

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดอินนูลินจากกระเทียมในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*

Study the Potential of Inulin Extracted from Garlic to Inhibit the Growth of Food Poisoning Bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

อรุณี ฝารามมี¹, น้ำผึ้ง ดุงโคกรวด², ชูศักดิ์ นิธิเกตุกุล³

Arune Fharamee¹, Namphung Dungkokkrud², Choosak Nithikathkaul³

Received: 5 March 2015 ; Accepted: 30 May 2015

บทคัดย่อ

Escherichia coli และ *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษที่พบบ่อยในอาหาร การนำสารสกัดจากพืชสมุนไพร เช่น กระเทียม มาใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจะทำให้เกิดผลข้างเคียงน้อยและไม่ทำให้เกิดการดื้อยาเมื่อเทียบกับสารเคมีสังเคราะห์ จึงเป็นทางเลือกที่ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค งานวิจัยนี้เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดอินนูลินจากกระเทียมโชนมาใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.aureus* และ *E.coli* ที่สภาวะต่างๆ ด้วยวิธี paper disk diffusion (โซนใสของการยับยั้ง, mm.) ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) โดยวิธี broth dilution (mg/ml) และทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ โดยวิธี standard plate count (CFU/ml.)

ผลการศึกษาพบว่า สารอินนูลินที่สกัดได้จากกระเทียมโชนตรวจสอบปริมาณด้วยเครื่อง GC พบว่ามีปริมาณ 75.18 % สารสกัดอินนูลินที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เพิ่มขึ้น โดยความเข้มข้น 100 mg/ml ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E.coli* และ *S.aureus* คิดเป็น 97.33 % และ 88.83 % ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบค่า (MIC) เชื้อ *E. coli* คือ 25 mg/ml คิดเป็น 75% เชื้อ *S.aureus* คือ 50 mg/ml คิดเป็น 100 % สภาวะ pH ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* pH 7 คิดเป็น 83.33 % และ 100 % ตามลำดับ

คำสำคัญ : การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย อินนูลิน *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

Abstract

Escherichia coli and *staphylococcus aureus* are the prevalent food poisoning bacteria in various foods. Using herbal natural medicine extract such as garlic to inhibit bacterial growth cause less poisoning symptoms side effects and drug resistance than synthetic chemicals and is a safe choice for consumers. This research aimed to study the effectiveness of inulin extracted from garlic (*Allium ampeloprasum* var. *ampeloprasum*) to inhibit the growth *E. coli* and *S. aureus* at various conditions. The experiments operated by using paper disk diffusion (Inhibition zone ; mm.) to determine the minimum inhibition concentration (MIC; mg/ml). The inhibition experiment of *S.aureus* and *E. coli* were tested by the standard plate count method (CFU/ml).

The study showed that inulin extracted from garlic 75.18 % with higher concentration could increase the inhibition of bacteria growth. The results found the concentration of inulin extract at 100 mg/ml within 24 hours *E.coli* and *S. aureus* of 97.33% and 88.83% respectively. The minimum inhibitory concentration (MIC) of inulin extract for *E.coli* was at 25 mg/ml with 75% and *S.aureus* was at 50% mg/ml of 100% ability. The optimum pH of *E.coli* of and *S. aureus* were at pH 7 with 83.33 % and 100% ability , respectively

Keyword : bacteria inhibition, inulin, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

¹ นิสิตระดับปริญญาโท, สาขาสาธารณสุขศาสตร์ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

² อาจารย์, คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

³ ผู้ช่วยศาสตราจารย์, คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

¹ Master Degree Student, Faculty of Public Health, Mahasarakham University

² Lecturer, Faculty of Public Health, Mahasarakham University

³ Assistant Professor, Faculty of Medicine, Mahasarakham University

บทนำ

กระเทียมจัดเป็นพืชสมุนไพรที่ยอมรับกันมานับตั้งแต่สมัยโบราณโดยเชื่อว่า มีคุณค่าทางอาหารและคุณค่าทางยาสูง กระเทียมประกอบไปด้วยสารสำคัญหลายชนิด คนในชาติแถบเอเชียนิยมใช้กระเทียมแต่งรสและแต่งกลิ่นในอาหารแทบทุกชนิด นักวิชาการสมัยใหม่ทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศได้ค้นคว้า พบเหตุผลที่กระเทียมมีสรรพคุณเป็นยาปฏิชีวนะ เป็นยาฆ่าเชื้อ สามารถจัดมลาภาวะล้างพิษในร่างกาย และเป็นสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการกระตุ้นต่างๆไปได้อีกด้วย ศูนย์บริการข้อมูลการค้าการลงทุน จังหวัดเชียงใหม่ 2553¹

อินนูลิน โอลิโกฟรุกโตส และฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีคุณสมบัติมากกว่าใยอาหารทั่วไป คือมีคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติก (prebiotic) ที่สามารถเป็นอาหารของจุลินทรีย์ในลำไส้ของมนุษย์โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ได้แก่ บิฟิโดแบคทีเรีย (bifidobacteria) และยังลดจุลินทรีย์ที่ก่อโรค (pathogenic organism) เพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับร่างกายได้อีกด้วย Roberfroid².

Escherichia coli และ *staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่พบบ่อยในอาหาร ทำให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพ การรักษานิยมใช้ยาที่สังเคราะห์ขึ้นโดยกระบวนการทางเคมี ปัจจุบันมีผู้ให้ความสนใจเกี่ยวกับสิ่งที่มีรสขมในพืชมามากยิ่งขึ้นทั้งในด้านที่ใช้เป็นยารักษาโรค และอาหาร นอกจากนี้รสขมในพืชมายังถูกนำมาใช้ในการบำบัดโรค เนื่องจากก่อให้เกิดอาการเป็นพิษและอาการข้างเคียงน้อยกว่าสารสังเคราะห์และไม่ทำให้เกิดการดื้อยาเมื่อเทียบกับสารเคมีสังเคราะห์ การนำพืชสมุนไพรมาใช้เป็นยารักษาโรคยังช่วยลดค่าใช้จ่ายในการสั่งซื้อยาสำเร็จรูปจากต่างประเทศได้ จารุพันธ์ อินทรวตรี³. อย่างไรก็ตามการนำสารสกัดอินนูลินจากกระเทียมมาใช้ในการยับยั้งโรคที่เกิดจาก *E.coli* และ *S.aureus* ยังไม่ได้รับความสนใจทั้งที่กระเทียมเป็นพืชที่คนไทยบริโภคเป็นประจำ และกระเทียมยังมีคุณค่าทางอาหารสูง มีสารประกอบที่สำคัญหลายชนิดและยังมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกอีกด้วย ซึ่งมีคุณสมบัติ ลดการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโรค ดังนั้นน่าจะมีความเป็นไปได้ในการใช้สารอินนูลินซึ่งมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกที่สกัดจากกระเทียมเพื่อควบคุมการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *E.coli* และ *S.aureus* สำหรับฤทธิ์การต้านจุลชีพจากพืชชนิดต่าง ๆ พบว่าสารสกัดจากหอมใหญ่และกระเทียมสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E.coli* และ *S.aureus* ได้ พนมพร และสวิตรี³ อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษาฤทธิ์สารสกัดอินนูลิน จากกระเทียมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E.coli* และ *S.aureus* ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์สารสกัดอินนูลินจากกระเทียมใน

การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E.coli* และ *S.aureus* ที่เป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงอย่างรุนแรงในคนจากกระเทียม เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาชนิดใหม่จากผักพื้นบ้านไทย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดอินนูลินจากกระเทียมต่อประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*
2. เพื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด minimum inhibitory concentration (MIC) ของสารสกัดอินนูลินจากกระเทียมต่อการยับยั้งการเจริญเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*
3. เพื่อศึกษาสภาวะ pH ของสารสกัดอินนูลินต่อประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา

กระเทียมโทน พันธุ์จีน ที่นำมาทดสอบเก็บเกี่ยวในระยะเวลาประมาณ 75 วัน นำมากำจัดออลิซินออกด้วยวิธีการอบด้วยอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาสกัดเอา อินนูลินด้วยเอทานอล 70 % แล้วนำไปต้มด้วยอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำไปเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuges รินเอาสารละลายที่ใสไประเหยภายใต้สุญญากาศ 80 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่อง rotary vacuum evaporator แล้วนำไปทำให้แห้งในสุญญากาศภายใต้อุณหภูมิจุดเยือกแข็งด้วยเครื่อง Freez dryer นำมาวิเคราะห์อินนูลิน - ลินด้วยเทคนิค (Gas chromatography , GC) นำมาศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S.aureus* ด้วยวิธี Disk diffusion techniques ตามวิธีของ Kostecki และคณะ⁴ โดยนำเชื้อแบคทีเรียก่อโรดดังกล่าวมาเลี้ยงในอาหารเหลว *E. coli* และ *S. aureus* บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำเชื้อแบคทีเรียที่บ่มมา pour plate กับอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) แล้วดูดสารสกัดอินนูลินจากกระเทียม ความเข้มข้น 20,50 และ 100 mg/ml ลงในแผ่น disk ที่ปราศจากเชื้อที่เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm. นำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ pour plate โดยมี Control คือ น้ำกลั่นปลอดเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บันทึกผลการทดลองที่ 1, 4, 8, 16 และ 24 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) 3 ซ้ำ เก็บข้อมูลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใส (clear zone) ด้วย vernier caliper วงใสขอบซ้ายถึงขวาและจากวงใสขอบบนถึงล่าง แล้วนำค่าที่วัดได้มาหาค่าเฉลี่ย เปรียบเทียบความ

แตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกรรมวิธีโดยวิธี LSD (Least significant)

นำค่าที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดมาหาค่า (MIC) โดยวิธี Broth dilution techniques โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy broth การอ่านค่า (MIC) โดย สังเกตดูความขุ่นของเชื้อที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอดเปรียบเทียบกับ Positive control เสร็จแล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA จากนั้น Space ที่ผิวหน้า นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง เก็บข้อมูลโดยการอ่านค่าที่เกิดขึ้นของโคโลนีเดียว นำมาคำนวณตามสูตร

นำค่าที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดมาทดสอบกับสภาวะ pH 3, 5, 7 และ 9 ด้วยวิธี Disk diffusion techniques ตามวิธีของ Kosteci และคณะ โดยนำเชื้อแบคทีเรียก่อโรคดังกล่าวมาเลี้ยงในอาหารเหลว *E. coli* และ *S. aureus* บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำเชื้อแบคทีเรียที่บ่มไว้มา pour plate กับอาหาร MHA

นำสารอินนูลิน ที่มีความเข้มข้น 100 mg/ml ผสมกับบัฟเฟอร์แต่ละ pH 3,5,7 และ 9 และอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptose both อย่างละ 0.2 ml นำมาหยดลงในแผ่น disk มีปราศจากเชื้อที่เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ml นำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ pour plate โดยมี Control คือ น้ำกลั่นปลอดเชื้อ และกระเทียมที่มีค่า pH 5.6 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) 3 ซ้ำ เก็บข้อมูลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใส (clear zone) ด้วย vernier caliper วงใสขอบซ้ายถึงขวาและจากวงใสขอบบนถึงล่าง แล้วนำค่าที่วัดได้มาหาค่าเฉลี่ย เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกรรมวิธีโดยวิธี LSD (Least significant)

ผลการศึกษา

ผลการวิเคราะห์อินนูลินตามวิธีมาตรฐานสากล AOAC 997.08 และคำนวณเป็นปริมาณอินนูลิน ในกระเทียมโทนทั้งหมดเป็น 75.18 %

จากผลการศึกษาพบว่าในการยับยั้งการเจริญแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ เชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ด้วยวิธี paper disk diffusion พบว่าสารสกัดอินนูลินจากกระเทียมที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญได้เพิ่มขึ้น โดยสารสกัดที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *S.aureus* คิดเป็น 97.33 % และ 88.83 % ตามลำดับ¹

นอกจากนี้ยังพบว่าการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดอินนูลินในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* อยู่ที่ความเข้มข้น 25 mg/ml ลดลง 75% ส่วน เชื้อ *S.aureus*. ที่ความเข้มข้น 50 mg/ml ลดลง 100 %² และใน

สภาวะ pH ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ดีที่สุดคือ pH 7 ยับยั้งได้ 83.33 % และ 100 % ตามลำดับ³

วิจารณ์และสรุปผล

การศึกษาฤทธิ์สารสกัดอินนูลินจากกระเทียมในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* การหาค่า (MIC) และการทดสอบกับสภาวะ pH พบว่าสารสกัดอินนูลินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้ทั้ง 2 ชนิด เป็นเพราะอินนูลินมีคุณสมบัติเป็นฟรีไบโอติก Roberfroid². จากการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด พบว่าสารสกัดอินนูลินจากกระเทียมที่ความเข้มข้น 100 mg/ml ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ค่า (MIC) ของเชื้อ *E. coli* อยู่ที่ความเข้มข้น 25 mg/ml และ เชื้อ *S. aureus*. ที่ความเข้มข้น 50 mg/ml และในสภาวะ pH ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* pH 7 ยับยั้งได้ ดีที่สุด เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด พบว่า ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ $p < 0.05$ แสดงว่าสารออกฤทธิ์ในสารสกัดอินนูลินมีผลต่อการชะลอการเจริญเติบโตได้เท่ากันทั้งนี้อาจเป็นไปได้ อย่างไรก็ตามแม้ว่าสารอินนูลินจากกระเทียมจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ได้ แต่ดูจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส ยังมีขนาดไม่กว้างมาก ซึ่งอาจจะขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรีย โดยเฉพาะคุณสมบัติทางสรีรวิทยาของแบคทีเรีย เช่น คุณสมบัติของผนังเซลล์ จึงทำให้โซนใสมีขนาดไม่กว้างมาก แต่ถึงอย่างไรสารสกัดอินนูลินจากกระเทียม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 2 ชนิด คือ *E. coli* และ *S. aureus* ดังนั้นสารสกัดอินนูลินทั้ง 2 ชนิด จึงมีศักยภาพในการนำมาประยุกต์ใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในคน อีกทั้งยังเป็นข้อมูลในการวิจัยและแนวทางในการพัฒนาพืชสมุนไพรไทย เพื่อใช้ในงานสาธารณสุขมูลฐาน ในอุตสาหกรรมยาและผลิตภัณฑ์อื่น ๆ รวมทั้งการส่งออกต่อไป

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะในการศึกษาค้นคว้าต่อไป

1. ศึกษาชนิดและองค์ประกอบภายในกลไกการยับยั้งเชื้อจากอินนูลินระดับโมเลกุล
2. ศึกษาแนวทางการทำผลิตภัณฑ์ทางด้านสุขภาพและรูปแบบผลิตภัณฑ์เพื่อง่ายและสะดวกต่อการนำมาใช้

การทดลองที่ 1 ประสิทธิภาพสารสกัดอินนูลินจากกระเทียมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ที่ความเข้มข้นต่างกัน (20, 50 และ 100 mg/ml) ในระยะเวลา (1, 4, 8, 16 และ 24 ชั่วโมง) วัดได้จากวิธี disk diffusion ดูโซนใสที่เกิดขึ้นรอบ disk (inhibition zone) และขนาดโซนใส (mm.)

ดังตารางที่ 1 พบว่าความเข้มข้นสารสกัดอินนูลินจากกระเทียมโทนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ที่ความเข้มข้นที่ 20, 50 และ 100 mg/ml ระยะเวลาที่ 1, 4, 8, 16 และ 24 ชั่วโมง ผลการทดสอบในเชื้อ *Escherichia coli* พบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้นที่ 100 mg/ml เมื่อเปรียบเทียบกับเวลาที่ต่างกัน พบว่าที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีการยับยั้ง มากที่สุดคือ ขนาดวงใสเฉลี่ย 5.66 mm คิดเป็น 94.33% และรองลงมาพบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้นที่ 50 mg/ml ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ยับยั้งการเจริญ ขนาดวงใสเฉลี่ย 3.6 mm คิดเป็น 60%

การทดลองที่ 2 ความเข้มข้นต่ำสุด ของสารสกัดอินนูลินจากกระเทียมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.08 mg/ml)

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดอินนูลินจากกระเทียมต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ซึ่งวัดได้จากวิธี broth dilution โดยใช้สารสกัดอินนูลินที่สามารถเกิดโซนใสในรอบ disk จากการทดลองที่ 1 มาหาความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) คือ ความเข้มข้นที่ 100 mg/ml มาทดสอบหาค่า (MIC)

จากตารางที่ 2 และ 2.1 พบว่าการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดอินนูลินจากกระเทียมต่อเชื้อ *Escherichia coli* ที่ความเข้มข้น 25 mg/ml ในอาหารเลี้ยงเชื้อ broth agar มีลักษณะใสเชื้อเจริญได้น้อยไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าในหลอดทดลองแต่เมื่อเพาะเลี้ยงใน Agar เชื้อเจริญได้น้อยมาก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สารสกัดอินนูลินที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 25 mg/ml นับจำนวนเชื้อได้ปริมาณเชื้อ 7.5×10^2 CFU /ml เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^8 CFU /ml แสดงว่าเชื้อลดลงคิดเป็น 75%

เชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ความเข้มข้น 50 mg/ml ในอาหารเลี้ยงเชื้อ broth agar มีลักษณะใสเชื้อเจริญได้น้อยไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าในหลอดทดลองแต่เมื่อเพาะเลี้ยงใน Agar เชื้อเจริญได้น้อยมาก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สารสกัดอินนูลินที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 50 mg/ml นับจำนวนเชื้อได้ปริมาณ 1×10^3 CFU/ml เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^8 CFU /ml แสดงว่าเชื้อลดลงคิดเป็น 100%

การทดลองที่ 3 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ที่ pH ต่างกัน (pH 3, 5, 7, และ 9) โดยใช้สารสกัดอินนูลินที่สามารถเกิดโซนใสรอบดิสจากการทดลองที่ 1 มาทดสอบหาค่า ที่ pH 3, 5, 7, และ 9

จากตารางที่ 3 พบว่า การหาค่าประสิทธิภาพการยับยั้งที่ค่า pH ต่างกัน (pH 3, 5, 7, และ 9) โดยสารสกัดอินนูลินจากกระเทียมต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* พบว่าค่า pH ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อดีที่สุดคือ pH 7 ($\bar{X} = 5$ mm) มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง 83.33 % รองลงมาคือ ค่า pH 5 ($\bar{X} = 2.66$ mm) มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง 44.33 % เมื่อเทียบกับ control คือน้ำกลั่นไม่เกิดโซนใส

จากการวัดวงใส ของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ค่า pH ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อดีที่สุดคือ pH 7 ($\bar{X} = 6$ mm) มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง 100% รองลงมาคือ pH 5 ($\bar{X} = 4.66$ mm) มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง 77.66 %

จากการวัดวงใสของ pH 5.6 ซึ่งเป็นค่า pH ของสารสกัดอินนูลินที่ไม่ได้ปรับ pH มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง 55.5 % แสดงให้เห็นว่าสารสกัดอินนูลินที่สภาวะไม่ปรับ pH มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิดได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรีย จนทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จไปด้วยดี และคณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการ และอุปกรณ์เครื่องมือต่าง ๆ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากเงินทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2557 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

เอกสารอ้างอิง

1. ศูนย์บริการข้อมูลการค้าการลงทุน จังหวัดเชียงใหม่. สำนักงานพาณิชย์จังหวัดเชียงใหม่. ธันวาคม 2553.
2. Roberfroid, M. B., Van Loo, J. and Gibson, G. R. The bifidogenic nature of chicory. 1998
3. จารุพันธ์ อินทรวัด. จุลชีววิทยา, ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี, สุราษฎร์ธานี, 416 หน้า. 2540.
4. Kosteci, K., Engelmeier, D., Pacher, T., Hofer, O., Vajrodaya, S. and Greger, H., Dihydrophenanthrenes. 2004

Table 1 Efficiency of the zone of inhibition *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* extracts from inulin at different concentrations (20 , 50 and 100 mg/ml) Time (1 ,4,8,16 and 24 hour)

concentra- tions (mg/ml)	<i>Escherichia coli</i>										<i>Staphylococcus aureus</i>									
	clear zone (mm)										clear zone (mm)									
	1 hour	4 hour	8hour.	16hour.	24 hour.	1 hour	4 hour.	8hour.	16hour.	24 hour.	1 hour.	4 hour.	8hour.	16hour.	24 hour.					
\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD					
Bank	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
20	-	1.3	0.5	2.3	0.5	3	0	3.3	0.5	-	1	0	2	1	2.66	1.52	3.33	1.15		
50	-	3	1	3	1	3.3	0.5	3.6	0.5	0.33	1.3	0.57	2	1	3	2	3.6	1.52		
100	-	3.3	0.5	4	1	4.3	1.5	5.66*	1.52	0.33	1.6	0.57	3.33	0.57	4.66	0.57	5.33*	0.57		

Annotation: - No inhibition zone * Is the most effective in inhibiting used in the experiment.

² **Table 2** Show the lowest concentration of inulin extracted from garlic to inhibit the growth of bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* from Agae

bacteria	concentrations of the extract inulin (mg/ml)										Control		
	100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.19	0.08	Positive	Negative
<i>E. coli</i>	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	0	0	7.5×10^2	9.5×10^2	1×10^3	1.25×10^3	1.4×10^3	300	300	300	300	300	0
<i>S. aureus</i>	0	1×10^3	1.25×10^3	1.5×10^2	1.95×10^3	2.25×10^2	300	300	300	300	300	300	0

annotation: A= Agae (CFU/ml)

² **Table 2.1** Show the lowest concentration of inulin extracted from garlic to inhibit the growth of bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* from broth

bacteria	concentrations of the extract inulin (mg/ml)										Control		
	100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.19	0.08	Positive	Negative
<i>E. coli</i>	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
	0	0	*1+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	0
<i>S. aureus</i>	0	*1+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	0

หมายเหตุ: * = The minimum concentration (MIC) of the extract inulin.

0 = Bacteria no grown on agar.

1+ = Bacteria grow very little

3+ = Grow on agar less. control positive but over control negative

4+ = Grow on agar equal control positive

Clear = Strains grew poorly can not be seen with the naked eye in vitro.

turbidity = Bacteria grow very easily visible to the naked eye in vitro

B = broth

Table 3 Inulin extracted from garlic to inhibit the growth of bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* condition pH 3, 5, 7, and 9

pH	The average diameter of clear zone around the disk (mm)		efficacy (%)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Bank	-	-	-	-
3	1.33 ± 0.57	2.33 ± 1.52	22.16	38.33
5	2.66 ± 0.57	4.66 ± 2.08	44.33	77.66
5.6	3.33 ± 0.57	3.33 ± 0.57	55	55
7	5.00 ± 1.00	6.00 ± 1.00	83.33	100
9	2.33 ± 1.15	3.00 ± 1.00	38.83	50