

รายงานการวิจัย

เรื่อง

ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำมันสกัดจากใบพืชสกุล *Eugenia* spp.
ในการยับยั้งแบคทีเรียก่ออาการเต้านมอักเสบในโคนมแบบไม่แสดงอาการ
Antibacterial Activity of Extracted Oil from *Eugenia* spp. Leaves
Against Bacteria Causing Sub-clinical Mastitis in Dairy Cows



โดย

บัณฑิตา แสงสิทธิศักดิ์

วาสนา ไชยศรี

ศกลรัตน์ บุญยยาตรา

พิชญานุช พูลเพิ่ม

รายงานวิจัย ฉบับที่ 332

ปีที่แล้วเสร็จ 2558

มหาวิทยาลัยพายัพ

เรื่อง	ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำมันสกัดจากใบพืชสกุล <i>Eugenia</i> spp. ในการยับยั้งแบคทีเรียก่ออาการเต้านมอักเสบในโคนมแบบไม่แสดงอาการ	
ผู้วิจัย	บัณฑิตา วาสนา ศกลรัตน์ พิชญานุช	แสงสิทธิศักดิ์ ไชยศรี บุญยยาตรา พูลเพิ่ม
ปีที่ทำงานวิจัยเสร็จ	2558	

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่ออาการเต้านมอักเสบในโคนมแบบไม่แสดงอาการ 2 ชนิด ได้แก่ Coagulase negative *Staphylococcus* spp. และ *Streptococcus* spp. ด้วยวิธี disc diffusion ของน้ำมันจากพืชสกุล *Eugenia* spp. 4 ชนิด ได้แก่ มะเกี๋ยง หว่า ขมพู่ทาบทมจันทร์ และขมพู่มะเหมี่ยว และเปรียบเทียบวิธีการสกัดน้ำมันระหว่างวิธีการสกัดด้วยน้ำและสกัดด้วยตัวทำละลาย hexane จากใบพืชสกุล รวมทั้งศึกษาองค์ประกอบทางเคมีที่พบในน้ำมันที่สกัดได้โดย GC-MS และ พบว่าวิธีการสกัดน้ำมันที่เหมาะสม คือ การสกัดด้วยน้ำสามารถสกัดน้ำมันจากใบพืชได้ 2 ชนิด คือ ใบมะเกี๋ยงและใบขมพู่ทาบทมจันทร์ ร้อยละผลผลิตน้ำมันที่ได้ เท่ากับ 0.10 % และ 0.05 % ตามลำดับ จากผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS พบว่า องค์ประกอบหลักของน้ำมันจากใบมะเกี๋ยง คือ trans-beta-ocimene เป็น มีปริมาณ 57.29 % และของน้ำมันจากใบขมพู่ทาบทมจันทร์ คือ gamma-terpinene มีปริมาณ 30.78 % จากการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่ออาการเต้านมอักเสบในโคนมแบบไม่แสดงอาการ พบว่าน้ำมันจากใบมะเกี๋ยงสามารถต้านเชื้อ Coagulase negative *Staphylococcus* spp. ได้มากกว่าขมพู่ทาบทมจันทร์ ($P < 0.05$) โดยมีบริเวณ inhibition zone เท่ากับ 18.26 ± 2.31 (n = 31) มิลลิเมตร และ 14.22 ± 2.73 (n = 30) มิลลิเมตร ตามลำดับ และฤทธิ์ต้านเชื้อ *Streptococcus* spp. พบว่า น้ำมันจากใบมะเกี๋ยงและน้ำมันจากใบขมพู่ทาบทมจันทร์แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) โดยมีบริเวณ inhibition zone เท่ากับ 10.70 ± 2.04 (n = 36) และ 10.38 ± 2.12 (n = 36) ตามลำดับ

Title	Antibacterial Activity of Extracted Oil from <i>Eugenia</i> spp. Leaves Against Bacteria Causing Sub-clinical Mastitis in Dairy Cows	
Author	Banthita	Saengsitthisak
	Wasana	Chaisri
	Sukolrat	Boonyayatra
	Pichayanut	Poolperm
Year	2015	

Abstract

The objective of this study was to compare the antibacterial activity of the essential oils from *Eugenia* spp. leaves on the growth of two bacteria causing sub-clinical mastitis in dairy cows. The antibacterial activity of essential oil was investigated by disc diffusion method against 2 mastitis causing pathogens, i.e, coagulase negative *Staphylococcus* spp. and *Streptococcus* spp. The essential oils from Ma-Kiang, Wa, Chompoo Tab-Tim-Jan and Chompoo Ma Meaw leaves were extracted by hydro-distillation and solvent extraction, and the efficacy of both essential oil extractions was compared. The results showed hydro-distillation method was more suitable method to extract all essential oils. Percent yield of extracted oil from Ma-kiang and Chompoo Tab-Tim-Jan leaves were 0.10 % and 0.05 %, respectively. The essential oil components were identified by Gas Chromatography - Mass Spectroscopy (GC-MS). The main compound of the essential oil from Ma-kiang leaves was trans-beta-ocimene (57.29 %), and in case of the essential oil from Chompoo Tab-Tim-Jan leaves was gamma-terpinene (30.78 %).

Coagulase negative *Staphylococcus* spp. was more susceptible to Ma-kiang oil than Chompoo Tab-Tim-Jan oil ($p < 0.05$) concerning the growth inhibition zone

of Ma-kiang oil (18.26 ± 2.31 mm., $n = 31$) and Chompoo Tab-Tim-Jan oil (14.22 ± 2.73 , $n = 30$) from disc diffusion. However *Streptococcus* spp. was not significant susceptible ($P > 0.05$) to Ma-Kiang oil (10.70 ± 2.04 , $n = 36$) and Chompoo Tab-Tim-Jan oil (10.38 ± 2.12 , $n = 36$), respectively.

PAYAP UNIVERSITY

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยเรื่อง ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำมันสกัดจากใบพืชสกุล *Eugenia* spp. ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อการเด้านมอักเสบในโคนมแบบไม่แสดงอาการ สำเร็จได้เนื่องจากบุคคลหลายท่าน

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการพิจารณาข้อเสนอโครงการวิจัยฯและประเมินรายงานวิจัยฯ ผศ. น.สพ.ดร. วีระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา ผศ.ดร.ณัฐกรณ์ ไบแสง และ ผศ.ดร.สรัญญา ขวนพงษ์พานิช ที่ได้สละเวลาตรวจแก้ไขโครงร่าง พร้อมให้ข้อเสนอแนะและแนวคิดต่างๆที่เป็นประโยชน์ในการทำวิจัยครั้งนี้ รวมทั้งขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.พัชรวรรณ ตันอามาตยรัตน์ ที่ได้สละเวลาอันมีค่ามาเป็นทรงคุณวุฒิในการวิพากษ์งานวิจัยนี้

ขอขอบคุณ ผศ.สพ.ญ.ดร. วาสนา ไชยศรีและ ผศ.สพ.ญ.ดร.ศุภลรัตน์ บุญยยาตรา คณะสัตวแพทย์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ทั้งเชื้อที่ใช้ในการศึกษาวิจัยและสถานที่เพื่อทำการเลี้ยงเชื้อ

ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยพายัพ ที่สนับสนุนทุนวิจัยในการทำวิจัยครั้งนี้ จากสำนักวิจัยที่ชี้แนะ ติดตามการดำเนินการวิจัย จนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จตามกำหนดเวลา

ท้ายสุดนี้ผู้วิจัยยังได้รับการช่วยเหลือและกำลังใจจากทุกคนในครอบครัว เพื่อนร่วมงาน คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพายัพ และอีกหลายๆท่านที่ผู้วิจัยไม่สามารถกล่าวชำนามได้ทั้งหมด จึงขอขอบพระคุณไว้ในโอกาสนี้

บัณฑิตา แสงสิทธิศักดิ์

สิงหาคม พ.ศ. 2558

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(ก)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(ข)
กิตติกรรมประกาศ	(ง)
สารบัญ	(จ)
สารบัญรูป	(ช)
สารบัญตาราง	(ฉ)
สัญลักษณ์และคำย่อ	(ญ)
บทที่1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ	3
บทที่2 แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	10
บทที่3 วิธีดำเนินวิจัย	14
3.1 สารเคมีที่ใช้	14
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้	14
บทที่4 ผลการวิจัย	22
4.1 ข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างพืชที่ใช้ศึกษาวิจัย	22
4.2 ผลการสกัดน้ำมัน	26
4.3 การเปรียบเทียบร้อยละของผลผลิตน้ำมันที่ได้	33

	หน้า
4.4 การตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันด้วยเทคนิค GC-MS	38
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ	51
บรรณานุกรม	53
ประวัตินักวิจัย	57
ภาคผนวก ก รายนามผู้ทรงคุณวุฒิ	68

PAYAP UNIVERSITY

สารบัญรูป

รูป	หน้า
3.1 ตัวอย่างตำแหน่งการวางแผ่นดิสก์ ชุบน้ำมันที่ต้องการทดสอบ	19
3.2 ตัวอย่างขนาดบริเวณใสที่น้ำมันสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อที่เกิดรอบแผ่นดิสก์ชุบน้ำมันที่ทดสอบ	20
4.1 แสดงลักษณะรูปร่างของใบมะเกี๋ยง	23
4.2 แสดงลักษณะรูปร่างของผลมะเกี๋ยง	24
4.3 แสดงลักษณะรูปร่างของใบหว่า	25
4.4 แสดงลักษณะรูปร่างของผลหว่า	25
4.5 แสดงลักษณะรูปร่างของใบชมพูทับทิมจันทร์	26
4.6 แสดงลักษณะรูปร่างของใบชมพูมะเหมี่ยว	27
4.7 แสดงลักษณะรูปร่างของผลชมพูมะเหมี่ยว	28
4.8 แสดงลักษณะน้ำมันจากใบมะเกี๋ยงที่ได้จากการกลั่นด้วยวิธีน้ำ	29
4.9 แสดงลักษณะสารที่สกัดได้จากใบมะเกี๋ยงที่ได้จากวิธีสกัดด้วย hexane	30
4.10 แสดงลักษณะสารที่สกัดได้จากใบหว่าที่ได้จากวิธีสกัดด้วย hexane	31
4.11 แสดงลักษณะน้ำมันจากใบชมพูทับทิมจันทร์ที่ได้จากการกลั่นด้วยวิธี น้ำ	32
4.12 แสดงลักษณะสารที่สกัดได้จากใบชมพูทับทิมจันทร์ที่ได้จากวิธีสกัดด้วย hexane	33
4.13 แสดงลักษณะสารที่สกัดได้จากใบชมพูมะเหมี่ยวที่ได้จากวิธีสกัดด้วย hexane	34
4.14 แสดง GC-MS Chromatogram ของน้ำมันจากใบมะเกี๋ยง	41

รูป	หน้า	
4.15	แสดง GC-MS Chromatogram ของน้ำมันจากใบชมพูทับทิมจันทร์	44
4.16	แสดง Inhibition zone ของ <i>Streptococcus</i> spp. เมื่อใช้น้ำมันจากใบมะเกี๋ยงและน้ำมันจากใบชมพูทับทิมจันทร์	48
4.17	แสดง Inhibition zone ของ Coagulase negative <i>Stappylacoccus</i> spp. เมื่อใช้น้ำมันจากใบมะเกี๋ยงและน้ำมันจากใบชมพูทับทิมจันทร์	49

PAYAP UNIVERSITY

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า	
4.1	แสดงปริมาณร้อยละผลผลิตน้ำมันที่ได้ของน้ำมันจากไบมะเกี๋ยง (n = 6)	35
4.2	แสดงค่าความหนาแน่นของน้ำมันจากไบมะเกี๋ยง (n = 2)	36
4.3	แสดงปริมาณร้อยละผลผลิตที่ได้ของน้ำมันจากไบมะเกี๋ยง (n = 3)	36
4.4	แสดงปริมาณร้อยละผลผลิตที่ได้ของน้ำมันจากไบหว่า (n = 3)	37
4.5	แสดงปริมาณร้อยละผลผลิตน้ำมันที่ได้ของน้ำมัน จากไบชมพูทับทิมจันทร์ (n = 6)	38
4.6	แสดงค่าความหนาแน่นของน้ำมันจากไบชมพูทับทิมจันทร์ (n = 2)	38
4.7	แสดงปริมาณร้อยละผลผลิตที่ได้ของน้ำมันจาก ไบชมพูทับทิมจันทร์ (n = 3)	39
4.8	แสดงปริมาณร้อยละผลผลิตที่ได้ของน้ำมันจาก ไบชมพูมะเหมี่ยว (n = 3)	40
4.9	ข้อมูลการวิเคราะห์ GC-MS ของน้ำมันจากไบมะเกี๋ยง	42
4.10	ข้อมูลการวิเคราะห์ GC-MS ของน้ำมันจากไบชมพูทับทิมจันทร์	45
4.11	แสดงข้อมูล inhibition zone ของน้ำมันจากไบชมพูทับทิมจันทร์ และน้ำมันจากไบมะเกี๋ยงต่อเชื้อต่างๆ	50

สัญลักษณ์ คำย่อ

C.	<i>Clestopalyx</i>
CMT	California Mastitis Test
E.	<i>Eugenia</i>
<i>E. coli</i>	<i>Eschericia coli</i>
GC-MS	Gas Chromatography-Mass spectrometry
KI	Kovat retention index
MBC	minimal bactericidal concentration
MIC	minimal inhibitory concentration
S.	<i>Syzygium</i>
spp.	spicies
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. agalactiae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
SCC	somatic cell count

PAYAPUNIVERSITY