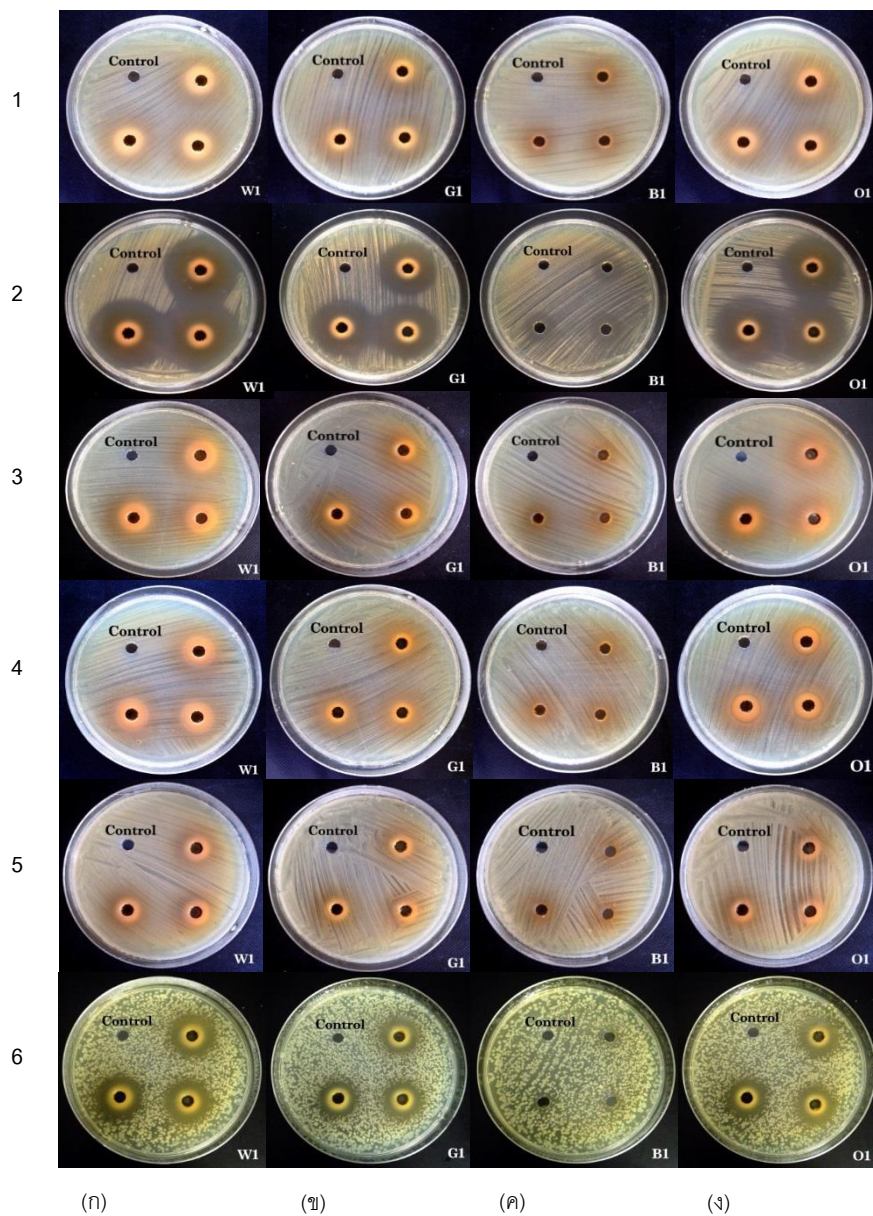
จากการทดลองพบว่าสารสกัดขาสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารคือ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. flexneri* และ *S. typhi* ได้ดีที่สุด ที่เท่ากับ 31.50 ± 0.50^a , 15.50 ± 0.50^a , 13.58 ± 0.38^a และ 11.58 ± 0.38^a มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือ สารสกัดขาอุ้งหลง และสารสกัดขาเขียว ตามลำดับ ส่วนชาดำไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทุกชนิดได้เลย และชาทั้ง 4 ชนิด ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ได้ (ตารางที่ 1 และรูปที่ 2)

ตารางที่ 1. การทดสอบของสารสกัดชา 4 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ด้วยวิธี agar well diffusion technique

สารสกัดชา	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางการเกิดบริเวณใส (clear zone) ของสารสกัดชา ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (มิลลิเมตร)					
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
ชาขาว	-	31.50±0.50 ^a	11.58±0.38 ^a	13.58±0.38 ^a	-	15.50±0.50 ^a
ชาเขียว	-	23.67±1.25 ^a	5.17±0.28 ^a	9.50±0.50 ^a	-	11.67±0.76 ^a
ชาดำ	-	-	-	-	-	-
ชาอู่หลง	-	27.33±0.57 ^a	6.33±0.57 ^a	10.83±0.28 ^a	-	12.33±0.28 ^a

หมายเหตุ + ยับยั้งได้ - ยับยั้งไม่ได้

ค่าเฉลี่ยที่ตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์แสดงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 2. การเกิดบริเวณใสของสารสกัดชา 4 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารด้วยวิธี agar well diffusion technique

หมายเหตุ

- | | |
|--------------------------------|----------------------------------|
| 1. <i>Escherichia coli</i> | 2. <i>Staphylococcus aureus</i> |
| 3. <i>Salmonella typhi</i> | 4. <i>Shigella flexneri</i> |
| 5. <i>Klebsiella pneumonia</i> | 6. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| (ก) ชาขาว | (ข) ชาเขียว |
| (ค) ชาดำ | (ง) ชาอู่หลง |

3.2 ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (minimum inhibitory concentration: MIC) ด้วยวิธี broth dilution technique

จากการทดสอบหาค่าบริเวณการยับยั้งเชื้อ (inhibition zone) เป็นการทดสอบเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลได้ว่าเชื้อมีความไวต่อการทดสอบหรือไม่ ซึ่งใช้เป็นการตรวจกรองฤทธิ์ต้านเชื้อของยาเบื้องต้น ดังนั้นขั้นตอนต่อไปจึงได้มีการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) ซึ่งเป็นการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี dilution test จะเป็นการทดสอบในเชิงปริมาณ เพราะสามารถทราบความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำลายเชื้อได้ พบว่าในการทดสอบนี้ไม่สามารถอ่านผลได้เนื่องจากสารสกัดจากขามีความขุ่นและสีที่เข้ม ทำให้เกิดการแปรผันในการวิเคราะห์ผล จึงไม่สามารถใช้การวัดความขุ่นด้วยเครื่องวัดความขุ่นได้จึงนำไปทดสอบหาค่า MBC ต่อไป

3.3 ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (minimum bactericidal concentration: MBC) ด้วยวิธี agar dilution technique

จากผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ (MBC) พบว่าสารสกัดจากชาขาว ชาเขียว และชาอู่หลง มีค่า MBC ต่อการฆ่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบอยู่ระหว่าง 450 – 600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชาขาวมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการฆ่าเชื้อ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. flexneri* และ *S. typhi* มีค่า MBC เท่ากับ 450, 450, 500 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2. ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อได้ (MBC) ของสารสกัดจากชาขาว ชาเขียว และชาอู่หลง ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri* และ *Pseudomonas aeruginosa* ด้วยวิธี agar dilution technique

สารสกัด	ความเข้มข้นของสารสกัดชา (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			
	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>P. aeruginosa</i>
ชาขาว	450	500	500	450
ชาเขียว	600	550	500	500
ชาอู่หลง	500	500	500	500

4. สรุปและอภิปรายผล

สารสกัดจากชาขาว ชาอู่หลง และชาเขียว สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri* และ *Salmonella typhi* ได้ดี โดยสารสกัดจากชาขาว มีประสิทธิภาพสูงสุด รองลงมาเป็นชาอู่หลง และชาเขียว (ตารางที่ 1 และ ตารางที่ 2) จากการศึกษาผลของสารสกัดจากชาทั้ง 4 ชนิด ด้วยเทคนิคที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ ได้แก่ ชาขาว ชาเขียว ชาดำ และชาอู่หลง ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารพบว่า มีสารสกัดจากชา 3 ชนิด ได้แก่ ชาขาว ชาเขียว และชาอู่หลง ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* และ *Shigella flexneri* ได้ แต่ชาดำไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เลย ส่วนสารสกัดจากชาทั้ง 4 ชนิด ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* และเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของนัยนา ต่างใจ และ สุริยา ฤทธาพิทย์ [11] ที่ได้ทำการสกัดกรดแทนนิก

(tannic acid) จากหมากนวลด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ซึ่งกรดแทนนิกจัดเป็นสารที่พบในใบชาทั้ง 4 ชนิดด้วย และกรดแทนนิกมีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *E. coli* ได้ อีกสาเหตุที่ชาทั้ง 3 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ เนื่องจากในชานั้นมีสารจำพวก พอลิฟีนอล ซึ่งจัดเป็นสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) มีสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย สามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียได้ [12] แต่จากงานวิจัยนี้สารสกัดจากชาทั้ง 4 ชนิด ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของสุคนธ์ ตันติไพบูลย์วุฒิ และคณะ [13] ที่ได้สกัดสารฟีนอลิกจากเปลือกส้มเขียวหวาน เปลือกกล้วยน้ำว้า เปลือกหมากสง เปลือกทุเรียน และเปลือกมังคุด ด้วยน้ำร้อนและเอทานอล โดยสารสกัดที่ได้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อ *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งสารฟีนอลิกจะยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องด้วยโครงสร้างผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ประกอบด้วย เพปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) ส่วนผนังเซลล์เชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ประกอบด้วย เมมเบรนชั้นนอก (outer membrane) ประมาณร้อยละ 80 และเพปทิโดไกลแคน ประมาณร้อยละ 20 ซึ่งเมมเบรนชั้นนอกของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ มีลิโปพอลิแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide) เป็นองค์ประกอบ มีหน้าที่ป้องกันสารจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ ในขณะที่เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกไม่มีเมมเบรนชั้นนอก สารจากภายนอกจึงเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ [14]-[16] ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ โดยสารสกัดชาสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (*Staphylococcus aureus*) ได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* และ *Shigella flexneri*) เช่นเดียวกับสารฟีนอลิกที่สกัดได้จากเมล็ดมะม่วงสามารถยับยั้ง *Salmonella* spp. ได้ [17] และสารฟีนอลิกที่สกัดได้จากเมล็ดมะเกี๋ยง สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (*Staphylococcus aureus*) ได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (*Salmonella typhimurium*) [18] โดยสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกจะเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนและเอนไซม์ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย ส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย สารภายในเซลล์ไหลออกนอกเซลล์นอกจากนี้สามารถยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์กรดอะมิโนนำไปสู่การตายของเซลล์ [19]

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Amel และคณะ [20] ที่พบว่าพอลิฟีนอลในสารสกัดชาเขียวและชาดำ สามารถยับยั้งเชื้อ *Fusobacterium nucleatum* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเหงือก และโรคลำไส้อักเสบ โดยผลการวิจัยแตกต่างจากการวิจัยในครั้งนี้นี้ที่ชาดำไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้เลย อาจเนื่องจากชาที่ใช้ทดสอบเป็นแบบชนิดผงบรรจุซอง ซึ่งผลิตจากใบชาคุณภาพต่ำกว่าแบบชาใบ (loose tea) อีกทั้งชาแต่ละชนิดจะมีปริมาณของสารพอลิฟีนอลที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิต ยี่ห้อของชา และมีราคาที่แตกต่างกัน [21] ซึ่งจากการศึกษาของ Dyson College of Arts and Sciences มหาวิทยาลัยเพซ (Pace University) ประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าชาขาวสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าชาเขียว โดยการวิจัยพบว่า สารสกัดชาขาวสามารถใช้ยับยั้งการก่อให้เกิดโรคที่เกิดจาก *Staphylococcus* และ *Streptococcus* ซึ่งงานวิจัยดังกล่าวให้ผลสอดคล้องกับผลการวิจัยในครั้งนี้นี้ที่พบว่าชาขาวมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร นอกจากนี้ชาขาวมีประสิทธิภาพที่ดีในการหยุดการทำงานของไวรัสและเชื้อรา จากผลการทดลองที่พบทำให้คาดว่าสารสกัดชาขาวสามารถต้านไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ได้ และสารสกัดชาขาวสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Penicillium chrysogenum* และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* [22] จึงควรส่งเสริมให้มีการนำชาขาวไปพัฒนา

เป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ทางด้านเภสัชกรรม อาหาร และเครื่องสำอาง ซึ่งปัจจุบัน สารสกัดชาขาว ถูกใส่ลงไปในยาสี่พันหลายยี่ห้อที่ประเทศจีนและสหรัฐอเมริกาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ในขณะที่ชาเขียวสามารถยับยั้งการทำงานของแอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) ในลำไส้และยังมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร [6] ได้ นอกจากการยับยั้งเชื้อที่เป็นโทษแก่ระบบทางเดินอาหารแล้ว การดื่มชายังช่วยกระตุ้นการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ (probiotic) ซึ่งสามารถช่วยบรรเทาอาการโรคท้องร่วง และโรคไขกระดูกใหญ่ [23] สารคาเทชินในชาที่เป็นสารพอลิฟีนอล ที่สามารถทำลายสปอร์ของเชื้อ *Clostridium botulinum* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ และยังสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ทนความร้อน เช่น *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *C. perfringens* [24] ได้ด้วย จึงควรมีการศึกษาต่อในระดับเชิงลึกถึงปริมาณของสารคงเหลือในชาแต่ละชนิดหลังผ่านกระบวนการสกัด และปริมาณที่ผู้บริโภคจะได้รับสารคงเหลือดังกล่าวจากการบริโภคชาต่อหน่วยบริโภค เพื่อเป็นข้อมูลปริมาณแนะนำที่ควรบริโภคที่เพียงพอในการยับยั้งเชื้อก่อโรคทางเดินอาหาร หรือใช้เป็นแนวทางในการพัฒนายาสำหรับป้องกันและรักษาโรคระบบทางเดินอาหารหรือพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่ผสมสารสกัดจากชาต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ที่สนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง (References)

- [1] อีรพงษ์ เทพภรณ์. 2557. ชา. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. [Theerapong Theppakorn. 1999. Tea. Chulalongkorn University Press, Bangkok. (in Thai)]
- [2] Higdon, J. V. and Frei, B. 2003. Tea catechins and polyphenols : health effects metabolism and antioxidant functions. *C. Rev. Food Sci. Nutr.*, 43(1), 89-143.
- [3] Mukhtar, H. and Ahmad, N. 1999. Green tea in chemoprevention of cancer. *Toxicol. Sci.*, 52(2 Suppl), 111-117.
- [4] Nakachi, K., Suemasu, K., Suga, K., Takeo, T., Imai, K. and Higashi, Y. 1998. Influence of drinking green tea on breast cancer malignancy among Japanese patients. *Jpn. J. Cancer Res.*, 89(3), 254-261.
- [5] Riemersma, R. A., Rice-Evans, C. A., Tyrrell, R. M., Clifford, M. N. and Lean, M. E. 2001. Tea flavonoids and cardiovascular health. *Q.J.M.* 94(5), 277-282.
- [6] Cowan, M. M. 1999. Plant Products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, 12(4), 564-582.
- [7] Hara, Y. 1997. Influence of tea catechins on the digestive tract. *J. Cell. Biochem.*, 67(s27), 52-58.

- [8] Azwanida, N. N. 2015. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Med. Aromat. Plants*, 4, 196. doi:10.4172/2167-0412.1000196.
- [9] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2015. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standard. 10th Edition. CLSI documents M07-A10. Wayne, PA : Clinical and Laboratory Standard Institute.
- [10] Denyer, S. P., Hodges, N. A. and Gorman, S. P. 2008. Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology. 7th Edition. Hoboken, NJ : Wiley-Blackwell.
- [11] นัยนา ต่างใจ และ สุริยา ฤทธาทิพย์. 2552. ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดของสารสกัดจากหมากนวล. *ว.วิทย์. กษ.*, 40(3)(พิเศษ), 53-56. [Naiyana Tangjai and Suriya Rutatip. 2009. Inhibitory effect against some microorganisms by crude extract of Manila palm. *Agricultural Sci. J.*, 40(3)(Suppl), 53-56. (in Thai)]
- [12] Wu, S. C., Yen, G. C., Wang, B. S., Chiu, C. K., Yen W. J., Chang, L. W. and Duh, P. D. 2007. Antimutagenic and antimicrobial activities of pu-erh tea. *LWT-Food Science and Technology*, 40(3), 506-512.
- [13] สุกนธ์ ตันติไพบูลย์วุฒิ, เทียนชัย น่วมเศรษฐี และ เพชรลดา เดชาเย็นยง. 2555.ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลไม้บางชนิด. *วารสารวิจัย มช.*, 17(6), 880-894. [Sukon Tantipaibulvut, Thianchai Nuamsetti and Petlada Dechayuenyoung. 2012. Antibacterial activity of some fruit-peel extracts. *KKU Res. J.*, 17(6), 880-894 (in Thai)]
- [14] Parekh, J., Jadeja, D. and Chanda, S. 2005. Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity. *Turk. J. Biol.*, 29, 203-210.
- [15] Shan B., Cai Y. Z., Brooks, J. D. and Corke, H. 2007. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *Int. J. Food Microbiol.*, 117(1), 112-119.
- [16] Brown, L., Wolf, J. M., Rosales, R. P. and Casadevall, A. 2015. Through the wall : extracellular vesicles in gram-positive bacteria, mycobacteria and fungi. *Nat. Rev. Microbiol.*, 13(10), 620-630.
- [17] Abdalla, A. E. M. , Darwish, S. M., Ayad, E. H. E. and. El-Hamahmy R.M. 2007. Egyptian mango by-product 2: Antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. *Food. Chem*, 103(4), 1141-1152.
- [18] นันทนิกร บาลเมือง, สุเมธ ตันตะเถียร และ อีรวลย์ ขาญฤทธิเสน. 2559. การเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดของสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยง (*Cleistocalyx nervosum* var. *paniala*) ด้วยสารดูดซับ. การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2559, มหาวิทยาลัยรังสิต, ปทุมธานี, 477-485. [Nunthanics Balmuang, Sumate Tantratien and Thirawan Chanritisen. 2016. Increasing antimicrobial efficiency of Ma-Kiang

- (*Cleistocalyx nervosum* var. *paniala*) seed extract using adsorbents. RSU National Research Conference 2016, Rangsit University, Pathum Thani. 477-485. (in Thai)]
- [19] Gill, A. O. and Holley, R. A. 2006. Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. *Int. J. Food Microbiol.*, 108(1), 1-9.
- [20] Amel, B. L., Haas, B. and Grenier, D. 2017. Tea polyphenols inhibit the growth and virulence properties of *Fusobacterium nucleatum*. *Sci. Rep.*, 7, 44815, doi: 10.1038/srep44815.
- [21] สถาบันชา. 2559. ความรู้เกี่ยวกับชา (กระบวนการผลิตชา). สถาบันชาและกาแฟ แห่งมหาวิทยาลัยแม่หลวง, แหล่งข้อมูล : http://web2.mfu.ac.th/other/teainstitute/?page_id=131&lang=th. ค้นเมื่อวันที่ 30 มีนาคม 2563.
- [22] Ho, C.T., Lin, J.K. and Shahidi, F. 2008. Tea and Tea Products : Chemistry and Health-Promoting Properties. Boca Raton, FL. : CRC Press.
- [23] Shetty, M., Subbannayya, K. and Shivananda, P. G. 1994. Antibacterial activity of tea (*Camellia sinesis*) and coffee (Coffee Arabica) with special reference to *Salmonella typhimurium*. *J. Commun. Dis*, 26(3), 147-150.
- [24] Chou, C. C., Lin, L. L. and Chung, K. T. 1999. Antimicrobial activity of tea as affected by the degree of fermentation and manufacturing season. *Int. J. Food Microbiol.*, 48(2), 125-130.