



242605

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ในสุกรของน้ำมันหอมระ夷
จากพืชสมุนไพรที่รับประทานได้

Antimicrobial Activity of Essential Oil from Edible Plants in Swine

รองศาสตราจารย์ ดร. ภญ. ศิริพร โอโกโนกิ
หัวหน้าโครงการวิจัย

ธันวาคม 2553



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ในสูกรของน้ำมันหอมระ夷
จากพืชสมุนไพรที่รับประทานได้

Antimicrobial Activity of Essential Oil from Edible Plants in Swine



รองศาสตราจารย์ ดร. ภญ. ศิริพร โอโกโนกิ
หัวหน้าโครงการวิจัย

ธันวาคม 2553

คำนำ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากบประมาณเงินรายได้ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีงบประมาณ 2551 โดยมีรายนามนักวิจัยในโครงการดังต่อไปนี้

- | | |
|-----------------------------------|---|
| 1. รศ. ดร. ภญ. ศิริพร โอโกโนกิ | คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ถนนสุเทพ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ |
| 2. รศ. ดร. ภก. วิรัตน์ นิวัฒนันท์ | คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ถนนสุเทพ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ |
| 3. รศ. ดร. ภญ. กนกพร นิวัฒนันท์ | คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ถนนสุเทพ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ |
| 4. นางสาว วีໄล เบ้าธรรม | คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ถนนสุเทพ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ |

โครงการวิจัยนี้มีจุดประสงค์หลัก เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในสุกร และสมบัติเคมีภายในพืชของพืชสมุนไพรที่รับประทานได้ในวงศ์ Zingiberaceae จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ข่า ขมิ้นชัน และ ไฟล ผู้วิจัยหวังว่าข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการทดลองนี้จะเป็นประโยชน์ในด้านข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ของสมุนไพรทั้งสามแล้ว ซึ่งเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้สมุนไพร ไทยและทรัพยากรธรรมชาติในประเทศไทย อีกด้วย

คณะผู้วิจัย
มีนาคม 2554

สารบัญเรื่อง

	หน้า
คำนำ	1
สารบัญเรื่อง	2
สารบัญตาราง	3
สารบัญรูปภาพ	5
บทคัดย่อภาษาไทย	8
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	10
บทที่	
1. บทนำ	12
2. การดำเนินการวิจัย	22
3. ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	41
เอกสารอ้างอิง	88

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3-1 ทดสอบปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่สักด้วย	41
3-2 สมบัติภายนอกของน้ำมันหอมระเหย	41
3-3 ทดสอบค่าความหนาแน่น และ Refractive index ของน้ำมันหอมระเหย	43
3-4 ทดสอบสมบัติการละลายของน้ำมันหอมระเหย	44
3-5 ทดสอบค่าแรงตึงผิวของน้ำมันหอมระเหย	45
3-7 ทดสอบการต้านเชื้อ <i>E.coli</i> ของน้ำมันหอมระเหยเมื่อใช้วิธี Disc diffusion	47
3-7 ทดสอบการต้านเชื้อ <i>E.coli</i> ของน้ำมันหอมระเหยเมื่อใช้วิธี Well diffusion	47
3-8 ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อของน้ำมันหอมระเหยจากข้าว	48
3-9 ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อของน้ำมันหอมระเหยจากมนุษย์	48
3-10 ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อของน้ำมันหอมระเหยจากไพล	49
3-11 ทดสอบองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากข้าว	51
3-12 ทดสอบองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากมนุษย์	52
3-13 ทดสอบองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากไพล	54
3-14 ทดสอบค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อ <i>S. aureus</i> ATCC 25223 ของน้ำมันหอมระเหยจากข้าวและน้ำมันหอมระเหยจากไพล	58
3-15 ทดสอบค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อ <i>E. coli</i> ATCC 25222 ของน้ำมันหอมระเหยจากข้าวและน้ำมันหอมระเหยจากไพล	59
3-16 ทดสอบชนิดและปริมาณสารที่มีประสิทธิภาพในน้ำมันหอมระเหยจากข้าว	62
3-17 ทดสอบพื้นที่ไดกราฟของสารที่มีประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากข้าว เมื่อกีบในเวลา 3 เดือนและในสภาพสิ่งแวดล้อมต่างๆ	63
3-18 ทดสอบค่า MIC ต่อเชื้อททดสอบของน้ำมันหอมระเหยจากข้าว เปรียบเทียบกับ Gentamicin	67
3-19 ทดสอบค่า MBC ต่อเชื้อทดสอบของน้ำมันหอมระเหยจากข้าว เปรียบเทียบกับ Gentamicin	68

ตารางที่	หน้า
3-20 ทดสอบปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> ATCC 25922 ที่ยังเหลืออยู่เมื่อเวลาต่าง ๆ	72
3-21 ทดสอบปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> (Field strain 1) ที่ยังเหลืออยู่เมื่อเวลาต่าง ๆ	72
3-22 ทดสอบปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> (Field strain 2) ที่ยังเหลืออยู่เมื่อเวลาต่าง ๆ	73
3-23 ทดสอบปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> (Field strain 3) ที่ยังเหลืออยู่เมื่อเวลาต่าง ๆ	73
3-24 ทดสอบปริมาณเชื้อ <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028 ที่ยังเหลืออยู่เมื่อเวลาต่าง ๆ	74
3-25 ทดสอบปริมาณเชื้อ <i>S. sonii</i> DMST 561 ที่ยังเหลืออยู่เมื่อเวลาต่าง ๆ	74
3-26 ทดสอบปริมาณเชื้อ <i>L. monocytogenes</i> DMST 1730 ที่ยังเหลืออยู่เมื่อเวลาต่าง ๆ	75
3-27 ทดสอบปริมาณเชื้อ <i>S. aureus</i> ATCC 25923 ที่ยังเหลืออยู่เมื่อเวลาต่าง ๆ	75

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
1-1 แสดงลำต้นเห็นอคินและลำต้นได้คินของข่า	16
1-2 แสดงลำต้นเห็นอคิน และลำต้นได้คินของขมิ้นชัน	18
1-3 แสดงลักษณะใบและลำต้นได้คินของไพล	20
2-1 แสดงการกลั่นน้ำมันหอมระ夷ในปริมาณน้อย	26
2-2 แสดงการกลั่นน้ำมันหอมระ夷ในปริมาณมาก	27
2-3 แสดงการการเก็บน้ำมันหอมระ夷ที่กลั่นได้	28
2-4 แสดงการทดสอบสมบัติการละลายของน้ำมันหอมระ夷	30
2-5 แสดงลักษณะภายนอกของเครื่อง Refractometer	31
2-6 แสดงลักษณะการใช้งานโดยเครื่อง Refractometer	31
2-7 แสดงลักษณะภายนอกของเครื่อง Plate Tensiometer	32
2-8 แสดงลักษณะภายในของเครื่อง Plate Tensiometer	32
3-1 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมันหอมระ夷ที่สกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ	42
3-2 แสดงลักษณะของน้ำมันหอมระ夷จากพืชทั้งสาม	42
3-3 แสดง GC Chromatogram ของน้ำมันหอมระ夷จากข่า	55
3-4 แสดง GC Chromatogram ของน้ำมันหอมระ夷จากขมิ้น	56
3-5 แสดง GC Chromatogram ของน้ำมันหอมระ夷จากไพล	57
3-6 เปรียบเทียบค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อ <i>S. aureus</i> ATCC 25223 ระหว่างน้ำมันหอมระ夷จากข่าและน้ำมันหอมระ夷จากไพล	59
3-7 เปรียบเทียบค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อ <i>E. coli</i> ATCC 25222 ระหว่างน้ำมันหอมระ夷จากข่าและน้ำมันหอมระ夷จากไพล	60
3-8 เปรียบเทียบปริมาณสารในน้ำมันหอมระ夷จากข่า ภายหลังเก็บที่ตู้เย็น	64

หัวข้อ	หน้า
3-9 เปรียบเทียบปริมาณสารในน้ำมันหอมระเหยจากข่า ภายหลังเก็บที่อุณหภูมิห้อง	65
3-10 เปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจากข่า ภายหลังเก็บที่ 45 องศา	66
3-11 เปรียบเทียบค่า MIC ต่อเชื้อททดสอบของน้ำมันหอมระเหยจากข่า เปรียบเทียบกับ Gentamicin	69
3-12 เปรียบเทียบค่า MBC ต่อเชื้อททดสอบของน้ำมันหอมระเหยจากข่า เปรียบเทียบกับ Gentamicin	70
3-13 แสดงปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> ATCC 25922 ที่เหลือ [*] ภายหลังสัมผัสน้ำมันหอมระเหยจากข่าที่เวลาต่าง ๆ	76
3-14 แสดงปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> (Field strain 1) ที่เหลือ [*] ภายหลังสัมผัสน้ำมันหอมระเหยจากข่าที่เวลาต่าง ๆ	77
3-15 แสดงปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> (Field strain 2) ที่เหลือ [*] ภายหลังสัมผัสน้ำมันหอมระเหยจากข่าที่เวลาต่าง ๆ	78
3-16 แสดงปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> (Field strain 3) ที่เหลือ [*] ภายหลังสัมผัสน้ำมันหอมระเหยจากข่าที่เวลาต่าง ๆ	79
3-17 แสดงปริมาณเชื้อ <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028 ที่เหลือ [*] ภายหลังสัมผัสน้ำมันหอมระเหยจากข่าที่เวลาต่าง ๆ	80
3-18 แสดงปริมาณเชื้อ <i>S. sonii</i> DMST 561 ที่เหลือ [*] ภายหลังสัมผัสน้ำมันหอมระเหยจากข่าที่เวลาต่าง ๆ	81
3-19 แสดงปริมาณเชื้อ <i>L. monocytogenes</i> DMST 1730 ที่เหลือ [*] ภายหลังสัมผัสน้ำมันหอมระเหยจากข่าที่เวลาต่าง ๆ	82
3-20 แสดงปริมาณเชื้อ <i>S. aureus</i> ATCC 25923 ที่เหลือ [*] ภายหลังสัมผัสน้ำมันหอมระเหยจากข่าที่เวลาต่าง ๆ	83
3-21 แสดงรูปร่างของเชื้อแบคทีเรีย <i>E.coli</i> ATCC 25922 ในตอนเริ่มต้น	85

รูปที่	หน้า
--------	------

- | | |
|---|----|
| 3-22 แสดงรูปร่างของเชื้อแบคทีเรีย <i>E.coli</i> ATCC 25922
ภายในหลังได้รับน้ำมันหอมระเหยจากช่า 5 นาที | 86 |
| 3-23 แสดงรูปร่างของเชื้อแบคทีเรีย <i>E.coli</i> ATCC 25922
ภายในหลังได้รับน้ำมันหอมระเหยจากช่า 10 นาที | 87 |

บทคัดย่อ

242605

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลทรรษก่อโรคในสูตรของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากเหง้าพีชสมุนไพรที่รับประทานได้ในวงศ์ Zingiberaceae 3 ชนิด ได้แก่ ข่มิ้นชัน และไฟล โดยเริ่มจากการรวบรวมเหง้าของพีชทั้งสามชนิดจากบริเวณภาคเหนือของประเทศไทย จากนั้นทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยออกจากเหง้าสดของพีชแต่ละชนิด โดยการกลั่นโดยใช้น้ำ ผลของการสกัดพบว่าปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเหง้าข่า ข่มิ้นชัน และไฟล มีค่าเท่ากับ 0.2, 0.2, และ 0.3% ของน้ำหนักเหง้าสดของพีชตามลำดับ น้ำมันหอมระเหยของพีชทั้งสามมีลักษณะเป็นของเหลวใสมีสีแตกต่างกัน

การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรรษของน้ำมันหอมระเหยของพีชทั้งสามชนิด ประเมินโดยใช้ความกว้างของบริเวณขับยึงเชื้อในจานเพาะเชื้อ รวมทั้งได้ทำการศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดในการขับยึงเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ (MBC) ของสารทดสอบด้วย โดยเลือกใช้จุลินทรรษสายพันธุ์ที่มักก่อโรคในสูตรจำนาน 19 สายพันธุ์มาเป็นเชื้อทดสอบ ผลการทดลองพบว่าน้ำมันหอมระเหยของข่าให้ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรรษก่อโรคเหล่านี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงที่สุด และสามารถต้านเชื้อทดสอบซึ่งประกอบด้วยเชื้อทั้งที่เป็นแกรมบวกและแกรมลบได้มากชนิดที่สุดด้วย ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากมินไม่แสดงฤทธิ์การต้านเชื้อคังก์ล่าวเหล่านี้เลย เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มของน้ำมันหอมระเหยจากพีชทั้งสามชนิด พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากข่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อสูงที่สุด จากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS พบว่าองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากข่ามีความแตกต่างจากการขององค์ประกอบของน้ำมันอินเด็ก 2 ชนิด โดยพบว่าองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากข่าคือ 1,8 Cineole ในขณะที่องค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากมินชันและไฟลเป็น beta-Bisabolene และ Terpinen-4-ol ตามลำดับ การศึกษาค่า MIC และ MBC ของน้ำมันหอมระเหยจากข่าทำให้ทราบว่ากลไกการต้านเชื้อจุลินทรรษของน้ำมันหอมระเหยจากข่าเป็นการฆ่าเชื้อมากกว่าการขับยึงการเจริญเติบโตของเชื้อ การศึกษาอัตราเร็วในการฆ่าเชื้อพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากข่าสามารถฆ่าเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็วกว่า Gentamicin ซึ่งใช้เป็นตัวควบคุมบวกในการทดสอบครั้งนี้

242605

ผลการวิจัยจากโครงการนี้สามารถสรุปได้ว่า ในบรรดาเหง้าพืชที่รับประทานได้ 3 ชนิด ในวงศ์ Zingiberaceae คือ ข่า ขมิ้นชัน และไพลนั้น ข่าเป็นพืชที่มีฤทธิ์ที่สนใจมากที่สุด อาจกล่าวได้ว่าข่าเป็นแหล่งธรรมชาติที่คิดว่าสุดของชีวสารสำคัญที่ให้ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในสุกร

ABSTRACT**242605**

The objective of this research project was to investigate and compare the antimicrobial activity against pathogenic bacteria in swine of the essential oils of three different edible plants in family Zingiberaceae; *Alpinia galanga*, *Curcuma longa*, and *Zingiber cassumuna*. Rhizomes of the plants were collected from the northern region of Thailand. Fresh rhizome of each plant was used in extraction for essential oils by hydrodistillation. It was found that the yield of the essential oil was 0.2, 0.2, and 0.3% of the fresh rhizome of *A. galanga*, *C. longa*, and *Z. cassumuna*, respectively. The outer appearance of the essential oil obtained from each plant was clear liquid but different in color according to the plant.

The antimicrobial activity of the essential oils was investigated by determination of the inhibition zone from the plate agar. Nineteen strains of bacteria mostly found as pathogens in swine were used as the test microorganisms. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bacteriocidal concentration (MBC) were also determined. It was found that the essential oil of *A. galanga* showed the highest antimicrobial activity. They could inhibit almost all of the tested strains including gram positive and gram negative bacteria whereas the extract of *C. longa*, and *Z. cassumuna* could inhibit only 1 and 3 strains of gram negative bacteria, respectively. Among the essential oils of the three plants, the essential oil of *A. galanga* presented the highest antimicrobial activity. GC-MS analysis indicated that the constituents existing in *A. galanga* oil were much different from the other two oils. The major composition of *A. galanga* essential oil was 1,8 Cineole whereas that of *C. longa*, and *Z. cassumuna* was beta-Bisabolene and Terpinen-4-ol respectively. The MIC and MBC values of *A. galanga* essential oil against most of the tested microorganisms indicated that its mechanism of antimicrobial action was through bacteriocidal activity. The killing rate of *A. galanga* essential oil against most of the tested strains was more rapid and efficient than the positive control gentamicin.

242605

It was concluded that among the edible tested plant rhizomes; *A. galanga*, *C. longa*, and *Z. cassumuna* which are in family Zingiberaceae, *A. galanga* was the best plant and suitable to be the natural source of bioactive substances possess high antimicrobial activity against pathogenic strains in swine.