



รายงานการวิจัย

การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและชีวภาพของ
น้ำหมักสมุนไพรท้องถิ่นจังหวัดอุบลราชธานี

(Studies on Chemical and Biological Properties of
Fermented Plants of Ubonratchathani)

ชื่อผู้วิจัย

เกศัชกรหญิง ดร.วันดี รังสีวิจิตรประภา
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

พ.ศ. 2548

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ประจำปีงบประมาณ 2547

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและชีวภาพของน้ำหมักสมุนไพรท้องถิ่นจังหวัดอุบลราชธานี
ผู้วิจัย นาง วันดี รังสีวิจิตรประภา, ภ.บ., ภ.ม.(เภสัชอุตสาหกรรม), Dr.rer.nat. (Pharm. Tech.)
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

โครงการนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก

เงินรายได้มหาวิทยาลัยอุบลราชธานีเพื่อการพัฒนาและสนับสนุนงานวิจัย
งานส่งเสริมการวิจัย สำนักงานอธิการบดี ปีงบประมาณ 2547
จำนวนเงิน 40,000 บาท

ระยะเวลาทำวิจัย 12 เดือน

ศัพท์สำคัญ น้ำหมักชีวภาพ, ต้านอนุมูลอิสระ, ต้านจุลชีพ, ปรับภูมิคุ้มกัน, สมุนไพร

.....

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเพื่อให้ได้ทราบข้อมูลเบื้องต้นของพืช ผัก สมุนไพร ท้องถิ่นของจังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 5 ชนิด คือ ติว (*Cratoylum formasum* (Jack) กระโดน (*Carega sphaeria roxb*) เม็ก (*Engenia grata* Wight. var *collinase craib*) ถอบแถบเครือ (*Connarus semide condrus* (Jack)) และ มะรุม (*Moringa olefera lamh*) โดยพืชทั้ง 5 ชนิดผ่านการหมักด้วยน้ำตาลอ้อยและเชื้อ *Lactobacillus spp.* โดยเตรียมน้ำหมักชีวภาพพืชละ 6 สูตรที่แตกต่างกันตามองค์ประกอบและกรรมวิธีในการหมัก ระยะเวลาในการหมัก 90 วัน จากนั้นทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อมาศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และศึกษาคุณสมบัติในการต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและรา การต้านอนุมูลอิสระ และกระตุ้นภูมิคุ้มกัน จากการศึกษพบว่า สารสกัดของกระโดนมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. epidemidis* และ *Salmonella typhi* สารสกัดของติวมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* สารสกัดของเม็กมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *B. Subtilis* และ *S. typhi* สำหรับผลของน้ำหมักชีวภาพของกระโดนสูตรที่มีพืชเป็นองค์ประกอบมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ 5 ชนิด คือ *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. typhi* และ *Ps. aeruginosa*. ส่วนน้ำหมักชีวภาพของเม็กสูตรที่มีพืชเป็นองค์ประกอบมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ 3 ชนิด คือ *S. aureus*, *B. subtilis* และ *S. typhi*. ขณะที่น้ำหมักชีวภาพของติวไม่พบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพและผลการทดสอบหาเชื้อควบคุมตามเภสัชตำรับไม่ปรากฏว่ามีเชื้อในน้ำหมักชีวภาพทุกสูตร จากผลการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพพบว่า กรดอินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบในน้ำหมัก คือ กรดแอสคอบิก กรดแลคติก กรดอะเซติก และกรดซัคซินิค โดยพืชแต่ละชนิดจะให้กรดอินทรีย์เหล่านี้ในปริมาณที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและสูตรที่ใช้ในการหมัก ในส่วนของปริมาณเอทานอลในน้ำหมักของพืชทุกชนิด

จะสูงสุดในวันที่ 15 โดยมีปริมาณอยู่ในช่วงร้อยละ 0.00-0.5 โดยปริมาตร ซึ่งถือว่าปลอดภัยตามเกณฑ์ของกระทรวงสาธารณสุข จากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรวม (total sugar) และน้ำตาลรีดิวซ์พบว่า มีปริมาณลดลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการหมัก จากการตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมักชีวภาพที่เตรียมจากตัวมีค่าอยู่ในช่วง 3.14-4.67 เม็ก (2.82-4.72) กระโดน (2.77-4.64) ถอบแถบเครือ (2.76-4.66) และมะรุม (2.22-4.95) จากการทดสอบฤทธิ์ปรับภูมิคุ้มกันในวันที่ 0, 15, 30, 60 และ 90 โดยศึกษาฤทธิ์ที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของ T-Lymphocytes ที่ได้จากม้ามของหนูทดลอง ด้วยวิธี MTT assay ในภาวะที่มีและไม่มี Phytohemagglutinin เป็นตัวกระตุ้น พบว่า สารสกัดน้ำและ 50% เอทานอลของตัวไม้เป็นพิษต่อเซลล์ และสามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของ T-Lymphocytes ที่ความเข้มข้น 100-400 $\mu\text{g/ml}$ และ 12.5-800 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ส่วนผลการศึกษาฤทธิ์ปรับภูมิคุ้มกันของน้ำหมักชีวภาพ พบว่า น้ำหมักชีวภาพไม่เป็นพิษต่อเซลล์ และมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของ T-Lymphocytes โดยฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันพบได้ตั้งแต่วันแรกของการหมักจนถึงวันที่ 90 และจากการตรวจวัดคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันของน้ำหมักชีวภาพด้วยวิธี Ferric reducing/ Antioxidant power (FRAP) โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร และวิธี radical cation decolorization (ABTS) โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร การทดลองด้วยวิธี FRAP โดยวัดปริมาณฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเทียบเท่าสารมาตรฐาน FeSO_4 พบว่า ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเรียงจากมากไปหาน้อยดังนี้ 25.03 g/ml ถอบแถบเครือ (หมัก 20 วัน), 23.33 g/ml ตัว (หมัก 13 วัน), 22.59 g/ml กระโดน (หมัก 15 วัน), 12.46 g/ml เม็ก (หมัก 7 วัน) และ 2.94 g/ml มะรุม (หมัก 17 วัน) ผลการทดสอบด้วยวิธี ABTS โดยเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี พบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเรียงจากมากไปหาน้อยดังนี้ 5.16 mg/ml กระโดน (หมัก 25 วัน), 4.03 mg/ml ตัว (หมัก 20 วัน), 3.80 mg/ml ถอบแถบเครือ (หมัก 15 วัน), 3.33 mg/ml เม็ก (หมัก 15 วัน) และ 1.13 mg/ml มะรุม (หมัก 10 วัน) และเมื่อเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันกับสารมาตรฐาน Trolox คือ 7.15 mg/ml กระโดน (หมัก 25 วัน), 5.71 mg/ml ตัว (หมัก 20 วัน), 5.41 mg/ml ถอบแถบเครือ (หมัก 15 วัน), 4.80 mg/ml เม็ก (หมัก 6 วัน) และ 1.99 mg/ml มะรุม (หมัก 10 วัน)

จากผลการวิจัยสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการพิจารณาเลือกชนิดของพืชผัก และระยะเวลาในการหมักเพื่อใช้เตรียมน้ำหมักชีวภาพให้ได้สารสำคัญที่ต้องการในปริมาณสูงสุด หรือมีคุณสมบัติในการต้านจุลชีพ กระตุ้นภูมิคุ้มกัน หรือต้านออกซิเดชันสูงสุด นอกจากนี้ ยังพบว่าน้ำหมักชีวภาพที่เตรียมจากผักพื้นบ้านจังหวัดอุบลราชธานีทั้ง 5 ชนิดนี้ จัดว่าเป็นเครื่องดื่มที่ปลอดภัย เมื่อพิจารณาปริมาณแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นและไม่มีส่วนประกอบของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อต้องห้าม จึงสามารถใช้ข้อมูลนี้ในการพัฒนาน้ำหมักชีวภาพให้เป็นเครื่องดื่มเสริมสุขภาพ หรือเป็นเวชสำอางที่ได้มาตรฐานต่อไป

Abstract

Research title Studies on Chemical and Biological Properties of Fermented Plants of Ubonratchathani

Researcher Wandee Rungseevijitprapa, B.Pharm, M.Pharm., Dr.rer.nat. (Pharm. Tech.)
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubonratchathani University

This research was financially supported by

Ubonratchathani University

Fiscal year 2004

40,000 Baht

Research duration 12 months

Key words fermented biological product, antioxidant, antibacterial, immunomodulating, herb

.....
The purpose of this study was to prepare fermented biological products from 5 vegetables of Ubonratchathani; Tiw (*Cratoxylum formosum* (Jack)), Mek (*Engenia grata* Wight.var *collinase craib*), Kradone (*Carega sphaeria roxb*), Thobthabkrua (*Connarus semide condrus* (Jack)) and Marum (*Moringa oleifera lamh*). The fermented biological products are prepared from vegetable:sugar: water (ratio 3 :1 : 10) and *Lactobacillus caesei* was used as a microbial starter. In order to investigate the effect of composition and preparation process condition, each of the plant was prepared as 6 different formulas and the fermented time was 90 days. The samples were collected at different fermented time intervals to investigate the physicochemical property, antibacterial activity, immunomodulating property and antioxidant property of the products. Results showed that *Carega sphaeria* extracts exhibited antibacterial property against 4 organisms; *S. aureus*, *S. typhi*, *S. epidermidis* and *B. subtilis* while *Cratoxylum formosum* extract gave activities on *S. aureus*. *Engenia grata* had some activity against *S. typhi* and *B. subtilis*. Interestingly, the biological fermented product of *Carega sphaeria* had the antibacterial activity against 5 organisms; *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. typhi* and *Ps. aeruginosa*. The biological fermented product of *Engenia grata* had some activity against 3 organisms; *S. aureus*, *B. subtilis* and *S. typhi*. But, the biological fermented products of

Four major organic acids were found in the fermented biological products includes ascorbic acid, lactic acid, acetic acid and succinic acid. The type and amount of these acids depend on the type of vegetables, fermented formulation and time. Ethanol content from every product increased to the maximum level after fermented for 15 days. All the investigated products had the ethanol content in the range of 0-0.5% v/v which found to be safe according to the Ministry of Health. Analysis of the total sugar and reducing sugar was found to decrease as the fermented time increased. The pH values from each products were as followed; Tew (3.14-4.67), Mek (2.82-4.72), Kradone (2.77-4.64), Thobthabkrua (2.76-4.66) and Marum (2.22-4.64). T-Lymphocytes proliferation activities were studied on splenocytes of mice by MTT assay in the presence and absence phytohemagglutinin. The results exhibited the aqueous extracts and 50% ethanolic extracts of *Cratoxylum formasum* had no cytotoxic effect on T-Lymphocytes and stimulated T-Lymphocytes proliferation at concentrations of 100 - 400 µg/ml and 12.5 - 800 µg/ml respectively. The results of immunomodulating activities of biological fermented products did not show any cytotoxic effect on T-Lymphocytes but stimulate the T-Lymphocytes proliferation. The FRAP value equivalent with ferrous sulphate gave the relative antioxidant activity of the fermented biological products highest to lowest as follows; 25.03 g/ml Thobthabkrua (fermented time 20 days), 23.33 g/ml Tiw (fermented time 15 days), 22.59 g/ml Kradone (fermented time 17 days), 12.46 g/ml Mek (fermented time 7 days) and 2.94 g/ml Marum (fermented time 17 days). Analysis of the vitamine C antioxidation property by the ABTS method from the highest to lowest activity was as followed; 5.16 mg/ml Kradon (fermented time 25 days), 4.03 mg/ml Tiw (fermented time 20 days), 3.80 mg/ml Thobthabkrua (fermented time 15 days), 3.33 mg/ml Mek (fermented time 15 days) and 1.13 mg/ml Marum (fermented time 10 days). The Trolox equivalent antioxidant capacity were 7.15 mg/ml Kradone (fermented time 25 days), 5.71 mg/ml Tiw (fermented time 20 days), 5.41 mg/ml Thobthabkrua (fermented time 15 days), 4.80 mg/ml Mek (fermented time 6 days) and Marum 1.99 mg/ml (fermented time 10 days).

The results from this study were useful in the selection type of plants or vegetables and the fermented time in order to obtain the maximum amount of the required actives and the fermented biological products were found to be safe and had a potential to be furthered developed as health beverage or cosmetic products with acceptable standard.