

จิราวรรณ อุ๋นเมตตาอารี : ผลของสารสกัดจากเครื่องเทศตระกูลขิงข่า ต่อการยับยั้งการเจริญ และการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ก่อโรค (EFFECTS OF THE ZINGIBERACEAE SPICE EXTRACTS ON GROWTH AND MORPHOLOGICAL CHANGES OF FOODBORNE PATHOGENS)  
 อาจารย์ที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะวรรณ กาสลัก, 137 หน้า.  
 ISBN 974-533-463-4

สารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ 4 ชนิดในตระกูล Zingiberaceae ได้แก่ ข่า ขิง ขมิ้น และ กระชาย ได้นำมาทำการหาค่าความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และประเมินการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ สารสกัดหยาบจากเครื่องเทศเตรียมจากตัวทำละลายได้แก่ น้ำ เมทานอล เอทานอล และเอธิลอะซีเตท และทดสอบผลของการยับยั้งตัวของเชื้อแบคทีเรีย 2 กลุ่ม ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* สารสกัดจากข่าด้วยเมทานอล และเอทานอล ได้นำไปทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆเช่น *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus lactis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Salmonella sp.*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Saccharomyces cerevisiae* และ Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* วิธีการ broth dilution เป็นวิธีการซึ่งใช้ในการทดสอบผลของการยับยั้ง เชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากน้ำ พบว่าสารสกัดจากขิงด้วยน้ำที่ความเข้มข้น 5.00 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร ให้ผลดีที่สุดต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของตัวแทนของเชื้อแบคทีเรีย 2 กลุ่ม ได้แก่ *S. aureus* และ *E. coli* และสารสกัดจากเครื่องเทศชนิดอื่นที่ความเข้มข้นเดียวกันคือที่ 5.00 มิลลิกรัม ต่อ มิลลิลิตร ให้การยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งสองชนิด วิธีการ agar disc diffusion ถูกใช้ เพื่อตรวจสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อของสารสกัดจากเมทานอล เอทานอล และเอธิลอะซีเตท สารสกัดจากข่าด้วยเมทานอล เอทานอล และเอธิลอะซีเตท ให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากเครื่องเทศชนิดอื่น จากการวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากข่าด้วยเมทานอลที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* (Minimum inhibitory concentration) คือ 0.800 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* (Minimum bactericidal concentration) คือ 1.600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากข่าด้วยเอทานอลที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* คือ 0.325 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* คือ 1.300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สารสกัดจากข่ายังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* และ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Bacillus megaterium* ได้เพียงเล็กน้อย ในขณะที่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแกรมลบบางชนิด ได้แก่ *Salmonella sp.*, *Enterobacter aerogenes* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้เลย



JIRAWAN OONMETTA-AREE : EFFECTS OF THE ZINGIBERACEAE  
SPICE EXTRACTS ON GROWTH AND MORPHOLOGICAL CHANGE OF  
FOODBORNE PATHOGENS. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. PIYAWAN  
GASALUCK, Ph.D., 137 P.P. ISBN 974-533-463-4

ZINGIBERACEAE/*STAPHYLOCOCCUS AUREUS*/ANTIMICROBIAL ACTIVITY/D,  
L-1'-ACETOXYCHAVICOL ACETATE/MEMBRANE INTEGRITY

Crude extracts of four spices in the Zingiberaceae (galangal, ginger, turmeric and krachai) were evaluated in their ability to inhibit the growth of test microorganisms and to assess cell morphological changes. Crude extracts were prepared by distilled water-, methanol-, ethanol- or ethyl acetate-soluble extraction and tested for their inhibitory effects against representative foodborne pathogens—*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. They were also tested galangal methanol and ethanol against other microorganisms both gram positive and gram negative bacteria such as *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus lactis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Salmonella* sp., *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Saccharomyces cerevisiae* and Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. The broth dilution method was used in testing the antibacterial effects of the lyophilized water extract. By using a broth dilution method, the lyophilized ginger water-extracted at a concentration of 5.00 mg/ml was found to have strong inhibitory effects on the growth of representative foodborne pathogens—*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, whereas the same extracts of other spices at concentration of 5.00 mg/ml marginally inhibited the growth of both bacteria. The dried spices methanol, ethanol, and ethyl acetate extracts were determined and ethyl acetate galangal extracts were found to have the strongest inhibitory effects on

the growth of *S. aureus*. Minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal concentrations (MBC) against *S. aureus* of dried galangal methanol and ethanol extracts were 0.800 mg/ml and 0.325 mg/ml and 1.600 mg/ml and 1.300 mg/ml, respectively. The dried galangal methanol and ethanol extracts also inhibited the growth of *Staphylococcus epidermidis* and *Saccharomyces cerevisiae*. The extracts were less antimicrobial activity against *Bacillus cereus* and *Bacillus megaterium* and there were no antimicrobial activity against some gram negative bacteria: *Salmonella* sp., *Enterobacter aerogenes* and *Pseudomonas aeruginosa*. Chemical analysis of the galangal methanol and ethanol extract compounds were D, L-1'-acetoxychavicol acetate (ACA), *p*-coumaryl diacetate, 1'-acetoxyeugenol acetate, and trace compounds, which were determined by using TLC, GC-MS and NMR.

The modes of action and target sites of compounds in crude galangal methanol and ethanol extracts against *S. aureus* were investigated by using transmission electron microscopy (TEM), determining arginine dihydrolase, urease activity and measuring an uptake of fluorescent nuclear stain propidium iodide. The dried galangal methanol extract caused cytoplasm coagulation and some lack of cytoplasm. Electron micrographs showed that the dried galangal ethanol extract showed alteration in membrane's integrity with plasma membranes and cell walls were disrupted and damaged resulting in a release of cell materials from cytoplasm. The extracts were also able to delay the sugar utilization, inhibit arginine dihydrolase and urease activities within 48 h and 24 h, respectively. *S. aureus* treated with crude extracts showed an increase in the uptake of the nucleic acid stain propidium iodide indicating an increase of cytoplasmic membranes permeability.

These results found that the crude galangal methanol and ethanol extracts were able to inhibit the growth of some gram positive bacteria and yeast, causing interfere the

cell wall and cell membrane integrity and enzymatic function that relevant to the hypothesis.

School of Food Technology

Academic Year 2005

Student's Signature Jiranan Dornmettane

Advisor's Signature Pojanun Sornch