รายงานวิจัย

ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเปลือกลูกหยี
Antibactebial activities of crude extracts from peel velvet tamarind (*Dialium Guineense*)

โดย

สุนีย์ แวมะ

อาอีเซาะส์ เบ็ญหาวัน

ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณบำรุงการศึกษาประจำปี 2559

มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

หัวข้อวิจัย ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเปลือกลูกหยี
ชื่อผู้วิจัย สุนีย์ แวมะ
อาอีเซาะส์ เบ็ญหาวัน
คณะ/หน่วยงาน วิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร
มหาวิทยาลัย ราชภัฏยะลา
ปีงบประมาณ 2559

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุระสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดหยาบจากเปลือกลูกหยี โดยใช้ส่วนเปลือกของลูกหยี นำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน และเมทานอล พบว่า เมทานอลสามารถสกัดสารได้น้ำหนักมากที่สุด เท่ากับ 8.1545 กรัม รองลงมาได้แก่ ตัวทำละลายอะซิโตน ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน ได้สารสกัดมีน้ำหนักเท่ากับ 3.1259 กรัม 0.7053 กรัม และ 0.3605 กรัมตามลำดับ สารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด มีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวข้น สีน้ำตาลเข้ม เมื่อนำสารสกัดทั้ง 4 ชนิด มาทดสอบการยับยั้งแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli* ด้วยวิธี disc diffusion test ผลการทดสอบการยับยั้งพบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยอะซิโตนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *B. cereus* และ *E. coli* ได้ดีที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 14.00, 13.00 และ 13.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ สารสกัดจากตัวทำละลายเมทานอล ให้ผลการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *S. aureus*, *B. cereus* และ *E. coli* เท่ากับ 10.66±0.57, 10.66±0.57 และ 9.00±0.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดจากเฮกเซนให้ผลการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *S. aureus*, *B. cereus* และ *E. coli* เท่ากับ 7.33±0.57, 8.33±0.57 และ 7.66±0.57 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนสามารถยับยั้ง *B. cereus* ได้ โดยให้ผลการยับยั้งเท่ากับ 9.33±0.00 มิลลิเมตร แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *E. coli* ได้

Research Title Antibacterial activities of crude extracts from peel velvet tamarind (*Dialium Guineense*)
Researcher Sunee Waema
Aeesoh Benhawan
Faculty/Section Science Technology and Agriculture

University Yala Rajabhat
Year 2016

ABSTRACT

This research aimed to study the efficiency of extracts from peel velvet tamarind against pathogenic bacteria. Peel velvet tamarind were extracted from four kinds of solvent (Hexane, Dichloromethan, Acetone and Methanol). For the ability to extracted the four types of solvents, Methanol could extracted the high weight equal 8.1545 g. Followed by acetone, dichloromethane and hexane, the extract has a weight of 3.1259, 0.7053 and 0.3605 g respectively. Extracts from the four types of solvents had a dark brown viscous liquid. The four crude extracts were investigated for their inhibitory effects against four microorganisms, namely *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* by using disc diffusion test. The sensitivity testing the acetone extract showed strong activity against *S. aureus*, *B. cereus* and *E. coli* were about 14.00±0.00, 13.00±0.00 and 13.00±0.00 millimeter respectively. Methanol extract showed activity against *S. aureus*, *B. cereus* and *E. coli* were about 10.66±0.57, 10.66±0.57 and 9.00±0.00 millimeter respectively. Hexane extract showed activity against *S. aureus*, *B. cereus* and *E. coli* were about 7.33±0.57, 8.33±0.57 and 7.66±0.57 millimeter respectively. Dichloromethane extract showed activity against only *B. cereus* was about 9.33±0.00 millimeter but unable against *S. aureus* and *E. coli*.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณ หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตรที่ได้อำนวยสถานที่ที่ทำวิจัย เครื่องมือและอุปกรณ์บางส่วนในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณน้องๆ นักศึกษา สาขาวิชาเคมี ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างเปลือกลูกหยีจากชุมชน และกลุ่มแม่บ้านที่ผลิตผลิตภัณฑ์โอท็อป

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ ทุนวิจัยงบบำรุงการศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลาเป็นอย่างสูงที่ได้สนับสนุนทุนวิจัยและเปิดโอกาสให้ผู้วิจัยได้สร้างองค์ความรู้และสามารถนำสิ่งของเหลือใช้จากชุมชนมาก่อให้เกิดประโยชน์มากยิ่งขึ้น

ผู้วิจัย

YALA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
Abstract	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.4 ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 การสกัดสารจากพืช	4
2.2 การเลือกตัวทำละลายในการสกัด	8
2.3 ลูกหยี (*Dialium Cochinchinense Pierre*)	10
2.4 แบคทีเรียก่อโรคในอาหาร	12
2.5 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	26
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	27
3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี	27
3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย	28
บทที่ 4 ผลการวิจัย	30
4.1 สารสกัดสารจากเปลือกลูกหยี	30
4.2 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกลูกหยีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร	31
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	36
5.1 สรุปผลการวิจัย	36
5.2 ข้อเสนอแนะ	36

สารบัญ (ต่อ)

บรรณานุกรม	37
ภาคผนวก ก	40
การเตรียมสารสกัดจากเปลือกลูกหยี	41

การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร 44
ภาคผนวก ข 46
ประวัติผู้วิจัย 47

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 การเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียในการใช้สารสกัดจากพืชกับสารเคมีสังเคราะห์ 3
ตารางที่ 4.1 ลักษณะและน้ำหนักของสารสกัดจากเปลือกลูกหยีด้วยตัวทำละลายต่างชนิด 30
ตารางที่ 4.2 การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร (Clear Zone) ของสารสกัดจาก 35

เปลือกลูกหยีด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน
และเมทานอล

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 2.1	ตัวทำละลายเรียงตามลำดับมีขั้วจากมากไปน้อย	9
ภาพที่ 2.2	ลักษณะเปลือกและเนื้อลูกหยี	10
ภาพที่ 2.3	ลักษณะต้นลูกหยี	12
ภาพที่ 2.4	เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*	14
ภาพที่ 2.5	ลักษณะของเชื้อ *Bacillus cereus*	19
ภาพที่ 4.1	บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* (a) จากสารสกัดเฮกเซน (ก) ไดคลอโรมีเทน (ข) อะซิโตน (ค) และเมทานอล (ง) โดยมีเอทานอลเป็นตัวควบคุม (b)	32

ภาพที่ 4.2 บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* (a) จากสารสกัดเฮกเซน (ก) ไดคลอโรมีเทน (ข) อะซิโตน (ค) และเมทานอล (ง) โดยมีเอทานอลเป็นตัวควบคุม (b) 33

ภาพที่ 4.3 บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* (a) จากสารสกัดเฮกเซน (ก) ไดคลอโรมีเทน (ข) อะซิโตน (ค) และเมทานอล (ง) โดยมีเอทานอลเป็นตัวควบคุม (b) 34

มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา
YALA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

โรคติดเชื้อนับเป็นสาเหตุการเสียชีวิตที่สำคัญสาเหตุหนึ่งในปัจจุบัน เนื่องจากปริมาณเชื้อโรคที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิดมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น ทำให้โอกาสที่จะรักษาโรคติดเชื้อเหล่านี้ให้หายเป็นไปได้ยากยิ่งขึ้น จึงได้เริ่มมีการค้นหาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมาใช้ในการรักษา เนื่องจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเหล่านี้มีความหลากหลายทางเคมี โอกาสที่ทำให้เชื้อโรคดื้อยาจึงมีน้อยกว่าการใช้ยาเคมีสังเคราะห์ (Chanda *et al*, 2010) และคนไทยในอดีต ก่อนที่จะมีการนำยาเคมีสังเคราะห์แผนปัจจุบันมาใช้ก็นิยมใช้สมุนไพรกันเป็นจำนวนมาก พืชสมุนไพรผลิตเมแทบอไลท์ทุติยภูมิที่มีคุณสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์เป็นจำนวนมาก สารเคมีหลากชนิดที่พืชผลิตขึ้นมีส่วนสำคัญในการป้องกันพืชจากโรคติดเชื้อ องค์ประกอบของสารยับยั้งจุลินทรีย์เหล่านี้พบได้ในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น เปลือกต้น ใบ ผล ราก ดอก เมล็ด และเปลือกผลไม้ เปลือกผลไม้จัดเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งของยาต้านจุลินทรีย์ การนำเปลือกผลไม้มาใช้เป็นการเพิ่มมูลค่าและเพิ่มประโยชน์ของเปลือกผลไม้ได้อีกทางหนึ่ง ซึ่งมีงานวิจัยหลายฉบับที่รายงานว่า เปลือกและเมล็ดของผลไม้ เช่น เปลือกและเมล็ดองุ่น เปลือกและเมล็ดทับทิม (Chanda *et al*, 2010; Nuamsetti *et al*, 2012) เปลือกมะละกอ เปลือกมะม่วง เปลือกมังคุด และเปลือกสับประรด (Lorsuwan *et a*l. 2008) มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์

หยีเป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Dialium Guineense* เป็นพืชในสกุล Dialium พบมากในพื้นที่สามจังหวัดชายแดนใต้โดยเฉพาะอำเภอยะรัง จังหวัดปัตตานี ซึ่งเป็นสินค้าที่สร้างรายได้ให้แก่จังหวัดปีละมากๆ มีการนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ลูกหยีกวนที่เป็นของฝากขึ้นชื่อมาเป็นเวลานานกว่า 20 ปี จากการศึกษารายงานวิจัยพบว่า ผลของลูกหยีมีคุณค่าเป็นแหล่งของโภชนาการ มีปริมาณน้ำสูง และมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายทั้งเด็กและผู้ใหญ่ (Ogungbenle and Ebadan, 2014) อีกทั้งยังอุดมไปด้วยแร่ธาตุต่างๆ ดังนี้ แคลเซียม โซเดียม แมกนีเซียม โปแตสเซียม ไอโอดีน และเหล็ก (Kengni *et a*l, 2014) นอกจากนี้ยังมีรายงานการนำส่วนราก ใบ ผล และเปลือกลำต้นไปใช้ในการบำบัดรักษาโรค (Ajiwe *et al*, 1996) ผลลูกหยีเสริมสร้างน้ำนมและยับยั้งการเข้าสืบพันธุ์ของอสุจิในผู้หญิงหลังคลอดลูก (Osanaiye *et al*, 2013) จากการค้นคว้าดังกล่าวข้างต้นบวกกับในประเทศไทยยังไม่มีฐานข้อมูลของต้นหยีที่จะเป็นประโยชน์ต่อคนในพื้นที่ในการประชาสัมพันธ์คุณประโยชน์ของลูกหยี ผู้วิจัยจึงเกิดความสนใจที่จะศึกษาในเรื่องของสารสกัดจากส่วนเปลือกของลูกหยีและฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ที่สำคัญ เพื่อเป็นประโยชน์และเป็นข้อมูลพื้นฐานที่จะนำไปใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ หรือต่อยอดงานวิจัยต่อไปในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

7.1 เพื่อศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดของสารสกัดหยาบจากเปลือกลูกหยี

7.2 เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกลูกหยี

7.3 เพื่อศึกษาหาสารสกัดจากส่วนของเปลือกลูกหยีที่มีฤทธิ์ยับยั้งดีที่สุดเพื่อนำไปต่อยอดงานวิจัยในอนาคต

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ผลผลิต (Output)

ได้สารสกัดหยาบจากเปลือกลูกหยี

1.3.2 ผลลัพธ์ (Outcome)

ได้สารออกฤทธิ์ที่เป็นประโยชน์จากสารสกัดหยาบจากเปลือกลูกหยี

1.3.3 ผลกระทบ (Impact)

สามารถนำเศษเหลือใช้จากกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์จากลูกหยีมาใช้ให้เกิดประโยชน์

1.4 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1.4.1 เก็บตัวอย่างเปลือกลูกหยีจากร้านผลิตผลิตภัณฑ์จากลูกหยี

1.4.2 สกัดสารจากเปลือกลูกหยีด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

1.4.3 นำสารสกัดหยาบที่ได้ไปทดสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรคในอาหาร

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับสมุนไพรมากขึ้นเพื่อลดการใช้สารเคมี ซึ่งสารเคมีมีความเป็นพิษสูงและสลายตัวยากทำให้เกิดผลกระทบต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม ซึ่งส่งผลให้สมดุลของธรรมชาติสูญเสียไป อีกทั้งการใช้สมุนไพรเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ผู้คนส่วนใหญ่หันมาให้ความสนใจเพิ่มมากขึ้นและหลีกเลี่ยงสารเคมีสังเคราะห์ที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ โดยมีรายงานการเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียในการใช้สารสกัดจากพืชกับสารเคมีสังเคราะห์ พบว่าสารสกัดจากพืชมีข้อได้เปรียบ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 การเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียในการใช้สารสกัดจากพืชกับสารเคมีสังเคราะห์

สารสกัดจากพืช	สารเคมีสังเคราะห์
1. เลือกทำลายหรือทำลายเฉพาะเจาะจง	1. ทำลายได้กว้างขวาง
2. มีความเป็นพิษต่ำหรือค่อนข้างต่ำ	2. ความเป็นพิษมีตั้งแต่ต่ำถึงสูง
3. สลายตัวได้ง่าย	3. สลายตัวได้ยาก
4. ไม่มีอิทธิพลต่อระบบนิเวศหรือมีน้อย	4. มีอิทธิพลต่อระบบนิเวศมาก
5. หาวัตถุดิบได้ยาก	5. หาวัตถุดิบได้ง่าย
6. ราคาถูก	6. ราคาแพง
7. มีโอกาสต้านทานหรือดื้อยาน้อย	7. เกิดความต้านทานหรือดื้อยาน้อย
8. ต้นทุนการผลิตต่ำ	8. ต้นทุนการผลิตสูง
9. ใช้เทคโนโลยีการผลิตที่ง่าย	9. ใช้เทคโนโลยีการผลิตที่ซับซ้อน
10. ใช้กับศัตรูในดินให้ประสิทธิภาพสูงกว่าและสารพิษตกค้างต่ำกว่า	10. ใช้กับศัตรูในดินให้ประสิทธิภาพและมีพิษกับจุลินทรีย์และสัตว์ที่มีประโยชน์ เกิดพิษตกค้างในดิน
11. ไม่มีลิขสิทธิ์และกฎหมายควบคุม	11. มีลิขสิทธิ์และกฎหมายควบคุม

ที่มา (ณรงค์ โฉมเฉลา, 2536)

2.1 การสกัดสารจากพืช

การสกัดเป็นวิธีการแยกสารที่เป็นของเหลวปนกับของเหลว หรือของแข็งปนของแข็ง โดยอาศัยสมบัติการละลายของสาร และเป็นการแยกสารที่ต้องการออกจากส่วนต่างๆ ของพืชหรือของผสม หลักการสำคัญของการสกัดด้วยตัวทำละลายคือ การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารที่ต้องการออกมาให้มากที่สุด เพราะสารแต่ละชนิดจะละลายในตัวทำละลายต่างกันและละลายได้ในปริมาณต่างกัน วิธีที่นิยมนำมาใช้ในการสกัดสารจากพืชมี 5 วิธี ดังนี้ (อารมณ์ แสงวนิชย์, 2536)

1. การหมักหรือการทำให้วัสดุอ่อนนุ่มด้วยการแช่น้ำ คือ นำส่วนที่ต้องการสกัดจากพืชมาเติมน้ำลงไปสมให้เข้ากัน แช่ในระยะเวลาที่เหมาะสม จากนั้นนำมากรองเอาส่วนที่เป็นน้ำมาใช้

รัชนี เต๋เอียดหย๋อ (2549) ได้ทำการศึกษาการยับยั้งแบคทีเรียในกุ้งกุลาดำโดยใช้สารสกัดสมุนไพร โดยใช้สมุนไพรไทย 12 ชนิด ได้แก่ กระชาย กระเทียม กระท้อน กล้วยน้ำหว้า กะเพรา ข่า ขิง ชุมเห็ดเทศ เบญกานี บัวบก ฝรั่ง มังคุด และสีเสียดเทศ สกัดด้วยเอทานอลและน้ำ โดยนำตัวอย่างสมุนไพรที่บดละเอียดแล้ว 100 กรัม มาทำการสกัดโดยใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95%

ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ และแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดแล้วนำมากรองแยกตะกอนออกแล้วนำไปทำให้แห้งโดยระเหยด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ นำสารสกัดหยาบที่ได้ไปทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *L. monocytogens*, *S. typhi*, *S. aureus* และ *V. parahemolitieus* โดยวิธี dics diffusion ผลการทดลองพบว่าสารสกัดพืชสมุนไพรที่สกัดด้วยเอทานอลของผลฝรั่งสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้ง 4 ชนิดที่ใช้ได้ในการทดสอบสารสกัดของเปลือกมังคุดและสีเสียดเทศพบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogens*

2. การกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam distillation) การกลั่นด้วยไอน้ำเป็นเทคนิคอย่างหนึ่งของการสกัดด้วยตัวทำละลายโดยใช้ไอน้ำเป็นตัวทำละลาย ละลายสารและพาสารที่ต้องการออกจากของผสมได้ ส่วนใหญ่การกลั่นด้วยไอน้ำจะใช้สกัดสารอินทรีย์ออกจากส่วนต่างๆ ของพืชที่อยู่ตามธรรมชาติ เช่น การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ใบมะกรูด เป็นต้น สารที่ต้องการสกัดจะต้องระเหยได้ง่าย สามารถให้ไอน้ำพาออกมาจากของผสมได้และสารที่สกัดได้จะต้องไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำหรือไม่ละลายน้ำ (ถ้าของเหลวที่กลั่นได้ละลายน้ำหรือรวมเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำจะต้องนำไปกลั่นแยกอีกครั้ง) หลังจากที่สกัดด้วยไอน้ำแยกออกมาจากของผสมแล้วของเหลวจะแยกเป็น 2 ชั้น ชั้นหนึ่งเป็นน้ำอีกชั้นหนึ่งเป็นสารที่ต้องการ ซึ่งสามารถใช้กรวยแยกแยกออกจากกัน ซึ่งวิธีนี้ได้นำมาใช้ในการสกัดขิงสดโดยใช้เมทานอล หรือน้ำเป็นตัวทำละลายและสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยการกลั่นโดยใช้น้ำ ไดปริมาณสารสกัดเท่ากับร้อยละ 2.60, 1.90 และ 0.10 โดยน้ำหนักตามลำดับ (Zaeoung, 2004)

3. การสกัดแบบซอกห์เลท (Soxhlet extraction) เป็นวิธีที่ใช้ได้ดีกับตัวอย่างที่เป็นผงละเอียด โดยต้มตัวอย่างให้เดือดแล้วไอของสารละลายจะไปหมุนเวียนไหลผ่านตัวอย่างพืชและพาตัวสารออกมาพร้อมกับตัวทำละลาย ซึ่งวิธีการนี้ใช้ในการแยกสาร ดังเช่น งานวิจัยของ ศจีรา คุปพิทยานันท์ และ ภคนิจ คุปพิทยานันท์ (2554) ได้นำลำต้นและเหง้าของต้นเอื้องหมายนา หั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปอบให้แห้งเพื่อป้องกันการเกิดเชื้อรา เมื่อพืชแห้งสนิทแล้วจึงนำมาปั่นบดให้เป็นผง นำผงดังกล่าวไปเข้ากระบวนการสกัดด้วยเครื่อง Soxhlet extraction โดยใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย ใช้เวลาในการสกัด 12 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปเข้ากระบวนการกลั่นแบบ reflux เพื่อแยกตัวทำละลายที่ผสมอยู่ออกให้หมดด้วยเครื่อง Rotary evaporation กระบวนการสุดท้าย คือ การทำให้สารสกัดแห้งเพื่อทำการตรวจวิเคราะห์หาสารสำคัญทางเคมีของพืชด้วยวิธี Gas chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

4. การสกัดสารเคมีโดยวิธีการแยกชั้น (Partition) การสกัดวิธีนี้มักใช้สำหรับตัวอย่างพืชสด โดยนำพืชมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ปั่นกับตัวทำละลายในเครื่องปั่น แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง สารละลายที่ได้นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่งซึ่งแยกชั้นกับตัวทำละลายแรก เพื่อทำให้มี

ความบริสุทธิ์มากขึ้น ซึ่งวิธีการนี้พบว่าถูกนำมาใช้ในการสกัดสารจากพืชหลายชนิด ตัวอย่างเช่น การสกัดสารจากเหง้าสดของขมิ้นขาว

5. การสกัดสารแบบไหลย้อน (Reflux extraction) ใช้ในการสกัดสาระสำคัญออกจากสมุนไพรที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ เฮกเซน หรือน้ำ โดยสมุนไพรที่ชแด้วแอลกอฮอล์ เฮกเซน หรือน้ำจะถูกต้มจนเดือดระเหยขึ้นไปด้านบน แล้วจะถูกควบแน่นด้วยคอนเดนเซอร์กลับลงมาทำละลายต่อเนื่อง หมุนเวียนอย่างนี้ไปเรื่อยๆ จนสารสกัดละลายเข้มข้น จึงนำไปเข้าเครื่องระเหยแอลกอฮอล์หรือเครื่องระเหยน้ำ เพื่อให้เข้มข้นต่อไป

สารสกัดสารพืชสมุนไพรมีหลายวิธี ซึ่งวิธีการสกัดที่ดีที่สุดสำหรับพืชสมุนไพรแต่ละชนิดมักได้จากการทดลอง โดยทั่วไปวิธีการสกัดที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆ อย่าง ได้แก่

1. คุณค่าของการสกัดและค่าใช้จ่ายในการสกัด หากต้องการสกัดที่ไม่ใช่สาระสำคัญและคุณค่าทางการรักษาน้อย เช่น สารที่ใช้แต่งสี กลิ่น รส ของยาเตรียมต่างๆ ก็อาจใช้วิธีง่ายๆ ที่ไม่ยุ่งยาก นอกจากนี้ควรคำนึงถึงค่าใช้จ่ายทั้งหมดเปรียบเทียบกับราคาของสารสกัดที่เตรียมได้ว่าคุ้มค่ากับการลงทุนหรือไม่

2. ความต้องการที่จะให้ได้การสกัดที่สมบูรณ์ (Exhausted extraction) หรือเกือบสมบูรณ์หากต้องการสารสกัดเจือจาง การใช้วิธีมาเซอเรชันก็เพียงพอแล้ว แต่ถ้าต้องการสารสกัดเข้มข้นก็ควรใช้วิธีเพอร์โคเลชันหรือการสกัดแบบต่อเนื่อง

3. ธรรมชาติของพืชสมุนไพร

- ลักษณะและโครงสร้างของเนื้อเยื่อ สมุนไพรที่มีลักษณะอ่อนนุ่ม เช่น ดอก ใบ อาจสกัดด้วยวิธีมาเซอเรชัน หากเป็นพืชสมุนไพรที่มีเนื้อเยื่อที่แข็งแรงและเหนียว เช่น เปลือก ราก เนื้อไม้ ควรใช้วิธีเพอร์โคเลชันหรือการสกัดแบบต่อเนื่อง

- ความสามารถในการละลายของสารสำคัญในน้ำยาสกัด ถ้าละลายได้ง่ายนิยมใช้วิธีดูดซับ แต่ถ้าละลายได้น้อยก็จำเป็นต้องใช้วิธีเพอร์โคเลชันหรือการสกัดแบบต่อเนื่อง

- ความคงตัวของสาระสำคัญในสมุนไพรต่อความร้อน ถ้าเป็นสารที่ไม่ทนต่อความร้อนควรใช้วิธีมาเซอเรชันหรือเพอร์โคเลชัน

การสกัดด้วยตัวทำละลาย

การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีทำให้สารบริสุทธ์ หรือเป็นวิธีแยกสารออกจากกัน โดยอาศัยสมบัติของละลายของสารแต่ละชนิด เนื่องจากสารต่างชนิดกันละลายในตัวทำละลายต่างชนิดกันได้ต่างกัน และสารชนิดเดียวกันละลายในตัวทำละลายต่างชนิดได้ต่างกัน ตัวทำละลายที่เหมาะสมควรมีสมบัติทั่วไปดังนี้ คือ ละลายได้ดีในสารที่ต้องการ ไม่ละลายสารอื่นในของผสมในของผสมนั้น ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด มีจุดเดือดต่ำ ระเหยได้ง่าย เมื่อสกัดสารออกมาเป็นสารละลายแล้ว สามารถแยกตัวทำละลายออกจากสารละลายนั้นได้ง่าย ไม่เป็นพิษ หาง่าย และราคาถูก

การเตรียมตัวอย่างพืช

การเตรียมตัวอย่างพืชต้องคำนึงถึงสาระสำคัญในพืชคือการตรวจเอกลักษณ์ของพืชที่ถูกต้อง ไม่มีพืชอื่นเจือปนไม่มีโรคพืช อายุพืชที่ผลิตสาระสำคัญ และการเก็บรักษา การเตรียมตัวอย่างให้แห้งเพื่อคงคุณภาพของสมุนไพรไว้ ควรจะทำให้แห้งโดยวิธีที่เร็วและอุณหภูมิต่ำๆ เพราะอุณหภูมิสูงจะทำให้สาระสำคัญสลายหรือเปลี่ยนแปลง

ขั้นตอนการสกัด ตัวอย่างวิธีการสกัดอย่างเป็นขั้นตอนทำได้หลายวิธี คือ

1. การสกัดโดยเพิ่มความมีขั้วของตัวทำละลาย โดยสกัดด้วยแอลกอฮอล์หรือเมทานอล จากนั้นนำสารสกัดที่ได้จากแอลกอฮอล์นี้ไปทำให้เข้มข้นก่อนที่จะนำมาพาร์ทิชัน (partition) กับตัวทำละลายที่มีขั้วต่างๆ กันโดยเริ่มจากตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (non-polar solvent) ไปถึงตัวทำละลายมีขั้ว (polar solvent) เช่น เฮกเซน เอทิลแอซิเทต (ethyl acetate) บิวทานอล (butanol) เป็นต้น

2. การสกัดโดยอาศัยคุณสมบัติในการเป็นกรดและด่างของสาร โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม จากนั้นจึงแยกกลุ่ม โดยพาร์ทิชันกับกรดและด่าง หรือทางกลับกันพาร์ทิชันกับกรดและด่างอ่อน แล้วจึงสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม การทำสารสกัดให้เข้มข้น (Concentration)

เนื่องจากสารสกัดหยาบที่ได้จากวิธีการสกัดข้างต้นจะมีปริมาตรมากและเจือจาง ทำให้นำไปแยกองค์ประกอบได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อนด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้

1. การกลั่นในภาวะสุญญากาศ (distillation in vacuum) จัดเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดโดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ พร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสูญญากาศโดยใช้ปั๊มสูญญากาศ (vacuum pump) เครื่องมือนี้เรียกว่า โรตารีอีวาโพเรเตอร์ (Rotary evaporator) ซึ่งประกอบด้วยส่วนต่างๆ 3 ส่วน คือ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบที่กลั่น (distillation flask) ส่วนคอนเดนเซอร์หรือส่วนควบแน่นไอสารละลาย (condenser) และภาชนะรองรับสารละลายหลังกลั่น (receiving flask) โดยสารสกัดอย่างหยาบซึ่งบรรจุในภาชนะจะแช่อยู่ในหม้ออังน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิได้และจะหมุน (rotate) ตลอดเวลาที่ทำงาน เพื่อให้มีการกระจายความร้อนอย่างทั่วถึงและสม่ำเสมอ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบนี้ต่อเข้ากับส่วนควบแน่น ซึ่งมีระบบทำความเย็นหล่ออยู่ตลอดเวลา ปลายของส่วนควบแน่นจะมีภาชนะรองรับ โดยทั้งระบบจะต่อเข้ากับระบบสุญญากาศสารละลายที่ระเหยออกจากภาชนะบรรจุจะควบแน่นที่

บริเวณคอนเดนเซอร์และหยดลงมาในภาชนะรองรับสารละลายหลังการกลั่นซึ่งสารละลายดังกล่าวสามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์และนำกลับมาใช้ได้

2. การระเหย (free evaporation) เป็นการนำตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัด โดยใช้ความร้อนจากหม้อไอน้ำ (water bath) หรือแผ่นความร้อน (hot plate) วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงเกินไป และหากใช้สารละลายอินทรีย์ (organic solvent) ในสารสกัด การระเหยโดยให้ความร้อนโดยตรง (direct heat) บนแผ่นความร้อน อาจเกิดอันตรายได้ง่ายนอกจากนี้ควรคำนึงถึงอุณหภูมิที่จะทำให้เกิดการสลายตัวของสารสำคัญ เมื่อใช้ความร้อน

3. การทำให้แห้ง (Drying) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดจนแห้งได้สารสกัดออกมาในสภาพของแข็งหรือกึ่งของแข็ง มีหลายวิธี เช่น การใช้ความเย็น (lyophillizer หรือ freeze dryer) หรือการใช้ความร้อน (spray dryer)

4. อัลตราฟิลเทรชัน (Ultrafiltration) เป็นการทำการสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรม (membrane) ใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) สูงกว่า 5,000 โดยทั่วไปแล้ว การสกัดเพื่อทำเป็นสารสกัดของพืชนั้นอาจทำได้ทั้งพืชที่แห้งแล้วหรือยังสดอยู่ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับประเภทของสารที่มีอยู่ในสารสกัดของพืชนั้นๆ สำหรับสารที่มีความเป็นขั้ว (polarity) น้อย เมื่อเทียบกับสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติโดยทั่วไปแล้ว และเป็นสารที่มักจะสกัดออกมาด้วยตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (non-polar sovent) เฮกเซน (hexane) หรือปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) มักจะสกัดจากพืชที่ทำให้แห้งแล้วหรือที่ยังสดอยู่ก็ได้ แล้วแต่ละกรณีและยังขึ้นอยู่กับสารที่มีอยู่ในสารสกัดที่มีอยู่มีเสถียรภาพมากน้อยเพียงใด สารบางชนิดเมื่อทำให้แห้งไม่ว่าจะโดยการใช้ความร้อนหรือโดยการตากแดดหรือแม้แต่ตากให้แห้งในร่ม ก็สามารถเกิดความเสื่อมสลาย (decomposition) ได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องรีบนำมาสกัดขณะที่พืชยังสดอยู่ ในการสกัดนั้นถ้าใช้วิธีการสกัดเย็น (cold extraction) คือแช่ด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิห้อง หรือโดยการสกัดร้อน (hot extraction) คือใช้ Soxhlet extraction apparatus หรือโดยการต้มกับพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม สำหรับวิธีการใดจะเหมาะสมนั้นขึ้นอยู่กับธรรมชาติของสารที่มีอยู่ เช่น หากสารนั้นสกัดออกมาได้ง่ายโดยตัวทำละลายชนิดหนึ่งหรือไม่เสถียรต่อความร้อน จะเลือกใช้วิธีการสกัดเย็นเพราะเป็นวิธีที่ง่ายที่และสะดวกและทำให้สารเกิดการเสื่อมสลายน้อย

2.2 การเลือกตัวทำละลายในการสกัด

การสกัดนิยมใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วต่างๆ กัน โดยอาจสกัดจากตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วต่ำไปจนถึงที่มีขั้วสูง ประสิทธิภาพของสารสกัดจะขึ้นอยู่กับการคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ซึ่งตัวทำละลายที่เหมาะสมควรมีคุณสมบัติ คือ สามารถละลายสารที่ต้องการสกัดได้ ไม่ระเหยยากหรือง่ายเกินไปและไม่ติดไฟง่าย ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด ราคาถูก

ตัวทำละลายที่ใช้กันมาก ได้แก่ คลอโรฟอร์ม เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่ดี แต่มี selectivity น้อย เฮกเซนเหมาะสมสำหรับสกัดสารที่ไม่มีขั้ว ซึ่งมักใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับกำจัดไขมันออกจากสมุนไพรเนื่องจากมีราคาถูก ตัวทำละลายที่ใช้กันมาก ได้แก่ เมทานอลและเอทานอล เนื่องจากมีความสามารถในการละลายกว้างและยังสามารถทำลายเอนไซม์ในพืชได้ (ประเสริฐ ศรีไพโรจน์, 2528)

ภาพที่ 2.1 ตัวทำละลายเรียงตามลำดับมีขั้วจากมากไปน้อย
ที่มา (ประเสริฐ ศรีไพโรจน์, 2528)

2.3 ลูกหยี (*Dialium Cochinchinense Pierre*)

ภาพที่ 2.2 ลักษณะเปลือกลูกหยี

ชื่อทางวิทยาศาสตร์	*Dialium Cochinchinense Pierre*
ชื่อท้องถิ่น	เค็ง หมากเข้ง แคง แค็ง หมากแข้ง
ชื่อสามัญ	เขลง Velvet tamarind
สกุล	Dialium
ชื่ออื่นๆ	กาหยี นางดำยี หยี

ลูกหยี เป็นผลไม้พื้นเมืองภาคใต้ชนิดหนึ่ง เป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ อายุยืนเป็น 100 ปีจะให้ผลได้ต้องมีอายุ 30 ปีเป็นอย่างน้อย ใบมีลักษณะเรียว การแตกใบย่อยเป็นแบบสลับปลายใบย่อยแหลม ยาวและโค้ง ต้นหยีจออกดอกที่ปลายกิ่งมีลักษณะเป็นช่อสีขาวดอกย่อยมีขนาดเล็ก ผลออกเป็นช่อคล้าย ลำไยมีผิวสีดำเนื้อในสีแสดและยุ่ย เปลือกผลบางเมื่อผลสุกสามารถแยกเนื้อออกจากเปลือก ได้ง่าย เหมือนมะขามเมื่อผลสุกเปลือกจะเป็นสีดำ เนื้อสีแสด มีรสเปรียว เมล็ดสีน้ำตาลรูปร่างแบนคล้าย เมล็ดข้าวโพด แต่เมล็ดจะบางและเล็กกว่า โดยเฉพาะลูกหยีจากอำเภอยะรัง เป็นลูกหยีที่มีชื่อเสียงในปัจจุบัน เกษตรกรในปัตตานี จะนำเมล็ดลูกหยีมาเพาะใช้เวลาประมาณ 2 เดือนก็จะได้ต้นกล้า สามารถนำไปปลูกได้ ในอนาคตอาจพบลูกหยีขึ้นตามสวนของชาวบ้าน ผลลูกหยีมีวิตามินซีสูง ให้ประโยชน์ต่อ ร่างกายเมื่อบริโภค และสามารถนำไปแปรรูปเป็นลูกหยีกวน ลูกหยีฉาบน้ำตาล หรือลูกหยีทรงเครื่อง ซึ่งนิยมขายตามท้องตลาด สถานีรถไฟ สถานีขนส่ง หรือตามร้านขายของทีระลึกจากภาคใต้ทำรายได้ให้กับผู้ประกอบการอย่างคุ้มค่า

Dialium เป็นชื่อสามัญสำหรับต้นไม้ประเภทมะขาม หรืออาจหมายถึง *Dialium Cochinchinense, Dialium guineense, Dialium indum* ซึ่งพบในทวีปแอฟรีกาใต้และภาคใต้ของไนจีเรีย ลักษณะผลไม้ถูกปิดล้อมอยู่ในเปลือกเปราะมีเมล็ดอยู่ข้างใน มีรสชาติหวานอมเปรียวเล็กน้อย คล้ายมะขามระยะเวลาที่ออกผลมักจะอยู่ในช่วงเดือน มีนาคมและพฤษภาคมหรืออาจก่อนหน้านี้ส่วนใหญ่จะอยู่ในป่าทึบชื้นของแอฟริกาตะวันตกและแอฟริกากลางรวมถึงสาธารณะรัฐเบนิน บรูกีนาฟาโซ แคเมอรูน สาธารณะรัฐแอฟริกากลาง ชาด โกตดิววิวร์ ทอเรียวกินี่ กานา ไนจีเรีย และเซเนกัล เป็นผลไม้ที่บริโภคง่ายมีรสหวาน ซึ่งอุดมด้วยวิตามินซี (35.7 มิลลิกรัม/100กรัม) และ β-แคโรทีน (362 ไมโครกรัม/100กรัม) ผลไม้สกุล Dialium ประกอบด้วย Dialium 5 ชนิดพบในทวีปแอฟริกา แต่มี 3 ชนิดที่พบบ่อยในประเทศ ไนจีเรีย ได้แก่ *Dialium guineense*, *Dialium dinklagel* และ *Dialium packyphyllum*

2.3.1 พืชสกุล Dialium

กาหยีเขามีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Dialium Cochinchinense Pierre* ภาคใต้เรียกหยีเขา เป็นพืชเขตร้อนในวงศ์ Leguminosae ผลรับประทานได้ โดยมีเปลือกหนาแข็ง สีน้ำตาลหุ้มพบใน เอเชียตะวันออกเฉียงใต้และภาคใต้ของไนจีเรีย เปลือกและใบมีฤทธิ์เป็นยาสมุนไพร ผลมีรสคล้ายมะขาม

2.3.2 คุณค่าและประโยชน์

ลูกหยีสามารถนำมาแปรรูปเป็นอาหารที่ขึ้นชื่อของอำเภอยะรัง จังหวัดปัตตานี โดยนิยมแปรรูปได้ดังนี้

1. ลูกหยีกวน อาจเป็นชนิดไม่มีเมล็ดปนอยู่ ลูกหยีกวนมีส่วนผสมต่างๆ เพื่อเพิ่มรสชาติ เช่น ใส่น้ำตาล น้ำปลา พริก

2. ลูกหยีฉาบ ใช้ลูกหยีที่ปอกเปลือกแล้วมาฉาบน้ำตาล และคลุกเคล้ากับส่วนผสมอื่น ๆ เพื่อปรุงแต่งรสให้เผ็ดหรือหวาน เรียกว่าลูกหยีทรงเครื่อง

2.3.3 คุณค่าอาหารและสรรพคุณ

กินแล้วสดชื่น แก้กระหายได้ดี มีวิตามินซีป้องกันโรคหวัด โรคเลือดออกตามไรฟัน มีแคลเซียม และฟอสฟอรัส ช่วยบำรุงกระดูกและฟันให้แข็งแรง มีสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น เหล็ก เส้นใย วิตามิน A วิตามิน B1 และวิตามิน B2

ภาพที่ 2.3 ลักษณะต้นลูกหยี

ที่มา (http://www.oknation.net/blog/home/blog_data/233/2233/images/v2.jpg)

2.4 แบคทีเรียก่อโรคในอาหาร

แบคทีเรียกอโรคในอาหาร หมายถึง กลุ่มของเชื้อแบคทีเรียที่กอโรคในคนซึ่งติดตอมาสูคนผานทางอาหารเปนหลัก ทำใหเกิดโรคในกลุมที่เรียกวา โรคจากอาหาร (Foodborne diseases) โดยอาการทางคลีนิกส่วนใหญ คือ ทองเสีย คลื่นไส อาเจียน มีไข และอาจมีอาการขางเคียงอื่นๆ เช่นปวดเมื่อยตามร่างกาย ขออักเสบ เป็นต้น โรคหรือความผิดปกติของคนเนื่องจากแบคทีเรียในอาหารเกิดขึ้นได 2 ลักษณะ คือ

1. โรคอาหารเปนพิษ (Foodborne intoxication) เกิดจากการที่เชื้อแบคทีเรียในอาหารสรางหรือปลดปลอยสารพิษออกมาสะสมอยูในอาหาร ทำให้เกิดอาการผิดปกติได้อย่างรวดเร็วหลังจากบริโภค โดยทั่วไประยะฟกตัว (incubation period) ของโรคอาหารเป็นพิษจะนอยกวา 7 ชั่วโมง เนื่องจากแบคทีเรียไมจำเปนตองเพิ่มจำนวนในทางเดินอาหารของผูบริโภคกอนที่จะทำให้เกิดอาการผิดปกติ ตัวอยางของแบคทีเรียที่สามารถสรางสารพิษในอาหารไดแก *S. aureus*, *C. botulinum* เป็นต้น

2. โรคติดเชื้อจากอาหาร (Foodborne infection) เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในอาหารเขาไปเพิ่มจำนวนในทางเดินอาหาร แล้วทำให้เกิดความผิดปกติขึ้น ซึ่งอาจรวมถึงการสร้างสารพิษดวยแตแตกตางจากโรคอาหารเปนพิษตรงที่แบคทีเรียเหลานี้ตองใชเวลาการเพิ่มจำนวน และสารพิษถูกสรางขึ้นเมื่อแบคทีเรียเขาสูรางกายผูบริโภคแลว โดยทั่วไปจะมีระยะฟกตัวของโรคนานกว่า 7 ชั่วโมง นอกจากสร้างสารพิษแลวเชื้อแบคทีเรียในกลุมนี้อาจทำใหเกิดความผิดปกติของการทำงานของระบบทางเดินอาหาร บางชนิดที่มีความรุนแรงสามารถแทรกซึมผานผนังลำไสเขาสูกระแสเลือดทำใหเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด (septicemia) ซึ่งอาจเปนอันตรายถึงชีวิตได้

2.4.1 *Staphylococcus aureus*

S. aureus มีรูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 ไมโครเมตร ลักษณะการเรียงตัวอาจอยู่เดี่ยวๆ หรืออยู่เป็นคู่ๆ ได้ แต่ส่วนมากมักอยู่รวมกันเป็นกลุ่มๆ กลุ่มใหญ่บ้าง เล็กบ้าง ไม่แน่นอน เชื้อติดสีแกรมบวก แต่ถ้าเลี้ยงไว้นานอาจติดสีแกรมลบได้ เชื้อไม่สร้างสปอร์และไม่เคลื่อนที่ *S. aureus* เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาเกือบทุกชนิดที่ pH ระหว่าง 4.8-7.4 และเจริญได้ทั้งในภาวะที่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่จะสร้างรงควัตถุได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 20 องศาเซลเซียส ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูง

แบคทีเรีย *S. aureus* เป็นจุลินทรีย์ในวงศ์ Micrococcaceae ตระกูล Staphylococcus ซึ่งมีคุณสมบัติย้อมติดสีแกรมบวก แบคทีเรียมีลักษณะกลม (0.5–1.0 ไมครอน) เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น หรือเป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ ไม่เคลื่อนที่ โคโลนีมีสีเหลืองหรือสีทอง (ขึ้นอยู่กับชนิดของคาโรตินอยด์ในเซลล์เมมเบรน รวมถึงอุณหภูมิ อาหารเลี้ยงเชื้อ และสภาวะแวดล้อมที่ทำให้เชื้อเจริญ) เจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศที่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 6–46 องศาเซลเซียส ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโต คือ 35-40 องศาเซลเซียส ทนความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที สามารถสร้างสารพิษที่อุณหภูมิมากกว่า 10 องศาเซลเซียส ช่วง pH หรือความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ที่ 7-7.5 ส่วนค่า Aw (ปริมาณน้ำอิสระในอาหารที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเติบโต) ต่ำสุดสำหรับการเติบโตในสภาพมีออกซิเจนประมาณ 0.86 สภาพไม่มีออกซิเจน 0.90 *S. aureus* บางสายพันธุ์ผลิตสารพิษ ที่เรียกว่า Enterotoxin ทำให้อาหารเป็นพิษ ซึ่งเอนเทอโรทอกซินที่ผลิตมีหลายชนิด แต่ชนิดที่พบว่าทำให้เกิดอาหารเป็นพิษบ่อย คือ ชนิดเอ และดี โดยช่วงอุณหภูมิที่เชื้อชนิดนี้จะผลิตเอนเทอโรทอกซิน อยู่ระหว่าง 15.6-46.1 องศาเซลเซียส และผลิตได้ดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ภาพที่ 2.4 เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus.*
ที่มา (https://th.wikipedia.org/wiki/*Staphylococcus_aureus*)

2.4.1.1 แหล่งที่พบเชื้อ

แหล่งที่พบเชื้อ *S. aureus* เป็นเชื้อที่สามารถพบได้ ที่ผิวหนัง โพรงจมูก เยื่อบุทางเดินหายใจ ทางเดินอาหารและบาดแผลที่เป็นฝีหนองรวมถึงในดิน ฝุ่นละออง เชื้อไม่สร้างรงควัตถุในภาวะที่ไร้ออกซิเจนหรือในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว โคโลนีบนอาหารวุ้นมีลักษณะกลม นูน เป็นมันเงา ขนาดประมาณ 1-2 มิลลิเมตร และมีสีต่างๆ กัน เช่น *S. aureus* มีโคโลนีสีเหลืองทอง *S. epidermidis* และ *S. saprophyticus* มีโคโลนีสีขาว เป็นต้น

อาหารที่มักพบเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อน ได้แก่ เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ สัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์จากไข่ อาหารประเภทสลัด เช่น ไข่ ทูนา เนื้อไก่ มันฝรั่ง มักกะโรนี ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ครีม พาย เอแคลร์ ช็อกโกแลต แซนวิช และผลิตภัณฑ์นม ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม และเก็บไว้เป็นเวลานานก่อนรับประทาน *S. aureus* ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษซึ่งเกิดจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนสารพิษแม้ในปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม ก็สามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ สารพิษชนิดนี้จะมีปริมาณสูงมากเมื่อมีเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร 100,000 เซลล์ต่อกรัมอาหาร ทำให้เกิดโรค Acute infection (ฝีหนองแผลติดเชื้อ septicemia) และ Acute toxaemias (heat stable enterotoxin)

2.4.1.2 ลักษณะของการก่อโรค

1. การติดเชื้อที่ผิวหนัง

การติดเชื้อ Staphylococcus ทำให้เกิดฝี อาจเกิดที่ส่วนใดของร่างกายก็ได้ ส่วนใหญ่เกิดที่ผิวหนัง ซึ่งเริ่มต้นจากการติดเชื้อที่ต่อมน้ำมันบริเวณที่เกิดฝีจะเกิดการอักเสบ มีการสะสมเม็ดเลือดขาว เกิดการตายของเนื้อเยื่อ เมื่อฝีเจริญเต็มที่บริเวณเนื้อเยื่อที่ตายจะเต็มไปด้วยเม็ดเลือดขาวที่ตายแล้วรวมทั้งแบคทีเรียที่เม็ดเลือดขาวไปกิน และมีไฟบรินมาล้อมรอบซึ่งภายในบริเวณฝีนี้จะไม่มีเลือดมาเลี้ยง

ฝีและฝีฝักบัว (furuncles and carbuncles)

การติดเชื้อมักเกิดที่ผิวหนัง โดยเกิดที่ผิวหนังชั้นนอกทำให้เกิดการอักเสบ เช่นรูขุมขนอักเสบ เชื้อจะแพร่กระจายเข้าเนื้อเยื่อใต้หนังทำให้เกิดหนองกลายเป็นฝี (boil, furuncle) ส่วนฝีฝักบัว (carbuncle) คล้ายกับฝี แต่จะมีจำนวนมากกว่าและแพร่กระจายลึกลงในเนื้อเยื่อเส้นใย (fibrous tissue) ฝีฝักบัวมักเกิดที่คอหรือหลังส่วนบนซึ่งมีผิวหนังหนากว่า รูขุมขนอักเสบมักไม่ค่อยเจ็บ แต่เมื่อการติดเชื้อแพร่กระจายลึกลงในเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังจะเกิดการอักเสบ และฝีจะอ่อนนุ่ม ฝีส่วนใหญ่จะหายเองได้ใน 3-5 วัน โดยหนองจะไหลออกมา ความเจ็บปวดลดลงและหายไปเอง แต่ก็อาจติดเชื้อซ้ำในบริเวณใกล้ๆ อีกโรคผิวหนังเป็นตุ่มพุพอง (impetigo)

เด็กทารกแรกเกิดมักเกิดการติดเชื้อ Staphylococcus เป็นตุ่มหนอง หรือตุ่มพุพอง นอกจากนี้ยังพบในเด็กเล็ก ซึ่งมักเกิดรอบจมูก โดยเกิดเป็นตุ่มหนองแข็งห่อหุ้มอยู่บนผิวหนัง เมื่อสิ่งห่อหุ้มหลุดลอกออก จะเหลือแต่ผิวหนังที่เยิ้มแดง โรคนี้ติดต่อได้ง่าย เช่นตามสถานรับเลี้ยงเด็กและในโรงเรียน

โรคผิวหนังหลุดลอก (scalded skin syndrome) หรือโรคริตเตอร์ (Ritter' disease)

เป็นโรคผิวหนังที่เกิดจากเอกซ์โฟลิเอทีฟทอกซิน ซึ่งผิวหนังชั้นหนังกำพร้าจะแยกออกและหลุดลอกออก กลายเป็นผิวหนังที่มีขอบม้วน และเห็นผิวหนังข้างใต้เป็นมันเยิ้ม จะมีอาการเจ็บปวดมาก ผิวหนังร้อนแดงและมีเลือดคั่ง พื้นที่ผิวหนังส่วนใหญ่มีการลอกออกเป็นเกล็ดหรือเป็นสะเก็ดโรคนี้มักพบในเด็กแรกเกิดและเด็กอายุต่ำกว่า 4 ปี ในผู้ใหญ่ไม่ค่อยเกิดยกเว้นผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันถูกกดไว้

2. โรคปอดบวม (Staphylococcal pneumonia)

เป็นโรคที่สำคัญมากเพราะมีอัตราการตายสู (50%) อาจเกิดขึ้นทันทีทันใดหรือติดเชื้อภายหลังจากเป็นโรคอื่นมาก่อน เช่นเมื่อป่วยเป็นไข้หวัดใหญ่ เด็กอายุต่ำกว่า 1 ปี มีความไวต่อโรคนี้มาก การติดเชื้อมักเกิดในคนไข้ที่ระบบการป้องกันร่างกายบกพร่อง เด็กที่เป็นหัด คนที่เป็นไข้หวัดใหญ่ คนไข้ในโรงพยาบาลที่รักษาด้วยยาปฏิชีวนะและสเตอรอยด์ คนที่กำลังรักษามะเร็งหรือได้รับยากดภูมิคุ้มกัน การติดเชื้อจะมีการตายของเนื้อเยื่อพร้อมกับเกิดฝีจำนวนมาก

3. ไขกระดูกอักเสบ (osteomyelitis) และโพรงข้อต่อมีหนอง (pyoarthrosis) ไขกระดูกอักเสบ (osteomyelitis)

S. aureus เป็นสาเหตุสำคัญของไขกระดูกอักเสบ โรคนี้มักเกิดในเด็กชายอายุต่ำกว่า 12 ปี ส่วนใหญ่จะเกิดตามหลังเมื่อมีการกระจายของเชื้อเข้ากระแสเลือดเมื่อเกิดบาดแผลหรือฝี เชื้อจะอาศัยอยู่ที่ไดอะไฟซิส (diaphysis) ของกระดูกยาว (long bones) ซึ่งอาจเป็นเพราะการหมุนเวียนเลือดเข้ามาในบริเวณนี้ เมื่อการติดเชื้อเกิดมากขึ้นจะมีการสะสมหนองและมากขึ้นจนโผล่ขึ้นมาที่ผิวของกระดูกเกิดเป็นหนองใต้เยื่อหุ้มกระดูก อาการของการเกิดไขกระดูกอักเสบจะมีไข้หนาวสั่น เจ็บปวดที่กระดูก มีการหดเกร็งของกล้ามเนื้อรอบๆ บริเวณนั้น เมื่อเกิดการติดเชื้อใกล้กับข้อต่อจะมีโรคแทรกเกิดขึ้นคือโพรงข้อต่อมีหนอง

โพรงข้อต่อมีหนอง (pyoarthrosis)

ประมาณ 50% ของผู้ป่วยที่เป็นโรคข้ออักเสบจากแบคทีเรียเกิดจากเชื้อ *S. aureus* โรคโพรงข้อต่อมีหนองอาจเกิดหลังจากการทำศัลยกรรมกระดูก ร่วมกับการเกิดไขกระดูกอักเสบหรือเกิดการติดเชื้อที่ผิวหนังเฉพาะแห่ง หรือเกิดการติดเชื้อในข้อต่อระหว่างการฉีดสารบาง

ชนิดเข้าไปในข้อต่อ โดยเฉพาะในคนไข้ที่เป็นข้ออักเสบรูมาตอยด์ที่ได้รับสารคอร์ติโคสเตอรอยด์ การติดเชื้อ Staphylococcus ในข้อต่อจะทำลายกระดูกอ่อนในข้อต่อ และมีผลทำให้เกิดความพิการของข้อต่ออย่างถาวรตลอดไป

4. การติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือดและเยื่อบุหัวใจอักเสบ (bacteremia and endocarditis)

การติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือดอาจเกิดขึ้นเนื่องจากการติดเชื้อโดยเฉพาะที่ เช่น ที่ผิวหนัง ทางเดินหายใจ หรือทางเดินระบบสืบพันธุ์และปัสสาวะ และมักพบในคนไข้ที่เป็นโรคเบาหวาน โรคหัวใจและหลอดเลือด ความผิดปกติของเม็ดเลือดขาวแกรนูโลไซต์ (granulocyte) และภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง นอกจากนี้สิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่กระแสเลือดเช่นการสวนหัวใจ ก็เป็นสาเหตุให้เชื้อเข้าหลอดเลือดจนเกิดภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด

อาการที่เกิดจากการติดเชื้อในกระแสเลือด มีไข้ หนาวสั่น มีภาวะเกิดเป็นพิษ (systemictoxicity) และเกิดโรคแทรกคือเยื่อบุหัวใจอักเสบ เกิดการทำลายลิ้นหัวใจอย่างเฉียบพลันและร้ายแรงจนถึงตายได้ ภายใน 2-3 วัน นอกจากจะรักษาด้วยยาปฏิชีวนะทัน เยื่อบุหัวใจอักเสบเนื่องจาก *S. aureus* มีอัตราการตายสูงมากตั้งแต่ 40-80% ขึ้นอยู่กับอายุคนไข้ และขึ้นอยู่กับความต้านทานของเชื้อต่อยาเพนิซิลลินด้วย

5. อาหารเป็นพิษ (food poisoning)

สาเหตุเกิดจากการกินอาหารที่มีทอกซินของเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่สร้างเอนเทอโรทอกซิน อาหารนั้นมักถูกปนเปื้อนโดยผู้ประกอบอาหารที่มีเชื้ออยู่ในมือ และอาหารนั้นมักเก็บไว้ในตู้เย็นที่ไม่เย็นพอ จึงทำให้เชื้อเจริญเติบโตและสร้างทอกซินได้ อาหารที่มักมีเชื้อปะปนได้แก่อาหารพวกคัสตาร์ดหรือขนมปังที่มีครีม อาหารพวกแฮม เนื้อที่ผ่านกรรมวิธีการปรุงแล้ว ไอศกรีม เนยแข็ง (cottage cheese) และสลัดไก่ อาหารที่มีเอนเทอโรทอกซินปะปนมักมีกลิ่น รส และสภาพของอาหารเป็นปกติ ปริมาณทอกซินที่มากพอจะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ จะสร้างขึ้นภายใน 4-6 ชั่วโมงที่ 30 องศาเซลเซียส

อาการของโรคจะเกิดภายใน 2-6 ชั่วโมงหลังจากกินอาหารเข้าไป โดยมีอาการเป็นตะคริวรุนแรง ปวดท้อง อาเจียน คลื่นเหียน ท้องร่วง อาจมีอาการเหงื่อแตกและปวดศรีษะ แต่มักไม่มีไข้อาการของโรคจะหายได้เร็วภายใน 6-8 ชั่วโมง

6. ลำไส้อักเสบ (enterocolitis)

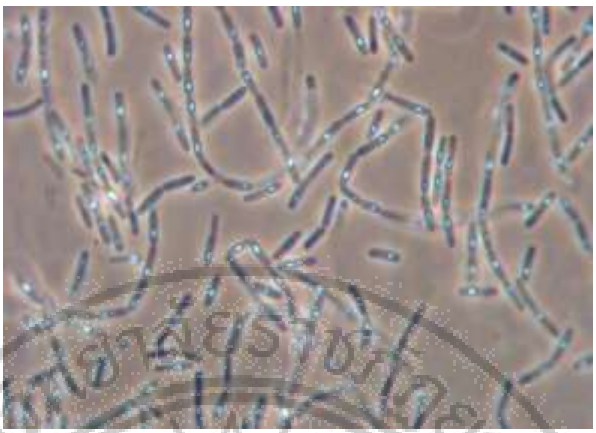
ลำไส้อักเสบเป็นอาการที่รุนแรง มักพบในคนไข้ในโรงพยาบาลที่เชื้อประจำถิ่นในลำไส้ถูกยับยั้งการเจริญด้วยยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้างทำให้เชื้อ *S. aureus* (ที่สร้างเอนเทอโรทอกซิน) ที่ดื้อยาเจริญมากเกินไป อย่างไรก็ตามโรคนี้ส่วนใหญ่มักเกิดจาก *C. difficile* ที่สร้างทอกซิน

7. ช็อก (toxic shock syndrome, TSS)

S. aureus สายพันธุ์ที่สร้างทอกซิน (toxic shock syndrome toxin-1, TSST-1) ทำให้เกิดโรคช็อก TSS ซึ่งมักเกิดในหญิงสาวที่ใช้ผ้าอนามัยแบบสอด แต่บุคคลอื่นๆ รวมทั้งเด็กและผู้ชายที่เป็นฝี หรือผู้ติดเชื้อ Staphylococcus ก็อาจเป็นโรค TSS ได้ อาการของโรคมีไข้ความดันต่ำ ท้องร่วง เยื่อบุตาอักเสบ ปวดกล้ามเนื้อ และเกิดผื่นแดงของไข้ดำแดง หลังจากนี้มีการลอกของผิวหนังออกเป็นแผ่นหรือสะเก็ด

2.4.2 *Bacillus cereus*

เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นรูปท่อนตรง ขนาด 0.3–2.2 x 1.2–7.0 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ สร้างสปอร์ และสร้างสารพิษ ซึ่งจะขับสารพิษออกมาขณะปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ช่วงอุณหภูมิในการเติบโตอยู่ระหว่าง 30–37 องศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์สามารถเติบโตได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 55 องศาเซลเซียส และบางสายพันธุ์เติบโตได้ที่อุณหภูมิ 4–5 องศาเซลเซียส สำหรับค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อชนิดนี้อยู่ระหว่าง 6–7 และสามารถเติบโตได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจน และจะสร้างสารพิษเมื่ออยู่ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนน้อย *B. cereus* พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ในดิน ฝุ่นละออง ผลิตภัณฑ์จากพืช เช่น ข้าว ธัญพืช แป้งผลิตภัณฑ์จากแป้ง เครื่องเทศ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ และเครื่องปรุงแต่งรสต่างๆ นอกจากนี้ยังพบในอุจจาระของคนที่มีสุขภาพปกติได้ประมาณร้อยละ 15 *B. cereus* เป็นแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเป็นพิษและสามารถถ่ายทอดเข้าสู่ร่างกายได้ โดยการรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อน อาหารที่พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* จนทำให้เกิดอาการอาเจียนได้แก่ อาหารประเภทข้าว และแป้ง อาทิ มักกะโรนี ข้าวผัด เนยแข็ง และผลิตภัณฑ์จากวานิลลาที่ทำในลักษณะยัดไส้ครีม ส่วนอาหารที่พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจนทำให้เกิดอาการท้องร่วง ได้แก่ ผักต่าง ๆ สลัด อาหารที่มีเนื้อสัตว์เป็นส่วนประกอบ ซอส ซุป และอาหารที่มีแป้ง และครีมเป็นส่วนประกอบ *B. cereus* คือแบคทีเรียในกลุ่ม Bacillus ซึ่งเป็นชนิดที่ทำให้เกิดโรค (pathogen) ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) สร้างสปอร์ (spore forming bacteria) เจริญได้ในที่มีอากาศ (aerobic bacteria) สามารถสร้างสารพิษ (toxin) ที่ทนต่อความร้อนได้ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง ในร่างกายมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 28-37 องศาเซลเซียส ไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส และสูงกว่า 55 องศาเซลเซียส พบทั่วไปในธรรมชาติในดิน น้ำเชื้อสร้างสปอร์ซึ่งทนความแห้งแล้งได้ดี สปอร์จึงพบได้ทั่วไปในฝุ่น ควัน และ ปะปนมากับอาหารแห้ง เช่น น้ำตาล วัตถุเจือปนอาหาร เครื่องเทศ และพบบ่อยในอาหารกลุ่ม แป้ง เมล็ดธัญชาติ (cereal grain) เช่น ข้าวหุงสุก เส้นก๋วยเตี๋ยว พาสต้า อาหารกึ่งสำเร็จรูป เช่น ข้าวกึ่งสำเร็จรูป



ภาพที่ 2.5 ลักษณะของเชื้อ *Bacillus cereus*
ที่มา (www.foodnetworksolution.com)

2.4.3 *Escherichia coli (E. coli)*

E. coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (gram negative bacteria) รูปร่างเป็นแท่ง (rod shape) ไม่สร้างสปอร์ เป็น facultative anaerobe เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน เป็นแบคทีเรีย ที่จัดอยู่ในกลุ่ม โคลิฟอร์ม (coliform) ประเภท fecal coliform ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์ และสัตว์เลือดอุ่น จึงใช้เป็นดัชนีชี้สุขลักษณะของอาหาร และน้ำ *E. coli* ส่วนใหญ่ไม่ใช่จุลินทรีย์ก่อโรค แต่บางสายพันธุ์ทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร แบ่งได้เป็น 6 กลุ่ม คือ

1. Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)
2. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)
3. Enteroinvasive *E. coli* EIEC)
4. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC)
5. Enteroaggregative *E. coli* (EAEC, EAggEC)
6. Diffusely adherent *E. coli* (DAEC)

1. Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)

เป็น *E. coli* ซึ่งทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ อาการ ทั่วไปคือ ท้องร่วง ปวดท้อง ไข้ต่ำ คลื่นไส้ และ อ่อนเพลีย การติดเชื้อหรือแสดงอาการต่อเมื่อได้รับ เชื้อเข้าไปประมาณ 100 ล้าน ถึง 10 พันล้านเซลล์ โดยระหว่างการเจริญจะสร้าง สารพิษที่ทำให้เกิดการหลั่งของของเหลว (fluid secretion) การแพร่เชื้อ เกิดจากการรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อ หรือจากน้ำแต่พบได้น้อยกว่า ถ้ารับเชื้อเข้าไปมาก จะมีอาการภายใน 24 ชั่วโมง ทั้งนี้ การระบาดมีไม่บ่อยนัก หากมีการปฏิบัติทางสุขลักษณะที่ดี ปัจจุบันการวิเคราะห์เชื้อตัวนี้ในอาหารทำได้โดยใช้ gene probe ซึ่งใช้ เวลา 3 วัน หรือใช้วิธีทดสอบพิษโดยทั่วไป ซึ่งใช้เวลาอย่างน้อยที่สุด 7 วัน

2. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)

เป็น *E. coli* ที่ส่วนใหญ่มักก่อโรคในเด็กอายุต่ำกว่า 1 ขวบ โดยมักมีอาการถ่ายเป็นน้ำ มีมูกไข้ และเกิดอาการขาดน้ำ โดย EPEC สามารถทำให้ microvilli หลุดลอกจากเซลล์ลำไส้ได้ อาการท้องร่วงในเด็กเล็กอาจรุนแรงและเป็นได้นานจนอาจชีวิตได้ง่าย ปริมาณเชื้อที่ก่อโรค อาจในปริมาณต่ำ หรือมากกว่า 10^6 เซลล์ EPEC แพร่ไปในคนและสัตว์หลายชนิด เช่น วัวควาย และหมู อาหารที่มักพบเชื้อนี้คือ เนื้อวัวและเนื้อไก่ดิบและจากน้ำเชื้อ EPEC อาจตรวจได้จากการตกตะกอน (Agglutination) กับ antiserum ที่จะตรวจหา EPEC O serogroup แต่การตรวจยืนยัน ต้องทำทั้ง O และ H typing

3. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC)

เชื้อ *E. coli* กลุ่มนี้เป็นที่รู้จักกันตั้งแต่ ค.ศ. 1982 หลังจากที่ตรวจพบว่าเป็นสาเหตุการระบาดของ hemorrhagic colitis ในอเมริกา โดย serotype ส่วนใหญ่ที่เป็นสาเหตุ ได้แก่ O157: H7 และอาจมีบาง serotype ที่ตรวจพบได้เช่น O26 : H11 และ O111 : H8 โดยเชื้อนี้ สามารถสร้าง Shiga-like toxin ที่คล้ายคลึงกับ toxin ของ *S. dysenteriae* เรียกว่า verotoxin ทำให้เกิดความเสียหายให้แก่เยื่อบุของลำไส้ ความรุนแรงคือทำให้เกิดลำไส้ใหญ่อักเสบ จนตกเลือด (hemorrhagic colitis) อาการคือ ปวดท้องรุนแรง อุจจาระร่วงเป็นตอนแรก แต่กลายเป็นมูกเลือดต่อมา อาจมีอาเจียนบ้าง และมีไข้ต่ำหรือไม่มี บางครั้งคนไข้อาจมีอาการจากการมีสารในปัสสาวะปะปนในเลือด (Hemolytic uremic syndrome: HUS) ที่มีลักษณะพิเศษคืออาจทำให้ไตวายถาวรได้ อาหารที่มักปนเปื้อนเชื้อนี้ได้แก่ เนื้อบด หรือแฮมเบอร์เกอร์ดิบหรือไม่ค่อยสุก นอกจากนี้ยังอาจพบใน น้ำผลไม้ที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ ไส้กรอกหมูปนเนื้อวัว ผักกาดหอม เนื้อสัตว์ป่าและนมดิบ

4. Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)

เชื้อสายพันธุ์นี้ จะเกิดพยาธิสภาพที่ลำไส้ชั้น mucosa และ submucosa มีลักษณะคล้ายคลึงกับที่เกิดจากเชื้อ *Shigella* โดยที่เชื้อนี้มีคุณสมบัติในการบุกเข้าไปในเซลล์เยื่อบุ พร้อมทั้งแบ่งตัวได้ อาการทางคลินิกมีลักษณะแบบโรคบิด (dysentery) อาการเจ็บป่วย จะเริ่มจากอาการปวดบิดในท้อง ถ่ายเป็นน้ำ ปวดเบ่ง ไข้ ต่อมาจะเริ่มถ่ายอุจจาระบ่อย มีลักษณะเป็นมูกปนเลือดครั้งละน้อยๆ EIEC อาจวินิจฉัยหรือสงสัยได้ในอุจจาระ ผู้ป่วย ที่ถ่ายเป็นมูกชัดเจน และมีเม็ดเลือดขาวจำนวนมาก แหล่งรังโรค พบได้ในคนการแพร่เชื้อกลุ่มนี้ พบหลักฐานน้อยมากที่แสดงว่ามีการแพร่กระจายเชื้อโรคนี้ในอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อ

5. Enteroaggregative *E. coli* (EAEC, EAggEC)

การทำให้เกิดอุจจาระร่วงจากเชื้อกลุ่มนี้ยังถือว่าไม่ค่อยชัดเจนนัก อาจก่อให้เกิดอุจจาระร่วงในเด็กเล็กโดยเฉพาะประเทศที่กำลังพัฒนา ผู้ป่วยมีอาการถ่ายเป็นน้ำ หรือถ่ายเป็นมูกมีไข้ต่ำ ในทารกและเด็กเล็กจะมีอาการอุจจาระร่วงแบบเรื้อรัง (persistent diarrhea) บางรายมีอาการนาน

กว่า 14 วัน มีผลกระทบกับการเจริญเติบโตของเด็ก กลไกการเกิดโรคและการติดต่อของโรคยังไม่เป็นที่ทราบอย่างแน่ชัด เชื้อ EAEC มีคุณสมบัติในการเกาะติดแบบ aggregative adherence กับเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด HEp-2 หรือ HeLa จึงใช้การตรวจ adherence assay เป็นวิธีมาตรฐานในการวินิจฉัยเชื้อ EAEC แต่เนื่องจากวิธี adherence assay ทำได้เฉพาะในห้องปฏิบัติการอ้างอิง ห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาลทั่วไป ไม่สามารถตรวจได้ ทำให้ไม่ทราบความชุกชุมของเชื้อ EAEC

6. Diffusely adherent *E. coli* (DAEC)

ความสามารถในการก่อโรคของเชื้อกลุ่มนี้ยังไม่เป็นที่แน่ชัด ผู้ป่วยมักมีอาการถ่ายเป็นน้ำหรือเหลวแบบอาหารไม่ย่อย โดยส่วนใหญ่พบผู้ป่วยจากเชื้อกลุ่ม นี้ในเด็กวัยก่อนเรียนมากกว่าในเด็กทารก การเพาะแยกเชื้อกลุ่มนี้ สามารถทำได้โดยนำเชื้อมาทดสอบการเกาะติดแบบ diffusely adherence กับเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด HEp-2 หรือ HeLa ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานในการวินิจฉัยเชื้อ

จิราภรณ์ บุราคร และ เรือนแก้ว ประพฤติ (2555) ศึกษาสมุนไพรพื้นบ้านไทยจำนวน 7 ชนิดนำมาสกัดสารโดยใช้น้ำ เมทานอล และเอทานอลเป็นตัวทำละลาย ได้นำมาศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *E. coli* ATCC25922, *K. pneumonia* ATCC27736, *S. aureus* ATCC6538, *S..epidermidis* ATCC12228 ด้วยวิธี Agar well diffusion โดยทดลองใช้สารสกัด (30 µg/plate) 21 ตัวอย่างต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 1 สายพันธุ์ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดฟักแม้วด้วยเมทานอลแสดงการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. epidermidis* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของฤทธิ์ยับยั้ง 20.46 มิลลิเมตร และ 35.23 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดสะระแหน่ด้วยน้ำและสารสกัดชะพลูด้วยเมทานอล แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* และ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของฤทธิ์ยับยั้ง 19.15 มิลลิเมตร และ 24.77 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี microdilution assay พบว่า ค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของสารสกัดจากฟักแม้วด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. epidermidis* เท่ากับ 7.81 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 62.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดสะระแหน่ด้วยน้ำและสารสกัดชะพลูด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* และ *S. aureus* มีค่า MIC เท่ากับ 15.62 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และค่า MIC ของสารมาตรฐาน Chloramphenicol ที่ยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. epidermidis* และ *S. aureus* เท่ากับ 15, 7, 31 และ7 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

วันทนี สว่างอารมณ์ และ พาฝัน จันทร์เล็ก (2555) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรจำนวน 4 ชนิดคือ สบู่ดำ ชุมเห็ดเทศผรั่ง และพลูที่ระดับความเข้มขข้น 1:1 , 1:2 , 1:3 , 1:4 , 1:5 และ 1:6 ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียชนิด *S. aureus* และ *E. coli* ทำการทดสอบดวยวิธี Agar disc diffusion method ตรวจผลด้วยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของสาร

สกัดสมุนไพร ซึ่งรวมความกว้างของ paper disc ผลการทดลองพบว่าสารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุดคือสารสกัดจากพลูซึ่งมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสกว้างที่สุด 2.10 เซนติเมตร (ที่ระดับความเข้มข้น 1:1) รองลงมาคือ สารสกัดจากฝรั่ง ชุมเห็ดเทศและสบูดำ มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสกว้างที่สุด 1.96 เซนติเมตร 1.46 เซนติเมตรและ 1.40 เซนติเมตร ตามลำดับ การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางสถิติพบว่าสารสกัดจากพลูและฝรั่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ($P \leq 0.05$) แต่จะมีความแตกต่างกับสารสกัดจากชุมเห็ดเทศและสบูดำอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 สำหรับสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ไดดีที่สุดคือสารสกัดจากฝรั่ง ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสกว้างที่สุด 2.16 เซนติเมตร (ที่ระดับความเขมขน 1:1) รองลงมาคือสารสกัดจากพลูชุมเห็ดเทศและสบูดำ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสกวางที่สุด 1.50 เซนติเมตร 1.43 เซนติเมตรและ 1.40 เซนติเมตร ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางสถิติพบว่าสารสกัดจากฝรั่งมีความแตกต่างกับสารสกัดจากพลูชุมเห็ดเทศและสบูดำอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

พีรพัฒน์ สุพรรณพันธุ์ และคณะ (2553) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจำนวน 2 ชนิด คือ ขมิ้นชัน และกระเทียม เปรียบเทียบกับสารสมุนไพรสกัดสดจำนวน 6 ชนิด (ขมิ้นชัน กระเทียม ขิง ข่า พริก และใบมะกรูด) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล 99.8% ในอัตราส่วนสมุนไพร 1 มิลลิกรัมต่อเมทานอล 1 มิลลิลิตรทำการเจือจางเป็น 3 ระดับความเข้มข้น (20, 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และนำไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้ง Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) และ Methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) กลุ่มละ 20 ไอโซเลต ด้วยวิธี Disk diffusion ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากขมิ้นชันสามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA เท่ากับ 10% และ 5% ตามลำดับ จากจำนวน MRSA 20 ไอโซเลตและ MSSA 20 ไอโซเลต และสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากกระเทียมและสารสมุนไพรสกัดสดจากขมิ้นชัน กระเทียม ขิง ข่า พริก และใบมะกรูด ไม่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSAดังนั้นจากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดสมุนไพรสำเร็จรูปจากขมิ้นชันมีความสามารถในการยับยั้ง MRSA และ MSSA ได้บางสายพันธุ์

บงกชวรรณ สุตะพาหะและ บรรยง คันธวะ (2554) ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและเชื้อราของสารสกัดใบฟักข้าวก่อนนำไปพัฒนาตำรับยารักษาโรคผิวหนัง จากการสกัดด้วยเฮกเซน เอทิลอะซิเตท เอทานอล และเมทานอล ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดด้วยวิธี Agar well diffusion method และ Agar dilution method ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดใบฟักข้าวที่สกัดด้วยเฮกเซนไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *(S. aureus*, *S. pyogenes* และ *E. coli*) และเชื้อรา (*C. albicans*, *A. flavus*, *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *M. gypseum*, *E. floccosum*) ที่ใช้ในการทดสอบ ได้ส่วนสารสกัดจากเมทานอลแม้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด และเชื้อรา

C. albicans และ *A. fl avus* แต่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคกลากทั้ง 4 ชนิดได้ (*T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *M. gypseum*, *E. floccosum*, MIC= 78.125–312.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร: zone size 12.2±2.1 มิลลิเมตร ถึง 15.0± 0.5 มิลลิเมตร) ขณะที่สารสกัดด้วยเอทานอลและเอทิลอะซิเตทยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดแกรมบวก (*S. aureus*, *S. pyogenes*) และเชื้อราก่อโรคกลากทั้ง 4 ชนิด โดยมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา (MIC= 156.250 ถึง 312.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร: zone size 12.0±0.5-24.0±1.5 มิลลิเมตร) ดีกว่าฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (MIC=625.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร: zone size 12.0±0.5 ถึง 14.0±0.5 มิลลิเมตร)

นุศวดี พจนานุกิจ และสมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม (2553) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *P. acnes* และเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชัน และใบบัวบก พืชทั้ง 3 ชนิด จะถูกนาไปสกัดและนาไปวิเคราะห์หาปริมาณของสารออกฤทธิ์ที่สกัดได้ด้วยเทคนิค HPLC พบว่า สามารถสกัดสารแซนโทน (xanthones) จากเปลือกมังคุดได้ 1.1929 มิลลิกรัมต่อกรัม ของเปลือกมังคุด สารเคอร์คูมิน (curcumin) จากขมิ้นชันได้ 0.8753 มิลลิกรัมต่อกรัม ของขมิ้นชัน และสารเอเชียติโคไซด์ (asiaticoside) กับกรดเอเชียติค (asiatic acid) จากใบบัวบกได้ 0.0142 และ 0.0960 มิลลิกรัมต่อกรัม ของใบบัวบก ตามลำดับ จากการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชัน และใบบัวบก พบว่าบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีค่ามากกว่าสารสกัดจากขมิ้นชันและใบบัวบกที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากัน และการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชัน และใบบัวบก สำหรับเชื้อ *P. acnes* มีค่าเท่ากับ 12.5, 25 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเชื้อ *S. aureus* มีค่าเท่ากับ 6.25, 12.5 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชัน และใบบัวบก สำหรับเชื้อ *P. acnes* มีค่าเท่ากับ 25, 50 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเชื้อ *S. aureus* มีค่าเท่ากับ 12.5, 25 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดใช้ความเข้มข้นน้อยที่สุด (25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ในการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 ชนิด

ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร และ คณะ (2555) ศึกษาน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้จากเปลือกอบเชยเทศหรืออบเชยลังกาถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางยา อาหาร และเครื่องสำอางมาเป็นเวลานาน น้ำมันจากเปลือกอบเชยเทศประกอบไปด้วยองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิด โดยสารสำคัญที่พบมาก คือ cinnamaldehyde จากรายงานการวิจัยพบว่า น้ำมันจากเปลือกอบเชยเทศมีฤทธิ์ต้านจุลชีพอย่างกว้างขวางเมื่อทดสอบแบบนอกกาย (in vitro) ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เช่น *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* ฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* และเชื้อราใน

จีนัส *Aspergillus* และฤทธิ์ต้านปรสิตคือฤทธิ์ฆ่าเหาตัวเมียและไข่เหา น้ำมันจากเปลือกอบเชยเทศจัดเป็นสารที่มีความเป็นพิษปานกลางเมื่อให้โดยการรับประทานและก่อให้เกิดการระคายเคืองผิวหนังปานกลางเมื่อให้ทางผิวหนัง โดยไม่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์เมื่อทดสอบในแบคทีเรีย แต่รายงานการวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาเภสัชภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของน้ำมันจากเปลือกอบเชยเทศและการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของเภสัชภัณฑ์ดังกล่าวในปัจจุบันยังคงมีจำกัด จึงควรมีการศึกษาทางคลินิกเพิ่มเติมเพื่อให้ทราบขนาดของน้ำมันจากเปลือกอบเชยเทศในรูปแบบเภสัชภัณฑ์ต่างๆที่ให้ผลการรักษาในมนุษย์โดยไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษเมื่อให้โดยการรับประทาน และไม่ก่อให้เกิดการแพ้และความระคายเคืองเมื่อให้ทางผิวหนัง

ศรัญญา พรศักดา และคณะ (2553) ศึกษาการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่พบบ่อยในอาหาร โดยใช้มะเขือพวงที่เก็บเกี่ยวจากแหล่งเดียวกัน คือ แปลงเกษตรกรในเขตทุ่งครุ กรุงเทพมหานคร โดยนำตัวอย่างแห้งและสดของมะเขือพวงมาสกัดในเอธานอล (95%) นาน 48 ชั่งโมง จากนั้นนาสารสกัดหยาบมาทดสอบการยับยั้งแบคทีเรีย 3 ชนิด คือ *E. coli*, *S. aureus* และ *S. typhimurium* บนอาหารเลี้ยงด้วยวิธี agar diffusion พบว่า มะเขือพวงที่สกัดจากตัวอย่างสดและแห้ง สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่นามาทดสอบได้ใกล้เคียงกันทั้ง 3 ชนิด ดังนั้นมะเขือพวงที่สกัดจากตัวอย่างแห้งและสด จึงมีศักยภาพใน นำมาประยุกต์ใช้ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในคน แต่สารสกัดหยาบจากมะเขือพวงแห้งมีประสิทธิภาพดีกว่า

Olajubu *et al*., 2012 ศึกษาการต้านจุลินทรีย์ของเปลือกลำต้นหยี *Dialium guineense* (Wild.) ในประเทศไนจีเรีย พบว่า สารสกัดที่สกัดเปลือกลำต้นหยีด้วยตัวทำละลายเอทานอลสามารถยับยั้งได้สูงสุด คือ 23.2% โดยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิด *S. typhi* และ *S. aureusa* มีวงใสเท่ากับ 18 มิลลิเมตร และยับยั้งเชื้อราชนิด *C. albicans* ให้ผลการยับยั้งเท่ากับ 16 มิลลิเมตร

Hennebelle *et al*., 2009 สารสกัดด้วยน้ำ และเอทานอลร้อยละ 95 ของใบชุมเห็ดเทศสามารถยับยั้งการเจริญของ *P. acnes* , MRSA และ *S. epidermidis* ได้ดี มีรายงานสารออกฤทธิ์ในใบชุมเห็ดเทศเป็นสารจำพวก Linalool, borneol, pentadecanal และ **α** – terpineol โดยสามารถยับยั้งการเจริญของ *P. acnes* , *E. coli* , *Proteus vulgaris* และ *Staphylococci*

Obasi *et al*., 2013 ได้ศึกษาการสกัดน้ำมันจากเมล็ดของลูกหยีด้วยวิธีการสกัดแบบ *soxhlet* พบว่าให้ร้อยละของน้ำหนักน้ำมันต่อน้ำมันเม็ดเป็น 17.21 2.09 และน้ำมันที่สกัดได้ให้ค่าไอโอดีน (Iodine value) ต่ำและค่าซาพอนิฟิเคชัน (saponification value) สูง

Osarolube and ames., 2014 ได้ทำการศึกษาวิจัยหาองค์ประกอบทางโภชนาการในผลหยีพบว่ามีองค์ประกอบของโปรตีนอยู่ร้อยละ 5.3 ไขมันร้อยละ 3.1 และวิตามินที่จำเป็นต่อร่างกาย เช่น วิตามินซี เบต้าแคโรทีนและโทโคฟีรอลปริมาณเล็กน้อย นอกจากนี้ยังพบสารอาหารอื่นๆ เช่น ทองแดง เหล็ก แมงกานิส สังกะสีฟอสฟอรัส โปแตสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และกรดอะมิโนจำเป็น ซึ่งปริมาณธาตุเหล็กที่พบเท่ากับ 4.8-8.4 มิลลิกรัม แมกนีเซียม 0.1 กรัม และทองแดง 0.7 มิลลิกรัม ต่อผลหยี 100 กรัม

Niyi, 2014 ได้ศึกษาหาปริมาณน้ำตาลในส่วนเนื้อของผลหยีพบว่ามีปริมาณน้ำตาล maltose (1.72 มิลลิกรัม น้ำตาลใน 5 มิลลิลิตรของตัวอย่าง) D-ribose (1.27 มิลลิกรัม น้ำตาลใน 5 มิลลิลิตรของตัวอย่าง) lactose (1.05 มิลลิกรัม น้ำตาลใน 5 มิลลิลิตรของตัวอย่าง) fructose (1.04 มิลลิกรัม น้ำตาลใน 5 มิลลิลิตรของตัวอย่าง) และกลูโคส (1.00 มิลลิกรัม น้ำตาลใน 5 มิลลิลิตรของตัวอย่าง) นอกจากนี้ยังศึกษาหาปริมาณกรดไขมันในน้ำมันพบว่ามี กรดไขมันดังนี้ palmitic acid, palmitoleic acid, myristic acid และ stearic acid สำหรับงานวิจัยนี้มุ่งที่จะศึกษาการยับยั้งเชื้อของส่วนสกัดจากส่วนต่างๆ ของต้นหยีเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานและจุดเริ่มต้นในการต่อยอดงานวิจัยด้านอื่นๆ ของต้นหยีในอนาคต

2.5 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Basic Assay Techniques for Anti Microbial Activity)

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ สามารถทำการทดสอบได้ 2 วิธี ดังนี้

Dilution Method

โดยการเจือจางสารเคมีหรือสารสกัดในอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ให้มีความเข้มข้นในระดับต่างๆเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารที่ผสมสารเคมี วัดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ การเจือจางสามารถเจือจางในอาหารแข็ง (Agar Dilution Method) ซึ่งเหมาะกับเชื้อราที่มีการเจริญแผ่ไปบนผิวหน้าอาหาร และการเจือจางในอาหารเหลว (Broth Dilution Method) ซึ่งเหมาะกับเชื้อแบคทีเรียหรือยีสต์ หรือเชื้อราที่ส่วนขยายพันธุ์มีการเจริญคล้ายยีสต์

Diffusion Method

โดยการทำให้ตัวยาหรือสารสกัดจากจุดใดจุดหนึ่งซึมไปในอาหารที่ผสมเชื้อจุลินทรีย์จำนวนเหมาะสม แล้วสารสกัดไปมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยการวัดผลจากบริเวณที่เกิดการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Zone of Inhibition, Clear Zone) Diffusion Method ยังสามารถแบ่งได้เป็นอีก 2 วิธี คือ

1. Paper Disc Methods ใช้กระดาษกรองเป็นแผ่น disc สำหรับหยดสารสกัดเพื่อให้สารสกัดซึมจากกระดาษกรองลงไปในจานเลี้ยงเชื้อ

2. TLC Disc Methods ใช้ TLC เป็นแผ่น disc สำหรับวางแผ่น silica gel บนแผ่นกระจก TLC บริเวณที่ตรวจพบ fraction และนำแผ่น TLC disc วางในจานเลี้ยงเชื้อเพื่อทดสอบต่อไป

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์

1. บีกเกอร์ (Beaker)
2. กระบอกตวง (Cylinder)
3. หลอดหยด (Dropper)
4. ไม้เขี่ยเชื้อ (ไม้ Swab)
5. จานเพาะเชื้อ (Plate)
6. ปากคีบ (Forceps)
7. ลูป (Loop)
8. ตะเกียงแอลกอฮอล์
9. กระดาษกรอง (Wathman เบอร์ 1)
10. ปิเปต (Pipet)
11. ขวดรูปชมพู่ (Cornical frask)
12. หลอดทดลอง (Test tube)
13. แท่งแก้วคนสาร (Sterer)

3.1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. ตู้อบอุณหภูมิสูง (Hot air oven)
2. เครื่องชั่ง (Analytical balance)
3. ไมโครปิเปต (Micropipette)
4. เตาแผ่นให้ความร้อน (Hot plate)
5. แผ่นแม่เหล็กให้ความร้อนพร้อมที่กวนสาร (Magnetic stirrer)
6. ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar air flow)
7. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)

3.1.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. เฮกเซน (Hexane)
2. ไดคลอโรมรเทน (Dichloromethane)
3. อะซิโตน (Acetone)
4. เมทานอล (Methanol)

5. Dimethyl Sulfoxide (DMSO)

3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Nutrient Agar (NA) (ยี่ห้อ Humedia, India)
2. Nutrient Broth (NB) (ยี่ห้อ Humedia, India)

3.1.5 เชื้อที่ใช้ทดสอบ

1. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)
2. *Escherichia Coli* (*E. coli*)
3. *Bacillus cereus* (*B. cereus*)

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างพืชและการสกัด

นำเปลือกลูกหยีผึ่งในที่ร่มให้แห้งเป็นเวลา 7 วัน บดให้เป็นชิ้นเล็กๆ หรือจนละเอียด ชั่งน้ำหนัก 300 กรัม แล้วสกัดด้วย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน และเมทานอล โดยนำเปลือกลูกหยีจำนวน 300 กรัม แช่ในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พร้อมทั้งคนเป็นครั้งคราว จากนั้นนำสารสกัดที่ได้กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 เพื่อแยกส่วนตัวอย่างพืชออก แล้วนำสาระลายทั้งหมดทำให้เข้มข้นโดยการระเหยสารละลายในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดในรูปสารสกัดหยาบ (crude extract) เก็บตัวอย่างที่จะใช้ทดสอบในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.2.2 การเตรียมสารสกัด

เตรียมสารสกัดที่จะใช้ทดสอบ โดยนำสารสกัดหยาบที่ได้มาละลายด้วย Dimethyl Sulfoxide (DMSO) ให้มีความเข้มข้นของสารสกัดต่อ Dimethyl Sulfoxide ในอัตราส่วน 1:1 แล้วนำสารสกัดไปยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร 4 ชนิด คือ *S. aureus*, *E. Coli* และ *B. cereus* ด้วยวิธี Disc diffusion test

3.2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกลูกหยีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร

3.2.3.1 แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบแบ่งเป็น แบคทีเรียแกรมบวก 2 สายพันธุ์ คือ *S. aureus* และ *B. cereus* แบคทีเรียแกรมลบ 1 สายพันธุ์ คือ *E. Coli* โดยเลี้ยงในอาหารเหลว Nutrient broth (NB)

3.2.3.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) 56 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 2000 มิลลิลิตร บรรจุในขวดปิดฝา

2. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (NB) 1.3 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ปิเปตอาหารเหลว NB ใส่หลอดทดลอง ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และปิดปากหลอดทดลอง ด้วยฝาจุกให้เรียบร้อย

3. นำอาหารเลี้ยงเชื้อ NA และ NB ที่เตรียมทั้งหมด พร้อมอุปกรณ์ เช่น ลูป (loop) ปากคีบ (forceps) แผ่นดิส (กระดาษกรองขนาด 6 มิลลิเมตร) และไม้ swap แล้วทำการฆ่าเชื้อที่ปนเปื้อนด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์/ตารางนิ้วเป็น เป็นเวลา 15 นาที

3.2.3.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียเพื่อทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์

เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบลงบนอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลือกเขี่ยเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุอาหาร NB ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นจุ่มไม้พันสำลีปราศจากเชื้อลงในอาหารที่เตรียมไว้ นำมาเกลี่ยบนอาหาร NA ที่เตรียมไว้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยป้ายให้ทั่วผิวหน้าอาหาร การป้ายให้ป้าย 3 ระนาบ และทิ้งให้ผิวหน้าอาหารแห้ง จากนั้นนำแผ่นกระดาษกรองที่ตัดเป็นวงกลมมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร แล้วหยดสารสกัดลงบนแผ่นกระดาษกรองปริมาตร 40 ไมโครลิตร ทำการทดลองแต่ละตัวอย่าง 3 ซ้ำ จากนั้นไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยการวัดบริเวณวงใสที่เกิดขึ้นรอบแผ่นกระดาษกรอง (Inhibition zone) หน่วยเป็นมิลลิเมตร

บทที่ 4
ผลการวิจัย

ผลการศึกษาวิจัย เรื่อง ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกลูกหยี ได้ดำเนินการตามขั้นตอนต่างๆ ที่ได้กำหนดไว้ ตั้งแต่การศึกษาข้อมูลเบื้องต้น จนถึงการศึกษาวิเคราะห์ผล ผลการศึกษาสรุปได้ดังต่อไปนี้

4.1 สารสกัดสารจากเปลือกลูกหยี

นำเปลือกลูกหยี 300 กรัม สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน และเมทานอล อย่างละ 500 มิลลิลิตร พบว่าสารสกัดที่ได้มีลักษณะใกล้เคียงกัน โดยสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนมีลักษณะเป็นของเหลวสีเขียว ได้น้ำหนัก 0.3605 กรัม สารสกัดจากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนมีลักษณะเป็นของเหลวสีเขียวเข้ม ได้น้ำหนัก 0.7053 กรัม สารสกัดจากตัวทำละลายอะซิโตนมีลักษณะเหนียวข้นสีน้ำตาลเข้ม ได้น้ำหนัก 3.1259 กรัม และสารสกัดจากตัวทำละลายเมทานอลมีลักษณะเป็นของเหลวข้นสีน้ำตาล ได้น้ำหนัก 8.1545 กรัม จากการ

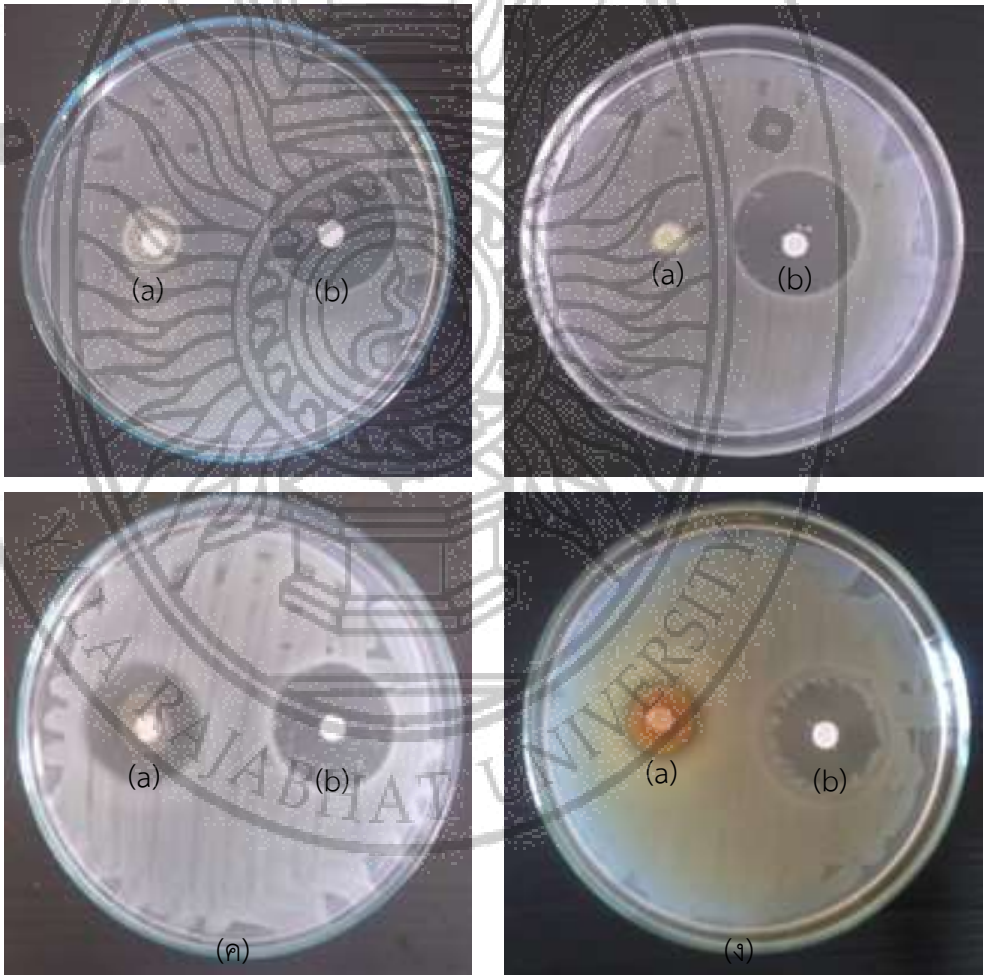
สกัดสารด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลมีปริมาณมากที่สุด รองลงมา คือ อะซิโตน ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ลักษณะและน้ำหนักของสารสกัดจากเปลือกลูกหยีด้วยตัวละลายต่างชนิด

ตัวทำละลายที่ใช้ในกาสกัด	ลักษณะของสารสกัด	น้ำหนัก (กรัม)
เฮกเซน	มีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวข้นสีน้ำตาล	0.3605
ไดคลอโรมีเทน	มีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวข้นสีน้ำตาลเข้ม	0.7053
อะซิโตน	มีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวข้นน้ำตาลเข้ม	3.1259
เมทานอล	มีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวข้นน้ำตาลเข้ม	8.1545

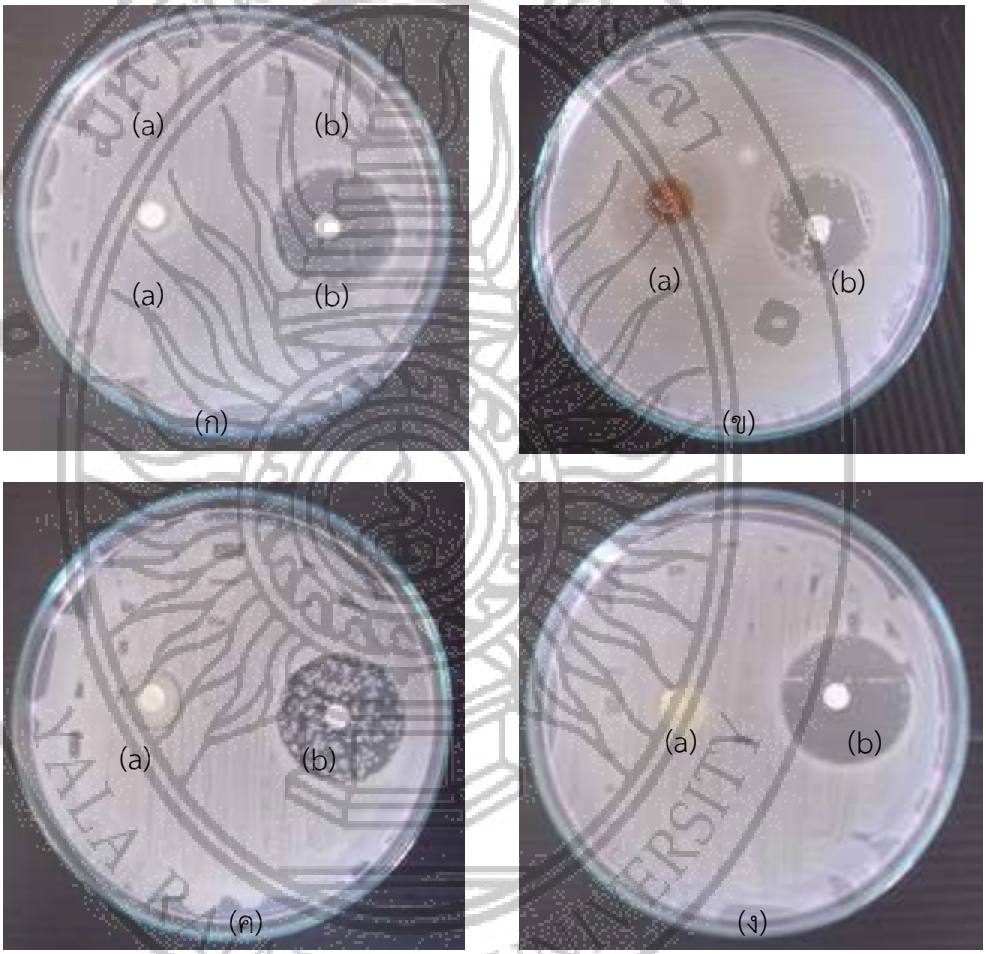
4.2 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกลูกหยีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหารของสารสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน และเมทานอล ทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. aureus, B. cereus* และ *E. coli* ด้วยวิธี disc diffusion test พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ดีที่สุดและให้ผลการยับยั้งใกล้เคียงกับชุดควบคุม คือ มีความสามารถในการยับยั้งเท่ากับ 14.00±0.0, 14.00±0.00 และ 13.00±0.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.1) สารสกัดจากเปลือกลูกหยีที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *S. aureus, B. cereus* และ *E. coli* ได้ โดยให้ผลการยับยั้งเท่ากับ 10.66±0.57, 10.66±0.57 และ 9..00±0.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.2) สารสกัดจากเปลือกลูกหยีที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *S. aureus, B. cereus* และ *E. coli* ได้ โดยให้ผลการยับยั้งเท่ากับ 7.33±0.57, 8.33±0.57 และ 7.66±0.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.3) และสารสกัดจากจากเปลือกลูกหยีที่สกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค 1 สายพันธุ์ คือ *B. cereus* โดยให้ผลการยับยั้งเท่ากับ 9.33±0.00 มิลลิเมตร แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *E. coli* (ตารางที่ 4.2)



ภาพที่ 4.1 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* (a) จากตัวอย่างสารสกัดหยาบเปลือกผลลูกหยีโดยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ สารสกัดเฮกเซน (ก)

สารสกัดไดคลอโรมีเทน (ข) สารสกัดอะซิโตน (ค) และสารสกัดเมทานอล (ง)
มีเอทานอลเป็นตัวควบคุม (b)



ภาพที่ 4.2 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* (a) จากตัวอย่างสารสกัดหยาบเปลือกผลลูกหยีโดยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ สารสกัดเฮกเซน (ก)
สารสกัดไดคลอโรมีเทน (ข) สารสกัดอะซิโตน (ค) และสารสกัดเมทานอล (ง)
มีเอทานอลเป็นตัวควบคุม (b)

ภาพที่ 4.3 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* (a) จากตัวอย่างสารสกัดหยาบเปลือกผลลูกหยีโดยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ สารสกัดเฮกเซน (ก) สารสกัดไดคลอโรมีเทน (ข) สารสกัดอะซิโตน (ค) และสารสกัดเมทานอล (ง) มีเอทานอลเป็นตัวควบคุม (b)

ตารางที่ 4.2 การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร (Clear Zone) ของสารสกัดจากเปลือกลูกหยีด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน และเมทานอล

แบคทีเรียก่อโรค	เฮกเซน (มิลลิเมตร)		ไดคลอโรมีเทน (มิลลิเมตร)		อะซิโตน (มิลลิเมตร)		เมทานอล (มิลลิเมตร)	
	ชุดควบคุม	สารสกัด	ชุดควบคุม	สารสกัด	ชุดควบคุม	สารสกัด	ชุดควบคุม	สารสกัด
S. aureus	16.30±1.52	7.33±0.57	15.66±0.57	NC	14.00±0.00	14.00±1.00	12.66±1.15	10.66±0.57
B. cereus	16.33±0.57	8.33±0.57	14.66±0.57	9.33±2.51	14.33±1.15	13.00±1.00	15.00±0.00	10.66±0.57
E. coli	17.00±1.00	7.66±0.57	16.00±1.00	NC	15.00±0.00	13.00±0.57	14.66±0.57	9.00±0.00

***หมายเหตุ (NC) = ไม่เกิดการยับยั้ง

ชุดควบคุม = เอทานอล 95%

YALA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการสกัดเปลือกลูกหยีด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน และเมทานอล พบว่า ตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารได้มากที่สุด คือ ตัวทำละลายเมทานอล ได้น้ำหนัก 8.1545 กรัม สารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวข้นน้ำตาลเข้ม รองลงมาได้แก่ ตัวทำละลายอะซิโตน ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน ได้สารสกัดมีน้ำหนัก เท่ากับ 3.1259 กรัม 0.7053 กรัม และ 0.3605 กรัม และสารสกัดจะลักษณะเป็นของเหลวข้น สีน้ำตาล เมื่อนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. aureus*, *B. cereus* และ *E. coli* ด้วยวิธี disc diffusion test พบว่า สารสกัดจากตัวทำละลายอะซิโตนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสเท่ากับ 14.00±0.00, 13.00±0.00 และ 13.00±0.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ สารสกัดจากตัวทำละลายเมทานอล ให้ผลการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *S. aureus*, *B. cereus* และ *E. coli* เท่ากับ 10.66±0.57, 10.66±0.57 และ 9.00±0.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดจากเฮกเซนให้ผลการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *S. aureus*, *B. cereus* และ *E. coli* เท่ากับ 7.33±0.57, 8.33±0.57 และ 7.66±0.57 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดจากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้เพียง 1 สายพันธุ์ คือ ทั้ง *B. cereus* ให้ผลการยับยั้งเท่ากับ 9.33±2.51 มิลลิเมตร

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากสารสกัดที่ได้จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการใช้พืชสมุนไพรในท้องถิ่นที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร อีกทั้งยังเป็นการใช้ทรัพยากรในท้องถิ่นให้เกิดประโยชน์ ซึ่งวัตถุดิบ สมุนไพรในท้องถิ่นสามารถหาง่ายและมีปริมาณมาก หากนำมาพัฒนาเป็นสารสกัดใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ต่างๆ จะเป็นการเพิ่มมูลค่าพืชท้องถิ่นอีกทางหนึ่ง นอกจากนี้ยังจะช่วยลดการนำเข้าสารเคมี ประหยัดค่าใช้จ่ายและพลังงานได้อีกด้วย

บรรณานุกรม

จิราภรณ์ บุราคร และ เรือนแก้ว ประพฤติ. (2555). ผลของการสกัดสมุนไพรพื้นบ้านไทยจำนวน 7 ชนิด ต่อการยับยั้งแบคทีเรีย. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. 10 : 11-22.

ณรงค์ โฉมเฉลา. (2536). การใช้สมุนไพรและพืชหอมในการป้องกันกำจัดศัตรูทางการเกษตร. คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 12-15.

บงกชวรรณ สุตะพาหะ และบรรยง คันธวะ. (2554). การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและเชื้อราจากสารสกัดใบฝักข้าว. วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่. 1:31-37.

นุศวดี พจนานุกิจ และสมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม. (2553). เปรียบเทียบการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุดขมิ้นชันและใบบัวบก. วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร. 18(1):1-9.

ปิลันธนา เลิศสถิตธนกร, กรองกาญน์ มนตรี, จารุวรรณ บรรจง, เบญจวรรณ สำรวล และศิรินภา โครตจันทร์. (2555). ฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันจากเปลือกอบเชยเทศ. วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ. 1:39-43.

ประเสริฐ ศรีไพโรจน์. (2539). เทคนิคทางเคมี. กรุงเทพฯ : ประกายพรึก. 84-91.

พีรพัฒน์ สุพรรณพันธุ์, วีรพงศ์ วุฒิพันธ์ชัย และสุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2553). ประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าและสารสมุนไพรสกัดสดในการยับยั้งการเจริญของ Staphylococcus aureus. วารสารพิษวิทยาไทย, 25(1):15-28

รัชนี เต๋เอียดหยอ. (2549). การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดพืชสมุนไพรในกุ้งกุลาดำ (Penaeus monodon) แช่เย็น. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วันทนี สว่างอารมณ์ และพาฝัน จันทร์เล็ก. (2555). การเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Staphylococcus aureus และ Escherichia coli. วารสารก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์, 12 : 47-57.

ศจีรา คุปพิทยานันท์ และ ภคนิจ คุปพิทยานันท์. (2554). ผลของสารสกัดจากเอื้องมายนาต่อระบบสืบพันธุ์ในหนูตัดรังไข่. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ศรัญญา พรศักดา, มาระตรี เปลี่ยนศิริชัย, กิตติ ศรีสะอาด, มัณฑนา นครเรียบ, ประชุมพร เลาห์ประเสริฐ, ทวีรัตน์ วิจิตรสุนทรกุล และทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย. (2553). ผลของการสกัดจากมะเขือพวงในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค Escherichia coli, Staphylococcus aureus และ Salmonella typhimurium. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 3(1):573-576.

อารมณ์ แสงวนิชย์. (2536). การใช้สมุนไพรและพืชหอมในการป้องกันกำจัดศัตรูทำการเกษตร. รายงานการสัมมนาการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูทางการเกษตร. คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 118-122.

Ajiwe, V. I. E, Okeke, A. C., Agbo, H. U., Ogunleye, G. A., and Wkwuozor, S. C. (1996). Extraction, characterization and industrial use of velvet-tamarind, physic-nut and nicker-nut seed oils. Bioresource Technology. 57, 297-299.

Chanda, S., Baravalia,Y,. Kaneria, M,. and Rakholiya, K. (2010). Fruit and vegetable peels-strong natural source of antimicrobics. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology.

Kengni, E., Kengue, J., Ewedje, E. and Tabuna, H. Conservation and sustainable use of genetic resources of priority food tree species in sub-Saharan Africa. Saforgen., 5, 1-7.

Lorsuwan, P., Rechtanapun, C and Chantanawarangoon, S. (2008). Total phenolics, radical scavenging capacity and antimicrobial property of fruit peels. Proceedings of the 46th Kasetsart University Annual Conference: Agro-Industry; 2008 Jan 30 – Feb 2; Kasetsart University. Bangkok, P. 554-61.

Niyi, O. H. (2014). Sugar, physicochemical properties and fatty acid composition of velvet tamarind (Dialium guineese) pulp and oil. European Journal of Biotechnology and Bioscience. 2. 33-37.

Nuamsetti, T,. Dechayuenyong, P,. and Tantipaibulvut, S. (2012). Antibacterial activity of pomegranate fruit peels and arils. ScienceAsia. 38(3): 319-22.

Obasi, N. E., Okorocha, C. A. and Orisakwe, O.F. (2013). Production and evaluation of velvet tamarind (Dialium Guineese Wild) candy. European journal of food science and technology. 1. 1-8.

Ogungbenle, H. N. and Ebadan P. (2014). Nutritional qualities and amino acid profile of velvet tamarind (Dialium guineese) Pulp. British biomedical bulletin., 2, 6-16.

Osanaiye, F. G., Alabi, M. A., Sunday, R. M., Olowokere, T., Salami, E. T., Otunla, T. A., and Odiaka, S. C. (2013). Proximate composition of whole seeds and pulp of African black velvet tamarind (Dialium guineese). IOSR-JAVS. 5. 49-52.

Osarolube, E. and James, A. O. (2014). Corrosion inhibition of copper using African black velvet tamarind (Dialium indium) extract in Sulphuric acid environment. JSRR. 3. 2450-2458.

Zaeoung, S. (2004). Cytotoxic activity againt tumour cells and free radical scavenging activity of zingiberaceous rhizomes used as spices. Master of Pharmacy Thesis. Prince of Songkla University.

http://www.oknation.net/blog/home/blog_data/233/2233/images/v2.jpg
https://th.wikipedia.org/wiki/*Staphylococcus_aureus*
www.foodnetworksolution.com

มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา
YALA RAJABHAT UNIVERSITY

ภาคผนวก ก

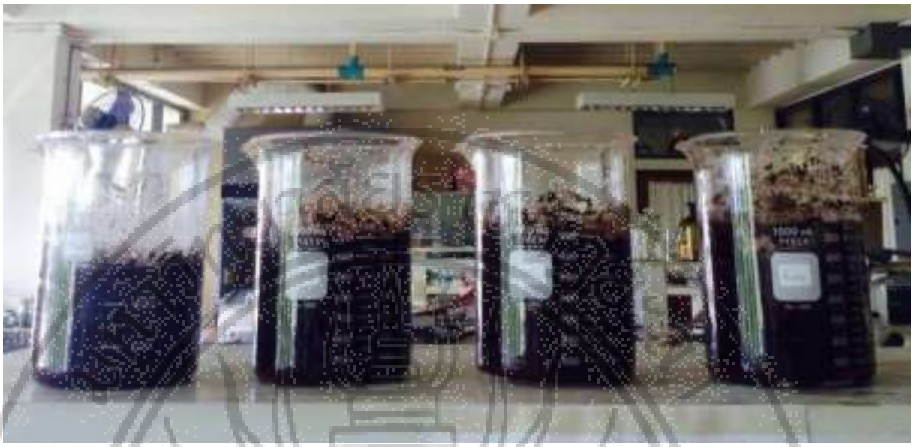
- การเตรียมสารสกัดจากเปลือกลูกหยี
- การทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร

1. การเตรียมสารสกัดจากเปลือกลูกหยี

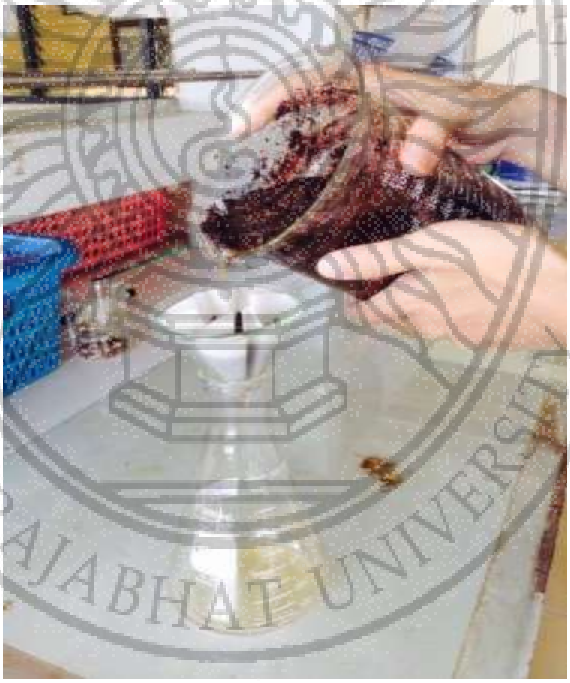
1.1 เปลือกลูกหยีตากแห้ง

1.2 นำเปลือกลูกหยีบดให้ละเอียด

1.3 แช่เปลือกลูกหยีด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน และเมทานอล



1.4 กรองสารสกัดจากเปลือกลูกหยีด้วยกระดาษกรอง



1.5 ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน

YALA RAJABHAT UNIVERSITY

1.6 สารสกัดจากเปลือกลูกหยีด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด

2. การทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร

2.1 การถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลว

2.2 บ่มเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *S. aureus, B. cereus* และ *E. coli* ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.3 ทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อด้วยวิธี disc diffusion method

ภาคผนวก ข

- ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

1. หัวหน้าโรงการ

1.1 ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) . นางสาวสุนีย์ แวมะ

(ภาษาอังกฤษ) Miss Sunee Waema

1.2 เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 1-8008-00052-111

1.3 ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาเคมี

1.4 หน่วยงาน-ที่อยู่

สาขาเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร

มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา อำเภอเมือง จังหวัดยะลา 95000 โทร 086-2841057 Fax 073-227148

E-mail sunee.w@yru.ac.th

1.5 ประวัติการศึกษา

ปีการศึกษาที่จบ	ระดับการศึกษา	สาขาวิชาเอก	มหาวิยาลัย	ประเทศ
2550	ปริญญาตรี (วท.บ.)	เคมี-ชีวะ	สงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี	ไทย
2553	ปริญญาโท (วท.ม.)	วิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ	สงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี	ไทย

1.6 สาขาที่เชี่ยวชาญ food microbiology

1.7 ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

1.7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย: - ไม่มี

1.7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย

- ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกลูกหยี

1.7.3 ผลงานวิจัย

- Isolation and Identification of killer yeast from fermented vegetables ตีพิมพ์ในวารสาร Asian Journal of Food and Agro-Industry.

- effect of extraction solvents and inhibition food pathogenic bacteria activities from *Senna alata* (L.) Roxb.

1.7.4 ผลงานวิจัยที่นำเสนอในการประชุมวิชาการระดับชาติและนานาชาติ

- Isolation and Identification of killer yeast from fermented food (Poster presentation)

- effect of extraction solvents and inhibition food pathogenic bacteria activities from *Senna alata* (L.) Roxb. (Poster presentation)

2. ผู้ร่วมโครงการวิจัย

2.1 ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางอาอีเซาะส์ เบ็ญหาวัน
(ภาษาอังกฤษ) Mrs. Aeesoh Benhawan

2.2 เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 1-9599-00031-74-1

2.3 ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์พนักงานมหาวิทยาลัย สาขาเคมี

2.4 หน่วยงาน-ที่อยู่

สาขาเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร
มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา อำเภอเมือง จังหวัดยะลา 95000 โทร 089-2009250
Fax 073-227148
E-mail aeesoh.b@gmail.com

2.5 ประวัติการศึกษา

ปีการศึกษาที่จบ	ระดับการศึกษา	สาขาวิชาเอก	มหาวิยาลัย	ประเทศ
2546	ปริญญาตรี เกียรตินิยม (วท.บ.)	เคมี	สงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่	ไทย
2550	ปริญญาโท (วท.ม.)	เคมีอินทรีย์	สงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่	ไทย

2.6 สาขาที่เชี่ยวชาญ เคมีอินทรีย์

2.7 ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

2.7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย: - ไม่มี

2.7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย:

2.7.2.1 Chemical Constitutients from the Bark of *Artocarpus elasticus*

2.7.2.2 ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรพื้นบ้านบางชนิด

2.7.3 ผลงานวิจัย Chemical Constitutients from the Bark of *Artocarpus elasticus* ปีที่พิมพ์/งานเสร็จสมบูรณ์ปี 2552 แหล่งทุน Center of Excellence for Innovation in Chemistry (PERCH-CIC)

2.7.4 ผลงานวิจัยที่นำเสนอในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

1. A. Yanya and W. Mahabusarakam. “Prenylated Flavonoids from the Bark of *Artocarpus elasticus*”. The 6th IMT-GT UNINET CONFERENCE 2008, The Gurney Resort Hotel & Residences Penang, Penang, Malaysia, 28-30 August 2008. (Poster presentation)
2. Aeesoh Yanya and Wilawan Mahabusarakam. “Prenylated Flavones from the Bark of *Artocarpus elasticus*”. 4th National Grade Research Conference,

Burapha University, Chonburi, Thailand, 13 March 2009. (Poster presentation)