

การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของน้ำหมักและ
สารสกัดหยาบบอระเพ็ด *Tinospora crispa* (L.) Hook f. & Thomson

Antioxidant and Antipathogen Activities of Fermented Juice and Crude Extract of
Tinospora crispa (L.) Hook f. & Thomson

ปุณยนุช นิลแสง
Poonyanuch Nilsang

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 13180
Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University, Klong Luang, Pathumthani, 13180 Thailand.

*Corresponding author, e-mail: poonyanuch@vru.ac.th

(Received: July 7, 2020; Revised: Jan 30, 2021; Accepted: Feb 23, 2021)

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์น้ำหมักจากพืชสมุนไพรมีขายเป็นผลิตภัณฑ์ชุมชนอย่างแพร่หลาย แต่ข้อสนับสนุนสรรพคุณในทางวิชาการยังมีน้อย จึงวิจัยโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของน้ำหมักบอระเพ็ด (*Tinospora crispa* (L.) Hook f. & Thomson) ที่หมักเป็นเวลา 12 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบบอระเพ็ดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ก่อโรค 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* TISTR073, *Escherichia coli* TISTR780, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR781, *Staphylococcus aureus* TISTR1466, *Staphylococcus aureus* TISTR2329, *Staphylococcus epidermidis* TISTR518 และ *Candida albicans* TISTR5554 ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดหยาบบอระเพ็ดมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าน้ำหมักบอระเพ็ด โดยสารสกัดหยาบบอระเพ็ดมีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับร้อยละ 85.10 และ 49.43 ตามลำดับ ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคพบว่า สารสกัดหยาบบอระเพ็ดสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ศึกษาได้ทุกชนิด แต่ไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *P. aeruginosa* TISTR781 และ *C. albicans* TISTR5554 ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) อยู่ระหว่าง 3.64-29.15 และ 58.3-233.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่น้ำหมักบอระเพ็ดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อตั้งแต่หมักเป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยสามารถยับยั้ง *E. coli* TISTR073, *E. coli* TISTR780, *P. aeruginosa* TISTR781, *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *S. epidermidis* TISTR518 แต่ไม่แสดงการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* TISTR5554 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของน้ำหมักบอระเพ็ดอยู่ระหว่างร้อยละ 6.25-100 ปริมาตรโดยปริมาตร และไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ศึกษาทุกชนิด

คำสำคัญ : น้ำหมักบอระเพ็ด สารสกัดหยาบบอระเพ็ด ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรค การต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

In present, herbal fermented juice are widely sold as community products but there are still few academic contributions. The objective of this research was to assess the antioxidant and anti-pathogenic activities of *Tinospora crispa* (L.) Hook f. & Thomson fermented juice, which continuously fermented for 12 weeks compared with its crude extract using ethanol as a solvent. Antioxidant activities were evaluated by % DPPH radical scavenging and the anti-pathogen activity against 7 stains including; *Escherichia coli* TISTR073, *Escherichia coli* TISTR780, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR781, *Staphylococcus aureus* TISTR1466, *Staphylococcus aureus* TISTR2329, *Staphylococcus epidermidis* TISTR518 and *Candida albicans* TISTR5554. The results revealed that the *Tinospora crispa* crude extract showed higher antioxidant than its fermented juice. The antioxidant activity of the *T. crispa* crude extract and the fermented juices were 85.10 and 49.43 %DPPH radical scavenging, respectively. The results of the

anti-pathogen activity also showed that *T. crista* crude extracts can inhibit all stain of test microorganisms but did not effective in killing *P. aeruginosa* TISTR781 and *C. albicans* TISTR5554. The minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were 3.64-29.15 and 58.3-233.2 mg per milliliter, respectively. While, *T. crista* fermented juices had an efficiency in inhibiting microorganisms after two weeks of fermentation. It could inhibit growth of *E. coli* TISTR073, *E. coli* TISTR780, *P. aeruginosa* TISTR781, *S. aureus* TISTR1466, *S. aureus* TISTR2329, *S. epidermidis* TISTR518, but did not inhibit growth of *C. albicans* TISTR5554. The MIC of the fermented juice was 6.25-100 % (v/v). And it was also found that *T. crista* fermented juices were ineffective in killing all types of studied microorganisms.

Keywords: *Tinospora crista* fermented juice, *Tinospora crista* crude extract, Anti-pathogen, Antioxidant Activity

บทนำ

ในสภาวะปัจจุบันผู้บริโภคมีโอกาสเสี่ยงที่จะได้รับสารเคมีแฝงมากับผลิตภัณฑ์อุปโภคบริโภค ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพในระยะยาวทำให้มีการประยุกต์ใช้สมุนไพรมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ มากขึ้น เป็นที่ทราบกันดีว่าพืชสมุนไพรเป็นแหล่งทางพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายมีประโยชน์ในหลายด้าน ได้แก่ ด้านการบำบัดรักษาโรค เป็นอาหารของคนและสัตว์ เป็นอาหารเสริมบำรุงร่างกายช่วยขับสารพิษรวมถึงใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอาง อย่างไรก็ตามสมุนไพรบางชนิดประกอบไปด้วยสารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ที่มีความจำเพาะและมีฤทธิ์เฉพาะทาง ทำให้อาจมีข้อจำกัดในการอุปโภค บริโภค ถ้าหากนำมาใช้โดยไม่ระวังอาจก่อให้เกิดโทษได้ เช่นเดียวกับกระแสบริโภคน้ำหมักสมุนไพรในประเทศไทยที่รู้จักในชื่อ “น้ำหมักป่าเชิง” หรือ “น้ำเอ็นโซม” หรือชื่อตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนว่า “น้ำหมักชีวภาพเพื่อการบริโภค” ได้รับความนิยมบริโภคในครัวเรือนอย่างแพร่หลายและมีวางจำหน่ายทั่วไปเป็นสินค้าชุมชน มีการกล่าวอ้างถึงสรรพคุณต่าง ๆ มากมายแตกต่างกันไปตามชนิดของสมุนไพรที่นำมาทำการหมัก อาทิเช่น แก้วไข่ ช่วยเจริญอาหาร บำรุงร่างกาย ต้านอนุมูลอิสระ ลดน้ำตาลในเส้นเลือด ขับสารพิษตกค้าง ลดคอเลสเตอรอล เป็นต้น น้ำหมักชีวภาพเพื่อการบริโภคที่ได้รับความนิยมและมีงานวิจัยรองรับในปัจจุบัน ได้แก่ น้ำหมักลูกยอ (noni) ซึ่งมีการพิสูจน์ในทางวิทยาศาสตร์แล้วว่ามีความปลอดภัยช่วยลดอาการท้องผูก ลดความดันโลหิต มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ และมีการใช้สำหรับการรักษาโรคมะเร็ง (Chaiyasut *et al.*, 2017, p. 350)

บอระเพ็ดเป็นหนึ่งในสมุนไพรที่นำมาใช้หมักเป็นน้ำหมักเพื่อการบริโภคและอ้างถึงสรรพคุณทางการรักษาโรคมากมาย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tinospora crista* (L.) Hook f. & Thomson ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Menispermaceae เป็นพืชไม้เถาเนื้ออ่อนที่เลื้อยพันไปตามต้นไม้ พบได้ทั่วไปในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และประเทศที่มีภูมิอากาศแบบเขตร้อนและกึ่งเขตร้อนได้แก่ ไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย อินเดีย ฟิลิปปินส์ เวียดนาม และจีน (Sulaiman *et al.*, 2016, p. 36) บอระเพ็ดอุดมไปด้วยสารเคมีในกลุ่มอัลคาลอยด์ ไคโธเรปีนอยด์ สารในกลุ่มเอมีน สารฟีนอลิก ไกลโคไซด์ ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการอักเสบจากเชื้อแบคทีเรีย ลดอาการไข้ ลดน้ำตาลในเลือด และทำให้การทำงานของหัวใจดีขึ้น นอกจากนี้ตำรายาสมุนไพรไทยระบุว่าบอระเพ็ดมีคุณสมบัติในการบำรุงกำลัง ทำให้รู้สึกเจริญอาหารมากขึ้น แก้อาการร้อนใน กระหายน้ำ ปกป้องตับ ขับพยาธิ ขับปัสสาวะ ขับพิษไข้และเสมหะ การรับประทานบอระเพ็ดเพื่อรักษาโรคมะเร็งด้วยกลไกหลายวิธี เช่น ทานสดหรืออบเป็นผงผสมกับน้ำผึ้งปั้นเป็นยาลูกกลอน เป็นต้น (Homhual, 2011, Online) บอระเพ็ดถือเป็นยาอายุวัฒนะของประเทศอินเดีย และเป็นยาแผนโบราณของมาเลเซียรักษาโรคได้หลากหลาย เช่น เบาหวาน ความดันโลหิตสูง ช่วยกระตุ้นความอยากอาหาร ป้องกันยุงกัด และเป็นยาถ่ายพยาธิของคนและสัตว์เลี้ยง (Haque *et al.*, 2011, p. 1) สำหรับประเทศไทยมีการนำบอระเพ็ดมาทำการหมักได้เป็นน้ำเอ็นโซม หรือน้ำหมักบอระเพ็ดอ้างถึงสรรพคุณครบจักรวาล เช่น แก้วไข่ เบาหวาน เจริญอาหาร ลดความร้อน บำรุงร่างกาย แก้อาการร้อนใน ต้านอนุมูลอิสระ ลดน้ำตาลในเส้นเลือด ขับปัสสาวะ ขับสารพิษตกค้าง แก้ปวดหลัง ปวดเอว นอนไม่หลับ ลดคอเลสเตอรอล ปรับปรุงภูมิคุ้มกัน เป็นต้น ซึ่งสรรพคุณที่กล่าวอ้างนั้นยังไม่มีข้อพิสูจน์ในทางวิทยาศาสตร์ที่ชัดเจน ในส่วนของสารสกัดบอระเพ็ดมีงานวิจัยในต่างประเทศที่ทำการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับฤทธิ์ทางพฤกษเคมีของบอระเพ็ด ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิด (Sulaiman *et al.*, 2016, p. 35; Zulkefli *et al.*, 2013, p. 697) รวมถึงยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง (Ibrahim *et al.*, 2011, pp. 57-62) อย่างไรก็ตามบอระเพ็ดที่ปลูกในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน ภูมิอากาศ ภูมิประเทศ

ที่ต่างกัน ย่อมจะมีคุณภาพและมีปริมาณสารสำคัญต่าง ๆ ไม่เท่ากัน อีกทั้งงานวิจัยส่วนใหญ่ศึกษาโดยใช้ตัวทำละลายที่มีความเป็นพิษค่อนข้างสูง เช่น เมทานอล และคลอโรฟอร์ม (Ahmad *et al.*, 2016, pp. 8-9) งานวิจัยนี้จึงต้องการประเมินคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของน้ำหมักบอระเพ็ดเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบบอระเพ็ดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ รวมถึงความปลอดภัยในการบริโภค และแนวทางพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพหรือบำบัดโรคในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและการต้านอนุมูลอิสระจากน้ำหมักบอระเพ็ดและสารสกัดหยาบบอระเพ็ด

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมน้ำหมักบอระเพ็ด

เถาบอระเพ็ดเลือกเถาที่โตเต็มที่จากตำบลงชัย อำเภอมือง จังหวัดเพชรบุรี นำมาล้างให้สะอาดและผึ่งให้แห้งสนิท หั่นให้ได้ขนาด 5-7 เซนติเมตร จากนั้นผสมตามสูตรการทำน้ำหมักจากพืชสมุนไพรตามวิธีการของ Nilsang (2015, p. 205) ในอัตราส่วนบอระเพ็ด: น้ำตาลทรายแดง: น้ำ เท่ากับ 3:1:10 โดยผสมน้ำและน้ำตาลทรายแดงปั่นละเอียดเข้าด้วยกัน นำบอระเพ็ดที่หั่นไว้ใส่ลงในถังหมัก แล้วเทน้ำตาลทรายที่ผสมน้ำแล้วตามลงไป กดให้บอระเพ็ดจมน้ำปิดฝาให้สนิท บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 สัปดาห์เก็บตัวอย่างทุก 2 สัปดาห์ เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค

การเตรียมสารสกัดบอระเพ็ด

การสกัดสารจากบอระเพ็ดตามวิธีการสกัดสมุนไพรโดยการหมัก (maceration) ดัดแปลงจากวิธีการของ La-onghitirat *et al.* (2019, p. 622) ดังนี้ นำเถาบอระเพ็ดมาอบให้แห้งหั่นขนาด 2-3 เซนติเมตร ปริมาณ 1 กิโลกรัม สกัดโดยการแช่ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 3 ลิตร เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นกรองเพื่อแยกชิ้นบอระเพ็ดออกด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารสูญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 45-47 องศาเซลเซียส จากนั้นทำเป็นผงแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dry) จะได้สารสกัดหยาบบอระเพ็ด เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักและสารสกัดหยาบบอระเพ็ด

การวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำละลายอนุมูลดีพีพีเอช (DPPH, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ดัดแปลงจากวิธีการของ Nilsang & Kholungkul (2018, p. 127) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้ นำน้ำหมักบอระเพ็ดแต่ละสัปดาห์และสารสกัดหยาบบอระเพ็ดความเข้มข้น 233.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายอนุมูลดีพีพีเอชความเข้มข้น 80 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 900 ไมโครลิตร หลอดควบคุมใช้ตัวทำละลายของสารตัวอย่างแทนสารตัวอย่าง นำหลอดทั้งหมดตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร คำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (L-ascorbic acid) และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ %DPPH radical scavenging โดยมีสูตรการคำนวณดังนี้

$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

โดย A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น และ A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากเติมตัวอย่าง

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคของน้ำหมักบอระเพ็ดและสารสกัดหยาบบอระเพ็ด โดยวิธีการ Agar well diffusion method ดัดแปลงวิธีการของ Yahom & Thiwthong (2019, p. 461) เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 7 สายพันธุ์ จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว) ประกอบด้วยแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ และยีสต์ ดังนี้ *Staphylococcus aureus* TISTR1466, *Staphylococcus aureus* TISTR2329, *Staphylococcus epidermidis* TISTR518, *Escherichia coli* TISTR073, *Escherichia coli* TISTR780, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR781 และ *Candida albicans* TISTR5554

ทำการทดสอบโดยนำแบคทีเรียก่อโรคมะเร็งในอาหาร Mueller-Hinton broth (MHB) ส่วนยีสต์เลี้ยงใน Yeast extract-Malt extract broth (YM) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อเก็บตะกอนของเซลล์ นำตะกอนมาละลายด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 0.85 โดยปริมาตร จากนั้นปรับความเข้มข้นเพื่อให้ได้ปริมาณเชื้อ 10^8 CFU/mL เปรียบเทียบกับ McFarland standard 0.5 กระจ่ายเชื้อแบคทีเรียบนผิวหน้าอาหาร Muller Hinton Agar (MHA) และ ยีสต์บนอาหาร Sobouraud Dextrose Agar (SDA) จากนั้นใช้ Cork borer เจาะหลุมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เติมน้ำหมักบอระเพ็ดแต่ละสัปดาห์และสารสกัดบอระเพ็ดความเข้มข้น 233.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ในหลุม ปริมาตร 30 ไมโครลิตร นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผลโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใน (Zone of inhibition) บันทึกหน่วยเป็นมิลลิเมตร ทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ

การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory concentration ; MIC) ของน้ำหมักบอระเพ็ดและสารสกัดหยาบบอระเพ็ด โดยวิธี Broth Dilution Technique ตามวิธีของ La-onghitirat *et al.* (2020, p. 104) โดยทำการเจือจางน้ำหมักบอระเพ็ดแบบลำดับสอง (2-fold dilution) โดยมีความเข้มข้นน้ำหมักเท่ากับร้อยละ 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0.39 และ 0.19 ปริมาตรโดยปริมาตร (%v/v) และสารสกัดหยาบบอระเพ็ดความเข้มข้น 233.2, 116.6, 58.3, 29.15, 14.58, 7.29, 3.64, 1.82 และ 0.91 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Mueller Hinton broth สำหรับเชื้อแบคทีเรีย และในอาหาร Sobouraud Dextrose broth สำหรับเชื้อยีสต์ จากนั้นเติมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบที่เตรียมไว้ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลการหา MIC คือค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำหมักบอระเพ็ดและสารสกัดหยาบบอระเพ็ดที่ไม่ปรากฏการเจริญของเชื้อในหลอดทดลอง

การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์

การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum bactericidal concentration ; MBC) ของน้ำหมักบอระเพ็ดและสารสกัดหยาบบอระเพ็ด ทำโดยนำหลอดที่ไม่ปรากฏการเจริญของเชื้อ (หลอดที่ไม่มีความขุ่น) จากการทดสอบหาค่า MIC ไปป้ายลงบนอาหาร MHA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลการหา MBC หรือความเข้มข้นของน้ำหมักบอระเพ็ดและสารสกัดหยาบบอระเพ็ดที่สามารถฆ่าเชื้อได้คือค่าความเข้มข้นที่ไม่พบการเจริญของเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลการวิจัย

ผลการศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักและสารสกัดหยาบบอระเพ็ด

ผลการศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักบอระเพ็ดในระหว่างหมักและสารสกัดหยาบบอระเพ็ดในตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบบอระเพ็ดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับร้อยละ 85.10 เมื่อเทียบค่าการต้านอนุมูลอิสระกับกรดแอสคอร์บิกมีค่าเท่ากับ 9.7 มิลลิโมลาร์กรดแอสคอร์บิก สำหรับกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักบอระเพ็ด เมื่อหมักครบ 12 สัปดาห์มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 49.4 เมื่อเปรียบเทียบค่าการต้านอนุมูลอิสระกับกรดแอสคอร์บิกมีค่าเท่ากับ 50.4 มิลลิโมลาร์กรดแอสคอร์บิกมากกว่าสารสกัดหยาบบอระเพ็ดถึง 5 เท่า

ตารางที่ 1ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักและสารสกัดหยาบบอระเพ็ด

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ	น้ำหมักบอระเพ็ด สัปดาห์ที่						สารสกัดหยาบบอระเพ็ด
	2	4	6	8	10	12	
ค่าการต้านอนุมูลอิสระเทียบกับกรดแอสคอร์บิก (มิลลิโมลาร์)	48.9	50.9	60.3	51.7	51.9	50.4	9.7
%DPPH radical scavenging	43.36	48.99	50.82	49.93	49.77	49.43	85.10

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคของน้ำหมักและสารสกัดหยาบบอระเพ็ด

ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคของน้ำหมักบอระเพ็ด

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำหมักและสารสกัดหยาบบอระเพ็ด (ตารางที่ 2) แสดงให้เห็นว่าน้ำหมักบอระเพ็ดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ตั้งแต่หมักเป็นเวลา 2 สัปดาห์ และมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น โดยน้ำหมักบอระเพ็ดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ โดยมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้สูงเมื่อหมักเป็นเวลา 12 สัปดาห์ แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้ โดยที่น้ำหมักบอระเพ็ดมีประสิทธิภาพสูงสุดต่อการยับยั้งเชื้อ *E. coli* TISTR780 รองลงมาคือ *E. coli* TISTR073, *S. aureus* TISTR2329 และ *S. aureus* TISTR1466 ตามลำดับ สำหรับการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* TISTR518 และ *P. aeruginosa* TISTR781 มีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อหมักเป็นเวลา 8 สัปดาห์ หลังจากนั้นประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อคงที่ ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าน้ำหมักบอระเพ็ดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ แต่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ *C. albicans* TISTR5554 สำหรับสารสกัดหยาบบอระเพ็ดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคทดสอบทุกชนิด ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ และยีสต์ โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* TISTR073 ได้สูงที่สุด รองลงมาคือ *E. coli* TISTR780 *S. aureus* TISTR1466 *S. aureus* TISTR2329 *S. epidermidis* TISTR518 *P. aeruginosa* TISTR781 และ *C. albicans* TISTR5554 ตามลำดับ ผลการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจะเห็นได้ว่า สารสกัดหยาบบอระเพ็ดมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดีกว่าน้ำหมักบอระเพ็ดเกือบทุกสายพันธุ์ยกเว้นต่อเชื้อ *P. aeruginosa* TISTR781

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคของน้ำหมักและสารสกัดบอระเพ็ด

น้ำหมัก บอระเพ็ด	เส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้ง (Zone of inhibition) (มิลลิเมตร)						
สัปดาห์ ที่	<i>E. coli</i> TISTR073	<i>E. coli</i> TISTR780	<i>S. aureus</i> TISTR1466	<i>S. aureus</i> TISTR2329	<i>S. epidermidis</i> TISTR518	<i>P. aeruginosa</i> TISTR781	<i>C. albicans</i> TISTR5554
0	-	-	-	-	-	-	-
2	9.00 ± 1.00	9.00 ± 1.00	-	-	5.50±0.50	11.00±1.00	-
4	9.45 ± 0.54	9.15±0.60	-	7.75±0.55	6.75±0.20	12.00±0.00	-
6	10.00 ± 0.00	10.75±0.14	7.75 ± 0.55	9.00±0.00	7.10±0.20	12.25±0.25	-
8	11.00 ± 0.58	11.00±0.00	8.50±0.12	10.75±0.53	11.00±0.55	13.85±0.50	-
10	14.50 ± 0.54	11.50±0.50	9.50±0.54	12.45±0.14	10.00±0.25	14.10±0.20	-
12	15.00 ± 1.00	12.00±0.54	10.00±1.00	13.00±1.00	10.05±0.53	14.15±0.55	-
สารสกัด							
หยาบ	19 ± 0.54	17 ± 0.12	16 ± 0.55	16 ± 0.32	11 ± 0.00	10 ± 0.62	9 ± 0.20
บอระเพ็ด							

หมายเหตุ ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3), - = ไม่เกิดบริเวณใส

เมื่อนำน้ำหมักบอระเพ็ดที่หมักเป็นเวลา 12 สัปดาห์ มาทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ทั้ง 6 สายพันธุ์ ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่าน้ำหมักบอระเพ็ดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักร้อยละ 6.25 สำหรับเชื้อ *S. aureus* สามารถยับยั้งได้ที่ความเข้มข้นน้ำหมักบอระเพ็ดร้อยละ 12.5 ในขณะที่เชื้อ *P. aeruginosa* TISTR781 และ *S. epidermidis* TISTR518 มีฤทธิ์ในการยับยั้งที่ความเข้มข้นของน้ำหมักบอระเพ็ดร้อยละ 50 และ ร้อยละ 100 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามค่า MBC แสดงให้เห็นว่าน้ำหมักบอระเพ็ดไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ เมื่อศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) พบว่า สารสกัดหยาบบอระเพ็ดสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* TISTR073 และ *E. coli* TISTR780 ที่ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุด คือ 3.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ทั้งสองสายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุด

เท่ากับ 7.29 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* TISTR518 และ *P. aeruginosa* TISTR781 เท่ากันที่ความเข้มข้น 14.58 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สารสกัดหยาบบอระเพ็ด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อยีสต์ *C. albicans* TISTR5554 โดยมีความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อเท่ากับ 29.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่างจากน้ำหมักบอระเพ็ดที่ไม่พบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อยีสต์ อย่างไรก็ตามเพื่อพิจารณาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) พบว่าต้องใช้สารสกัดหยาบในปริมาณที่สูงมาก คือที่ความเข้มข้น 58.3, 116.6 และ 233.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการฆ่าเชื้อ *E. coli*, *S. aureus* และ *S. epidermidis* TISTR518 ตามลำดับ โดยที่สารสกัดหยาบนี้ไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *P. aeruginosa* TISTR781 และ *C. albicans* TISTR5554

ตารางที่ 3 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำหมักและสารสกัดหยาบบอระเพ็ด

การวิเคราะห์	เชื้อจุลินทรีย์						
	<i>E. coli</i> TISTR073	<i>E. coli</i> TISTR780	<i>S. aureus</i> TISTR1466	<i>S. aureus</i> TISTR2329	<i>S. epidermidis</i> TISTR518	<i>P. aeruginosa</i> TISTR781	<i>C. albicans</i> TISTR5554
น้ำหมักบอระเพ็ด							
MIC (% v/v)	6.25	6.25	12.5	12.5	100	50	NA
MBC (% v/v)	-	-	-	-	-	-	NA
สารสกัดหยาบบอระเพ็ด							
MIC (mg/mL)	3.64	3.64	7.29	7.29	14.58	14.58	29.15
MBC (mg/mL)	58.3	58.3	116.6	116.6	233.2	-	-

หมายเหตุ ผลการทดสอบจากการทดสอบ 3 ซ้ำ, NA = ไม่ได้ทดสอบ, - = ไม่เกิดบริเวณใส

อภิปรายผลการวิจัย

จากผลการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำหมักบอระเพ็ดที่ทำการหมักเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ค่าการต้านอนุมูลอิสระเทียบกับกรดแอสคอร์บิกสูงสุดอยู่ที่สัปดาห์ที่ 6 หลังจากนั้นลดลงและคงที่ สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Guo *et al.* (2020, p. 3) ที่ทำการศึกษากิจกรรมการหมักน้ำลูกยอเป็นเวลา 100 วัน พบว่าค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น โดยที่ค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุดเมื่อหมักเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นลดลงอย่างต่อเนื่องจนหมักครบ 40 วัน และคงที่ไปจนครบระยะเวลาการหมัก 100 วัน แตกต่างจากผลการวิจัยของ Nilsang (2015, p. 209) ที่ทำการวิเคราะห์น้ำหมักบอระเพ็ดที่เก็บจากชุมชนที่ทำการหมักเป็นเวลา 2 ปี พบว่ามีค่า %DPPH สูงถึง 94.40 หรือเทียบเท่ากับ 1233.22 มิลลิโมลาร์กรดแอสคอร์บิก จะเห็นได้ว่าการที่ค่าการต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักพืชชนิดเดียวกันมีความแตกต่างกัน น่าจะเป็นผลจากแหล่งที่มาของพืช ระยะเวลาสภาวะแวดล้อมในการหมักรวมถึงปัจจัยภายนอกอื่น ๆ ที่มีผลต่อคุณภาพของการหมักจึงทำให้ได้สาระสำคัญที่ต้องการไม่เท่ากัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการหมักพืชสมุนไพรเพื่อการบริโภคนั้นมีปัจจัยภายนอกมากมายที่มีผลต่อคุณภาพของน้ำหมักการจะพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ชุมชนที่มีคุณภาพ จำเป็นต้องควบคุมปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ประกอบด้วย

ผลการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบบอระเพ็ด มีค่า %DPPH สูงถึง 85.10 สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Zulkefli *et al.* (2013, p. 704) ที่ทำการสกัดหยาบบอระเพ็ดด้วยตัวทำละลายเมทานอลพบว่ามีความกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงถึงร้อยละ 98.85 (IC₅₀ = 0.118 mg/mL) และยังสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Sulaiman *et al.* (2016, p. 38) ที่ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบบอระเพ็ดด้วยเมทานอลโดยมีกรดแอสคอร์บิกเป็นตัวเปรียบเทียบ ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดหยาบบอระเพ็ดที่ความเข้มข้น 0.0312 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับร้อยละ 7.10 (IC₅₀=0.21 mg/mL) ซึ่งจะเห็นว่าการสกัดด้วยเมทานอลจะให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอล แต่เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นพิษต่ำ ราคาถูก เหมาะสมที่จะใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์จากพืชสมุนไพรในระดับอุตสาหกรรมหรือชุมชนที่มีความปลอดภัยมากกว่าเมทานอล (Phonprapai & Ontawee, 2019, pp. 489-491) เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH กับสารสกัดหยาบบอระเพ็ด ผลการทดลองแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าสารสกัดหยาบบอระเพ็ดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

สูงกว่าน้ำหมักบอระเพ็ด ซึ่งอธิบายได้ว่าในการสกัดด้วยตัวทำละลายจะให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงเนื่องจากได้สารประกอบในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน (Ahmad *et al.*, 2016, p. 12) ในขณะที่น้ำหมักบอระเพ็ดเป็นการหมักด้วยจุลินทรีย์ผ่านกระบวนการ Embden-Meyerhof Pathway (EMP) เกิดเป็นกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลกติก กรดอะซิติก และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ อย่างไรก็ตามกระบวนการหมักอาจมีการสร้างสารยับยั้งตัวอื่น ๆ เช่น แบคทีเรียโอซิน ผสมกับในบอระเพ็ดมีสารฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบอยู่มากน้ำหมักจากบอระเพ็ดจึงมีคุณสมบัติทั้งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้

ผลการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค 7 สายพันธุ์ พบว่าน้ำหมักบอระเพ็ดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ และพบว่าน้ำหมักบอระเพ็ดมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร เช่น *E. coli* และ *S. aureus* ได้ดีกว่าการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง เช่น *S. epidermidis* สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Phoem *et al.* (2018, p. 1090) ที่ทำการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำหมักชีวภาพจากผลยอในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. Typhimurium* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับร้อยละ 25 และ 12.5 โดยปริมาตร ตามลำดับ ส่วนประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบบอระเพ็ดด้วยตัวทำละลายเอทานอลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคพบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคทั้ง 7 สายพันธุ์ สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Haque *et al.* (2011, pp. 2-3) ที่ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบบอระเพ็ดที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและฟังไจก่อโรคได้กว่า 15 สายพันธุ์ รวมถึง *S. aureus*, *E. coli* และ *C. albican* ด้วย เช่นเดียวกับผลการวิจัยของ Islam *et al.* (2014, p. 20) ที่ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบบอระเพ็ดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พบว่าสารสกัดบอระเพ็ดด้วยตัวทำละลายเมทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. lutea*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. Paratyphi*, *S. typhi*, *S. boydii*, *S. dysenteriae*, *V. mimicus*, *V. parahemolyticus*, *C. albicans*, *A. niger*, และ *S. cerevisiae* นอกจากนี้สารสกัดบอระเพ็ดด้วยตัวทำละลายเอทานอลยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* (MRSA) โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.4-0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.78-1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Al-alusi *et al.*, 2010, p. 2312) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายมีผลต่อการสกัดสารสำคัญออกจากพืชเป็นอย่างดี Visutthi (2017, p. 813) ได้จัดกลุ่มสารออกฤทธิ์จากพืชจากค่า MIC ไว้ดังนี้ กลุ่มที่มีฤทธิ์ยับยั้งดี MIC < 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กลุ่มที่มีฤทธิ์ยับยั้งปานกลาง MIC อยู่ระหว่าง 1-2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และกลุ่มที่มีฤทธิ์ยับยั้งอ่อน MIC > 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสารสกัดหยาบบอระเพ็ดในการทดลองนี้ถือว่าจัดอยู่ในกลุ่มฤทธิ์ยับยั้งอ่อน ฉะนั้นการจะนำสารสกัดหยาบบอระเพ็ดไปพัฒนาต่อยอดในด้านเภสัชวิทยาควรคำนึงถึงตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุด พืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีสรรพคุณในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แตกต่างกัน สภาพภูมิอากาศและภูมิประเทศที่แตกต่างกันมีผลต่อการสร้างสารสำคัญในพืช จึงทำให้สารสกัดจากพืชที่มาจากแต่ละพื้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้แตกต่างกัน (Yahom & Thiwthong, 2019, p. 466) นอกจากนี้ สภาวะที่ใช้ในการสกัด และสารเคมีที่ใช้ในการสกัด ความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดย่อมส่งผลให้องค์ประกอบทางเคมีได้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาแตกต่างกัน ซึ่งผลการทดลองนี้สามารถเป็นแนวทางในการนำสารสกัดจากบอระเพ็ดนี้ไปขยายผลในการใช้ในด้านอื่น ๆ ต่อไป

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าน้ำหมักบอระเพ็ดและสารสกัดหยาบบอระเพ็ดมีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและด้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค น้ำหมักบอระเพ็ดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบ 6 สายพันธุ์ ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ แต่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ ในขณะที่สารสกัดหยาบบอระเพ็ดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 7 สายพันธุ์ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเป็นส่วนประกอบทางยา และการรักษาทางการแพทย์ได้ต่อไปในอนาคต อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมสำหรับน้ำหมักบอระเพ็ดในด้านความปลอดภัยต่อผู้บริโภค กระบวนการหมักที่มีคุณภาพ รวมถึงความสามารถในการต้านจุลชีพก่อโรคชนิดอื่นร่วมด้วย สำหรับสารสกัดบอระเพ็ดในงานวิจัยนี้เป็นเพียงสารสกัดหยาบ ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่เกิดขึ้น อาจเกิดจากปฏิกิริยาการเสริมกันของพฤษเคมีอื่น เพื่อให้ความเข้าใจมากขึ้นควรนำสารสกัดหยาบบอระเพ็ดไปผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์เพื่อศึกษากลไกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Ahmad, W., Jantan, I. & Bukhari, S.N. (2016). *Tinospora crispa* (L.) Hook. F. & Thomson: A Review of Its Ethnobotanical, Phytochemical, and Pharmacological Aspects. *Frontiers in Pharmacology*, 7, 1-19. doi: 10.3389/fphar.2016.00059.
- Al-alusi, N.T., Kadir, F.A., Ismail, S. & Abdullah, M.A. (2010). In vitro Interaction of Combined Plants: *Tinospora crispa* and *Swietenia mahagoni* against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *African Journal of Microbiology Research*, 4(21), 2309-2312.
- Chaiyasut, C., Makhamrueang, N., Peerajan, S. & Sivamaruthi, B.S. (2017). Assessment of Organic Acid Content and Brix Value of Representative Indigenous Fermented Plant Beverages of Thailand. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(1), 350-354.
- Guo, M., Mao, B., Sadiga, F.A., Hao, Y., Cui, S., Yi, M., Hong, Q., Lee, Y.K. & Zhao, J. (2020). Effects of Noni Fruit and Fermented Noni Juice Against Acute Alcohol Induced Liver Injury in Mice. *Journal of Functional Foods*, 70, 1-9.
- Haque, A.M., Islam, A.S.M. & Mohammad, S. (2011). Antimicrobial, Cytotoxicity and Antioxidant Activity of *Tinospora crispa*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 12(13), 1-4.
- Homhual, S. (2011). *Herbal Medicines Database* [Online]. Retrieved July 7, 2020, from: <http://www.thaicrudedrug.com>. (in Thai).
- Ibrahim M.J., Wan-Nor I'zzah, W.M.Z., Narimah, A.H.H., Nurul Asyikin, Z., Siti-Nur Shafinas, S.A.R. & Froemming G.A. (2011). Anti-proliferative and Antioxidant Effect of *Tinospora crispa* (Batawali). *Biomedical Research*, 22(1), 57-62.
- Islam, M.A., Amin, M.R. & Al-Mahmud, Z. (2014). Evaluation of Analgesic and Antimicrobial Activity of Different Fractions of Crude Methanol Extract of *Tinospora crispa* Stem. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review*, 5(1), 16-21.
- La-ongthitirat, T., Phasuk, S. & Nilsang, P. (2019). Antimicrobial Activity of *Hiptage candicans* (Hook.f.) Siriruga Crude Extracts Against Human Pathogens. 3rd National and International Research Conference 2019. (NIRC III 2019), February 1, 2019. Buriram: Buriram Rajabhat University.
- La-ongthitirat, T., Phasuk, S. & Nilsang, P. (2020). Efficacy of Gel Mixed the Crude Extract of *Hiptage candicans* (Hook.f.) in Inhibiting Pathogenic Bacteria. *VRU Research and Development Journal Science and Technology*, 15(1), 99-113. (in Thai).
- Nilsang, S. (2015). Antioxidant and Total Polyphenol Content in Thai Herbal Fermented Juices. *International Forum-Agriculture, Biology and Life Science (IFABL 2015)*, June 23-25, 2015. Sapporo: International Business Academics Consortium.
- Nisang, P. & Kholungkul, J. (2018). Development of Bacterial Cellulose Production from Herbal Juices. *VRU Research and Development Journal Science and Technology*, 13(3), 123-134. (in Thai).
- Pheom, A. Malinee, A. & Dolah, H. Effects of Bioextract Juices from *Ananas comosus*, *Solanum lycopersicum*, *Morinda citrifolia*, Linn., and Mixed Fruits for Growth Inhibition of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella Typhimurium*. 2nd National and International Research Conference 2018 (NIRC II 2018). February 15-16, 2018. Buriram: Buriram Rajabhat University. (in Thai)
- Phonprapai, C. & Oontawee, S. (2019). Development of Extraction Process for Preparing High Anti-oxidant Extracts from Thai Herbs. *Thai Journal of Science and Technology*, 8(5), 479-492. (in Thai).
- Sulaiman, F.A., Fuad, N., Rahman, F., Iqbal, A. & Danis, D.S. (2016). Antioxidant and Antimicrobial Properties of *Tinospora crispa* (putarwali) Stems Methanolic Extract. *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)*, 78 (11-2), 35-40.



- Visutthi, M. (2017). Antagonistic Effect of Staphylococci of Extracts from Some Local Plants in Nakorn-Ratchasima Province. *KKU Science Journal*, 45(4), 805-816. (in Thai)
- Yahom, S. & Thiwthong, R. (2019). Antimicrobial Activity of Crude Extracts from *Oroxylum indicum* Leaves. *KKU Science Journal*, 47(3), 459-467. (in Thai).
- Zulkefli, H.N., Mohamad, J. & Abidin, N.Z. (2013). Antioxidant Activity of Methanol Extract of *Tinospora crispa* and *Tabernaemontana corymbosa*. *Sains Malaysiana*, 42(6), 697-706.