

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากสมุนไพรในการยับยั้งแบคทีเรีย ที่ทำให้เกิดโรคท้องเสียและการประยุกต์ใช้แก่นตะวันเป็นพรีไบโอติกในการผลิตโยเกิร์ต**

Study on Efficiency of Herb Extracts to Inhibit Enteric Bacteria and Application of Jerusalem artichoke as a Prebiotic for Yogurt Production**

กานต์ชนา สิทธิเหล่าถาวร* และมนัสวี เดชกล้า
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

Kanchana Sitlaothaworn* & Manussawee Dechkla
Faculty of Science and Technology, Suan Sunandha Rajabhat University

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดใบชะมวง ใบหว่า ใบฝรั่ง มะเขือพวง สาบแร้งสาบกา ในการยับยั้งของเชื้อที่ทำให้เกิดโรคท้องเสีย โดยวิธี Agar-well Diffusion Method โดยทดสอบกับ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella Typhimurium* พบว่าสารสกัดใบชะมวงปริมาณ 20 μ l สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้ง *E. coli* สูงสุด เท่ากับ 2.31 ± 0.22 cm รองลงมาคือ *S. aureus* และ *S. Typhimurium* เท่ากับ 1.77 ± 0.00 cm และ 1.45 ± 0.04 cm ตามลำดับ สารสกัดใบฝรั่งและใบหว่ายับยั้งได้เฉพาะ *S. aureus* สารสกัดมะเขือพวงและสาบแร้งสาบกาไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคท้องเสียได้ จากนั้นนำสารสกัดใบชะมวงมาผสมลงในโยเกิร์ต พบว่าสารสกัดใบชะมวงช่วยเพิ่มอัตราการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* เท่ากับ 18.25 % และ 22.56% ตามลำดับ มีค่าสูงกว่าโยเกิร์ตธรรมดา (12.00-13.97%) และทำการสกัดโยเกิร์ตใบชะมวงเพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อที่ทำให้เกิดโรคท้องเสีย พบว่า 80 μ l ของสารสกัดโยเกิร์ตใบชะมวงสามารถยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* เมื่อนำ 10% ของ Fructo-Oligosaccharide ที่สกัดจากแก่นตะวันผสมลงในโยเกิร์ต เพื่อศึกษาการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ในโยเกิร์ต พบว่าอัตราการเจริญของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ไม่แตกต่างกับโยเกิร์ตธรรมดา แต่สามารถส่งเสริมการเจริญของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่ใช้สารสกัดแก่นตะวันเป็นแหล่งคาร์บอนแทนน้ำตาล Dextrose จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดจากใบชะมวงเหมาะสมที่จะนำมาผสมลงในโยเกิร์ต เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่ทำให้เกิดโรคท้องเสีย

คำสำคัญ: โยเกิร์ต โรคท้องเสีย แก่นตะวัน ใบชะมวง

* ผู้ประสานงานหลัก (Corresponding Author) การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากสมุนไพรในการยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคท้องเสีย
e-mail: Kanchana.si@ssru.ac.th และการประยุกต์ใช้ผลิตโยเกิร์ต

**งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนวิจัยจากงบประมาณรายได้ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

Abstract

The aim of this research was to study the activity of herb plant extracts (*Garcinia cowa* Roxb., *Syzygium cumin* L., *Psidium guajava* L., *Solanum torvum* Sw. and *Ageratum conyzoides* L.) against enteric bacteria growth. Antibacterial activities were determined by agar-well diffusion method against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* Typhimurium. *Garcinia cowa* Roxb. extract against *E. coli* showed the highest efficacy with inhibition zone of 2.31 ± 0.22 cm. diameter, zone against *S. aureus* and *S. Typhimurium* equalled 1.77 ± 0.00 cm and 1.45 ± 0.04 cm diameter, respectively. *Psidium guajava* L. and *Syzygium cumin* L. extracts against only *S. aureus*. No Inhibition zones were observed for *Solanum torvum* Sw. and *Ageratum conyzoides* L. extracts. An extract of *Garcinia cowa* Roxb. was added into yogurt, the *Garcinia cowa* Roxb. extract increased growth of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* by 18.25 % and 22.56%, respectively when compared to plain yogurt (12.00-13.97%). An 80 μ l extract of yogurt (mixed *Garcinia cowa* Roxb.) inhibited growth of *E. coli* and *S. aureus*. To evaluate properties of Fructo-oligosaccharide extracted from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) by 10% Jerusalem artichoke extract was added into yogurt. No difference were observed for growth rate of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus*, no differences were observed between plain yogurt and Jerusalem artichoke yogurt but Jerusalem artichoke extract promoted growth of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* when it was used instead of dextrose in MRS broth as a carbon source. The results indicated that *Garcinia cowa* Roxb. extract is appropriate to use as a supplement in yogurt to efficiently increase the inhibition of enteric bacteria growth.

Keyword: Yogurt, Diarrhea, Jerusalem Artichoke, *Garcinia cowa* Roxb.

บทนำ

โรคท้องเสียมักเกิดจากการกินอาหารและดื่มน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อโรค หรือจากมือไม่สะอาดมีการปนเปื้อน อุจจาระจึงก่อให้เกิดการติดเชื้อจากมือสู่ปากโดยตรง หรือในขั้นตอนการปรุงอาหารต่าง ๆ รวมทั้งในขั้นตอนของการเลี้ยงดูเด็ก ภาวะท้องเสียหรืออุจจาระร่วงเป็นปฏิกิริยาอย่างหนึ่งของร่างกายเพื่อตอบสนองต่อสารพิษ เชื้อโรค ตลอดจนการระคายเคืองที่เกิดขึ้นภายในทางเดินอาหาร อาการท้องเสียจากการติดเชื้อมักเป็นท้องเสียเฉียบพลัน โดยแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการท้องเสีย เช่น *Escherichia coli* ซึ่งพบบ่อยที่สุด โดยเชื้อจะปล่อยสารพิษออกมา พบในลำไส้ใหญ่ มุลสัตร หรือน้ำที่รั่วไหลออกจากคอกสัตว์ โดยมีสายพันธุ์ที่ระบาด คือ O104:H4 หรือ STEC (Shiga Toxin Producing *Escherichia coli*) เชื้อมีคุณสมบัติในการสร้างสารเหนียวทำให้เกาะติดกับผนังลำไส้ได้หลังจากนั้นจะปล่อยสารพิษออกมา *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ โดยเชื้อจะปล่อยสารพิษ (Enterotoxin) ออกมาทำให้กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ นอกจากนี้ยังมีเชื้อไทฟอยด์ (*Salmonella*) เชื้อบิดชนิด *Shigella* อหิวาตกโรคจากเชื้อ *Vibrio cholera* เป็นต้น ในบางรายมีอาการท้องเสียเมื่อตื่นนอน เนื่องจากไม่มีน้ำย่อยที่ใช้ในการย่อยนม การเข้ายาปฏิชีวนะต่อเนื่องกันเป็นเวลานาน สามารถทำให้ท้องเสียได้ เนื่องจากยาปฏิชีวนะจะรบกวนแบคทีเรียที่มีประโยชน์ที่สร้างวิตามินเคในลำไส้ใหญ่เพื่อป้องกันแบคทีเรียที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย (Kaipiboon & Kaipiboon, 2014)

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์นมที่ได้จากกระบวนการหมักโดยแบคทีเรียในกลุ่มกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria) เช่น *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* เป็นต้น ในโยเกิร์ตอุดมไปด้วยวิตามิน แร่ธาตุ และโปรตีนที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย นอกจากนี้โยเกิร์ตยังสามารถช่วยป้องกันโรคท้องร่วงได้อีกด้วย เนื่องจากในโยเกิร์ตมีแบคทีเรียที่มีประโยชน์ซึ่งจัดเป็นโปรไบโอติกส์ (Probiotics) ที่มีชีวิตผสมอยู่ สามารถเจริญได้ในระบบลำไส้ และยังสร้างกรดแลคติก ซึ่งจะส่งผลโดยตรงต่อระบบสมดุลของลำไส้ โดยแบคทีเรียโปรไบโอติกส์จะแข่งขันการแย่งจับที่ผนังลำไส้กับจุลินทรีย์ก่อโรค ทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคไม่สามารถจับที่ผนังลำไส้และเพิ่มจำนวนเพื่อสร้างสารพิษได้ ส่งผลให้อัตราการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ก่อโรคลดลง และกรดแลคติกที่ผลิตออกมาจะไปรบกวนสภาวะที่เหมาะสมของการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค เพราะโดยปกติแล้วจุลินทรีย์ที่ก่อโรคจะเจริญอยู่ในสภาวะที่เป็นต่างได้ดี นอกจากนี้แล้วแบคทีเรียโปรไบโอติกส์สามารถสร้างสารแบคเทอริโอซิน (Bacteriocin) ที่ทำลายจุลินทรีย์ก่อโรครวมถึงเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงถูกทำลายไป (Rattanasuk, 2013)

พืชสมุนไพรถูกใช้เป็นยามาตั้งแต่โบราณ ซึ่งตามหลักการแพทย์แผนไทยใช้ยารสฝาดในการรักษาอาการท้องร่วงท้องเสีย รสฝาดมีสารสำคัญคือแทนนิน เป็นกรดอ่อน ๆ มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ มักพบในเปลือกต้นหรือแก่นของพืชเป็นส่วนใหญ่ เรียกว่า คอนเดนส์แทนนิน (Condensed Tannins) หรือโปรแอนโทไซยานิน (Proanthocyanin) แต่ถ้าพบมากในส่วนของใบหรือฝัก เรียกว่า สารไฮโดรไลซ์แทนนิน (Hydrolysable Tannins) สารแทนนิน เมื่อสัมผัสกับผนังลำไส้ใหญ่จะรวมตัวกับโปรตีนที่เนื้อเยื่อบุผิว แล้วเปลี่ยนเป็นสารที่สามารถทำลายโปรตีนของตัวเชื้อโรค และทำให้เชื้อโรคตาย สารแทนนิน

จึงเป็นยาที่นำไปใช้ในทางสมานแผล แก้ท้องร่วง แก้บิด ช่วยฆ่าเชื้อโรค ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและเคลือบแผลในกระเพาะอาหาร Pakpoom & Juntree (2012) พบว่า สารสกัดสมุนไพรผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมมีผลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง เนื่องจากผลของมะขามป้อมยังมีวิตามินซีสูง Komutiban (2014) พบว่าเมื่อสกัดมะหาดด้วยเอทิลอะซิเตตจะให้ปริมาณฟีนอลิกสูงและมีฤทธิ์ในการต้านทานอนุมูลอิสระได้ดี และมีสามารถต้านทานการเจริญ *S. aureus*, *P. aeruginosa* และ *C. albicans* ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (Parkpoom & Chantree, 2014) สมุนไพรที่มีฤทธิ์แก้อาการท้องเสียท้องร่วงที่เรารู้จักทั่วไปมีหลายชนิด เช่น ฝรั่ง เปลือกมังคุด ฟักทะลายโจร (Chaichapitayuth et al., 1986) เป็นต้น นอกจากนี้สมุนไพรบางชนิดมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก (Prebiotic) ซึ่งเป็นสารอาหารกลุ่มหนึ่งที่กระตุ้นการทำงานของเซลล์ของจุลินทรีย์โปรไบโอติก (Probiotic) มักเป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นหรือโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharides) ที่ประกอบด้วยน้ำตาลจำนวนไม่กี่โมเลกุลซึ่งยึดเกาะกันด้วยพันธะ Glycoside สารจำพวกโอลิโกแซคคาไรด์จะไม่ถูกย่อยในกระเพาะและลำไส้เล็ก จึงเข้าสู่ลำไส้ใหญ่แล้วทำปฏิกิริยากับแบคทีเรีย โดยจะเป็นอาหารจำเพาะของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์และจับกับ Carbohydrate Receptor บนผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่เป็นโทษ ทำให้เซลล์แบคทีเรียที่เป็นโทษไม่สามารถจับกับเซลล์บุผนังลำไส้เล็กได้ (Aniansson et al., 1990) โอลิโกแซคคาไรด์สามารถพบได้หลากหลาย เช่น ข้าวสาลี กล้วย หอม กระเทียม แขนงตะวัน และหน่อไม้ฝรั่ง เป็นต้น Sinngam (2012) พบว่าในแกนตะวันมีฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ช่วยส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก และฟรุคโต-โอลิโกแซคคาไรด์มีความต้านทานต่อการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ ดังนั้นเมื่อบริโภคสารสกัดจากแกนตะวันผ่านทางปาก สารสกัดจากแกนตะวันจะผ่านระบบทางเดินอาหารส่วนบนไปได้เช่นเดียวกับที่ Gibson & Roberfroid (1995) ที่ระบุว่าสารพรีไบโอติกจะไม่ถูกย่อยสลายและดูดซึมในระบบทางเดินอาหารส่วนบน ดังนั้นการหาพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณหรือฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการท้องร่วงท้องเสีย เช่น *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhimurium* ก็จะเป็นทางเลือกในการพัฒนาทางด้านการแพทย์ และเมื่อนำมาผสมในโยเกิร์ตก็จะเป็นการพัฒนาแบบโยเกิร์ตในระดับอุตสาหกรรมอันจะเป็นการพัฒนาด้านเศรษฐกิจต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร ได้แก่ ใบชะมวง ใบหว่า ใบฝรั่ง มะเขือพวง สาบแร้งสาปลำในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhimurium*
2. ศึกษาผลของการผสมสารสกัดสมุนไพรลงในโยเกิร์ตต่อการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในโยเกิร์ต
3. ศึกษาผลของสารสกัดแกนตะวันต่อการกระตุ้นการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในโยเกิร์ต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การสกัดสมุนไพรด้วยน้ำ (Crude Extract of Herb) ตามวิธีของ Phetjun & Kolbungkurd (2009)

1.1 นำพืชสมุนไพร 6 ชนิด ได้แก่ ใบชะมวง (*Garcinia cowa* Roxb.) ใบหว่า (*Syzygium cumin* L.) ใบฝรั่ง (*Psidium Guajava* L.) มะเขือพวง (*Solanum torvum* Sw.) สาบแร้งสาปกา (*Ageratum conyzoides* L.) และแก่นตะวัน (*Helianthus tuberosus* L.) มาหั่นบดให้เป็นชิ้นเล็ก

1.2 ตากให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.3 นำ 10 กรัมของพืชสมุนไพรแต่ละชนิดแช่ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร (100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) บ่มข้ามคืนที่อ่างควบคุมอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.4 นำไปปั่นแยก (Centrifuge) ที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำส่วนของเหลวไปทำให้ปราศจากเชื้อ โดยการกรองผ่านหัวกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร

1.5 เก็บสารสกัดสมุนไพรอย่างหยาบไว้ที่ 4 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำมาใช้ทดสอบ

2. ทดสอบผลของสารสกัดอย่างหยาบของพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella Typhimurium*

นำสารสกัดอย่างหยาบของพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ ใบชะมวง ใบหว่า ใบฝรั่ง มะเขือพวง และสาบแร้งสาปกา มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella Typhimurium* ด้วยวิธีการแพร่สารละลายในวุ้น (Agar-well Diffusion Method) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Ahmed & Beg (2001)

2.1 เพาะเลี้ยง *E. coli*, *S. aureus* และ *S. Typhimurium* ในอาหาร Mueller Hinton Broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.2 นำ *E. coli*, *S. aureus* และ *S. Typhimurium* ที่เพาะเลี้ยงไว้มาปรับความเข้มข้นให้ได้ 0.5 McFarland โดยวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 625 นาโนเมตร ให้มีค่าอยู่ระหว่าง 0.08 – 0.1 ซึ่งจะมีเชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^8 CFU/ต่อมิลลิลิตร

2.3 ใช้ไม้พันสำลี (Cotton Swab) ป้ายสารแขวนลอยแบคทีเรีย (Bacterial Suspension) ลงบนผิวหน้าอาหารวุ้น Mueller Hinton ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

2.4 ใช้ Cork Borer ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร เจาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นจำนวน 4 หลุม (นำชิ้นวุ้นที่เจาะทิ้งไป)

2.5 ใส่สารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลุม 3 หลุม อีก 1 หลุมที่เหลือเป็นชุดควบคุม บ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสของการยับยั้ง (Inhibition Zone) แต่ละการทดลองทำซ้ำ

2.6 วิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว F-test (One Way Analysis of Variance) ทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางกึ่งการยับยั้งเชื้อของกลุ่มตัวอย่างมากกว่า 2 กลุ่ม

3. ศึกษาผลของสารสกัดใบชะมวงต่อการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในโยเกิร์ต

3.1 การเตรียมโยเกิร์ตสมุนไพรม นำสารสกัดใบชะมวงปริมาตร 10 มิลลิลิตร (ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรโยเกิร์ต) หัวเชื้อโยเกิร์ตทางการค้าปริมาตร 8 มิลลิลิตร ผสมกับ 14% Reconstitution of Skim Milk (RSM) ปริมาตร 82 มิลลิลิตร ที่ทำให้ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที (Sitlaothaworn, 2014)

3.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 42-45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง จนได้ค่า pH 4.5

3.3 นับจำนวน *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ในโยเกิร์ตใบชะมวง เทียบกับโยเกิร์ตธรรมดา (ไม่มีการเติมสารสกัดสมุนไพรม) โดยนำโยเกิร์ตใบชะมวงมาเจือจาง (Serial Dilution) ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร จากนั้นดูดสารละลายโยเกิร์ตที่ผ่านการเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ลงบนหน้าอาหาร *Lactobacillus bulgaricus* Agar (สำหรับเชื้อ *L. bulgaricus*) และ *Streptococcus thermophilus* Agar (สำหรับเชื้อ *S. thermophilus*) ทำการกระจายเชื้อบนผิวหน้าอาหารด้วย Sterile Spreader และนำไปบ่มที่สภาวะไร้อากาศ (Anaerobic) ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แต่ละการทดลองทำซ้ำ 2 ครั้ง นับจำนวนโคโลนีและคำนวณจำนวนแบคทีเรียที่ได้เป็น CFU/มิลลิลิตร

4. เปรียบเทียบการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในอาหารที่เติมน้ำตาลแตกต่างกัน

4.1 คัดแยก *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ในโยเกิร์ตทางการค้า โดยใช้วิธี Streak Plate ลงบนอาหาร *Lactobacillus bulgaricus* Agar (สำหรับ *L. bulgaricus*) และ *Streptococcus thermophilus* Agar (สำหรับ *S. thermophilus*) บ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะที่ไร้อากาศ (Anaerobic) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

4.2 เพาะเลี้ยง *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ในอาหาร MRS Broth ปริมาตร 20 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะที่ไร้อากาศ (Anaerobic) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.3 นำ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ที่เพาะเลี้ยงไว้มาปรับค่าความขุ่นให้ได้ 0.5 McFarland โดยวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 625 นาโนเมตร ให้มีค่าเท่ากับ 0.1

4.4 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Broth ที่มีน้ำตาลแตกต่างกันดังนี้

อาหารเลี้ยงเชื้อ A : อาหาร MRS Broth ที่มีการเติม 2% สารสกัดแก่นตะวันที่ทำให้เป็นผง (โดยนำไปเข้าเครื่อง Freeze-Dried) แทน 2% น้ำตาล Dextrose

อาหารเลี้ยงเชื้อ B : อาหาร MRS Broth ที่มีการเติม 2% Fructo Oligosaccharide (FOS®) แทน 2% น้ำตาล Dextrose

อาหารเลี้ยงเชื้อ C : อาหาร MRS Broth ใช้เป็นชุดควบคุม

4.5 ถ่าย *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด (A, B, C) ปริมาตร 80 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะที่ไร้อากาศ (Anaerobic) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.6 นับจำนวน *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ด้วยการ Spread ลงบนอาหาร Lactobacillus bulgaricus Agar (สำหรับ *L. bulgaricus*) และ Streptococcus thermophilus Agar (สำหรับ *S. thermophilus*) ตามลำดับ

5. ผลของสารสกัดแก่นตะวันต่อการกระตุ้นการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในโยเกิร์ต (Sitlaothaworn, 2014)

5.1 นำสารสกัดแก่นตะวัน ปริมาตร 10 มิลลิลิตร หัวเชื้อโยเกิร์ตทางการค้า 8 มิลลิลิตร ผสมกับ 14% (w/v) Reconstitution of Skim Milk (RSM) ปริมาตร 82 มิลลิลิตร ที่ทำให้ปราศจากเชื้อ (85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที)

5.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 42-45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง จนได้ค่า pH เป็น 4.5

5.3 นับจำนวน *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ในโยเกิร์ตผสมสารสกัดแก่นตะวัน เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารสกัดแก่นตะวัน ด้วยการ Spread ลงบนอาหาร Lactobacillus bulgaricus Agar (สำหรับ *L. bulgaricus*) และ Streptococcus thermophilus Agar (สำหรับ *S. thermophilus*) ตามลำดับ

6. การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากโยเกิร์ตในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella Typhimurium* ดัดแปลงตามวิธีของ Amirdivani & Baba (2011)

6.1 การเตรียมสารสกัดจากโยเกิร์ต โดยนำโยเกิร์ตไบชะมวง 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นสเตอไรด์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร

6.2 ปรับค่า pH เท่ากับ 4 ด้วย 0.1 โมลาร์ ละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl)

6.3 นำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

6.4 นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ 5000 g เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

6.5 นำส่วนใส (Supernatant) มาปรับค่า pH ให้เท่ากับ 7 ด้วย 0.1 โมลาร์ สารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

6.6 นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ 5000 g เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

6.7 เก็บส่วนใส (Supernatant) ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และนำส่วนใส (Supernatant) ของสารสกัดจากโยเกิร์ตใบชะมวง ปริมาตร 20, 40, 60 และ 80 ไมโครลิตร มาทำการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากโยเกิร์ตในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli*, *S. aureus* และ *S. Typhimurium* ด้วยวิธีการแพร่สารละลายในวุ้น (Agar-Well Diffusion Method) โดยใช้สารสกัดใบชะมวงที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เป็น Positive Control

ผลการวิจัย

1. ผลของสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella Typhimurium* ด้วยวิธีการแพร่สารละลายในวุ้น (Agar-Well Diffusion Method)

สารสกัดสมุนไพรด้วยน้ำ 5 ชนิด ได้แก่ ใบชะมวง ใบหว่า ใบฝรั่ง มะเขือพวง และสาปแรังสาปกา เมื่อนำสารสกัดสมุนไพรปริมาณ 20 ไมโครลิตร มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *E. coli*, *S. aureus* และ *S. Typhimurium* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคท้องเสีย ด้วยวิธีการแพร่สารละลายในวุ้น ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 1 จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดใบชะมวงสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้ง *E. coli* สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ เท่ากับ 2.31 ± 0.22 เซนติเมตร รองลงมาคือ *S. aureus* และ *S. Typhimurium* เท่ากับ 1.77 ± 0.00 และ 1.45 ± 0.04 เซนติเมตร ตามลำดับ สารสกัดใบหว่าและใบฝรั่งสามารถยับยั้งการเจริญได้เพียง *S. aureus* โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 1.3 ± 0.07 และ 1.47 ± 0.09 เซนติเมตร ตามลำดับ สารสกัดมะเขือพวงและสาปแรังสาปกาไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคท้องเสียได้ อาจเป็นผลมาจากวิธีการสกัดที่ใช้ น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัด ซึ่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญไม่สามารถละลายได้ในน้ำ แต่อาจละลายได้ดีในตัวทำละลายอื่น

2. ผลของสารสกัดใบชะมวงต่อการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในโยเกิร์ต

ศึกษาการเจริญเติบโตของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ในโยเกิร์ตที่ผสม 10% ของสารสกัดใบชะมวง จากภาพที่ 1 A) พบว่าหลังจากสิ้นสุดกระบวนการหมักโยเกิร์ต อัตราการเจริญของ *L. bulgaricus* มีจำนวนเพิ่มสูงขึ้นในโยเกิร์ตที่ผสมสารสกัดใบชะมวง เท่ากับ 18.25% เมื่อเทียบกับโยเกิร์ตธรรมดาเพิ่มขึ้นเท่ากับ 13.97% และจากภาพที่ 1 B) พบว่าอัตราการเจริญของ *S. thermophilus* ในโยเกิร์ตที่ผสมสารสกัดใบชะมวงมีจำนวนเพิ่มสูงขึ้นเท่ากับ 22.56% เมื่อเทียบกับโยเกิร์ตธรรมชาติเพิ่มขึ้น 12.00% จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า สารสกัดใบชะมวงไม่มีผลทำให้เชื้อในโยเกิร์ตลดจำนวนลง แต่ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญของเชื้อในโยเกิร์ตทั้ง 2 สายพันธุ์

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคท้องเสียของสารสกัดสมุนไพร

สารสกัดสมุนไพร (20 ไมโครลิตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ $\pm$ SD (เซนติเมตร)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella Typhimurium</i>
มะเขือพวง	0.00	0.00	0.00
ใบชะมวง	2.31 $\pm$ 0.22	1.77 $\pm$ 0.00	1.45 $\pm$ 0.04
ใบหว่า	0.00	1.3 $\pm$ 0.07	00.00
ใบฝรั่ง	0.00	1.47 $\pm$ 0.09	0.00
สาปแครงสาปกา	0.00	0.00	0.00
น้ำกลั่น (Negative Control)	0.00	0.00	0.00
*p-value	0.00	0.00	0.00

หมายเหตุ: 0.00 (Negative) = ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้ (ไม่เกิดวงใส)

เชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นประมาณ 10^8 CFU/ต่อมิลลิลิตร

* มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. เปรียบเทียบการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่เติมน้ำตาลแตกต่างกัน

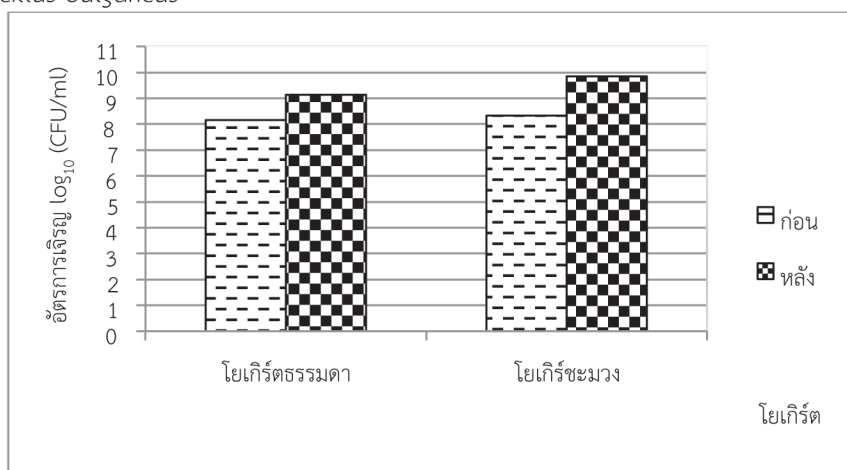
จากการทดลองเปรียบเทียบการเจริญของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่เติมน้ำตาลแตกต่างกัน 3 ชนิดได้แก่ 2% Dextrose (ชุดควบคุม), 2% FOS และ 2% สารสกัดแก่นตะวัน โดยใส่ FOS และสารสกัดแก่นตะวันแทน Dextrose ลงในสูตรอาหาร MRS จากผลการทดลองในภาพที่ 2 พบว่าอัตราการเจริญของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่เติมสารสกัดแก่นตะวันเพิ่มขึ้น 15.5% และ 18.26% ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าในชุดควบคุม (15.15% และ 16.73% ตามลำดับ) และอาหาร MRS ที่เติม FOS (13.5% และ 15.4% ตามลำดับ) จากผลที่ได้ชี้ให้เห็นว่า สารสกัดแก่นตะวันสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนแทน Dextrose ได้ ซึ่งใช้เป็นแหล่งพลังงานที่สามารถเสริมการเจริญของเชื้อได้เป็นอย่างดี

4. ศึกษาผลของแก่นตะวันต่อการกระตุ้นการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในโยเกิร์ต

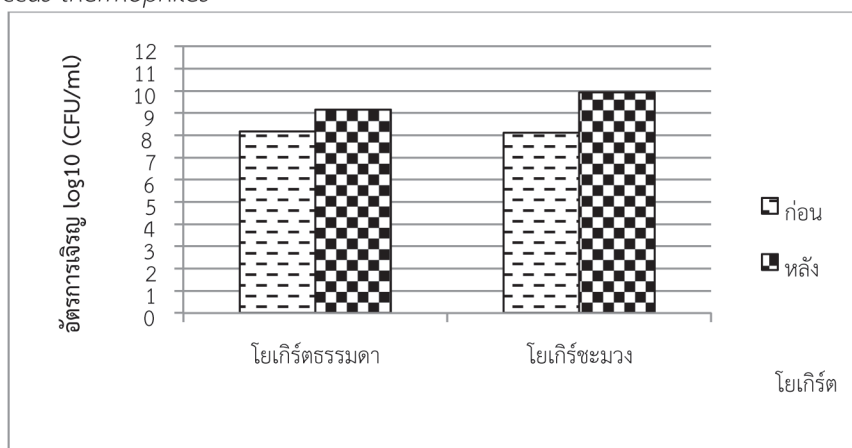
ในการสกัดแก่นตะวันด้วยน้ำทำให้สามารถสกัดเอา Fructo Oligosaccharides (FOS) ออกมาได้เนื่องจากมีความมีขั้ว (Polarity) สูง FOS สามารถละลายได้ดีในน้ำ และมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกที่สามารถเสริมการเจริญของเชื้อโปรไบโอติกในโยเกิร์ตได้ เมื่อนำ 10% ของสารสกัดแก่นตะวันผสมลงในโยเกิร์ตเพื่อใช้ในการส่งเสริมการเจริญของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* จากผลการทดลองพบว่า

โยเกิร์ตที่มีสารสกัดแก่นตะวันเมื่อเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตธรรมดา (ไม่มีสารสกัดแก่นตะวัน) อัตราการเจริญเติบโตของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* เพิ่มขึ้น 1 log CFU หลังกระบวนการหมักโยเกิร์ตสิ้นสุดลง ดังภาพที่ 3 A) และ B) จะเห็นว่าการเจริญ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ในโยเกิร์ตที่มีสารสกัดแก่นตะวันกับโยเกิร์ตธรรมดานั้นไม่แตกต่างกัน การเติมสารสกัดแก่นตะวันลงไปโยเกิร์ตไม่ได้ช่วยเสริมการเจริญให้เชื่อมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นกว่าโยเกิร์ตธรรมดา ทั้งนี้อาจเป็นผลกระทบมาจากภาวะ Osmotic Pressure ที่ปริมาณน้ำตาลในกระบวนการหมักโยเกิร์ตสูงเกินไป ทั้งที่ได้มาจากใน Skim Milk และสารสกัดแก่นตะวัน

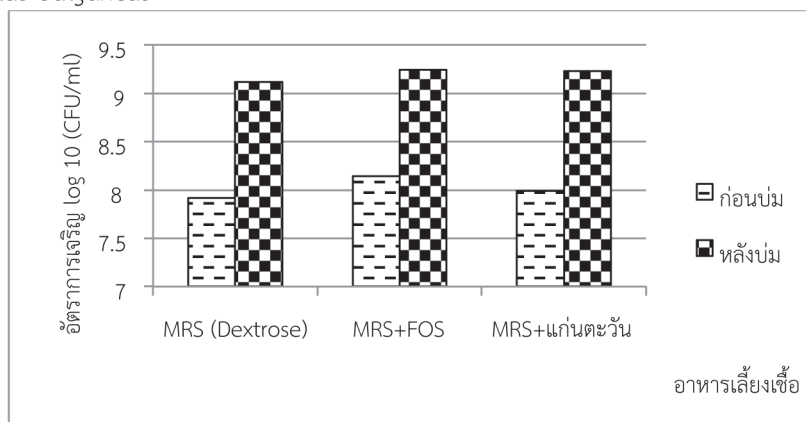
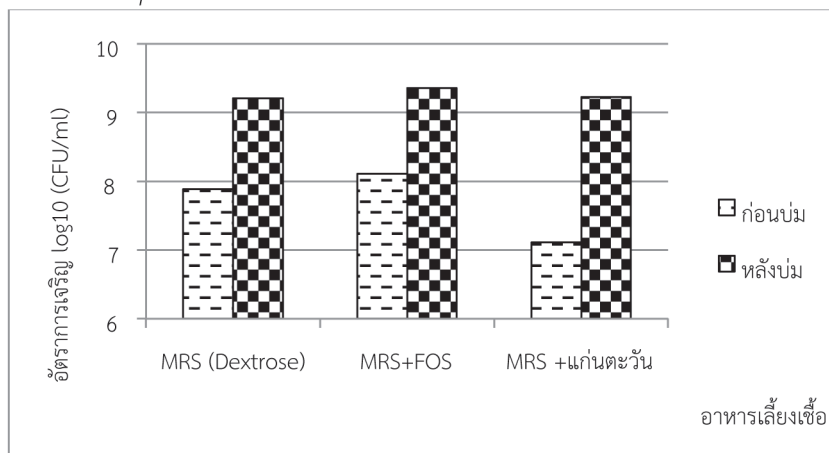
A) *Lactobacillus bulgaricus*



B) *Streptococcus thermophiles*



ภาพที่ 1 อัตราการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในโยเกิร์ตที่ผสมสาร สกัดใบชะมวง

A) *Lactobacillus bulgaricus*B) *Streptococcus thermophilus*

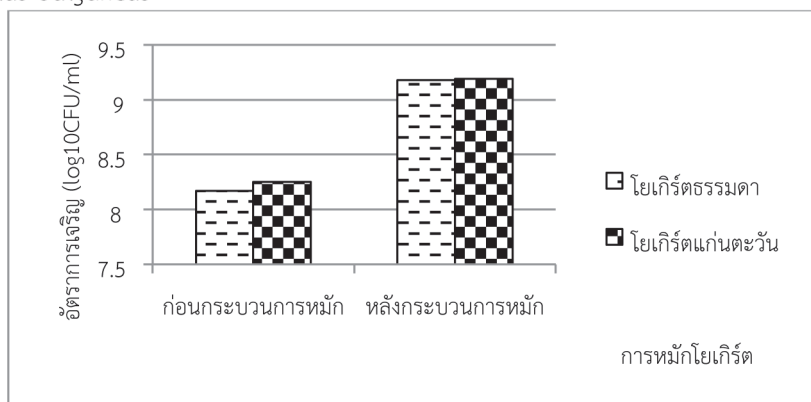
ภาพที่ 2 อัตราการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่มีน้ำตาลต่างชนิดกัน

5. ผลของการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากโยเกิร์ตในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella Typhimurium* โดยวิธี Agar Well Diffusion Method

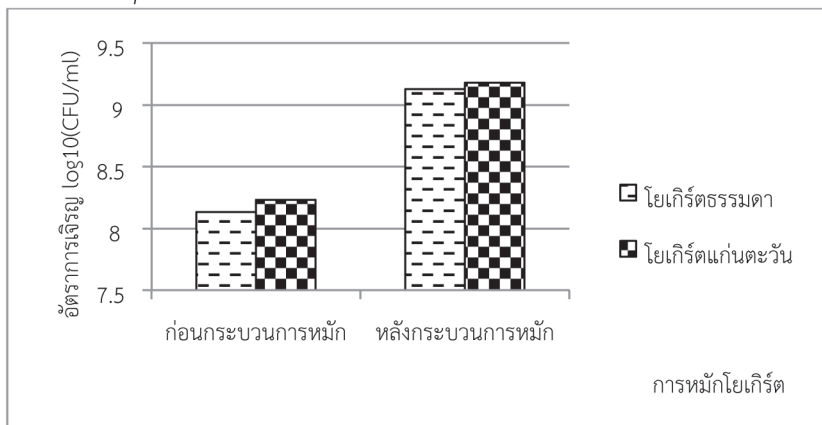
ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli*, *S. aureus* และ *S. Typhimurium* โดยสารสกัดโยเกิร์ต พบว่าสารสกัดโยเกิร์ตใบชะมวงปริมาตร 80 µl สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 1.35 ± 0.01 และ 1.45 ± 0.02 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดโยเกิร์ตธรรมชาติไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ อาจเป็นเพราะสารสำคัญ

และกรดในโยเกิร์ตถูกเจือจางลงในระหว่างกระบวนการสกัด (ตารางที่ 2) Thompson et al. (2007) รายงานว่า โยเกิร์ตสมุนไพรมีสาร Antioxidant สูงกว่าโยเกิร์ตธรรมดา ซึ่งมีผลมาจากปริมาณสารพฤกษเคมี (Phytochemical) ที่มีในสมุนไพร และกระบวนการเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์เอง จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ เกิดจากสารสกัดจากใบชะมวงที่ผสมลงในโยเกิร์ตมีส่วนช่วยทำให้โยเกิร์ตมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *S. aureus* ได้

A) *Lactobacillus bulgaricus*



B) *Streptococcus thermophilus*



ภาพที่ 3 อัตราการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในโยเกิร์ตที่ผสมสารสกัดแก่นชะมวง

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคท้องเสีย
ของสารสกัดโยเกิร์ต

สารสกัด	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ±SD (เซนติเมตร)											
	<i>Escherichia coli</i>				<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Salmonella Typhimurium</i>			
	20µl	40µl	60µl	80µl	20µl	40µl	60µl	80µl	20µl	40µl	60µl	80µl
สารสกัด โยเกิร์ต ชะมวง	0	0	0	1.35± 0.01	0	0	0	1.45± 0.02	0	0	0	0
สารสกัด โยเกิร์ต ธรรมชาติ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สารสกัด ใบชะมวง (Positive Control)	2.45± 0.00	-	-	-	2.40± 0.04	-	-	-	2.55± 0.03	-	-	-
น้ำกลั่น (Negative Control)	0	-	-	-	0	-	-	-	0	-	-	-

หมายเหตุ: ไม่ได้ทำการทดสอบ

อภิปรายผล

เมื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดสมุนไพรด้วยน้ำทั้ง 5 ชนิด คือ ใบชะมวง ใบหว่า ใบฝรั่ง มะเขือพวง และสาปแรังสาปกา พบว่าสารสกัดใบชะมวงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium*) ได้ดีที่สุด ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Thangchuleeporn et al. (2008) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดใบชะมวงที่สกัดด้วยน้ำต่อเชื้อแบคทีเรีย 9 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteric subspecies enteric enteritidis*, *Salmonella spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Proteus mirabilis* และเชื้อยีสต์ก่อโรค 2 ชนิด คือ *Cryptococcus neoformans* และ *Candida albicans* โดยใช้วิธี Disc Diffusion พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของใบชะมวงมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ นอกจากนี้มีรายงานว่า องค์ประกอบทางเคมีที่พบในใบชะมวงเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจะเป็นกรดอินทรีย์ Jena et al. (2002) ศึกษาปริมาณกรดอินทรีย์ของใบสด ผลสด และเปลือกผลแห้งของต้นชะมวงที่เก็บจากรัฐอัสสัม ประเทศอินเดีย โดยการสกัดด้วยไอน้ำ และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบกรดอินทรีย์โดยใช้โครมาโทกราฟี และวิธี

กรด-เบส ไตเตรชัน พบกรดอินทรีย์หลัก คือ (-)-Hydroxycitric Acid ในส่วนสกัดชั้นน้ำของไบสด ผลสด และเปลือกผลแห้ง ปริมาณ 1.7, 2.3 และ 12.7% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบกรดอินทรีย์อื่น ได้แก่ (-)-Hydroxycitric Acid Lactone (Joseph et al., 2005), Oxalic Acid (Lee & Chan, 1977) และ Citric Acid (Likhitwitayawuid et al., 1997) ในปริมาณเล็กน้อย ซึ่งในกรดอินทรีย์เหล่านี้จะมีค่า pH ที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย และบางส่วนของกรดที่ไม่แตกตัวจะซึมผ่านผนังเซลล์ของแบคทีเรียนี้ ทำให้การทำงานของระบบเอนไซม์ของแบคทีเรียไม่เป็นไปตามปกติ และเป็นผลทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญอย่างมีประสิทธิภาพ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Phetjun & Kolbungkurd (2009) พบว่าในไบชะมวงมีปริมาณกรดสูงกว่าพืชชนิดอื่น และมีรายงานว่าสารสกัดจากไบชะมวงมีกรดซิตริกเป็นส่วนใหญ่จึงมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ ซิตริกเป็นกรดอินทรีย์ชนิดอ่อน มีผลต่อการทำลายจุลินทรีย์ โดยเมื่อกรดอินทรีย์เข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียแล้ว จะทำให้ความเป็นกรดภายในเซลล์สูงขึ้น ทำให้เซลล์ตายลงและยังมีส่วนในการยับยั้งการสังเคราะห์สารต่าง ๆ ภายในเซลล์เช่น อาร์เอ็นเอ ดีเอ็นเอ โปรตีนรวมทั้งขัดขวางการขนส่งสารต่าง ๆ ในเซลล์ เมื่อนำสารสกัดไบชะมวงมาผสมลงในโยเกิร์ต พบว่าสารสกัดไบชะมวงช่วยเพิ่มอัตราการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ได้ เนื่องจากสารสกัดไบชะมวงทำให้โยเกิร์ตมีสภาวะเป็นกรดอ่อน ซึ่งเหมาะแก่การเจริญของเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยจากเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์มีค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญในช่วงสภาวะกรด (5.8-6) (Béal et al., 1989) จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า สารสกัดไบชะมวงถูกใช้ในระหว่างกระบวนการหมักซึ่งสังเกตได้จากปริมาณเชื้อที่เพิ่ม โดยความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดไบชะมวงอาจเปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากกระบวนการเมตาบอลิซึมต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการทำงานของเชื้อในโยเกิร์ต (ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดไบชะมวงก่อนกระบวนการหมักสิ้นสุดเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิตรโยเกิร์ต) จากการสกัดโยเกิร์ตไบชะมวงเพื่อนำมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง *E. coli*, *S. aureus* และ *S. Typhimurium* เทียบกับสารสกัดไบชะมวง และสารสกัดโยเกิร์ตธรรมดา พบว่าสารสกัดไบชะมวงที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้ง 3 สายพันธุ์ ในขณะที่สารสกัดโยเกิร์ตไบชะมวงยับยั้งได้เพียง *E. coli* และ *S. aureus* และต้องใช้ในปริมาตรที่สูงถึง 80 μ l ที่เป็นที่เช่นนี้อาจเนื่องมาจากกระบวนการหมักโยเกิร์ต *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ย่อยสลายสารต่าง ๆ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต (แสดงในผลการทดลองภาพที่ 1) อาจทำให้สารออกฤทธิ์สำคัญเปลี่ยนรูปแบบ และมีความเข้มข้นที่เปลี่ยนแปลงไปจนไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ นอกจากนี้วิธีการสกัดที่นำเพียงส่วนใส (Supernatant) มาใช้ในการทดสอบอาจทำให้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารออกฤทธิ์สำคัญที่ได้จากไบชะมวงเจือจางลง

Thammarutwasik et al. (2009) รายงานว่าแก๊นตะวันออกมี FOS และอินนูลินในปริมาณที่สูง เมื่อนำสารสกัดแก๊นตะวันออกด้วยน้ำมาทดสอบการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ในโยเกิร์ต โดยนำสารสกัดแก๊นตะวันออกมาเป็นแหล่งคาร์บอนแทน 2% Dextrose ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS พบว่าสามารถส่งเสริมการเจริญของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ได้เป็นอย่างดี ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับ Sinngam (2012) ที่พบว่า เมื่อนำสารสกัดแก๊นตะวันออกมาทดแทนแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าสามารถ

กระตุ้นการเจริญของ *Bifidobacteria* sp. และ *Lactobacillus casei* TISTR 1340 ได้ดีเมื่อเทียบกับ แหล่งคาร์บอนที่เป็น กลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส และอินนูลิน จากการทดลองพบว่า ในอาหารที่ใช้สารสกัด แก่นตะวันเป็นแหล่งคาร์บอนให้อัตราการเจริญของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* สูงกว่าอาหาร เลี้ยงเชื้อ MRS ปกติ และสูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่ FOS ทางการค้าแทน อาจเป็นผลมาจากในสารสกัด แก่นตะวันมีน้ำตาลหลากหลายชนิด เช่น ฟรุคโตส ซูโครส กลูโคส (Tanjor et al., 2012) ซึ่งปกติแล้วเชื้อจะ ใช้น้ำตาลรีดิคซ์เหล่านี้ในการเจริญก่อน

สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองนำสมุนไพรรทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ ใบชะมวง ใบหว่า ใบฝรั่ง มะเขือพวง และสาบแร้ง สาบกา มาสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส แล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่ทำให้ เกิดโรคท้องเสีย คือ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella Typhimurium* โดยวิธี Agar-Well Diffusion Method พบว่าสารสกัดใบชะมวงให้วงเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยวงเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้ง *E. coli* กว้างที่สุด สารสกัดใบฝรั่ง และใบหว่ายับยั้งได้เฉพาะ *S. aureus* ส่วนสารสกัดมะเขือพวงและสาบแร้งสาบกา ไม่สามารถยับยั้ง การเจริญของเชื้อที่ทำให้เกิดโรคท้องเสียได้เลย เมื่อนำสารสกัดแก่นตะวันมาศึกษาการเสริมการเจริญของ เชื้อในโยเกิร์ต พบว่าสารสกัดแก่นตะวันสามารถเสริมการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ เมื่อนำสารสกัดใบชะมวงมาผสมลงในโยเกิร์ต พบว่า สารสกัดใบชะมวงช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ในโยเกิร์ต จาก ผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดจากใบชะมวงเหมาะสมที่จะนำมาผสมลงในโยเกิร์ต เพื่อพัฒนาเป็น โยเกิร์ตที่ให้ทั้งคุณค่าทางโภชนาการ และมีประโยชน์ต่อสุขภาพในการเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อที่ ทำให้เกิดโรคท้องเสีย

ข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาที่ได้ ใบชะมวงเป็นสมุนไพรรที่สามารถนำมาผสมลงในโยเกิร์ตเพื่อเพิ่ม ประสิทธิภาพและความหลากหลายของโยเกิร์ต และควรมีการศึกษาสารออกฤทธิ์ที่สำคัญที่มีในใบชะมวง หาความเข้มข้นของสารสกัดใบชะมวงที่เหมาะสมในการนำไปผสมในโยเกิร์ต เพื่อให้สามารถออกฤทธิ์ยับยั้ง เชื้อที่ทำให้เกิดโรคท้องเสียได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น รวมถึงทดสอบทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตที่ ผสมสมุนไพรรต่อผู้บริโภคอีกด้วย

References

- Ahmad, I. & Beg, A.Z. (2001). Antimicrobial and Phytochemical Studies on 45 Indian Medicinal Plants Against Multi-drug Resistant Human Pathogens. *J. Ethnopharmacol*, 74, 113–23.
- Amirdivani, S. & Baba, A.S. (2011). Changes in yogurt fermentation characteristics and antioxidant potential and in vitro inhibition of angiotensin-1 converting enzyme upon the inclusion of peppermint, dill and basil. *LWT- Food Science and Technology*, 44, 1458-1464.
- Aniansson, G., Andersson, B., Lindstedt, R. & Svanbrog, C. (1990). Anti-adhesive activity of human casein against *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenza*. *Microb. Patho.*, 8, 315-324.
- Béal, C., Louvet, P. & Corrieu, G. (1989). Influence of Controlled pH and Temperature on the Growth and Acidification of Pure Cultures of *Streptococcus thermophilus* 404 and *Lactobacillus bulgaricus* 398. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 32, 148-154.
- Chaichapitayuth, C., Dhummaupakorn, P. & Poonsuk, K. (1986). *Andrographis paniculata* : Potentially effective for controlling acute diarrhea in animals. *Asian J. Pharma. (sup)*, 6(8), 59-60.
- Gibson, G. R. & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonie microbiota: Introducing the concept of probiotics. *Journal Nutrition*, 12, 1401-1412.
- Jena, B. S., Jayaprakasha, G. K. & Sakariah, K. K. (2002). Organic acids from leaves, fruit and rind of *Garcinia cowa*. *J. Agric. Food Chem*, 50, 3431-3434.
- Joseph, G. S., Jayaprakasha, G. K., Selvi, A. T., Jena, B. S. & Sakariah, K.K. (2005). Antiaflatoxic and antioxidant activities of *Garcinia* extracts. *Int. J. Food Microb.*, 101, 153-160.
- Kaipiboon, K. & Kaipiboon, P. (2014). *Diarrhea*. Retrieved April 3, 2016, from <http://haamor.com/th/>.
- Komutiban, O. (2014). Antioxidant Activity of Crude Extracts from the Heartwood of *Artocarpus lakoocha* Roxb. *SDU Res. J*, 7(2), 33-41.
- Lee, H. H. & Chan, H. K. (1977). 1,3,6-Trihydroxy-7-methoxy-8-(3,7-dimethyl-2,6-octadienyl) xanthone from *Garcinia cowa*. *Phytochemistry*, 16, 2038-2040.

- Likhitwitayawuid, K., Phadungcharoen, T., Mahidol, C. & Ruchirawat, S. (1997). 7-O Methylgarcinone E from *Garcinia cowa*. *Phytochemistry*, 45, 1299-1301.
- Pakpoom, T. & Juntree, K. (2012). A Study of Efficiency the Mixed Extract of *Pistia Stratics Helianthusem bolic* Linn. In inhibit the Microorganisms Causing Dermatitis. *SDU Res. J*, 5(1), 47-60.
- Pakpoom, T. & Juntree, K. (2014). Detection of Cross-Contamination of Pathogens in Cosmetic Products Containing *Artocarpus lakoocha* Extract. *SDU Res. J*, 7(3), 75-91.
- Phetjun, W. & Kolbungkurd, T. (2009). Study on efficiency of plant leaf extracts to inhibit foodborne bacteria and their application. *Journal of Sciences*, 9(1-2), 26-36.
- Rattanasuk, S. (2013). *Yogurt is full of food and medicine or not?*. Retrieved April 3, 2016, from <http://202.29.53.5/index.php/home>.
- Sinngam, A. (2012). *Study of Probiotic Properties of Fructooligosaccharide from Jerusalem artichoke Extract* (Master's thesis). Bangkok: Silpakorn University, Department of Biotechnology.
- Sitlaothaworn K. (2014). Effect of capsule storage on viability of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in yogurt powder. *International Science Index*, 8(7), 1441-1444.
- Tanjor, S., Judprasong, K., Chaito, C. & Jogloy, S. (2012). Inulin and Fructooligosacharides in Different Varieties of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *KKU Res. J*, 17(11), 25-34.
- Thammarutwasik, P., Hongpattarakere, T., Chantachum, S., Kijroongrojana, K., Itharat, A., Rwanmongkol, W., Tewtrakul, S. & Ooraikul, B. (2009). Prebiotics – A Review, *Songklanakarin Journal Science Technology*, 31(4), 401-408.
- Thangchuleeporn, M., Piumkuntod, R. & Somparn, P. (2008). Antimicrobial Activities of *Garcinia cowa* Roxb. Leaf Extract. *The Public Health journal of Burapha University*, 3(2), 19-25.
- Thompson, J. L., Lopetcharat, K. & Drake, M. A. (2007). Preferences for commercial strawberry drinkable yogurts among African American, Caucasian, and Hispanic consumers in the United States. *Journal Dairy Science*, 90, 4974-4987.

Translated Thai Reference

- เกียรติคุณ ไกรพิบูลย์ และ พวงทอง ไกรพิบูลย์. (2557). *ท้องเสีย (diarrhea)*. สืบค้นเมื่อ 3 เมษายน 2559, สืบค้น จาก <http://haamor.com/th/>.
- ทิฐิมา ภาคภูมิ และ กัลยาภรณ์ จันตรี. (2555). การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมระหว่างจอกและมะขามป้อมที่มีผลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง. *วารสารวิจัย มสค สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 5(1) 47-60.
- ทิฐิมา ภาคภูมิ และ กัลยาภรณ์ จันตรี. (2557). การตรวจสอบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากสารสกัดมะหาด. *วารสารวิจัย มสค สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 7(3) 75-91.
- มารุต ตั้งชูลีพร, รมิตา เพ็ญขุนทด และภุริขญา สมภาร, (2551). ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดใบชะมวง (*Garcinia cowa* Roxb.). *วารสารสาธารณสุขมหาวิทยาลัยบูรพา*, 3(2), 19-25.
- วันเพ็ญ เพ็ชรจันทร์ และ ชีพร กลบ้งเกิด. (2551). การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหารและการประยุกต์ใช้. *วารสารวิทยาศาสตร์*, 9(1-2), 26-36.
- สุรัชย์ รัตนสุข. (2556). *โยเกิร์ตเป็นทั้งอาหารและยาได้จริงหรือ*. สืบค้นเมื่อ 3 เมษายน 2559, สืบค้นจาก <http://202.29.53.5/index.php/home>.
- อรพิน โกมุติบาล (2557). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดอย่างหยาบจากแก่นมะหาด. *วารสารวิจัย มสค สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 7(2) 33-41.
- เอกภพ สีนงาม (2555). *การศึกษาคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติกของฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากแก่นตะวัน*. (วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). กรุงเทพฯ มหาวิทยาลัยศิลปากร, ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ.

คณะผู้เขียน

อาจารย์กานต์ชนา สิทธิเหล่าถาวร

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา
1 ถนนอุทองนอก แขวงวชิระ เขตดุสิต กรุงเทพมหานคร 10300
e-mail: Kanchana.si@ssru.ac.th

อาจารย์มนัสวี เดชกล้า

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา
1 ถนนอุทองนอก แขวงวชิระ เขตดุสิต กรุงเทพมหานคร 10300
e-mail: manussawee.de@ssru.ac.th