



# การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของ แบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียบนผิวสัมผัส

## The Study of Efficacy of Herbal Extracts on Growth Inhibition of Pathogenic Bacteria and Surface Bacteria

ชไมเคิล สาทิ, สุรเดช พรหมเอาะ, รุจิรดา ช่างขวัญยืน\*

คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ลำปาง 52190

Chamaikoel Satee, Suradet Promaoa, Ruchirada Changkwanyun\*

Faculty of Public Health, Thammasat University, Lampang 52190

Received 17 January 2023; Received in revised 16 February 2023; Accepted 24 February 2023

### บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรไทยต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียบนพื้นผิวสัมผัส มะนาว (*Citrus aurantifolia*) ขิง (*Zingiber officinale*) และขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) นำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิดที่ต่างกันคือ น้ำและเอทานอล จากนั้นนำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิดคือ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp. ด้วยวิธี Broth dilution test โดยทดสอบที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 100, 50, 25, 12.5 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากขมิ้นชันซึ่งใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้ดีที่สุด โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้เท่ากับ 6.25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ การตรวจหาแบคทีเรียทั้งหมดบนพื้นผิวสัมผัสพบว่าปุ่มกดในลิฟต์มีจำนวนแบคทีเรียมากที่สุด การทดสอบการยับยั้งเชื้อบนพื้นผิวปุ่มกดในลิฟต์พบว่าสารสกัดจากขมิ้นชันซึ่งใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุดลดได้ร้อยละ 52.85 ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการทดลองที่ได้นี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้สมุนไพรไทยโดยเฉพาะขมิ้นชันเพื่อยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและบนพื้นผิวสัมผัส ทำให้ลดความเสี่ยงการใช้สารเคมีและทำให้มนุษย์มีความปลอดภัยมากขึ้น

คำสำคัญ: สมุนไพรไทย; แบคทีเรียก่อโรค; แบคทีเรียบนพื้นผิวสัมผัส; ขมิ้นชัน

## Abstract

The study of efficacy of Thai herbs extracted on growth inhibition of pathogenic bacterial and surface bacterial. Lime (*Citrus aurantifolia*), ginger (*Zingiber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*) were extracted with 2 different solvents; water and ethanol. Then Thai herb extracts were tested antibacterial activities against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. by using broth dilution test with the extract concentration of 100, 50, 25, 12.5 and 6.25 mg/mL. The results showed that turmeric extracted with ethanol had the highest efficacy to inhibit 3 pathogenic bacterial with MIC and MBC of 6.25 and 50 mg/mL, respectively. The car operating panel inside of elevator had the highest number of total bacteria. Turmeric extracted with ethanol showed the highest activity to inhibit 52.85% of control at concentration of 50 mg/mL. The all results suggest that Thai herbs especially turmeric can apply to use for inhibiting and killing pathogenic and surface bacterial which reduce the risk of exposure to chemicals and improve safety of human being.

**Keywords:** Thai herb; Pathogenic bacteria; Surface bacteria; Turmeric

## 1. บทนำ

โรคติดต่อจากอาหารและน้ำ (Food and Water Borne Diseases) เป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญของโลก โดย 10% ของประชากรโลกป่วยด้วยโรคติดต่อจากอาหารและน้ำ ประชากรมากกว่า 400,000 คนเสียชีวิตจากอาการอุจจาระร่วง (1) สำนักโรคติดต่อในประเทศไทยรายงานผู้ป่วยจากโรคติดต่อจากอาหารและน้ำในปี 2562 จำนวน 716,513 ราย (1,095.21 ต่อแสนประชากร) (2) โดยสาเหตุของโรคติดต่อจากอาหารและน้ำส่วนใหญ่เกิดจากการรับประทานอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษหรือแบคทีเรียก่อโรค ซึ่งแบคทีเรียก่อโรคที่พบบ่อย ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhi*, *Salmonella Typhimurium* (3) เชื้อก่อโรคเหล่านี้มักพบการปนเปื้อนและกระจายอยู่ทั่วไปตามแหล่งต่างๆ เช่น ดิน น้ำ อากาศ รวมถึงติดอยู่ตามพื้นผิวอุปกรณ์เครื่องใช้ต่างๆ ดังนั้นการป้องกันการติดต่อโดยการทำความสะอาดบนพื้นผิวสัมผัสเหล่านี้จึงเป็นวิธีป้องกันการเกิดโรคได้อีกทางหนึ่ง ในการควบคุมแบคทีเรียที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัสบริเวณสถานที่หรืออุปกรณ์ต่างๆ

นั้นมักจะใช้สารเคมีในการฆ่าเชื้อ ซึ่งเป็นนิยมใช้ในบ้านเรือนและในชีวิตประจำวัน เนื่องจากการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำได้สะดวกรวดเร็ว ไม่มีกระบวนการที่ยุ่งยาก แต่สารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้เป็นสารพิษ มีพิษต่อคน เช่น สารประกอบกลุ่มคลอรีนที่ใช้ในบ้านเรือนจะมีความเข้มข้นประมาณ 3 – 6% ซึ่งจัดเป็นสารที่มีฤทธิ์ระคายเคือง กรณีที่เข้าตาหรือโดนผิวหนัง จะมีอาการคันแสบหรือบวมเล็กน้อย ถ้าเป็น hypochlorite ที่มีความเข้มข้นสูง 15 – 20% จะมีฤทธิ์ระคายเคืองสูง เพราะกัดกร่อนระบบทางเดินอาหาร จากผลกระทบและอันตรายของสารเคมีดังกล่าว จึงมีความสนใจใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เพื่อทดแทนสารเคมีเหล่านี้

สมุนไพรเป็นแหล่งผลิตสารสกัดจากธรรมชาติที่สำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์ เนื่องจากสารสกัดจากสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ อีกทั้งสมุนไพรที่อยู่ในสมุนไพรเป็นสารที่สลายตัวได้ง่าย มีความปลอดภัยต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม มีการศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจำนวนมาก และเนื่องด้วยคุณสมบัตินี้ทำให้สมุนไพรหลายชนิดถูกนำมาใช้ในการรักษาโรค (4) โดยสมุนไพรหลายชนิดที่

มีการนำสารสกัดมาใช้ในการรักษาโรค ได้แก่ มะระขี้นก (*Momordica charantia* L.) (5), มะตูมแขก (*Schinus terebinthifolius*) (6), ใบบัวบก (*Centella asiatica*) (7), มังคุด (*Garcinia mangostana* Linn) (8) และ ชีโพลี ( *Senna siamea* Lam.) (9) สมุนไพรไทยนั้นถูกนำมาใช้เป็นยารักษามานานหลายศตวรรษ เนื่องจากมีฤทธิ์ฤทธิ์พิเศษที่มีสรรพคุณประกอบกัน สารประกอบนี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งและฆ่าแบคทีเรีย โดยจะทำให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียเกิดความเสียหายและตาย สมุนไพรไทยนั้นสามารถหาซื้อได้ง่ายตามตลาดทั่วไป โดยเฉพาะมะนาว ขิง และขมิ้นชัน ซึ่งมีขายในทุกฤดูกาล และทั่วทุกภูมิภาคของไทย บางชนิดถูกนำมาปลูกไว้ในครัวเรือน จากการศึกษาสารสกัดจากเมล็ดมะนาว พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas cichorii* และ *E. coli* (10) ในสารสกัดขิง มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อหลายชนิด ทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา เช่น *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Candida albicans* (11) และในน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชัน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa*, Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) และ *S. epidermidis* ได้ดี (12)

แม้มีข้อมูลการยับยั้งแบคทีเรียของสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดที่กล่าวมา แต่วิธีการสกัดสารสมุนไพรนั้นแตกต่างกัน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบของสมุนไพรแต่ละชนิดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียบนพื้นผิวสัมผัส โดยใช้สมุนไพรทั้งหมด 3 ชนิด คือ มะนาว ขิง และขมิ้นชัน ซึ่งหาซื้อได้ง่ายตามท้องตลาด ผลการศึกษาที่ได้คาดว่าจะจะเป็นแนวทางในการนำสมุนไพรไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้สำหรับยับยั้งหรือควบคุมเชื้อแบคทีเรียที่พบบนพื้นผิวสัมผัส และช่วยลดการใช้สารเคมีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เพื่อลดสารตกค้างในสิ่งแวดล้อม และเป็นการนำสมุนไพรที่มีในท้องถิ่นมาเพิ่มมูลค่าให้เกิดประโยชน์สูงสุด

## 2. วิธีดำเนินการวิจัย

### 2.1 การสกัดสมุนไพร

งานวิจัยนี้ได้สกัดสารจากสมุนไพรตัวอย่าง ได้แก่ มะนาว ขมิ้น และขิง ตัวอย่างสมุนไพรนำมาจากตลาดสดใน อำเภอห้างฉัตร จังหวัดลำปาง โดยเก็บในช่วงเดือนกันยายน ปี 2565 และใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือน้ำและเอทานอล โดยวิธีการสกัดดัดแปลงมาจากจิราภรณ์ บุราคร (13) ส่วนของสมุนไพรที่ใช้ในการสกัดคือ ผลของมะนาว (ทั้งเปลือกและเมล็ด), เหง้าของขิง, และเหง้าของขมิ้นชัน

#### 2.1.1 การสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

นำมะนาว ขิง และขมิ้นชันมาล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง แล้วนำมาหั่นและปั่นให้มีขนาดเล็กโดยไม่ต้องปอกเปลือกอย่างละ 20 กรัม เติมน้ำ 50 มิลลิลิตร สกัดด้วยน้ำ (อัตราส่วนตัวอย่างสมุนไพรต่อน้ำเท่ากับ 2 : 5) นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำมากรองด้วยผ้าขาวบางแล้วกรองด้วย Syringe Filter 0.45 ไมโครเมตร แล้วนำสารละลายทั้งหมดใส่ในเครื่องดูดความชื้น เพื่อให้น้ำระเหย จะได้สารสกัดในรูปสารสกัดหยาบ (crude extract) เก็บสารสกัดตัวอย่างที่จะใช้ทดสอบในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

#### 2.1.2 การสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

นำมะนาว ขิง และขมิ้นชันมาล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง แล้วนำมาหั่นและปั่นให้มีขนาดเล็กโดยไม่ต้องปอกเปลือก อย่างละ 500 กรัม สกัดโดยแช่เอทานอล 1000 มิลลิลิตร (อัตราส่วนสมุนไพรตัวอย่างต่อเอทานอลเท่ากับ 1:2) หมักที่อุณหภูมิห้อง นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า ความเร็วรอบ 100 นาที เป็นเวลา 7 วัน นำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 เพื่อแยกส่วนตัวอย่างพืชออก แล้วนำสารละลายทั้งหมดทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ เพื่อให้เอทานอลระเหยจนหมด จะได้สารเข้มข้นดี เก็บสารสกัดตัวอย่างที่จะใช้ทดสอบในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ร้อยละของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดซึ่งสกัดด้วยน้ำ และเอทานอลคำนวณได้ดังนี้

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{Weight of crude extract}}{\text{Weight of fresh herb}} \times 100$$

## 2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัด ด้วยวิธี Broth dilution test

### การเตรียมสารสกัด

เตรียมสารสกัดจากมะนาว ขิง และขมิ้นชัน ให้มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยนำส่วน สารสกัดสมุนไพร 5 กรัม ละลายด้วย 1% Dimethylsulfoxide (DMSO) 50 มิลลิลิตร (อัตราส่วนตัวอย่างสมุนไพรต่อ DMSO เท่ากับ 1:10 )

### 2.2.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียเพื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบคือ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์มาตรฐาน ATCC 25923, *Escherichia coli* สายพันธุ์มาตรฐาน ATCC 25922 และ *Salmonella* spp. ซึ่งแยกมาจากตัวอย่างอาหาร นำเชื้อแบคทีเรียใส่หลอดทดลองที่บรรจุอาหาร Mueller Hinton Broth (Himedia™, India) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 - 18 ชั่วโมง นำเชื้อมาปรับปริมาณโดยเทียบความขุ่นมาตรฐาน McFarland standard เบอร์ 1 ซึ่งมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียประมาณ  $5 \times 10^5$  CFU/mL (14)

### 2.2.2 การเตรียมสารสกัดสำหรับทดสอบ

นำสารสกัดสมุนไพรที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มข้นลดลง โดยมีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 50, 25, 12.5 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

### 2.2.3 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (Minimal Inhibitory Concentration: MIC)

นำสารสกัดที่มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 100, 50, 25, 12.5 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร ของแต่ละความเข้มข้น และนำเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ใส่ลงไป ในหลอดทดลองข้างต้นหลอดละ 0.5 มิลลิลิตร โดยมีหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth ที่มี DMSO และเชื้อแบคทีเรีย เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) และหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Broth ที่มีเพียง DMSO เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการหาค่า MIC โดยสังเกตหลอดสุดท้ายที่ไม่มีการเจริญของแบคทีเรีย หรืออาหารเพาะเชื้อในหลอดไม่ขุ่น อ่านค่าความเข้มข้นของสารทดสอบของหลอดนี้เป็นค่า MIC

### 2.2.4 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal Bactericidal Concentration : MBC)

นำ Loop จุ่มลงไปหลอดทดลองที่ไม่ขุ่นจากการทดลอง MIC รวมทั้งหลอดอาหารที่เป็นตัวควบคุม นำมา streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (Himedia™, India) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และอ่านผลโดยถ้าเชื้อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะถือว่าความเข้มข้นนั้นไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ แต่ถ้าไม่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จะถือว่าความเข้มข้นนั้นจะสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้เป็นค่า MBC

## 2.3 การทดสอบการยับยั้งเชื้อบนพื้นผิวสัมผัสด้วยสารสกัดสมุนไพร

### 2.3.1 การตรวจหาแบคทีเรียทั้งหมดบนพื้นผิวสัมผัส

เก็บตัวอย่างเชื้อบริเวณมือจับประตู ปุ่มกดลิฟต์ และราวบันได เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ทุกวันพฤหัสบดี เป็นจำนวน 3 ครั้ง โดยวิธี การ swab test โดยใช้ไม้พ่นสำลีปราศจากเชื้อจุ่มในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น ร้อยละ 0.85 (0.85% NaCl) ปริมาณหลอดละ 5 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด หลอดที่ 1, 2 และ 3 โดยนำไม้พ่นสำลี swab บริเวณมือจับประตู ปุ่มกดลิฟต์ และราวบันได ตามลำดับ เสร็จแล้วใช้ไม้พ่นสำลีจุ่มลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ จากนั้นใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายขึ้นมา 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar ที่เตรียมไว้ ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยสารละลายให้ทั่วผิวน้ำอาหาร ทิ้งไว้ให้ผิวน้ำอาหารแห้ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมานับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียทั้งหมดโดยใช้แว่นขยาย เพื่อเลือกบริเวณพื้นผิวที่พบเชื้อ

แบคทีเรียมากที่สุดมาทดสอบด้วยสารสกัดจากสมุนไพร

### 2.3.2 การทดสอบการยับยั้งเชื้อบนพื้นผิวสัมผัสด้วยสารสกัดสมุนไพร

ใช้ไม้พ่นสำลีปราศจากเชื้อจุ่มในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น ร้อยละ 0.85 (0.85% NaCl) ปริมาณหลอดละ 5 มิลลิลิตรนำไม้พ่นสำลี swab บริเวณพื้นผิวที่พบเชื้อแบคทีเรียมากที่สุด จากนั้น ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายขึ้นมา 0.1 มิลลิลิตร มา spread plate ลงบนผิวน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายขึ้นมา 0.1 มิลลิลิตร มา spread plate ลงบนผิวน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar พักทิ้งไว้ 5 นาที และใช้ไมโครปิเปตดูดสารสกัดความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบขึ้นมา 0.1 มิลลิลิตร มา spread plate ลงบนผิวน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar โดยเลือกความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ของแต่ละสมุนไพรมาใช้ในการทดลอง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนับจำนวนโคโลนีโดยใช้แว่นขยาย

ร้อยละของการยับยั้งแบคทีเรียบนพื้นผิวโดยสารสกัดสมุนไพรคำนวณได้ดังนี้

$$\% \text{ inhibition} = \left[ \frac{\text{Average of bacteria in control} - \text{Average of bacteria in sample}}{\text{Average of bacteria in control}} \right] \times 100$$

## 2.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Microsoft excel Version 16.16.27 สำหรับการคำนวณค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± SD) การวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำใช้ Multiple comparison: ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ที่  $p < 0.05$

## 2.5 การรับรองความปลอดภัยทางชีวภาพ

งานวิจัยนี้ได้รับการพิจารณาและอนุมัติโดยคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ (โครงการที่ 095/2565) การใช้จุลินทรีย์ที่เสนอทั้งหมดดำเนินการอย่างเคร่งครัดตามคำแนะนำในแนวทางความปลอดภัยทางชีวภาพ

### 3. ผลการวิจัย

#### 3.1 ผลการสกัดสมุนไพร

ตัวอย่างสมุนไพรจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ มะนาว, ขิง, และขมิ้นชัน ถูกนำมาสกัดด้วยน้ำและเอทานอล พบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดมีลักษณะแตกต่างกัน โดยสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำ และทำให้แห้งด้วยเครื่องดูดความชื้น ยังคงมีลักษณะเป็นของเหลว โดยมีร้อยละของน้ำหนักแห้งตั้งแต่ 73 – 28.5 กรัม โดยขิงได้ปริมาณสาร

สกัดหยาบ (crude extract) มากที่สุดคือ ร้อยละ 73 ต่อน้ำหนักแห้ง รองลงมา คือ ขมิ้นชัน และมะนาว ตามลำดับ ส่วนการสกัดด้วยเอทานอลโดยวิธีการหมักแล้วนำมาทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ จะได้สารสกัดที่มีลักษณะเหนียวข้น มะนาวได้ปริมาณสารสกัดหยาบ (crude extract) มากที่สุด คือร้อยละ 6.39 ต่อน้ำหนักแห้ง รองลงมา คือ ขิง และขมิ้นชัน ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Characteristic of Thai herbs after extracted with two difference solvents.

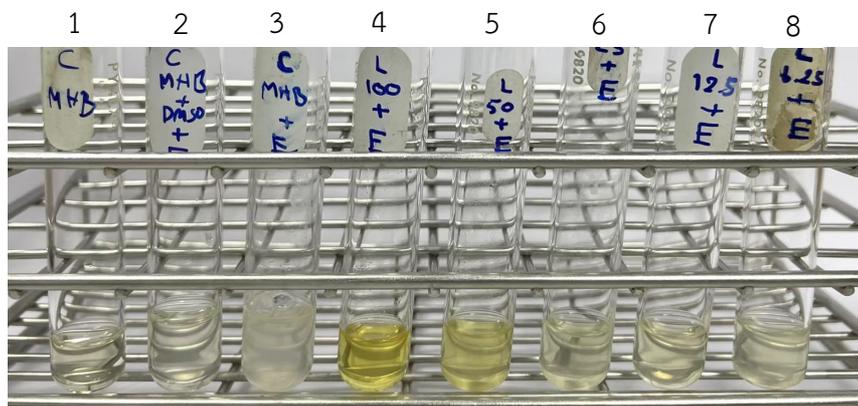
Thai herb samples	Solvents	Color of extracts	Characteristic of extracts	% yield of dry weight (g)
Lime	Water	Bright yellow	Liquid	28.5
	Ethanol	Dark yellow	Sticky	6.39
Ginger	Water	Bright yellow	Liquid	73
	Ethanol	Dark yellow	Sticky	3.19
Turmeric	Water	Bright brown	Liquid	41
	Ethanol	Dark brown	Sticky	1.80

#### 3.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดด้วยวิธี Broth dilution test

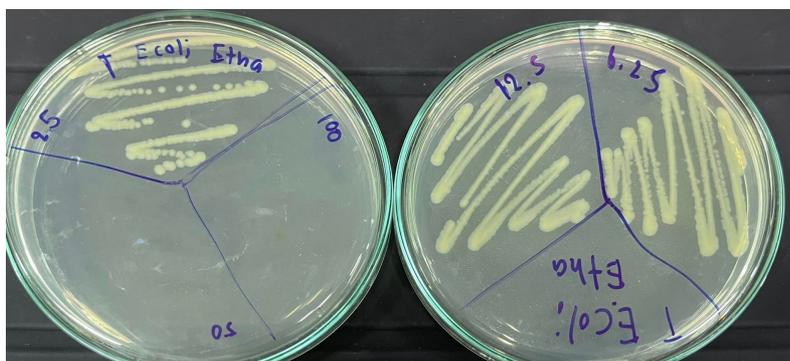
การหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) ของสารสกัดหยาบมะนาว ขิง และขมิ้นชัน ต่อเชื้อ *S. aureus*, *E. coli* และ *Salmonella* spp. (แสดงใน Figure 1 และ Figure 2, supplement data) พบว่า สารสกัดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย : สารสกัดจากมะนาวที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *Salmonella* spp. ได้ สำหรับสารสกัดจากขิงที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ และที่ความเข้มข้น

ตั้งแต่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* spp. ได้ ส่วนสารสกัดจากขมิ้นชันที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและความเข้มข้นตั้งแต่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* spp. และ *S. aureus* ได้ ตามลำดับ ทั้งนี้ สารสกัดจากขมิ้นชันที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ทั้ง 3 ชนิด

การทดลองเพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ พบว่า สารสกัดจากขมิ้นชันที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถฆ่าเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้ ดังแสดงใน Table 2



**Figure 1** Minimum inhibitory concentration (MIC) of Thai herbs extracts against *Escherichia coli*. Tube 1, MHB; Tube 2, MHB with DMSO; Tube 3, MHB with DMSO and *E. coli*; Tube 4, *E. coli* with 100 mg/mL Thai herb extract; Tube 5, *E. coli* with 50 mg/mL Thai herb extract; Tube 6, *E. coli* with 25 mg/mL Thai herb extract; Tube 7, *E. coli* with 12.5 mg/mL Thai herb extract; Tube 8, *E. coli* with 6.25 mg/mL Thai herb extract.



**Figure 2** Minimum bactericidal concentration (MBC) of Thai herbs extracts against *Escherichia coli*.

**Table 2** Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and Minimal Bactericidal Concentration (MBC) of lime, ginger, and turmeric extracts against three pathogenic bacterial.

Pathogenic bacterial	Solvent	MIC (mg/ml)			MBC (mg/ml)		
		Lime	Ginger	Turmeric	Lime	Ginger	Turmeric
<i>E. coli</i>	Water	100	50	100	100	100	100
	Ethanol	100	NA	6.25	100	NA	50
<i>S. aureus</i>	Water	25	50	50	100	NA	100
	Ethanol	100	NA	6.25	100	NA	50
<i>Salmonella</i> spp.	Water	25	25	25	100	100	100
	Ethanol	100	NA	6.25	100	NA	50

NA: No activity

**3.3 ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อบนพื้นผิวสัมผัสด้วยสารสกัดสมุนไพร**

จากการเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียบริเวณมือจับประตู ราวบันได และปุ่มกดลิฟต์ โดยทำการเก็บตัวอย่าง 3 ครั้ง พบว่าแบคทีเรียบริเวณปุ่มกดลิฟต์มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียมากที่สุด (Table 3) ดังนั้นจึงเลือกบริเวณปุ่มกดลิฟต์เพื่อใช้ในการทดสอบการยับยั้งเชื้อบนพื้นผิวสัมผัสด้วยสารสกัดจากสมุนไพร โดยเลือกความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ของแต่ละสมุนไพร มาใช้ในการทดลอง ผลการทดลองพบว่า สารสกัดสมุนไพรมะนาวที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดปริมาณเชื้อ

แบคทีเรียลงได้ ร้อยละ 40.97 เมื่อทดสอบสารสกัดจากขิงที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียลงได้ ร้อยละ 38.73 และสารสกัดจากขมิ้นชันที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียลงได้ ร้อยละ 52.85 แสดงใน Table 4 จากการทดสอบสถิติด้วย multiple comparison : ANOVA พบว่า สารสกัดสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดสามารถลดปริมาณของเชื้อแบคทีเรียลงได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p < 0.05) ค่าวิเคราะห์ทางสถิติ ดังแสดงใน Table 5 (supplement data)

**Table 3** Total bacterial count from three surface areas.

Surface area	Total bacteria count (CFU/ml ±SD)
1. Door handle	$4.8 \times 10^2 \pm 7.21$
2. Handrail	$0.97 \times 10^2 \pm 5.51$
3. Car operating panel	$41.93 \times 10^2 \pm 64.61$

Table 4 Antibacterial effect of Thai herbs against the surface bacteria on car operating panel.

Thai herbs	Solvents	Concentration (mg/mL)	Number of bacteria (CFU/mL)			Average	% of inhibition
			1 <sup>st</sup> collection	2 <sup>nd</sup> collection	3 <sup>rd</sup> collection		
Lime	Water	100	247	258	260	255±7.00	40.97
Ginger	Water	100	252	259	283	264.67±16.26	38.73
Turmeric	Ethanol	50	195	200	216	203.67±10.97	52.85
Control	-	-	415	436	445	432±15.39	

Table 5 Analysis between three thai herbs affecting to number of surface bacteria using multiple comparison: ANOVA.

Three times sampling		df	SS	MS	F	P-value
Thai herbs	Between group	2	6449.556	3224.778	22.308	.002
	In group	6	867.333	144.556		
	Sum	8	7316.889			

#### 4. อภิปรายผลการทดลอง

จากการทดลองสกัดสารจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด โดยใช้น้ำและเอทานอลเป็นตัวทำละลาย นำสารสกัดสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด มาทดสอบการยับยั้งการเจริญและฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารที่สำคัญ 3 ชนิด พบว่า ตัวทำละลายและชนิดของสมุนไพรมีผลต่อการยับยั้งและฆ่าเชื้อ เนื่องจากคุณสมบัติของสมุนไพรและตัวทำละลายที่ต่างกัน โดยสารสกัดขิงมีองค์ประกอบที่สำคัญคือสารในกลุ่มฟีนอลิก เป็นกลุ่ม gingerol ซึ่งมีรายงานว่า gingerol สามารถฆ่าเชื้อ *Helicobacter pylori* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญที่ทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหาร (15). นอกจากนี้สารสกัดจากขิงสามารถฆ่าเชื้อรา *Rhizopus* sp. ได้ โดยผลจากการสกัดแยกส่วนตามฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioassay-guided isolation) พบว่า 6-,8-,10-gingerol และ 6-ginger-

diol เป็นสารประกอบสำคัญที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อรา (16) ส่วนในสารสกัดจากมะนาว โดยเฉพาะเปลือกมีสาร limonene ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียและทำให้เกิดความเสียหายต่อ DNA ของแบคทีเรีย เป็นผลทำให้แบคทีเรียตาย (17) สารสกัดจากมะนาวนั้นสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เช่น *Vibrio harveyi*, *Lactococcus garvieae* และ *Streptococcus parauberis* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.125 mg/mL (18) ในการวิจัยนี้พบว่าขมิ้นชันที่สกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งและฆ่าเชื้อได้ดีที่สุด โดยการศึกษาผลของการสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* พบว่าขมิ้นชันที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. hydrophila* ได้ดีที่สุด (19) และจากการศึกษาน้ำมันหอมระเหยในขมิ้นชัน พบว่า

สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium*, *Bacillus cereus*, *S. aureus* และ MRSA (12) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากขมิ้นชันสามารถนำมาใช้ในการป้องกันเชื้อก่อโรคได้ การศึกษาก่อนหน้านี้นี้พบว่าสารประกอบในขมิ้นชัน เช่น  $\beta$ -turmerone, camphor, ar-turmerone, และ curcuminoids มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย โดย  $\beta$ -turmerone มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *B. cereus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, และ *S. aureus* (20) ในขณะที่สาร camphor และ ar-turmerone สามารถยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา (21, 22) สาร curcuminoids นั้นออกฤทธิ์ยับยั้งการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -lactamase (23) และโครงสร้างของสารชนิดนี้ประกอบด้วย phenol และ hydroxyl group ซึ่งเป็นโมเลกุลขนาดเล็กและมีพันธะเดี่ยว สามารถแทรกตัวเข้าสู่ชั้นผนังเซลล์ของแบคทีเรียได้ง่าย และสร้างพันธะกับโมเลกุลต่างๆภายในเซลล์ เช่น protein kinase, adhesion molecules (24) ทำให้ขมิ้นชันนั้นมีคุณสมบัติในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด นอกจากนี้พบว่าชนิดของขมิ้นมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันเช่น ในขมิ้นอ้อยมีสารในกลุ่ม terpene, alkaloid, และ flavonoid มีฤทธิ์ในการต่อต้านแบคทีเรีย โดยมีกลไกในการทำลายสาร peptidoglycan ที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ส่งผลให้สารมีผลอย่างมากโดยเฉพาะในแบคทีเรียแกรมบวก (25, 26, 27) ทั้งนี้ผลจากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากสมุนไพรทั้งมะนาวจิง และขมิ้นชัน สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ อาจเกิดจากองค์ประกอบของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ซึ่งองค์ประกอบเหล่านั้นออกฤทธิ์ในวงกว้าง ทำให้สามารถยับยั้งได้ทั้งเชื้อแกรมบวกและแกรมลบในปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดที่แตกต่างกัน

ตัวทำละลายในการศึกษาวิจัยนี้ใช้น้ำและเอทานอล โดยพบว่าตัวทำละลายมีผลต่อฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย โดยพบว่าเอทานอลนั้นให้ผลในการยับยั้ง

และฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด โดยเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีไม่ขี้และไม่ขื่นและเป็นตัวทำละลายที่มีขี้ทำให้มีผลต่อลักษณะของสารสกัดที่ได้มา โดยสมุนไพรที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่เป็นแอลกอฮอล์จะมีลักษณะสีที่เข้มและมีความข้นหนืด แต่สมุนไพรที่สกัดด้วยน้ำเป็นตัวทำละลายมีลักษณะสีจางและเหลว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยสารสกัดจากสมุนไพรไทย 25 ชนิดด้วยตัวทำละลายเอทานอล, น้ำ, เมทานอล, คลอโรฟอร์ม, และเฮกเซน พบว่าสารสกัดจากผลของมะขามป้อม, แก่นของต้นขี้เหล็ก และเปลือกทับทิมซึ่งสกัดด้วยเอทานอลให้ผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด โดยมีผลในการยับยั้งต่อเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis*, *Klebsiella pneumoniae*, และ *Enterobacter cloacae* ได้ดีและมีค่า MIC เท่ากับ 0.3 - >3% (w/v) อีกทั้งยังสามารถยับยั้งยีสต์ *Trichosporom mucoides* ได้ที่ค่า MIC เท่ากับ 1.2 - 2.4% (w/v) (28) นอกจากนี้ในงานวิจัยที่สกัดสมุนไพร 9 ชนิดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันคือ น้ำ เอทานอล และเมทานอล พบว่าลักษณะของสารสกัดสมุนไพรมีความแตกต่างกัน และสมุนไพรที่สกัดด้วยเมทานอลให้ผลในการยับยั้งและฆ่าเชื้อ *E. coli* และ *S. epidermidis* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ เอทานอล ทั้งนี้เอทานอลมีความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยกว่า ดังนั้นจึงเป็นที่นิยมใช้มากกว่าเมทานอล (13) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ที่พบว่าสารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วยตัวทำละลายแอลกอฮอล์ให้ผลในการยับยั้งที่ดีที่สุด โดยตัวทำละลายแอลกอฮอล์เป็นที่นิยมในการนำมา เพราะมีความสามารถในการละลายกว้างมากและขจัดออกได้ง่ายโดยไม่ต้องใช้ความร้อนสูง ทั้งนี้ในงานวิจัยนี้ตัวทำละลายน้ำ ในขั้นตอนการระเหยน้ำออก เนื่องจากความไม่พร้อมของเครื่องมือทำให้ต้องใช้เครื่องดูดความชื้นซึ่งอาจทำให้น้ำระเหยออกไปไม่หมด ส่งผลจากลักษณะของสารสกัดที่ยังคงเป็นของเหลว อาจส่งผลต่อความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรในการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรีย ดังนั้นงานวิจัยในภายหน้าควรใช้เครื่องมือที่เหมาะสมต่อการจัดน้ำออกจากสารสกัดสมุนไพร

การติดเชื้อแบคทีเรียที่มีสาเหตุมาจากการรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อ การหายใจ รวมทั้งการสัมผัสบริเวณพื้นผิวที่มีการปนเปื้อนเชื้อ โดยส่วนใหญ่แบคทีเรียที่พบบนพื้นผิวสัมผัสคือ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่พบได้ตามส่วนต่างๆ ในร่างกายมนุษย์ เช่น มือ จมูก รวมทั้งเสื้อผ้า ทั้งนี้จากการศึกษาแบคทีเรียบนพื้นผิวสัมผัสในหอพักนักศึกษา บริเวณที่พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อนี้มากที่สุดคือ ลูกบิดประตู (29) นอกจากนี้ยังพบเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ตามพื้นผิวสัมผัส โดยเชื้อ *E. coli* มักพบปนเปื้อนวัตถุติดอาหารที่มีการปนเปื้อนอุจจาระ นอกจากนี้ยังพบเชื้อ *E. coli* ในฝุ่นภายในอาคาร ฝุ่นเหล่านี้ไปเกาะอยู่ตามวัตถุต่างๆภายในอาคาร เมื่อมือไปสัมผัสวัตถุนั้นก็จะเป็นการได้รับเชื้อ *E. coli* เข้าไปในร่างกายด้วย (30) ซึ่งจะเห็นว่าแบคทีเรียที่ปนเปื้อนบนผิวสัมผัสนั้นมีทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ จากผลการทดลองการตรวจหาแบคทีเรียทั้งหมดบนผิวสัมผัส เมื่อจับประตู ปุ่มกดลิฟต์ และราวบันได มีการปนเปื้อนแบคทีเรียและอาจมีเชื้อก่อโรครวมอยู่ในแบคทีเรียทั้งหมดด้วย บริเวณที่เก็บตัวอย่างมาทดลองทั้งหมด เป็นบริเวณที่ทุกคนสัมผัสร่วมกัน ทั้งนี้บริเวณที่พบจำนวนแบคทีเรียมากที่สุดคือ ปุ่มกดลิฟต์ สาเหตุมาจากเป็นบริเวณที่ไม่มีการทำความสะอาดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ ดังนั้นจึงเป็นจุดเสี่ยงในการแพร่กระจายของเชื้อก่อโรค

จากผลงานวิจัยในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าสกัดจากขมิ้นชันที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียทั้งหมดลงได้มากที่สุด ผลการทดลองที่ได้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการเลือกสมุนไพรพื้นบ้านมาประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด งานวิจัยของกชวรรณกำสินได้ศึกษาฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อของสารสกัดจากบัวบกพบว่ามียุทธในการฆ่าเชื้อ *S. aureus* จึงได้นำบัวบกมาเตรียมเป็นสารสกัดพร้อมทั้งพัฒนาสูตรตำรับสบู่เหลวจากสมุนไพร และนำมาทดสอบฤทธิ์ฆ่าเชื้อโดยการล้าง

นิ้วมือของอาสาสมัคร 10 คน เทียบกับการล้างด้วยน้ำประปาและสบู่เหลวทั่วไปที่มีจำหน่ายในท้องตลาด พบว่าสบู่เหลวที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากบัวบกสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียได้มากกว่าการล้างนิ้วมือด้วยน้ำประปาและสบู่เหลวทั่วไปอย่างชัดเจน (3) ดังนั้นการใช้ขมิ้นชัน ซึ่งเป็นสมุนไพรไทยในท้องถิ่นที่หาได้ง่ายตามตลาดสด ราคาถูก หากนำมาพัฒนาเป็นสารสกัดใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด จะช่วยลดสารเคมี ลดการปนเปื้อนและการตกค้างของสารเคมีสู่สิ่งแวดล้อม และเป็นการเพิ่มมูลค่าสมุนไพรพื้นบ้านไทยอีกทางหนึ่งด้วย

## 5. สรุปผลการทดลอง

จากการนำสารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ มะนาว ขิง และขมิ้นชัน ที่สกัดโดยใช้น้ำและเอทานอลเป็นตัวทำละลาย มาทดสอบการยับยั้งและฆ่าเชื้อก่อโรค *S. aureus*, *E. coli* และ *Salmonella* spp. รวมทั้งแบคทีเรียทั้งหมดบนพื้นผิวสัมผัส พบว่าสารสกัดจากขมิ้นชันที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถฆ่าเชื้อได้โดยมีค่า MBC เท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และลดปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดบนปุ่มกดลิฟต์ได้ร้อยละ 52.85 ดังนั้นสารสกัดขมิ้นชัน จึงมีประสิทธิภาพดีที่สุดที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการป้องกันโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียได้

## 6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์ลำปาง ที่สนับสนุนทุนวิจัย, ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้อุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัย

## 7. References

- [1] WHO Food Safety [Internet]. WHO. World Health Organization; [cited 2022 Sep 22]. Available from <https://www.who.int/NEWS-ROOM/FACT-SHEETS/DETAIL/FOOD-SAFETY>
- [2] Epidemiology Division. 2019. Diarrhea situation in Thailand. Bangkok: Epidemiology Division
- [3] Chanchaichaovivat A, Panvila S, Prajanban J, Phornphisutthimas S. Importance pathogenic microorganisms causing intestinal diseases. *J Res Unit Sci Technol Environ Learning* 2020;11:188-206. (in Thai)
- [4] Bugno A, Nicoletti MA, Almodóvar AAB, Pereira TC, Auricchio MT. Antibacterial efficacy of *Curcuma zedoaria* extract as assessed by Linear Regression compared with commercial mouthrinses. *Brazilian Journal of Microbiol* 2007;38(3):440-445.
- [5] Costa JGM, Nascimento EMM, Campos AR, Rodrigues FFG. Antibacterial activity of *Momordica charantia* (Curcubitaceae) extracts and Fractions. *Journal of Basic and Chemical Pharmacy*. 2011;2:45-51.
- [6] Molina-Salinas GM, Pérez-López A, Becerril-Montes P, Salazar-Aranda R, Said-Fernández S, de Torres NW. Evaluation of the flora of Northern Mexico for *in vitro* antimicrobial and antituberculosis activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006;103:435-441.
- [7] Nasution MY, Restuati M, Pulungan ASS, Pratiwi N, Diningrat DS. Antimicrobial activities of *Centella asiatica* leaf and root extracts on selected pathogenic micro-organism. *Journal of Medical Sciences*. 2018;18:198-204.
- [8] Ragasa CY, Crisostomo CJJ, Garcia KDC, Shen CC. Antimicrobial Xanthones from *Garcinia mangostana*. *The Philippine Scientist*. 2010;47:63-75.
- [9] Bukar A, Mukhtar M, Hassan A. Phytochemical screening and antibacterial activity of leaf extracts of *Senna siamea* (LAM) on *Pseudomonas aeruginosa*. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*. 2009;2(1):139-142.
- [10] Kumar S, Bagchi GD, Darokar MP. Antibacterial activity observed in the seeds of some coprophilous plants. *International Journal of Pharmacognosy* 1997;35(3):179-84.
- [11] Jagetia GC, Baliga MS, Venkatesh P, Ulloor JN. Influence of ginger rhizome (*Zingiber officinale* Rosc.) on survival glutathione and lipid peroxidation in mice after whole-body exposure to gamma radiation. *Radiation Research* 2003;160:584-592.
- [12] Srisayam M, Jooduang J, Srisopa A, Keerin P, Sangthong S. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from three *Curcuma species* in Thailand. *Rajabhat Journal of Sciences, Humanities Social Science*. 2018;19:222-233. (in Thai)
- [13] Burakorn, J., Praphruet, R., 2012, Antibacterial activities of seven indigenous vegetable. *J Thai. Traditional. Alternat. Med*. 10:11-22. (in Thai)

- [14] Balouiri M, Sadiki M, Ibensouda SK. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2016;6:71-79.
- [15] Mahady GB, Pendland SL, Yun GS, Lu ZZ, Stoa A. Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and the gingerols inhibit the growth of A+ strains of *Helicobacter pylori*. *Anticancer Research*. 2003;23:3699-3702.
- [16] Ficker C, Smith ML, Akpagana K, Zhang J, Durst T, Assabgui R, Arnason JT. Bioassay-guided isolation and identification of antifungal compounds and ginger. *Phytotherapy Research*. 2003;17(8):897-902.
- [17] Chueca B, Pagán R, García-Gonzalo D. Differential mechanism of *Escherichia coli* inactivation by (+)-limonene as a function of cell physiological state and drug's concentration. *PLoS ONE*. 2014;9(4): e94072. doi:10.1371/journal.pone.0094072.
- [18] Pathirana HNKS, Wimalasena SHMP, De Silva BCJ, Hossain S, Heo GJ. Antibacterial activity of lime (*Citrus aurantifolia*) essential oil and limonene against fish pathogenic bacteria isolated from cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fisheries and aquatic life*. 2018;26:131-139.
- [19] Nonwachai T, Duankaew C. Effect of thai herbs extracted of growth inhibition of *Aeromonas hydrophila*. *Journal of KnonKaen Agriculture*. 2016;44(1):124-129. (in Thai)
- [20] Negi PS, Jayaprakasha GK, Jagan Mohan Rao L, Sakariah KK. Antibacterial activity of turmeric oil: by product from curcumin manufacture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999;47:4297-4300.
- [21] Baik KU, Jung SH, Ahn BZ. Recognition of pharmacophore of ar-turmerone for its anticancer activity. *Archives of Pharmacal Research*. 1993;16:254-256.
- [22] Jankasem M, Wuthi-udomlert M, Gritsanapan W. Antidermatophytic properties of ar-turmerone, turmeric oil, and *Curcuma longa* preparation. *ISRN Dermatology*. 2013:1-3.
- [23] Kumar S, Narain U, Tripathi S, Misra K. Syntheses of curcumin bioconjugates and study of their antibacterial activity against  $\beta$ -lactamase producing microorganism. *Bioconjugate Chemistry*. 2001;12:189-281.
- [24] Zhou H, Beevers CS, Huang S. Targets of curcumin. *Current Drug Targets*. 2011;12:332-347.
- [25] Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods: A Review. *International Journal of Food Microbiology*. 2004;94:223-253.
- [26] Jose S, Thomas TD. Comparative phytochemical and antibacterial studies of two indigenous medicinal plants *Curcuma caesia* Roxb and *Curcuma aeruginosa* Roxb. *International Journal of Green Pharmacy*. 2014;8:65-71.
- [27] Prokosa DG, Andayani S, Maftuch. In vitro phytochemical and antibacterial activity test on temuputih extract (*Curcuma zedoaria*) against *Aeromonas hydrophila*. *International Journal of Scientific and*

- Technology Research. 2016;5(2):35-37.
- [28] Phattayakorn K, Wanchaitanawong P. Antimicrobial activity of thai herb extracts against coconut milk spoilage microorganism. Kasetsart Journal : Natural Science. 2009;43:752-759.
- [29] Lertcanawanichakul M, Thongsang R, Pothikam S, Lahohya H. Detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in dormitory at Walailak University Campus, Nakhon Si Thammarat province. Thai Journal of Health Research. 2006;20(2):129-140. (in Thai)
- [30] Rosas I, Salinas E, Yela A, Calva E, Eslava C, Cravioto A. *Escherichia coli* in settled-dust and air samples collected in residential environments in Mexico City. Apply Environment Microbiology. 1997;63(10):4093-4095.
- [31] Kumsin K. Formulation of herbal antiseptic liquid soap, Bachelor Degree project, Mahidol University, Bangkok, 2008:p1. (in Thai)