การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรที่พบบริเวณโรงเรียนนายร้อยพระจุลจอมเกล้า ต่อเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดกลิ่นเท้า

Antibacterial Activities of Medicinal Plant Crude Extracts Found around Chulachomklao Royal Military Academy against Bacteria Causing Foot Odor

ร้อยเอกหญิง ดร.ปวีณา วัดบัว[1] นักเรียนนายร้อย คุณานนท์ อั้นเต้ง[2]
นักเรียนนายร้อย ณัฐวุฒิ วงษ์วิชา[2] นักเรียนนายร้อย ธนพล วัฒนาธร[2]
นักเรียนนายร้อย อภิรักษ์ อินทชิต[2] นักเรียนนายร้อย นิจิโรจน์ จรัสบวรพันธ์[2]

[1]อาจารย์ กองวิชาเคมี ส่วนการศึกษา โรงเรียนนายร้อยพระจุลจอมเกล้า
E-mail: pawwad@hotmail.com
[2]นักเรียนนายร้อย ชั้นปีที่ 4 สาขาวิชาเคมีประยุกต์ทางทหารและวิชาการทหาร,
กองวิชาเคมี ส่วนการศึกษา โรงเรียนนายร้อยพระจุลจอมเกล้า

บทคัดย่อ : การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรที่พบบริเวณโรงเรียน นายร้อยพระจุลจอมเกล้า 20 ชนิด ที่มีผลต่อเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus* และเชื้อแบคทีเรียรหัส F1, F2 ที่ได้จากเท้าของผู้ที่มีกลิ่นเท้า โดยสารสกัดหยาบสกัดด้วยน้ำ 70% เอทานอล และ 70% ไอโซโพรพานอล เมื่อนำไปทดลองด้วยวิธี Agar Well Diffusion ผลการทดลองพบว่า มีสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, S. aureus,* F1 และ F2 จำนวน 22 11 17 และ 16 ชนิด ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า มีสารสกัดหยาบจำนวน 11 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิดได้ เมื่อนำสารสกัดทั้ง 11 ชนิด มาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง (MIC) และฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 1.56 – 12.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ยกเว้นสารสกัดด้วย 70% ไอโซโพรพานอล จากใบพลูและต้นลูกใต้ใบที่ไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และสารสกัดด้วย 70% ไอโซโพรพานอล จากต้นลูกใต้ใบ และสารสกัดด้วย 70% เอทานอล จากใบพลู ใบทับทิม ต้นน้ำนมราชสีห์ และสารสกัดด้วย 70% ไอโซโพรพานอล จากต้นลูกใต้ใบไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ สำหรับค่า MIC และ MBC ของยาปฏิชีวนะ Chloramphenicol ต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วง 3.75 – 7.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และค่า MIC และ MBC ของยาปฏิชีวนะ Ampicillin ต่อเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis,* F1 และ

F2 มีค่าอยู่ในช่วง 12.5 – 25.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* พบว่า ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ไม่สามารถยับยั้งได้ ผลการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปต่อยอดความรู้สร้างผลิตภัณฑ์ที่ใช้แก้ปัญหากลิ่นเท้าโดยใช้สารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรได้อีกด้วย

คำสำคัญ : พืชสมุนไพร โรงเรียนนายร้อยพระจุลจอมเกล้า แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดกลิ่นเท้า

ABSTRACT : In this study, aqueous, 70% ethanol, and 70% isopropanol crude extracts derived from 20 medicinal plants found around Chulachomklao Royal Military Academy were investigated for their antibacterial activity against *Bacillus subtilis, Staphylococcus* aureus, and 2 bacterial strains isolated from feet with odor; F1 and F2. By agar well diffusion method, the results showed that 22, 11, 17, and 16 crude extracts expressed antibacterial activity against *B. subtilis, S. aureus,* F1, and F2, respectively, with inhibition zone of 7.53 – 17.99 mm. In addition, it was found that 11 crude extracts exhibited antibacterial activity against all tested bacteria. Therefore, these 11 crude extracts were further used to test for the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). MIC and MBC of 11 crude extracts against 4 bacterial strains were in the range of 1.56 – 12.50 mg/ml. However, 70% isopropanol crude extracts from *Piper betel* L. and *Phyllanthus amarus* Schum & Thonn. could not inhibit B. subtilis, whereas, 70% ethanol crude extracts from *Piper betel* L., *Punica granatum* L., and *Euphorbia hirta* L., and 70% isopropanol crude extracts from Phyllanthus amarus Schum & Thonn. could not inhibit S. aureus. MIC and MBC of chloramphenicol against these 4 bacterial strains were in the range of 3.57 – 7.50 µg/ml. While, MIC and MBC of ampicillin against *B. subtilis,* F1 and F2were in the range of 12.50 – 25.00 µg/ml. However, ampicillin could not inhibit *S. aureus.* This study findings suggest that crude extracts from medicinal plants found around Chulachomklao Royal Military Academy have the potential to be developed into anti-foot odor products.

Keywords : Medicinal plant, Chulachomklao Royal Military Academy, Bacteria Causing Foot Odor

1. บทนำ

ชีวิตประจำวันของทหารและนักเรียนนายร้อยมีกิจกรรมที่จำเป็นต้องใส่ถุงเท้าและรองเท้าเป็นเวลานาน ทำให้เกิดความอับชื้นจากการสะสมของเหงื่อและเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้เกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์และทำให้เสียบุคลิกภาพได้ ตัวอย่างของเชื้อแบคทีเรียที่มีรายงานถึงการก่อให้เกิดกลิ่นเท้า เช่น *Micrococcus spp., Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* และ *Bacillus subtilis* เป็นต้น [1] การป้องกันกลิ่นเท้าสามารถทำได้โดยการทำให้เท้าแห้งอยู่เสมอ โดยอาจใช้แป้งฝุ่นฆ่าเชื้อโรยบริเวณฝ่าเท้า การใช้สเปรย์ระงับกลิ่นเท้า หรือการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะและยาในกลุ่ม เบนซอยล์เปอร์ออกไซด์ (Benzoyl peroxide) [2] อย่างไรก็ตามการใช้ยาปฏิชีวนะอาจก่อให้เกิดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียได้ [3] ในปัจจุบันจึงมีการแก้ปัญหาดังกล่าวโดยการนำพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการบำบัดรักษาโรคและต้านทานเชื้อแบคทีเรียมาประยุกต์ใช้แทนยาปฏิชีวนะ เนื่องจากพืชสมุนไพรก่อให้เกิดผลข้างเคียงน้อยและทำให้เกิดการดื้อยาน้อยกว่ายาปฏิชีวนะ [4] ตัวอย่างของพืชสมุนไพรที่นำมาใช้ในการระงับกลิ่นเท้า เช่น สะระแหน่ [5] มะกรูด และ ขมิ้นชัน เป็นต้น ซึ่งพืชสมุนไพรเหล่านี้มีสารเคมีที่สำคัญและมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เช่น Coumarin, Curcuminoids, Linalool และ Terpinene-ol เป็นต้น [2] ผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรที่พบบริเวณโรงเรียนนายร้อยพระจุลจอมเกล้าที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของกลิ่นเท้า

2. ระเบียบวิธีวิจัย

2.1 การสำรวจพืชสมุนไพรบริเวณโรงเรียนนายร้อยพระจุลจอมเกล้า

สำรวจ รวบรวมเอกสาร และศึกษาสรรพคุณของพืชสมุนไพรที่พบบริเวณโรงเรียนนายร้อยพระจุลจอมเกล้า จากนั้นเลือกพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการป้องกันกลิ่นเท้าและ/หรือมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค นำมาศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดกลิ่นเท้า

2.2 การสกัดสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร

อบพืชสมุนไพรในตู้อบ (Hot Air Oven) ที่อุณหภูมิประมาณ 50°C จากนั้นสกัดด้วยน้ำ, 70% เอทานอล และ 70% ไอโซโพรพานอล (อัตราส่วนพืชต่อสารสกัด 1:4) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำสารละลายที่สกัดได้กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ (Rotary Evaporator) คำนวณหาร้อยละผลได้จาก

$$\text{ร้อยละผลได้ (\% yield)} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดหยาบ} \times 100}{\text{น้ำหนักของพืชสมุนไพรแห้ง}}$$

จากนั้นเก็บสารที่ได้ใน Desiccator [5] สารสกัดหยาบที่ถูกสกัดด้วยน้ำจะถูกละลายกลับด้วยน้ำ ในขณะที่สารสกัดหยาบที่ถูกสกัดด้วย 70% เอทานอล และ 70% ไอโซโพรพานอล จะถูกละลายกลับด้วย 20% DMSO จากนั้นกรองผ่านเยื่อกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบต่อไป

2.3 การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดกลิ่นเท้าของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร

2.3.1 การแยกเชื้อแบคทีเรีย

เก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียจากเท้าของผู้มีกลิ่นเท้าโดยวิธีการ Swab ด้วยไม้พันสำลีตามบริเวณฝ่าเท้าของผู้มีกลิ่นเท้า นำไม้พันสำลีจุ่มลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว Nutrient Broth (NB) บ่มที่ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเชื้อที่ได้มาแยกจนได้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่มีลักษณะของ โคโลนีที่แตกต่างกัน

2.3.2 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well Diffusion Method

การทดสอบการออกฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรด้วยวิธี Agar Well Diffusion Method ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Kostecki และคณะ [6, 7] โดยนำเชื้อแบคทีเรียที่มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland Standard (เชื้อประมาณ 106 – 108 CFU/ml) มาเกลี่ยให้ทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง Nutrient Agar (NA) ด้วยไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ เจาะหลุมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 มิลลิเมตร เติมสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ลงในหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37^{o}C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ตรวจผลการทดลองโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงกลมใส (Inhibition Zone) ที่เกิดขึ้นรอบๆ หลุมที่ใส่สารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร เปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรกับยาปฏิชีวนะ

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้ ได้แก่ *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* และเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด ที่ได้จากเท้าของผู้ที่มีกลิ่นเท้า ได้แก่ เชื้อรหัส F1 และ F2

2.3.3 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Inhibitory Concentration, MIC)

นำสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรมาเจือจางลงครึ่งละ 2 เท่า ด้วย NB ให้มีความเข้มข้นระหว่าง 1.56 – 50.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เติมเชื้อแบคทีเรีย (0.5 McFarland Standard) ในอัตราส่วน 1:1 บ่มที่อุณหภูมิ 37^{o}C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้สารในหลอดทดลองใสและไม่พบการตกตะกอน ถือว่าเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย [3]

2.3.4 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Bactericidal Concentration, MBC)

นำสารสกัดจากข้อ 2.3.3 ที่ใสและไม่พบการตกตะกอนของเชื้อที่ก้นหลอดทดลองมา Streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง Nutrient agar (NA) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37^{o}C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ 99.99% (ค่าความเข้มข้นที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียบน NA) ถือว่าเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย [8]

3. ผลการวิจัยและอภิปราย

3.1 สำรวจพืชสมุนไพรบริเวณโรงเรียนนายร้อยพระจุลจอมเกล้า

จากการศึกษาสรรพคุณของพืชสมุนไพรที่พบบริเวณโรงเรียนนายร้อยพระจุลจอมเกล้า พบพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการป้องกัน

กลิ่นเท้าและ/หรือมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค จำนวน 20 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1

3.2 การสกัดสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร

นำสารสกัดหยาบด้วยน้ำ 70% เอทานอล และ 70% ไอโซโพรพานอล จากพืชสมุนไพรทั้ง 20 ชนิด มาคำนวณหาร้อยละของผลผลิต (% Yield) ต่อน้ำหนักแห้ง ผลการคำนวณร้อยละของผลผลิตต่อน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรแสดงดังตารางที่ 2 จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากใบฝรั่งให้ร้อยละของผลผลิตสูงสุดคือ 27.32% รองลงมาคือสารสกัดด้วย 70% เอทานอล จากใบชะพลู และสารสกัดด้วยน้ำจากต้นน้ำนมราชสีห์ ซึ่งให้ร้อยละของผลผลิตเท่ากับ 24.56% และ 22.70% ตามลำดับ

3.3 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดกลิ่นเท้าของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร

3.3.1 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar Well Diffusion Method

จากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเบื้องต้นของสารสกัดหยาบ 63 ชนิด จากพืชสมุนไพร 20 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบจำนวน 22 11 17 และ 16 ชนิด แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, S. aureus,* เชื้อรหัส F1 และ F2 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด อยู่ในช่วง 7.53 – 17.20 9.83 – 17.93 8.93 – 15.03 และ 9.90 – 17.60 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ของสาร สกัดหยาบต่อเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, S. aureus,* และเชื้อรหัส F2 พบว่า สารสกัด

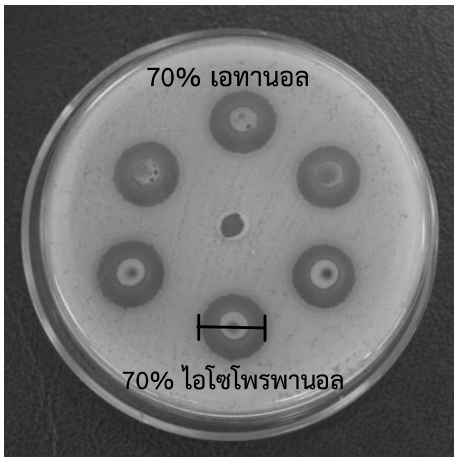
ตารางที่ 1 พืชสมุนไพร 20 ชนิด ที่พบบริเวณโรงเรียนนายร้อยพระจุลจอมเกล้า

ที่	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อวงศ์	ส่วนที่ใช้	สรรพคุณ
1	รางจืด	*Thunbergia laurifolia* Lindl.	Acanthaceae	ใบ	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas sobria* และ *A. caviae* [9]
2	ว่านสี่ทิศ	*Hippeastrum johnsonii* Bury	Amaryllidaceae	หัว	รักษาฝีประเภทต่าง ๆ [10]
3	มะม่วง	*Mangifera indica* Linn.	Anacardiaceae	เมล็ด	ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ [11]
4	สาบเสือ	*Chromolaena odoratum* (L.) King et Robins.	Asteraceae	ใบ	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* [12]
5	น้ำนมราชสีห์	*Euphorbia hirta* L.	Euphorbiaceae	ทั้งต้น	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *A. sobria* และ *A. caviae* [9]
6	ลูกใต้ใบ	*Phyllanthus amarus* Schum & Thonn.	Euphorbiaceae	ทั้งต้น	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *A. sobria* และ *A. caviae* [9]
7	สะระแหน่	*Mentha cordifolia* Opiz.	Lamiaceae	ส่วนเหนือดิน	ดับกลิ่นเท้า ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *Klebsiella pneumonia* [5]

ตารางที่ 1 พืชสมุนไพร 20 ชนิด ที่พบบริเวณโรงเรียนนายร้อยพระจุลจอมเกล้า (ต่อ)

ที่	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อวงศ์	ส่วนที่ใช้	สรรพคุณ
8	ชมพู่	*Eugenia javanica* Lam.	Myrtaceae	ใบ	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *A. sobria* [13]
9	ฝรั่ง	*Psidium guajava* L.	Myrtaceae	ใบ	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora subsp.* Carotovora [14]
10	ผักกะสัง	*Peperomia pellucida* Korth	Peperomiaceae	ทั้งต้น	รักษาโรคผิวหนัง สิว พอกฝี ต้านแบคทีเรีย [15]
11	ชะพลู	*Piper sarmentosum* Roxb.	Piperaceae	ใบ	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *K. pneumonia* [5]
12	พลู	*Piper betel* L.	Piperaceae	ใบ	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสกุล Bacillus ที่เจริญในรองเท้า [2]
13	ตะไคร้	*Cymbopogon citratus* Stapf	Poaceae	ส่วนเหนือดิน	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus, Streptococcus agalactiae* และ *E. coli* [16]
14	ตะไคร้หอม	*Cymbopogon winterianus* Jowitt.	Poaceae	ส่วนเหนือดิน	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus, Streptococcus agalactiae* และ *E. coli* [16]
15	ทับทิม	*Punica granatum* L.	Punicaceae	ใบ	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Micrococcus sedentarius* ที่ทำให้เกิดกลิ่นเท้า [17]
				เปลือกผล	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. carotovora subsp.* Carotovora [14]
16	มะกรูด	*Citrus hystrux* DC.	Rutaceae	เปลือกผล	ดับกลิ่นเท้า ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสกุล Bacillus ที่เจริญในรองเท้า [2]
17	มะเขือพวง	*Solanum torvum* Sw.	Solanaceae	ผล	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli, S. aureus และ Salmonella typhimurium* [18]
18	ขมิ้นชัน	*Curcuma longa* L.	Zingiberaceae	เหง้า	ดับกลิ่นเท้า บยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *P. acnes* [19]
19	ข่า	*Alpinia galangal* L.	Zingiberaceae	เหง้า	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, E. coli, Ps. aeruginosa* และ *S. aureus* [20]
20	ไพล	*Zingiber cassusmunar* Roxb.	Zingiberaceae	เหง้า	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, E. coli, Ps. aeruginosa* และ *S. aureus* [20]

ด้วยน้ำจากใบชมพู่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดนี้ มากที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของฤทธิ์ในการยับยั้งเท่ากับ 17.20 ± 0.25 (ภาพที่ 1), 17.93 ± 0.12 และ 17.60 ± 0.78 มิลลิเมตร ตามลำดับ สำหรับสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียรหัส F1 มากที่สุด โดยวัดจากค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางคือสารสกัดด้วยน้ำจากใบฝรั่ง ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของฤทธิ์ในการยับยั้งเท่ากับ 15.03 ± 0.25 มิลลิเมตร นอกจากนี้จากการศึกษายังพบว่ามีสารสกัดหยาบจำนวน 11 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิดได้ คือ สารสกัดด้วยน้ำจากใบชมพู่และใบฝรั่ง สารสกัดด้วย70% เอทานอล จากใบพลู ใบทับทิม ใบชมพู่ และต้นน้ำนมราชสีห์ และสารสกัดด้วย 70% ไอโซโพรพานอล จากใบพลู ใบทับทิม ใบชมพู่ ต้นน้ำนมราชสีห์ และต้นลูกใต้ใบ จึงนำสารสกัดหยาบทั้ง 11 ชนิด ไปศึกษาหาค่า MIC และ MBC ต่อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด ต่อไป



ภาพที่ 1 ลักษณะวงกลมใส (Inhibition Zone) ที่เกิดจากฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลและไอโซโพรพานอลจากใบชมพู่ ต่อเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis*

เมื่อเปรียบเทียบผลของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดต่อฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย พบว่าชนิดของตัวทำละลายที่ต่างกัน มีผลทำให้สารสกัดหยาบแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่างกัน เนื่องจากสมบัติการมีขั้วของตัวทำละลายมีผลต่อชนิดของสารออกฤทธิ์ที่สกัดได้จากพืชสมุนไพร นอกจากนี้ตัวทำละลายประเภทแอลกอฮอล์ยังมีความไวในการละลายมากกว่าน้ำกลั่น และสามารถระเหยตัวทำละลายออกได้ง่ายกว่าน้ำกลั่นอีกด้วย [21] จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบด้วย 70% ไอโซโพรพานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้มากที่สุด คือ 10 ชนิด จากสารสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้จำนวน 25 ชนิด

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรระงับกลิ่นเท้าที่ขายตามท้องตลาด 2 ชนิด และยาปฏิชีวนะ ชนิด Chloramphenicol และ Ampicillin ที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, S. aureus,* เชื้อรหัส F1 และ F2 พบว่าตัวอย่างผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรระงับกลิ่นเท้าที่ขายตามท้องตลาดชนิดที่ 1 ไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด ในขณะที่ผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรระงับกลิ่นเท้าที่ขายตามท้องตลาดชนิดที่ 2, ยาปฏิชีวนะ Chloramphenicol (35 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และ Ampicillin (50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) แสดงค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด อยู่ในช่วง 19.33 – 22.03 11.73 – 15.63 และ 9.37 – 11.47 มิลลิเมตร ตามลำดับ จากผลการทดลอง พบว่าที่ผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรระงับกลิ่นเท้าที่ขายตามท้องตลาดชนิดที่ 2 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้สูง เนื่องจากผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีส่วนผสมของ เอทานอลซึ่งมีฤทธิ์ในการ

ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและช่วยในการระเหยของผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพร

3.3.2 การหาค่า MIC และ MBC ของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร

ผลการทดสอบการหาค่า MIC และ MBC ของสารสกัดหยาบ 11 ชนิด ต่อเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, S. aureus,* เชื้อรหัส F1 และ F2 เปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะและตัวอย่าง

ตารางที่ 2 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร

ชนิดพืชสมุนไพร	ร้อยละผลผลิต (%)		
	น้ำ	70% เอทานอล	70% ไอโซโพรพานอล
ใบรางจืด	3.78	3.01	3.43
หัวว่านสี่ทิศ	3.17	9.90	10.0
ใบสาบเสือ	11.33	5.23	6.69
เมล็ดมะม่วง	3.58	6.17	6.67
ต้นน้ำนมราชสีห์	22.70	5.79	6.02
ต้นลูกใต้ใบ	1.29	9.73	8.60
ใบสะระแหน่	2.01	8.86	2.50
ใบชมพู่	8.01	9.24	9.04
ใบฝรั่ง	27.32	9.75	15.95
ต้นผักกะสัง	1.75	2.69	3.18
ใบชะพลู	9.21	24.56	3.59
ใบพลู	1.79	4.13	5.24
ตะไคร้	3.96	4.92	4.77
ตะไคร้หอม	3.09	4.99	3.71
ใบทับทิม	8.22	38.64	16.49
เปลือกผลทับทิม	10.56	16.86	18.03
เปลือกผลมะกรูด	2.95	7.11	9.06
ผลมะเขือพวง	4.98	7.77	8.56
เหง้าขมิ้นชัน	4.07	6.40	9.59
เหง้าข่า	5.87	6.60	10.81
เหง้าไพร	11.98	6.73	14.94

ผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรระงับกลิ่นเท้าที่ขายตามท้องตลาด แสดงในตารางที่ 3 จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบ ส่วนใหญ่ แสดงค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อ *B. subtilis, S. aureus,* เชื้อรหัส F2 อยู่ในช่วง 1.56 - 12.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ยกเว้นสารสกัดหยาบด้วย 70% ไอโซโพรพานอลจากใบพลูและต้นลูกใต้ใบที่ความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่แสดงค่า MBC ต่อเชื้อ *B. subtilis* และสารสกัดด้วย 70% ไอโซโพรพานอล จากต้นลูกใต้ใบ และสารสกัดด้วย 70% เอทานอล จากใบพลู ใบทับทิม และต้นน้ำนมราชสีห์ ไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดในช่วง 1.56 – 50.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อศึกษาค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อรหัส F1 ของสารสกัดหยาบ 11 ชนิด มีค่าเท่ากับ 1.56 และ 3.13 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดหยาบทั้ง 11 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบที่แสดงค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด ได้ดีที่สุดคือ สารสกัดหยาบด้วยน้ำจากใบฝรั่ง ใบชมพู่ และสารสกัดด้วย 70% เอทานอล จากใบชมพู่ ตามลำดับ

Biswas et al. (2013) ศึกษาผลของสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลจากใบฝรั่งต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *B. cereus* พบว่าสารสำคัญในสารสกัดจากใบฝรั่งที่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด คือ แทนนิน (Tannin) ฟีนอล (Phenol) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) เทอปีนอย (Terpenoids) และไกลโคไซด์ (Glycosides) [22] สอดคล้องกับงานวิจัยของวันทนี สว่างอารมณ์ และ พาฝัน จันทร์เล็ก (2555) ซึ่งระบุว่า สารสกัดจากใบฝรั่งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ [23]

Wadbua et al. (2007) รายงานฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas caviae* และ *A. sobria* ของสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลจากใบชมพู่ ซึ่งสารสำคัญที่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย คือสารในกลุ่มคูมาริน (Coumarins) ฟลาโวนอยด์ และไกลโคไซด์ [24] ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Oliveira et al. (2007) ซึ่งระบุว่าสารสำคัญในสารสกัดจากใบชมพู่ที่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย S. Aureus คือแทนนินและสารฟีนอลิค (Phenolic) [25]

จากงานวิจัยของ Cowan (1999) พบว่ากลุ่มของสารเคมีข้างต้นมีกลไกในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียหลากหลายกลไก เช่น ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ATPase บนไซโต-พลาสมิกเมมเบรนของ *S. aureus* ซึ่งจะรบกวนการส่งผ่านอาหาร การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโดยการแทรกตัวเข้าไปในส่วนของไขมันที่อยู่ในผนังเซลล์ชั้นใน ส่งผลให้เกิดการรั่วไหลของส่วนประกอบภายในเซลล์อย่างรวดเร็ว เป็นต้น [26]

ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรต่อเชื้อแบคทีเรีย สามารถวิเคราะห์ได้จากค่า MBC/MIC ถ้าค่า MBC/MIC < 4 แสดงว่าสารสกัดหยาบดังกล่าวมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย แต่หากค่า MBC/MIC > 4 สารสกัดหยาบดังกล่าวมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย [27] จากผลการ หาค่า MBC/MIC พบว่าสารสกัดหยาบทั้ง 11 ชนิดแสดงฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อรหัส F1 และ F2 นอกจากนี้ยังมีสารสกัดอีก 9 และ 7 ชนิด แสดงฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *S. aureus* ตามลำดับ สำหรับสารสกัดที่ไม่แสดงค่า MBC ไม่สามารถนำมาคำนวณประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรต่อเชื้อแบคทีเรียได้

เมื่อศึกษาค่า MIC และ MBC ของยาปฏิชีวนะ Chloramphenicol, Ampicillin และตัวอย่างผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรระงับกลิ่นเท้าชนิดที่ 2 ซึ่งใช้เป็น Positive Control พบว่า ยาปฏิชีวนะ Chloramphenicol แสดงค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด ในช่วง 3.75 – 7.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยาปฏิชีวนะ Ampicillin แสดงค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis,* เชื้อรหัส F1 และ F2 มีค่าอยู่ในช่วง 12.5 – 25.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร อย่างไรก็ตาม จากการทดลองพบว่า ยาปฏิชีวนะ ampicillin ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้

4. สรุปผล

จากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบด้วยน้ำ 70% เอทานอล และ 70% ไอโซโพรพานอล จำนวน 63 ชนิด จากพืชสมุนไพรที่พบบริเวณโรงเรียนนายร้อย 20 ชนิด ด้วยวิธี Agar Well Diffusion Assay พบว่าสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรจำนวน 11 ชนิด แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, S. aureus,* เชื้อรหัส F1 และ F2 เมื่อนำสารสกัดหยาบทั้ง 11 ชนิด มาศึกษาหาค่า MIC และ MBC พบว่า ค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด อยู่ในช่วง 1.56 – 12.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ยกเว้นสารสกัดด้วย 70% เอทานอล จากใบพลู และต้นลูกใต้ใบความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และสารสกัดด้วย 70% ไอโซโพรพานอล จาก

ตารางที่ 3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร

ชนิดพืชสมุนไพร	ตัวทำละลาย	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (ค่าเฉลี่ย + ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, มิลลิเมตร)			
		B. subtilis	*S. aureus*	F1	F2
เมล็ดมะม่วง	น้ำ	9.50 ± 0.10	0	0	0
	70% เอทานอล	0	0	0	0
	70% ไอโซโพรพานอล	10.70 ± 0.10	0	11.33 ± 0.23	11.03 ± 0.21
ต้นน้ำนมราชสีห์	น้ำ	0	0	0	0
	70% เอทานอล	12.40 ± 0.20	12.87 ± 0.32	11.93 ± 0.12	13.67 ± 0.42
	70% ไอโซโพรพานอล	9.83 ± 0.32	15.37 ± 0.38	10.93 ± 0.12	15.53 ± 0.21
ต้นลูกใต้ใบ	น้ำ	0	0	0	0
	70% เอทานอล	9.67 ± 0.40	0	13.00 ± 0.40	0
	70% ไอโซโพรพานอล	16.90 ± 0.10	15.73 ± 0.38	13.53 ± 0.12	12.40 ± 0.26
ใบชมพู่	น้ำ	17.20 ± 0.26	17.93 ± 0.12	12.73 ± 0.50	17.60 ± 0.78
	70% เอทานอล	13.97 ± 0.12	15.70 ± 0.23	13.40 ± 0.40	16.37 ± 0.58
	70% ไอโซโพรพานอล	11.33 ± 0.42	12.87 ± 0.21	11.87 ± 0.42	13.03 ± 0.35
ใบฝรั่ง	น้ำ	14.07 ± 0.12	13.90 ± 0.26	15.03 ± 0.25	16.60 ± 0.35
	70% เอทานอล	13.70 ± 0.26	0	0	16.60 ± 0.17
	70% ไอโซโพรพานอล	13.40 ± 0.26	0	0	15.77 ± 0.21
ใบพลู	น้ำ	0	0	0	0
	70% เอทานอล	9.20 ± 0.35	9.83 ± 0.15	10.30 ± 0.15	9.9 ± 0.17
	70% ไอโซโพรพานอล	12.07 ± 0.15	10.93 ± 0.12	10.80 ± 0.30	10.77 ± 0.21
ใบทับทิม	น้ำ	8.22	13.33 ± 0.15	0	8.93 ± 0.74
	70% เอทานอล	38.64	12.57 ± 0.23	12.10 ± 0.20	14.87 ± 0.40
	70% ไอโซโพรพานอล	16.49	13.50 ± 0.26	13.90 ± 0.17	14.00 ± 0.17
เปลือกผลทับทิม	น้ำ	15.97 ± 0.32	0	12.10 ± 0.26	0
	70% เอทานอล	14.40 ± 0.40	0	12.63 ± 0.15	0
	70% ไอโซโพรพานอล	12.77 ± 0.12	0	12.07 ± 0.15	0
เปลือกผลมะกรูด	น้ำ	0	0	0	10.23 ± 0.80
	70% เอทานอล	0	0	0	0
	70% ไอโซโพรพานอล	0	0	0	0
ผลมะเขือพวง	น้ำ	0	0	0	0
	70% เอทานอล	0	0	0	0
	70% ไอโซโพรพานอล	7.53 ± 0.25	0	0	10.10 ± 0.30
เหง้าขมิ้นชัน	น้ำ	0	0	0	0
	70% เอทานอล	10.00 ± 0.10	0	0	0
	70% ไอโซโพรพานอล	0	0	0	0
ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชนิดที่ 1	0	0	0	0	
ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชนิดที่ 2	19.55 ± 0.35	21.60 ± 0.10	22.03 ± 0.31	19.33 ± 0.25	
20% DMSO	0	0	0	0	
Chloramphenicol (35 μg/ml)	11.73 ± 0.64	12.90 ± 0.10	15.63 ± 0.40	13.93 ± 0.12	
Ampicillin (50 μg/ml)	10.33 ± 0.15	11.47 ± 0.21	9.37 ± 0.15	9.80 ± 0.17	

ตารางที่ 4 ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร

ชนิดพืชสมุนไพร	ตัวทำละลาย	*B. Subtilis* (mg/mL)		*S. aureus* (mg/mL)		F1 (mg/mL)		F2 (mg/mL)	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
ต้นน้ำนมราชสีห์	70% เอทานอล	1.56	1.56	1.56	3.13	1.56	3.13	12.50	N/A
	70% ไอโซโพรพานอล	1.56	1.56	1.56	3.13	1.56	3.13	12.50	12.50
ต้นลูกใต้ใบ	70% ไอโซโพรพานอล	12.50	N/A	1.56	3.13	1.56	3.13	12.50	N/A
ใบชมพู่	น้ำ	1.56	6.25	1.56	3.13	1.56	3.13	1.56	3.13
	70% เอทานอล	1.56	3.13	1.56	3.13	1.56	3.13	6.25	6.25
	70% ไอโซโพรพานอล	1.56	3.13	1.56	3.13	1.56	3.13	6.25	12.50
ใบฝรั่ง	น้ำ	1.56	3.13	1.56	3.13	1.56	3.13	1.56	3.13
ใบพลู	70% เอทานอล	1.56	6.25	1.56	3.13	1.56	3.13	12.50	N/A
	70% ไอโซโพรพานอล	12.50	N/A	1.56	3.13	1.56	3.13	6.25	12.50
ใบทับทิม	70% เอทานอล	1.56	6.25	1.56	3.13	1.56	3.13	12.5	N/A
	70% ไอโซโพรพานอล	6.25	12.50	1.56	3.13	1.56	3.13	6.25	12.50
ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชนิดที่ 2		1/64	1/64	1/32	1/64	1/64	1/64	1/64	1/8
Chloramphenicol		1.88 μg/ml	1.88 μg/ml	3.75 μg/ml	1.88 μg/ml	7.50 μg/ml	1.88 μg/ml	7.50 μg/ml	1.88 μg/ml
Ampicillin		12.50 μg/ml	12.50 μg/ml	12.50 μg/ml	12.50 μg/ml	12.50 μg/ml	12.50 μg/ml	12.50 μg/ml	N/A

* N/A = ไม่แสดงผลการยับยั้ง

ใบพลูและต้นลูกใต้ใบ12.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ได้ ผลจากการศึกษาวิจัยครั้งนี้สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ขจัดกลิ่นเท้าที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนพัฒนา โรงเรียนนายร้อยพระจุลจอมเกล้า ปี 2558 ขอขอบคุณพันเอกหญิง เยาวภา ทองอร่าม ที่ช่วยเหลือในการคัดแยกเชื้อบริสุทธิ์ และขอขอบคุณกองวิชาเคมีและกองวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ส่วนการศึกษา โรงเรียนนายร้อยพระจุลจอมเกล้า ที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์เครื่องมือต่างๆ

บรรณานุกรม

(1) ประวิตร พิศาลบุตร, 2546. เหงื่อออกมากที่ฝ่าเท้า เท้าเหม็น. นิตยสารใกล้หมอ, 27.

(2) วรรณา โรจน์บุญถึง, 2550. ประสิทธิภาพของสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในรองเท้า. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต. วิทยาศาสตรบัณฑิต, มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา.

(3) จารวี สุขประเสริฐ และสุบงกช ทรัพย์แดง, 2555. การศึกษาผลของตัวทำละลายในการสกัดสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรีย. กรมวิทยาศาสตร์บริการ. 1(1): 99-109.

(4) Arumugam S., et al., 2012. Screening of Antibacterial Propoties of Indian Medicinal Plants against Multi Drug Resistant Diabetic Foot Ulcer Isolates. International Journal of Phytopharmacology. 3(2): 139-146.

(5) จิราภรณ์ บุราคร และ เรือนแก้ว ประพฤติ, 2555. ผลของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านไทย 7 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. 10(1): 11-22.

(6) Kostecki, K., et al., 2004. Dihydrophenanthrenes and other antifungal stilbenoids from Stemona cf. pierrei. Phytochemistry, 65(1): 99-106.

(7) NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), 2002. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. (Vol. Twelfth Information Supplement M100-S12 NCCLS): Wayn, PA.

(8) Zampini, I.C., Vattuone, M.A., and Isla, M.I., 2005. Antibacterial activity of *Zuccagnia punctata* Cav. Ethanolic Extracts. Journal of Ethnopharmacology, 102: 450-456.

(9) ปวีณา วัดบัว, 2551. การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas caviae* และ *Aeromonas sobria* ที่ก่อโรคในปลาดุกของสารสกัดพืชสมุนไพรไทย 41 ชนิด. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

(10) สรรพคุณของว่านสี่ทิศ ประโยชน์ของว่านสี่ทิศ, 2558. (Online) http://frynn.com/ว่านสี่ทิศ.

(11) สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์ และคณะ, 2551. ประสิทธิภาพของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วง. รายงานวิจัยย่อย ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 1-29

(12) ปนิศา นมัสการ, สุภาพร รัตนพลที และอนุชสรา คำตัน, 2555. การศึกษาเปรียบเทียบสารสกัดจากใบสาบเสือกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย. วิทยาศาสตรบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

(13) ปวีณา วัดบัว และคณะ, 2549. สารสกัดพืชสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื่อแบคทีเรียก่อโรคในปลาดุก, *Aeromonas sobria*. ใน: เอกสารการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 32 (วทท. 32). จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 10 - 12 ตุลาคม 2549.

(14) ศศิธร วุฒิวณิชย์, 2547. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของ *Erwinia carotovora* subsp. carotovora เชื้อสาเหตุโรคเน่าเละของผัก. วิทยาสารกำแพงแสน. 2(2): 73.

(15) หน่วยปฏิบัติการวิจัยเคมีสารสนเทศ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, 2557. ผักกะสัง. (Online) http://thrai.sci.ku. ac.th/node/910.

(16) อัจฉรัตน์ สุวรรณภักดี และคณะ, 2555. ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากตระไคร้และตะไคร้หอมในการยับยั้งเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบในโคนม: *Staphylococcus*

aureus, Streptococcus agalactiae และ Escherichia coli. วารสารแก่นเกษตร, 40 (ฉบับพิเศษ 2): 230 - 235.

(17) ดิเรก ทองคำกิจ และคณะ, 2553. ชุดสมุนไพรดับกลิ่นเท้า. นวัตกรรมสิ่งประดิษฐ์ หุ่นยนต์ และโครงงานวิทยาศาสตร์ สำนักงานคณะกรรมการการอาชีวศึกษา.

(18) ศรัญญา พรศักดา และคณะ, 2553. ผลของสารสกัดจากมะเขือพวงในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *Escherichia coli, Staphylococcus aureus และ Salmonella typhimurium.* วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 40(3/1) (พิเศษ): 573-576.

(19) นุศวดี พจนานุกิจ และสมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม, 2553. การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชัน และใบบัวบก. วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยขอนแก่น

(20) แสงจันทร์ เอี่ยมธรรมชาติ, 2525. การศึกษาผลของสมุนไพรบางชนิดในวงศ์ซิงกิเบอเรซี (Zingiberraceae) ต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบางชนิด. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

(21) ทัศนีย์ นลวชัย และจิตรา ดวงแก้ว, 2559. ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งเจริญเติบโตของเชื้อ Aromonas hydrophila. แก่นเกษตร. 44 (ฉบับพิเศษ 1): 124-129.

(22) Biswas et al., 2013. Antimicrobial activities of leaf extracts of guava (*Psidium guajava* L.) on two gram-negative and gram-positive bacteria. International Journal of Microbiolgy. 2013: 1-7.

(23) วันทนี สว่างอารมณ์ และพาฝัน จันทร์เล็ก, 2555. การเปรียบ เทียบผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli.* ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์. 12(2): 47-57.

(24) Wadbua et al., 2007. The antibacterial activity of *Syzygium javanica extract on catfish infected bacteria, Aeromonas caviae and Aeromonas sobria*. In the first Biochemistry and Molecular (BMB) Conference: Biochemistry and Molecular biological biology for the integration of life.

(25) *Oliveira et al., 2007. Antimicrobial activity of Syzygium cumini (Myrtaceae) leaves extract.* Brazilian Journal of Microbiology. 38(2): 381-384.

(26) Cowan, 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews. 12(4): 564-582.

(27) Pankey, G.A. and Sabath, L. D., 2003. Clinical Relevance of Bacteriostatic versus Bactericidal Mechanisms of Action in the Treatment of Gram-Positive Bacterial Infections. Clinical Infection Diseases. 38: 864-870.