การยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* โดยสารสกัดผักแขยงและผักกระโดนน้ำ ในระดับห้องปฏิบัติการ

Laboratory Test on the Growth Inhibition of *Escherichia coli* by Ethanol Extracts of Finger Grass, *Liminophile aromatica* (Lonk.) Merr; and *Barringtonia acutangula* Gaertn.

กานดา ล้อแก้วมณี [1*], วราพร หนันแดง[1], ภานุวัฒน์ คัมภีราวัฒน์ [1] และ ชื่นจิต จันทจรูณพงษ์[1]

Kanda Lokaewmanee[1*], Waraporn Chandang[1], Panuwat khumpeerawat[1] and Chinjit Jantajaroonpong[1]

ABSTRACT

The bacterial growth inhibition of two native Vegetable, finger grass, *Liminophile aromatica* (Lonk) Merr, and *Barringtonia acutangula* Gaertn. was investigated. Ethanol extracts of the two plants were prepared using 95% ethanol as the solvent. Inhibition of the growth of an *Escherichia coli (E.coli)* isolated from pig feces for this study, of the two plant extracts was tested by paper disc agar diffusion and growth inhibition zone size indicating inhibitory effect was measured. The results revealed that the 95% ethanol extract of all concentrations of finger grass was not effected in inhibiting the growth of *E.coli* whereas the 100% extract of *B. acutangula* Gaertn was most inhibitory with 1.2 cm wide inhibition zone. Hence, *B. acutangula* Gaertn may be useful for controlling the growth of *E.coli*, the causal bacterium of pig diarrhea.

Key words: *Liminophile aromatica* (Lonk.) Merr., *Barringtonia acutangula* Gaertn., Laboratory test

บทคัดย่อ

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากผักพื้นบ้าน จำนวน 2 ชนิด คือ ผักแขยงและผักกระโดนน้ำ โดยนำผักพื้นบ้านทั้งสองชนิดมาเตรียมสารสกัดหยาบ โดยใช้เอธิลแอลกอฮอล์ 95% เป็นตัวทำละลาย เพื่อทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli (E.coli)* ที่แยกได้จากมูลสุกร ด้วยวิธี paper disc agar diffusion และวัดขนาดบริเวณใสที่เชื้อไม่เจริญ (Inhibition zone) จากผลการทดลอง พบว่า สารสกัดด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 95% ของผักแขยงในทุกระดับความเข้มข้น ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ในขณะที่สารสกัดด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 95% ของผักกระโดนน้ำ ความเข้มข้น 100% สามารถยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ได้สูงที่สุด โดยมีบริเวณใส ที่เชื้อ

[1*]คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร อ.เมือง จ.สกลนคร 47000

Faculty of Natural Resources and Agro-Industry Kasetsart University, Chalermphrakiat Sakon Nakhon Province Campus. Amphur Muang, Sakon Nakhon Province, 47000, Thailand.

*Corresponding author: Tel. 0-4272-5036, Fax. 0-427-5037, E-mail address: csnkdp@ku.ac.th

ไม่เจริญ เท่ากับ 1.21 เซนติเมตร ดังนั้นผักกระโดนน้ำอาจจะสามารถนำมาใช้ในการควบคุมการเจริญของ *E.coli* ที่เป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงในสุกรได้

คำสำคัญ: ผักแขยง ผักกระโดนน้ำ ระดับห้องปฏิบัติการ

คำนำ

ผักพื้นบ้านมีมากมายหลายชนิด โดยมีการนำมารับประทานสดหรือใช้เป็นส่วนประกอบในการปรุงอาหาร มีการศึกษาการใช้สมุนไพรเป็นยารักษาโรค และการใช้สารสกัดจากสมุนไพรต่างๆ ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะ *Escherichia coli* (*E.* coli) ที่เป็นสาเหตุทำให้ลูกสุกรระยะหย่านมป่วยด้วยโรคท้องร่วงและตายเป็นจำนวนมาก

Escherichia coli จัดเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacteriaceae เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่งสั้นๆ ขนาดเล็ก แกรมลบ มีแคปซูลบางๆ หุ้มเซลล์ไว้ เคลื่อนไหวโดยใช้ peritrichous flagella, *E. coli* เป็นจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสุกร จึงมีผลต่อสุขภาพของสัตว์ได้ โดยเฉพาะในระยะหย่านม ลูกสุกรจะได้รับความเครียดสูง จากการเปลี่ยนอาหารและการเปลี่ยนสภาพแวดล้อม ทำให้ลูกสุกรมีสุขภาพอ่อนแอ ระดับภูมิคุ้มกันต่ำ และมีการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ส่งผลให้เกิดความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจำนวนเชื้อ *E. coli* ที่มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น (Kyriakis, 1983) *E. coli* ยังเป็นจุลินทรีย์สาเหตุของอาการท้องเสียในคนและสัตว์ โดยเชื้อ *E. coli* จะเกาะจับที่ผนังลำไส้ และทำลายเนื้อเยื่อบริเวณนั้นหรือสร้างสารพิษ (Enterotoxin) ออกมาทำลายเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ ทำให้สัตว์ป่วย (อรุณ, 2537) ในลูกสุกรและลูกโค ซึ่งเป็นสัตว์เศรษฐกิจป่วยด้วยโรคท้องร่วงและตายเป็นจำนวนมาก เช่น กรณีสุกรของเกษตรกรตายเกือบ 500 ตัว ในบ้านท่ามะไฟ ตำบลมะคาบ อำเภอเมือง จังหวัดพิจิตร ซึ่งสาเหตุมาจากการติดเชื้อ *Pasteurella* และ *E. coli* เห็นได้ว่า *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สร้างความเสียหายให้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์มาก และเมื่อสัตว์เกิดอาการป่วยเกษตรกรมักจะหาซื้อยาปฏิชีวนะมารักษา ซึ่งยาเหล่านั้นมีส่วนประกอบของสารเคมี การที่สัตว์ได้รับยาบ่อยๆ เพื่อบรรเทาอาการป่วย ทำให้มีสารตกค้างในเนื้อสัตว์ ทำให้เนื้อสัตว์มีคุณภาพต่ำและส่งผลมายังผู้บริโภคเนื้อสัตว์ด้วย (จีระวัชร์, 2547)

ดังนั้นเพื่อเป็นหนทางในการประยุกต์ใช้สำหรับการเลี้ยงสุกรในอนาคต งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถของพืชสมุนไพรหรือผักพื้นบ้านของไทยในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli*

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมจุลินทรีย์ *E. coli* ที่ใช้ทดสอบและการเก็บรักษา

ใช้มูลสุกรเป็นแหล่งเชื้อ แยกเชื้อ *E. coli* ทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ โดยใช้อาหารสำหรับการแยกแบคทีเรีย *E. coli* โดยเฉพาะ และจำแนกชนิดว่าเป็นเชื้อ *E. coli* ตามวิธีการทางอนุกรมวิธานสำหรับการจำแนกชนิดของ *E. coli* (Christen *et al*,. 1992)

การเตรียมมูลสุกร เก็บมูลสุกรประมาณ 1 กรัม ใส่ลงไปในขวดที่มีฝาปิดมิดชิดที่บรรจุสารละลายบัฟเฟอร์เพปโตน 100 มิลลิลิตร เพื่อตรวจหาเชื้อ *E. coli* โดยดูดละลายบัฟเฟอร์เพปโตนที่มีมูลสุกรอยู่มา 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว Lauryl sulfate tryptose (LST) 3 หลอดๆ ละ 1 มิลลิลิตร และบ่มหลอดอาหารทั้งหมดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วสังเกตหลอดที่เกิดก๊าซ เพื่อ

นำมาคัดเลือกการผลิตก๊าซบนอาหาร *Escherichia coli* broth (EC) หลอดต่อหลอด บ่มอาหาร EC ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วสังเกตหลอดที่เกิดก๊าซ และใช้เข็มเขี่ยเชื้อจากอาหาร EC ที่เกิดแก๊ส Streak ลงบนอาหาร Eosin methylene blue (EMB) บนจานเลี้ยงเชื้อเพื่อแยกเชื้อ หลังจากนั้นนำไปเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่งโมง สังเกตลักษณะโคโลนีที่มีสีน้ำเงินหรือม่วงเข้มตรงกลาง และมีสีเงาโลหะตัด ถ่ายเชื้อจากโคโลนีเดี่ยวๆ ที่พบลงในอาหารเอียง Trypticase soy agar (TSA)

ตรวจสอบลักษณะต่างๆ เพื่อยืนยันว่าเป็นเชื้อ *E. coli* โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว Lauryl sulfate tryptose (LST) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกตการณ์เกิดก๊าซ ร่วมกับการทดสอบ IMViC (การสร้างอินโดล การทดสอบเอ็มอาร์วีพี และการใช้ซิเตรด) และการตรวจดูจากลักษณะ *E. coli* ซึ่งติดสีแกรมลบ รูปท่อน ไม่สร้างสปอร์ คัดเลือกโคโลนีเชื้อที่ให้ผล IMViC (indole, methyl red, Voges-Proskauer, and citrate test)

การเก็บรักษาเชื้อไว้ตลอดการศึกษา โดยปฏิบัติดังนี้ นำเชื้อ *E. coli* บริสุทธิ์ที่แยกได้จากมูลสุกรมาเลี้ยงในอาหาร Tryptic soy broth (TSB) และกลีเซอรอล 20% (v/v) บ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียล จนกระทั่งนำมาใช้ เมื่อจะนำมาใช้ สามารถทำได้โดยแยกโคโลนีเดี่ยวของ *E. coli* มาถ่ายเชื้อลงในอาหาร Trypticase soy broth (TSB) หลอดใหม่ แล้วบ่มเป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง จึงนำไปทำการทดสอบกับสารสกัดต่อไป

การเตรียมและการสกัดพืชผักสมุนไพรพื้นบ้านด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 95%

เตรียมใบผักแขยงและผักกระโดนน้ำ ซึ่งใบผักแขยงจะมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว ขนาดเล็ก ออกเรียบสลับ อาจมี 3 ใบ ออกอยู่รอบๆ ข้อ รูปรีหรือรูปขอบขนานหรือรูปหอก รูปไข่ ใบยาว 1.5-5 ซม. กว้าง 1-2 ซม. ไม่มีก้านใบ ฐานใบจะหุ้มลำต้นไว้ ขอบใบหยักเป็นฟันเลื่อย ด้านบนของใบมีต่อมเล็กๆ มากมาย ในขณะที่ใบของผักกระโดนน้ำ มีลักษณะใบเป็นใบเดี่ยว รูปหอกกลีบหรือรูปไข่กลีบกว้าง 2.5-8.5 ซม. ยาว 5-16 ซม.ปลายใบมน เว้าเล็กน้อย ดังแสดงใน Figure 1 และ 2 ตามลำดับ โดยนำใบผักแขยงและผักกระโดนน้ำ มาล้างและหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ทำให้แห้งโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อบจนกระทั่งน้ำหนักตัวอย่างคงที่ จากนั้นนำผักแต่ละชนิดที่อบแห้งมาบดให้ขนาดเล็กลงแล้วนำใส่ในขวดรูปชมพู่ (Flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยใช้อัตราส่วนของผักและตัวทำละลาย 1: 20 คือ ผักน้ำหนัก 10 กรัม ต่อตัวทำละลายเอธิลแอลกอฮอล์ 95% ปริมาณ 200 มิลลิลิตร แล้วทำการเขย่าให้ผักแช่ในตัวทำละลายเอธิลแอลกอฮอล์ 95% ด้วยเครื่องเขย่าด้วยความเร็วรอบ 60 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 วัน เก็บของเหลวที่ได้โดยการกรองด้วยผ้าขาวบาง นำของเหลวที่กรองได้ไประเหยเพื่อแยกเอธิลแอลกอฮอล์ออกไป โดยใช้เครื่องระเหยระบบสูญญากาศ (Rotary vacuum evaporation) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง หรือสังเกตจากเอธิลแอลกอฮอล์ที่ระเหยออกหมดจากสารสกัด (Vudhivanich, 2003)

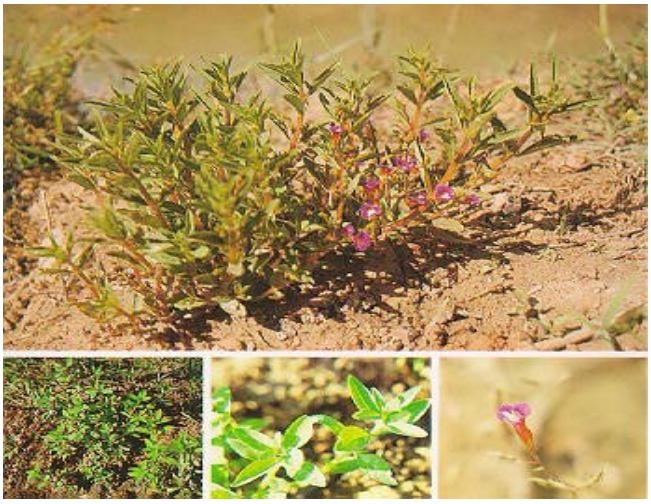

Figure 1 Phak Kayang (Thai name) or finger grass, *Liminophile aromatica* (Lomk.) Merr.

Figure 2 Kra Don Nam (Thai name), *Barringtonia acutangula* Gaertn.

การเตรียมสารสกัดของผักแขยงและผักกระโดนน้ำ ด้วยตัวทำละลายให้มีระดับความเข้มข้น 60, 70, 80, 90 และ 100 % (v/v)

สารสกัดจากผักแขยงและผักกระโดนที่ได้จากการสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95% นำสารสกัดมาละลายด้วยไดเมทิลซัลโฟไซด์โดยใช้อัตราส่วนต่างๆ กล่าวคือ ความเข้มข้น 60, 70, 80 และ 90% เพื่อใช้ทดสอบร่วมกับสารสกัดหยาบ 100%

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดผักพื้นบ้านต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli*

วางแผนการทดลองแบบ Factorial experiments in CRD ประกอบด้วยปัจจัยที่ศึกษาดังนี้

ปัจจัยที่ 1 ชนิดของผักพื้นบ้าน 2 ชนิด ได้แก่ ผักแขยงและผักกระโดนน้ำ

ปัจจัยที่ 2 ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 5 ระดับ ได้แก่ 60, 70, 80, 90 และ 100%

นำ *E. coli* ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ เป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง มา swab บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA นำกระดาษกลม (paper disc) ซึ่งเตรียมจากกระดาษกรอง Whatman No.1 ขนาด 6 มม. ที่ผ่านการฆ่าเชื้อชุบในสารสกัดผักแขยงและผักกระโดน ที่มีความเข้มข้นระดับต่างๆ แล้วทำการปลูกเชื้อ โดยใช้สำลีที่พันปลายไม้ชุบเชื้อ นำเชื้อมาปลูก โดยทาเชื้อให้ทั่วผิวอาหาร ให้เชื้อเจริญบนผิวอาหารวุ้น ในลักษณะที่ทำให้เชื้อเจริญเป็นคราบเต็มผิวหน้าอาหารในจาน (ถ้าไม่ถูกยับยั้งการเจริญ) ทำการศึกษาตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ชุดควบคุมใช้กระดาษกลมที่ชุบน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (ไม่ชุบสารสกัด) นำมาวางในจานเพาะเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใส ที่เชื้อไม่เจริญ (Inhibition zone) โดยใช้เวอเนียร์ ซึ่งใช้หน่วยวัดเป็นเซนติเมตร (Vudhivanich, 2003)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ Varience ตามวิธี CRD และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (1996)

ผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดของผักแขยงและผักกระโดนน้ำต่อการยับยั้ง *E. coli*

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดผักแขยงและผักกระโดนน้ำ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใส เนื่องจากเชื้อไม่เจริญได้ กล่าวคือสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* นำข้อมูลของขนาดบริเวณใสมาวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า แต่ละสิ่งทดลองในแต่ละปัจจัยที่ศึกษาและปฏิสัมพันธ์ของทั้ง 2 ปัจจัย มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) ดังแสดงไว้ใน Table 1

Table 1 Analysis of variance in inhibition zone diameter by 95 % ethanol extraction of *Barringtonia acutangula* Gaertn. and *Liminophile aromatica* (Lonk.) Merr.

Factorial in CRD				
SOV	DF	SS	MS	P-value
Factor 1 Herbs extract	1	8.77	8.77	0.0001*
Factor 2 Concentrate extraction	4	0.04	0.01	0.0022*
Factor 1 × Factor 2	4	0.04	0.01	0.0022*
Error	20	0.03	0.00	
Total	29	8.88		

* Means in the same row with different superscript differ highly significantly (p<0.01)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มของปัจจัยที่ 1 คือ ชนิดของผักพื้นบ้าน ได้แก่ ผักแขยงและผักกระโดนน้ำ ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) สังเกตได้จากเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณใสที่เชื้อไม่เจริญ ปรากฏผลดังแสดงไว้ใน Table 2 โดยสารสกัดผักกระโดนน้ำให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ดีกว่าสารสกัดจากผักแขยง

ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับต่างๆ พบว่า ประสิทธิภาพของสารสกัดจากผักแขยงที่ทุกระดับความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ ดังแสดงใน Table 2 ในขณะที่ประสิทธิภาพของสารสกัดจากผักกระโดนน้ำที่ระดับความเข้มข้น 60, 70, 80, 90 และ 100% ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* เท่ากับ 1.01, 1.03, 1.03, 1.12 และ 1.21 เซนติเมตร ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 2 จากผลการศึกษา พบว่าประสิทธิภาพของสารสกัดจากผักกระโดนน้ำที่ระดับความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ แต่ไม่แตกต่างกับที่ระดับความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ระดับความเข้มข้น 60, 70 และ 80% ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ไม่แตกต่างกัน

ปฏิสัมพันธ์ (Interaction) ระหว่างชนิดของผักพื้นบ้าน 2 ชนิด คือ ผักแขยงและผักกระโดนน้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* พบว่าชนิดของผักพื้นบ้านและระดับความเข้มข้นมีอิทธิพลร่วมกันในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ซึ่งสารสกัดจากผักชนิดเดียวกันแต่ความเข้มข้นต่างกัน มีผลต่อค่าเฉลี่ยการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ต่างกัน เช่นเดียวกับความเข้มข้นของสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่ระดับเดียวกัน แต่ชนิดของผักพื้นบ้านต่างกัน มีผลต่อค่าเฉลี่ยการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ต่างกัน

Table 2 Inhibition zone of *E .coli* by 95% ethanol extracts by *Liminophile aromatica* (Lomk.) Merr. and *Barringtonia acutangula* Gaertn.

Concentrate extraction (v/v)	Diameter of clear zone (cm.)	
	Liminophile aromatica (Lomk.) Merr.	*Barringtonia acutangula* Gaertn.
60%	0	$1.01^{b} \pm 0.06$
70%	0	$1.03^{b} \pm 0.05$
80%	0	$1.03^{b} \pm 0.04$
90%	0	$1.12^{ab} \pm 0.04$
100%	0	$1.21^{a} \pm 0.07$

[a,b] Value with difference superscript letter within row are different form each other (P<0.01; Duncan's new multiple range test)

วิจารณ์ผล

การศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ของผักแขยงและผักกระโดนน้ำต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ซึ่งศึกษาปัจจัยที่ 1 คือ ชนิดของผักพื้นบ้าน และปัจจัยที่ 2 คือ ความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับต่างๆ เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากผักแขยงและผักกระโดนน้ำด้วยตัวทำละลายต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli*

ในปัจจัยที่ 1 พบว่า สารสกัดจากผักแขยงไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ โดยไม่พบบริเวณใสบนอาหารเลี้ยงเชื้อเนื่องจาก ในการศึกษาครั้งนี้ สารสกัดจากผักแขยงมีสารออกฤทธิ์ที่ไม่สามารถละลายในเอธิลแอลกอฮอล์ 95% ได้ เพราะว่าองค์ประกอบทางเคมีในผักแขยงมีส่วนประกอบของ d-limonene และ d-perillaldehyde ซึ่งละลายได้ในน้ำ (สุรชัย, 2542) ในขณะที่สารสกัดจากผักกระโดนน้ำ มีสารประกอบ ที่มีคุณสมบัติเป็นกรดโดยเฉพาะสารกลุ่มแทนนิน (ริกาญจน์, 2550) จึงสามารถละลายได้ในตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ดังนั้นชนิดของผักพื้นบ้านที่ต่างชนิดกัน เมื่อนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเดียวกัน อาจจะให้ผลไม่เหมือนกัน

ปัจจัยที่ 2 พบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับต่างๆ จากผลการทดลองสารสกัดจากผักแขยงที่ทุกระดับความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ เห็นได้จากไม่พบบริเวณใส เช่นกันการทดสอบในครั้งนี้ มีความสอดคล้องกับผลงานของ คมจิต และคณะ (2549) ที่พบว่า สารสกัดจากผักแขยงสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Staphylococcoc aureus,Bacillus cereus* และ *Salmonella enteritidis* ได้ แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้เช่นเดียวกัน และมีแนวโน้มว่าสารออกฤทธิ์ของผักแขยงนั้นอาจเป็นสารที่ไม่ละลายในตัวทำละลายอย่างเอธิลแอลกอฮอล์ 95% ทำให้ได้สารสกัดที่ได้มีประสิทธิภาพไม่ดีพอจึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ ส่วนสารสกัดจากผักกระโดนน้ำให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยสารสกัดจากผักกระโดนน้ำสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ในทุกระดับความเข้มข้น โดยได้ผลดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 100% และที่ระดับความเข้มข้น 90% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ดีเท่ากับที่ระดับความเข้มข้น 60, 70 และ 80% อาจเนื่องมาจากในผักกระโดนน้ำมีแทนนินเป็นองค์ประกอบ 19% (ริกาญจน์, 2550) ซึ่งสารแทนนินเป็นสารประกอบฟีนอลิก จึงสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วใกล้เคียงกัน โดยส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลิกจะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสภาพขั้วสูง เช่น เมทานอล เอทานอล และอะซีโตน (ศิวาพร และ ณัฏฐินี, 2546) และการที่มีสารแทนนิน เมื่อนำไปทดสอบการยับยั้งเจริญของเชื้อ *E. coli* น่าจะก่อให้เกิดภาวะที่ไม่เอื้อต่อการเจริญของเชื้อ *E. coli* กล่าวคือ *E. coli* จะเจริญได้ดีในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด เท่ากับ 4.4 ดังนั้นแทนนินหรือกรดแทนนินจะก่อสภาวะที่เป็นกรด สารแทนนินมีคุณสมบัติในการทำปฏิกิริยากับธาตุเหล็กเกิดเป็นสารประกอบคีเลต (chelate) จึงเป็นการขัดขวางและทำให้แบคทีเรียไม่สามารถนำธาตุเหล็กไปใช้ประโยชน์ได้ นอกจากนี้แทนนินยังมีคุณสมบัติการตกตะกอนกับโปรตีน ซึ่งมีผลโดยตรงต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย โดยสารแทนนินอาจทำปฏิกิริยากับโปรโตพลาสมาของแบคทีเรียทำให้เกิดการตกตะกอนหรือไปขัดขวางขบวนการ oxidative phosphorylations และการส่งถ่ายอิเล็กตรอนภายในไมโตรคอนเดรีย สอดคล้องกับการศึกษาผลของสารสกัดใบฝรั่งในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ในใบฝรั่งมีสารแทนนินเป็นสารออกฤทธิ์อยู่ประมาณ 8-15% และผลที่ได้คือสารสกัดใบฝรั่งสามารถลดจำนวนโคโลนีของเชื้อ *E. coli* ลงได้ (วรรณพร, 2547)

เมื่อพิจารณาทั้ง 2 ปัจจัยร่วมกัน พบว่า การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* เป็นผลเนื่องมาจากทั้งชนิดของผักพื้นบ้านและระดับความเข้มข้นที่ใช้ เช่น ที่

ระดับความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ของสารสกัดจากผักแขยง ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้เลย ในขณะที่สารสกัดจากผักกระโดนน้ำที่ระดับความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ กลับให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุด แสดงว่า สารออกฤทธิ์ที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์จากผักพื้นบ้านต่างชนิดกันไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้เหมือนกัน และระดับความเข้มข้นที่แตกต่างของสารสกัดจากผักชนิดเดียวกันก็ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* แตกต่างกันด้วย

ดังนั้นการที่จะเลือกใช้สารสกัดที่มีสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีหรือไม่นั้นจึงขึ้นอยู่กับทั้งชนิดของพืชและระดับความเข้มข้นที่นำมาใช้ รวมทั้งตัวทำละลายที่นำมาสกัดด้วย

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ด้วยสารสกัดจากผักแขยงและผักกระโดนน้ำ โดยการสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95% สามารถสรุปได้ว่าสารสกัดจากผักแขยงไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ในทุกระดับความเข้มข้น และสารสกัดผักกระโดนน้ำ ระดับความเข้มข้น 60, 70, 80, 90 และ 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ โดยที่ระดับความเข้มข้น 100% สามารถยับยั้งได้ดีที่สุด ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ดีเท่ากับระดับความเข้มข้น 60, 70 และ 80 เปอร์เซ็นต์

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยสำหรับบุคลากร ประจำปี 2551 คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์งบประมาณการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

คมจิต เนินหนู, นิภาพร เมษา และวัชรี คณะพล. 2549. การศึกษาประสิทธิภาพของผักแขยง ผักชีลาว และผักชีล้อมต่อการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Escherichia coli* และ *Salmonella enteritidis*. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร, สกลนคร.

จีระวัชร์ เข็มสวัสดิ์. 2547. โลกสุกร. พิมพ์ครั้งที่ 61. สำนักพิมพ์โลกปศุสัตว์และสุกร. กรุงเทพฯ, หน้า 20-21.

ริกาญจน์ ฉัตรสกุลวิไล. 2550. ลิกนิน – แทนนิน. แหล่งที่มา http://www.anamai.moph.go.th/factaheet/envi3_10.htm, 20 พฤษภาคม 2550.

วรรณพร พุทธนา. 2547. ผลของสารสกัดจากใบฝรั่งต่อการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* และการเจริญเติบโตของสุกรหย่านม.วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

ศิวาพร ศิวเวชช และณัฏฐินี ใจสะอาด. 2546. การสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกมันฝรั่ง, น. 12-18. *ใน* รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41 (สาขาอุตสาหกรรมเกษตร). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุรชัย มัจฉาชีพ. 2542. ผักพื้นบ้านและพืชสมุนไพร. โครงการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุ์พืช สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล กระทรวงศึกษาธิการ, กรุงเทพฯ. 203 น.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2537. คู่มือปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร. กองพยาธิวิทยาคลินิก กองวิทยาศาสตร์การแพทย์, กรุงเทพฯ. 94 น.

Christen, G.L., P.M. Davidson, J.S. McAllister and L.A. Roth. 1992. Coliform and other indicator bacteria, *pp*. 247-269. *In* R.J. Marshell (ed.). Standard Method for the Examination of Dairy Products. Port City Press. New York.

Kyriakis, S.C. 1983. Post weaning diarrhea syndrome (PNDS) of piglets: A new therapeutic approach with the supporting therapy (STH). Pig News and Inf. 4: 23-27.

SAS. 1996. SAS User's Guide : A basis version 6. SAS Institute Inc., North Carolina. 1986 p.

Vudhivanich S. 2003. Effect of Thai Herbal Extract for Growth Inhibition of *Xanthomonas axonopodis* pv. citri, the Bacterial Canker of Citrus. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 37: 445-452.

Received 7 January 2009
Accepted 3 June 2009