

## การสกัดสารจากพืชสมุนไพรเพื่อยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร

### The Extraction of Medicinal Herbs for Inhibit Food Pathogen

สุภาพร พงษ์มณี<sup>1,2</sup> และ กัญญาณุกัด สนามพล<sup>1</sup>

Phongmanee, S.<sup>1,2</sup> and Sanampol, G.<sup>1</sup>

#### Abstract

The extracted juice, steam extraction and 95% ethanol extraction of 24 medicinal herbs were studied for their antimicrobial activities against two strains of food pathogens, *Staphylococcus aureus* TISTR 029 and *Salmonella typhimurium* TISTR 292. It was found that steam extraction of Ka-yaeng (*Limnophila aromatica* Merr.) showed highest antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus* TISTR 029. It was showed 9.5 mm. diameter of clear zone sized after 24 h. of incubation time. Extracted juice of Lead Tree (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.), 95% ethanol extraction of Pakchoi (*Brassica chinensis* L.) and leaf of Vegetable Humming Bird (*Sesbania grandiflora* (L.) Deav.) showed highest antimicrobial activities against *Salmonella typhimurium* TISTR 292. Each was showed 8.0 mm. of clear zone sized after 24 h. of incubation time.

**Keywords :** medicinal herb, extracted herb, antimicrobial activity, food pathogen

#### บทคัดย่อ

ทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำคั้นสด และสารสกัดด้วยไอน้ำ และเอธิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95% จากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้านจำนวน 24 ชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร 2 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* TISTR 029 และ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 พบว่า สารสกัดด้วยไอน้ำของผักแขยง (*Limnophila aromatica* Merr.) สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้มากที่สุด โดยมีขนาดโซนใส 9.5 มม. ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และน้ำคั้นสดของกระถิน (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.) สารสกัดด้วย 95% เอธิลแอลกอฮอล์จากกวางตุ้ง (*Brassica chinensis* L.) และใบแค (*Sesbania grandiflora* (L.) Deav.) มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Salmonella typhimurium* มากที่สุด โดยมีขนาดโซนใส 8.0 มม. ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

**คำสำคัญ :** สมุนไพรผักพื้นบ้าน สารสกัดจากสมุนไพร ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ก่อโรคทางอาหาร

#### คำนำ

สมุนไพรพืชผักพื้นบ้านของไทยมีมากมายหลากหลายชนิด โดยมีการนำมารับประทานทั้งการรับประทานสดหรือเป็นองค์ประกอบในอาหาร มีการศึกษาการใช้สมุนไพรเป็นยารักษาโรค หรือการศึกษาการสกัดสมุนไพรต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เพื่อใช้เป็นสารกันเสียในอาหารและเครื่องดื่ม (จาร์วี, 2547) อาทิ เช่น กระเทียม กานพลู (Clove) อบเชย (Cinnamon) มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ ยีสต์ และราได้ โดยมีรายงานว่า กระเทียมสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* เชื้อรา mycotoxigenic *Aspergillus* ยีสต์ *Candida albicans* ได้ หัวหอมสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ได้ ออริกาโนยับยั้งรา Mycotoxigenic *Aspergillus* แบคทีเรีย *Salmonella* spp. และ *Vibrio parahaemolyticus* ได้ เป็นต้น (Snyder, 1997) สารสกัดบวบกด้วยน้ำสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella Anatum* ได้ (สิริลักษณ์, 2548)

*Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhimurium* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ที่มักพบการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทนม เนื้อสัตว์ และไข่ไก่ ทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษได้ ดังนั้นเพื่อลดการใช้สารเคมีหรือ

<sup>1</sup>ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม ภาชีเจริญ กรุงเทพฯ 10160

<sup>2</sup>Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University, Bangkok, 10160

<sup>3</sup>E-mail address: suphapornp@yahoo.com

ยาปฏิชีวนะในอาหาร งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถของสมุนไพรหรือผักพื้นบ้านไทยในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งสองชนิดเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบเสียในอาหารทดแทนการใช้สารเคมี

**อุปกรณ์และวิธีการ**

**จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ** *Staphylococcus aureus* TISTR 029 และ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 จากศูนย์เก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย บ่มบน slant agar และเก็บในตู้เย็น จนกว่าจะใช้งาน จึงนำเชื้อมา 1 หลอดเลี้ยงในอาหารเหลว Nutrient broth ปริมาตร 5 มล. บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชม. โดยมีปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10<sup>8</sup> CFU/ml

**ตัวอย่างพืชสมุนไพรพื้นบ้าน** ซึ่งจากตลาดสดจำนวน 24 ชนิด ได้แก่ สะระแหน่ (*Metha cordifolia* Opiz ex Freser.) กระถิน (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.) ดอกขจร (*Telosma minor* Craib) ผักปราง (*Basella rubra* L.) เตยหอม (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) กระเจี๊ยบ (*Hibiscus sabdariffa* L.) แคน (*Sesbania grandiflora* (L.) Deav.) ทั้งส่วนของใบ และดอกแค ชะอม (*Acacia pennata* (L.) Willd. subsp. *Insuavis* (Lace) I.C. Nielsen) ชะพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.) ชีเหล็ก (*Senna siamea* (Lam.) Irwin & Barneby) ผักแขยง (*Limnophila aromatica* Merr.) กวางตุ้ง (*Brassica chinensis* L.) ทองหลาง (*Erythrina fusea* Lour.) ย่านาง (*Tiliacora Triandra* Diels) โหระพา (*Ocimum basilicum* L.) ผักชีล้อม (*Oenanthe javanica* (Blume) DC.) ผักชีลาว (*Anethum graveolens* L.) บัวบก (*Centella asiatica* (L.) Urb.) ยี่ห่วย (*Carum carvi* L.) ผักชีฝรั่ง (*Erygium foetidum* L.) ผักหวาน (*Melientha suavis* Pierre) ยอดบ้าน (*Morinda citrifolia* L.) ผักขม (*Amaranthus lividus* L.) และ สะเดา (*Azadirachta indica* Valetton.)

**การเตรียมพืชผักสมุนไพรพื้นบ้านแห้ง** นำพืชสมุนไพรพื้นบ้านมาล้างน้ำให้สะอาด แขน้ แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70% เป็นเวลา 3 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่น อบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลาประมาณ 3 ชม. จนกระทั่งพืชแห้ง นำมาบดให้เป็นผง

**การเตรียมน้ำคั้นพืชผักสมุนไพรพื้นบ้านสด** นำพืชสมุนไพรพื้นบ้านที่ผ่านการล้างน้ำให้สะอาด และแช่ 70% แอลกอฮอล์เป็นเวลา 3 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นบดด้วยโกร่งที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และกรองแยกกากออก จะได้น้ำสกัดจากสมุนไพร

**การสกัดพืชผักสมุนไพรพื้นบ้านด้วยไอน้ำ** นำผงสมุนไพรพื้นบ้านแห้ง 5 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 150 มล. ใส่ใน flask และทำการสกัดด้วยเครื่องสกัดโปรตีน (Figure1) เป็นเวลาประมาณ 4 ชม. เก็บสารสกัดใส่ขวดสีชา แช่ตู้เย็นจนกระทั่งจะนำไปทดสอบ



Figure 1 Protein extraction apparatus for vapor extraction of medicinal herbs.

**การสกัดพืชผักสมุนไพรพื้นบ้านด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95%** นำผงสมุนไพรพื้นบ้านแห้งมาสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95% ในอัตราส่วนผงสมุนไพรแห้ง 5 กรัม ต่อ เอทานอล 150 มล. ปิดฝาขวดให้แน่น เขย่าที่อัตรา 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 เก็บสารสกัดจากเอทานอลในขวดสีชาปิดฝาให้แน่น เก็บในตู้เย็นจนกว่าจะนำมาทดสอบ

**การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดพืชผักสมุนไพรพื้นบ้านต่อการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhimurium*** ปิเปตสารแขวนลอยเชื้อ *Staphylococcus aureus* หรือ *Salmonella typhimurium* ปริมาตร 1 มล. Spread บนจานอาหาร Nutrient Agar ทิ้งให้แห้ง นำ paper disk ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มม. ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จุ่มในสารสกัดจากสมุนไพรพื้นบ้าน ทิ้งให้แห้ง วางบนจานอาหารที่ spread เชื้อไว้ บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชม. สังเกตโซนใส (clear zone) ที่เวลา 24 ชม. และ 48 ชม. วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส

## ผล

ผลของสารสกัดและน้ำคั้นพืชผักสมุนไพรพื้นบ้านสดต่อการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* TISTR 029 น้ำคั้นสมุนไพรสดจำนวน 24 ตัวอย่าง พบว่ามีเฉพาะน้ำคั้นจากผักแขยง และดอกแค สามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้ โดยที่เวลา 24 ชม. สร้างโซนใสขนาด 6 มม. ทั้งสองชนิด และที่ 48 ชม. เกิดโซนใสขนาด 6.3 และ 6.7 มม. (Figure 2) ตามลำดับ สารสกัดจากสมุนไพรโดยเอทานอลความเข้มข้น 95% ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้แก่ สะระแหน่ ใบแค ย่านาง และยี่ห่วย โดยที่เวลา 24 ชั่วโมง สร้างโซนใสขนาด 8.0 8.7 9.0 และ 8.0 มม. ตามลำดับ ที่เวลา 48 ชั่วโมง มีขนาดโซนใส 9.0 9.0 8.7 และ 7.7 มม. ตามลำดับ ส่วนผลของสารสกัดจากสมุนไพรด้วยไอน้ำที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ที่เวลา 24 และ 48 ชม. ดังแสดงใน Table 1



Figure 2 (left) Inhibition zone against *Staphylococcus aureus* by extracted juice of Khayaeng (right) (*Limnophila aromatica* Merr.).

Table 1 Inhibition zone against *Staphylococcus aureus* by steam extraction of medicinal herbs.

Medicinal herbs	diameter of clear zone (mm)	
	24 h.	48 h.
Mentha ( <i>Mentha cordifolia</i> Opiz ex Freser.)	0	8.0
Ceylon spinach ( <i>Basella alba</i> L.)	9.0	9.0
Roselle ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	7.0	8.0
Thai copper pod ( <i>Senna siamea</i> (Lam.) Irwin & Barneby)	8.5	8.5
Khayaeng ( <i>Limnophila aromatica</i> Merr.)	9.5	9.5
Pakchoi ( <i>Brassica chinensis</i> L.)	0	6.0
Sweet basil ( <i>Ocimum basilicum</i> L.)	8.0	8.0
Dill ( <i>Anethum graveolens</i> L.)	8.5	8.5
Tiger herbal ( <i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.)	8.5	8.5

ผลของสารสกัดและน้ำคั้นพืชผักสมุนไพรสดต่อการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 น้ำคั้นสมุนไพรสดที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella typhimurium* ได้แก่ น้ำคั้นจากกระถิน เตย และแขยง โดยที่เวลา 24 ชม. สามารถสร้างโซนใสขนาด 8.0 6.0 และ 5.7 มม. ตามลำดับ เมื่อระยะเวลาบ่มที่ 48 ชม. พบว่าน้ำคั้นจากกระถินและเตย มีการสร้างโซนใสที่กว้างขึ้นเป็น 11.0 และ 16.0 มม. ตามลำดับ สารสกัดสมุนไพรด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95% จากกวาดั่ง และใบแค ที่เวลาบ่ม 24 และ 48 ชม. สร้างโซนใสขนาด 8.0 มม.เท่ากัน ตามลำดับ ส่วนสารสกัดชะอมด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95% ไม่สามารถสร้างโซนใสที่ 24 ชม.ได้ แต่สามารถสร้างโซนใสขนาด 6.0 มม.ได้ที่เวลา 48 ชม. ส่วนผลของสารสกัดสมุนไพรด้วยไอน้ำต่อ *Salmonella typhimurium* ดังแสดงใน Table 2

### สรุปและวิจารณ์ผล

นำคั้นจากขิงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในอาหารได้ทั้ง *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhimurium* แต่ทั้งนี้พบว่าการยับยั้งการเจริญของนำคั้นจากขิงต่อ *Salmonella typhimurium* มีฤทธิ์สั้นเพียงประมาณ 24 ชม. โดยเมื่อบ่มระยะ เวลานั้นขึ้นที่ 48 ชม. จะมีการเจริญของเชื้อเกิดขึ้นได้ สารสกัดสมุนไพรด้วยไอน้ำที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิด ได้แก่

Table 2 Inhibition zone against *Salmonella typhimurium* by steam extraction of medicinal herbs.

Medicinal herbs	diameter of Clear zone (mm)	
	24 h.	48 h.
Ceylon spinach ( <i>Basella alba</i> Linn.)	0	7.0
Thai copper pod ( <i>Cassia siamea</i> Britt.)	0	7.5
Khayaeng ( <i>Limnophila aromatica</i> (Lomk.) Merr.)	0	8.0
Sweet basil ( <i>Ocimum basilicum</i> L.)	0	8.7
Dill ( <i>Anethum graveolens</i> L.)	0	8.5
Fitweed ( <i>Eryngium foetidum</i> Linn.)	0	7.0

สารสกัดจากผักปรางค์ ชี้เหล็ก โหระพา และผักชีลาว แต่ทั้งนี้การยับยั้งการเจริญของ *Salmonella typhimurium* จะเกิดขึ้นช้าเห็นได้จากผลการยับยั้งที่เวลา 48 ชม. สารสกัดสมุนไพรด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95% ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ ได้แก่ สารสกัดจากใบแค ดังนั้นอาจสรุปได้ว่านำคั้นจากขิง และสารสกัดด้วยไอน้ำจากผักปรางค์ ชี้เหล็ก โหระพา และผักชีลาว และสารสกัดจาก 95% เอทานอลของใบแค มีความเหมาะสมที่จะนำไปศึกษาเพื่อพัฒนาเป็นสารกันเสียในอาหารได้ จากการเปรียบเทียบวิธีการสกัดสารสกัดสมุนไพรด้วยไอน้ำและการสกัดสมุนไพรด้วย 95% เอทานอล พบว่า วิธีการสกัดด้วยไอน้ำมีผลทำให้ได้สารสกัดซึ่งมีผลยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhimurium* ได้มากกว่าวิธีการสกัดด้วย 95% เอทานอล ซึ่งในการทดลองของ สิริลักษณ์ (2548) พบว่าการสกัดใบบัวบกด้วยน้ำก็มีผลต่อการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่าการสกัดใบบัวบกด้วยแอลกอฮอล์

### คำขอบคุณ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยสยามที่สนับสนุนทุนวิจัยในการทำวิจัยในครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

Snyder Peter O., 1997, Antimicrobial effects of spices and herb. [online], Available:

<http://www.hi-tm.com / Documents/Spices.html> [January/ 25/ 2007]

จาววี สุขประเสริฐ, 2547, การคัดเลือกสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการผลิตไวน์, วิทยานิพนธ์หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

สิริลักษณ์ สำราญบำรุง, 2548, ผลของสารสกัดบัวบกต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Anatum* และเชื้อแบคทีเรียแลคติก (บางชนิด) ที่เกี่ยวข้องกับอาหารหมัก, วิทยานิพนธ์หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสุขาภิบาล สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.