

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร
และการต้านอนุมูลอิสระโดยโพรพอลิส นมผึ้ง และฟ้าทะลาย
โจร

ผู้เขียน

นางสาว กิรติญา เอี่ยมถาวร

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยาประยุกต์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยิ่งมณี ตระกูลพั้ว

บทคัดย่อ

แบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารเมื่อปนเปื้อนในอาหารแล้วเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการท้องร่วง คลื่นไส้ อาเจียน ลำไส้อักเสบ และการใช้ยาสังเคราะห์ในการรักษาโรคอาจทำให้เกิดการดื้อของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ดังนั้นการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรคแทนการใช้ยาสังเคราะห์ การวิจัยครั้งนี้จึงทำการศึกษาสารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และสมุนไพรฟ้าทะลายโจรในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคบริเวณระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aerogenosa* และ *E.coli* Enteroaggregative isolate A,B,C และศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจร พบว่าโพรพอลิสสามารถฆ่าเชื้อ *Shi. flexneri* ดีที่สุดโดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ MBC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนมผึ้งสามารถฆ่าเชื้อ *Shi. flexneri*, *K. Pneumonia* และ *Ent. aerogenes* ได้ดีที่สุดโดยมีค่า MBC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรสามารถทำลายเชื้อได้ทุกชนิดโดยมีค่า MBC เท่ากับ 125 -250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อผสมสารทดสอบพบว่าสารผสมสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ทุกชนิด สารผสมฟ้าทะลายโจรและโพรพอลิสที่ค่า MBC เท่ากับ 31.25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถฆ่าเชื้อ *Ps.*

aeruginosa ใด้ดีที่สุด สารผสมของฟ้าทะลายโจร และนมผึ้งสามารถฆ่าเชื้อ *Ps. aeruginosa*, *E. coli*, *E. coli* Enteroaggregative isolate A ใด้ดีที่สุด โดยมีค่า MBC ของสารแต่ละชนิดเท่ากับ 31.25 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารผสมของนมผึ้ง และ โพรพอลิสที่ค่า MBC เท่ากับ 12.5 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* Enteroaggregative isolate B ใด้ดีที่สุด สารผสมของ สารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจร โพรพอลิส และนมผึ้ง สามารถฆ่าเชื้อทุกชนิดไม่แตกต่างกัน โดยมีค่า MBC ของสารแต่ละชนิดเท่ากับ 62.5, 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS radical cation decolorization assay พบว่า โพรพอลิส มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด รองมาคือ ฟ้าทะลายโจรและนมผึ้ง โดยมีค่า Trolox equivalent, TEAC เท่ากับ 13.41 ± 2.02 , 5.14 ± 0.60 and 1.03 ± 0.13 mg/g ของสารสกัดตามลำดับ และพบว่า สมุนไพรฟ้าทะลายโจรผสมโพรพอลิสและนมผึ้ง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือ สมุนไพรฟ้าทะลายโจรผสมกับโพรพอลิส, นมผึ้งผสมกับโพรพอลิส และ สมุนไพรฟ้าทะลายโจรผสมกับนมผึ้ง โดยมีค่า TEAC เท่ากับ 35.23 ± 2.10 , 23.84 ± 0.84 , 19.96 ± 0.83 และ 15.01 ± 0.32 mg/g ของสารสกัด ตามลำดับ และการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่า โพรพอลิส มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด รองมาคือ ฟ้าทะลายโจรและนมผึ้ง โดยมีค่า TEAC เท่ากับ 9.9 ± 2.25 , 3.00 ± 0.53 , 0.9 ± 0.20 mg/g ของสารสกัด ตามลำดับ ใน ส่วนของสารผสมพบว่าสมุนไพรฟ้าทะลายโจรผสมโพรพอลิส มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือ สมุนไพรฟ้าทะลายโจรผสมกับโพรพอลิสและนมผึ้ง, นมผึ้งผสมกับ โพรพอลิส และ สมุนไพรฟ้าทะลายโจรผสมกับนมผึ้ง โดยมีค่า TEAC เท่ากับ 8.08 ± 0.58 , 8.0 ± 0.09 , 3.78 ± 0.18 และ 2.24 ± 0.46 mg/g ของสารสกัด ตามลำดับ และพบว่าสมุนไพรฟ้าทะลายโจรมีปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด เท่ากับ 2.70 ± 0.006 mg GAE/g ของสารสกัด รองลงมาคือ โพรพอลิส และนมผึ้ง โดยมีค่าเท่ากับ 2.61 ± 0.004 และ 2.09 ± 0.009 mg GAE/g ของสารสกัด ตามลำดับ ส่วนสารผสมพบว่า สมุนไพรฟ้าทะลายโจรผสมโพรพอลิสและนมผึ้งมีปริมาณฟีนอลิกมากที่สุด เท่ากับ 10.34 ± 0.009 mg GAE/g ของสารสกัด รองลงมาคือ สมุนไพรฟ้าทะลายโจรกับโพรพอลิส, สมุนไพรฟ้าทะลายโจรกับนมผึ้ง และ โพรพอลิสกับนมผึ้ง โดยมีค่าเท่ากับ 6.4 ± 0.004 , 4.42 ± 0.005 และ 3.72 ± 0.002 mg GAE/g ของสารสกัด ตามลำดับ

Thesis Title	Growth Inhibition of Pathogenic Bacteria Causing Enteric Diseases and Anti-free Radicals by Propolis, Royal Jelly and <i>Andrographis paniculata</i>
Author	Miss Kiratiya Eiamthaworn
Degree	Master of Science (Applied Microbiology)
Thesis Advisor	Assistant Professor Dr. Yingmanee Tragoolpua

Abstract

Contamination of food by pathogenic bacteria causing enteric diseases results in diarrhea, nausea, vomiting and gastroenteritis. Using synthetic drugs for treatment the diseases may cause antibiotic resistant bacteria. Thus, application of natural extracts for treatment of pathogenic bacteria causing enteric diseases is an alternative choice for treatment of diseases instead of synthetic drugs. This research was to study antibacterial activity of propolis, royal jelly and *Andrographis paniculata* on enteric bacteria; *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *E.coli* Enteroaggregative isolate A,B,C. Antioxident activity of propolis, royal jelly and *Andrographis paniculata* was also investigated. The highest anti-bacterial activity of propolis was observed after testing against *Shi. flexneri* with minimal bactericidal concentration, MBC of 31.25 mg/ml. MBC of 31.25 mg/ml was observed after testing *Shi. flexneri*, *K. pneumonia* and *Ent. aerogenes* with royal jelly. Extract of *A. paniculata* showed highest activity on all bacteria tested with MBC of 125 – 250 mg/ml. Highest antibacterial activity on *Ps. aeruginosa* was shown after treatment with combination of *A. paniculata* extract and propolis

extract with MBC of 31.25 and 12.5 mg/ml. Moreover, *Ps. aeruginosa*, *E. coli* and *E. coli* Enteroaggregative isolate A were inhibited with highest activity after treatment with combination of *A. paniculata* extract and royal jelly with MBC of 31.25 and 25 mg/ml. Combination of royal jelly and propolis extract showed highest activity at MBC of 12.5 and 25 mg/ml against *E. coli* Enteroaggregative isolate B and combination of *A. paniculata* extract, propolis extract and royal jelly showed similar MBC of 62.5, 25 and 50 mg/ml on all bacteria tested. After determination of anti-free radical activity by ABTS radical cation decolorization assay, propolis showed highest anti-free radical activity followed by *A. paniculata* extract and royal jelly with trolox equivalent, TEAC of 13.41 ± 2.02 , 5.14 ± 0.60 and 1.03 ± 0.13 mg/g of extract, respectively. Combination of *A. paniculata* extract, propolis extract and royal jelly showed highest anti-free radical activity followed by combination of propolis extract and *A. paniculata*, combination of royal jelly and propolis and combination of *A. paniculata* and royal jelly with TEAC of 35.23 ± 2.10 , 23.84 ± 0.84 , 19.96 ± 0.83 and 15.01 ± 0.32 mg/g of extract, respectively. When using DPPH radical scavenging assay to determine anti-free radical activity, propolis showed highest anti-free radical activity followed by *A. paniculata* extract and royal jelly with TEAC of 9.9 ± 2.25 , 3.00 ± 0.53 , 0.9 ± 0.20 mg/g of extract, respectively. Combination of propolis extract and *A. paniculata* showed highest anti-free radical activity followed by combination of *A. paniculata* extract, propolis extract and royal jelly, combination of royal jelly and propolis, and combination of *A. paniculata* and royal jelly with TEAC of 8.08 ± 0.58 , 8.0 ± 0.09 , 3.78 ± 0.18 and 2.24 ± 0.46 mg/g of extract, respectively. *Andrographis paniculata* showed highest phenolic compound content of 2.70 ± 0.006 mg GAE/g of extract followed by propolis and royal jelly, which showed phenolic compound content of 2.61 ± 0.004 and 2.09 ± 0.009 mg GAE/g of extract. Combination of *A. paniculata* extract, propolis and royal jelly showed highest phenolic compound content of 10.34 ± 0.009 mg GAE/g extract followed by combination of *A. paniculata* extract and propolis, combination of *A. paniculata* extract and royal jelly, and propolis and royal jelly with phenolic compound contents of 6.4 ± 0.004 , 4.42 ± 0.005 and 3.72 ± 0.002 mg GAE/g of extract, respectively.