สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และพันธุ์ทองดี

Antimicrobial activities of crude extracts and essential oils from pomelo peel of Kao-yai and Thong-dee varieties

T104448

นางสาวปวลี คงศิริสัจธรรม
นายรามเชฟ เรืองศิริ
นางสาวศศิภา เดชะปรากรม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 104448
วัน,เดือน,ปี.....

.b.....
.i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Antimicrobial activities of crude extracts and essential oils from pomelo peel of Kao-yai and Thong-dee varieties

Miss Pawalee Khongsirisatjatam

Mr. Rachane Ruangsiri

Miss Sasipa Dechaprakrom

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULLFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2008

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี Antimicrobial activities of crude extracts and essential oils from pomelo peel of Kao-yai and Thong-dee varieties
ชื่อนักศึกษา	นางสาวปวลี คงศิริสัจธรรม นายราเชพ เรืองศิริ นางสาวศศิภา เดชะปรากรม
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. ลินจง สุขลำภู

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2551

คณะกรรมการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	รศ. สุขใจ ชูจันทร์	
กรรมการ	ผศ. ลินจง สุขลำภู	
กรรมการ	ดร. จิตติ ท่าไว	

(ผศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม)

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และพันธุ์ทองดี

ชื่อนักศึกษา นางสาวปวลี คงศิริสัจธรรม
นายราเชพ เรืองศิริ
นางสาวศศิภา เดชะปรากรม

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา 2551
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. ลินจง สุขลำภู

บทคัดย่อ

ได้นำเอาสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดีมาศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย คือ *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Bacillus cereus* TISTR 5040, *Bacillus subtilis* TISTR 6633, *Listeria monocytogenes* DMST 17256, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar Typhimurium (*Salmonella typhimurium*) DMST 0562, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 และ *Zygosaccharomyces rouxii* TISTR 5044 และจากการทดสอบโดยใช้วิธี disk diffusion แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซนจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและยีสต์ที่ใช้ทดสอบ ส่วนสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซนจากเปลือกขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่พบว่าไม่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทุกชนิดที่ใช้ทดสอบ ในขณะที่สารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซนจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ทองดีแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสารสกัดหยาบในชั้นเอธิลอะซิเตทของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่พบว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ทุกชนิดแต่สารสกัดในชั้นเอธิลอะซิเตทของส้มโอพันธุ์ทองดีไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดในชั้นเอทานอลของส้มโอพันธุ์ทองดีมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบมากกว่าส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ และจากการประเมินฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดีด้วยวิธี agar spot test พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้น 10,000 -100,000 ส่วนในล้านส่วนไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทุกชนิดที่นำมาทดสอบ อย่างไรก็ตามพบว่าน้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งยีสต์ได้ดีกว่าแบคทีเรียทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antimicrobial activities of crude extracts and essential oils from pomelo peel of Kao- yai and Thong-dee varieties
students	Miss Pawalee Kongsirisudjatum
	Mr. Rachane Ruangsiri
	Miss Sasipa Dechaprakrom
Degree	Bachelor of Science
Major	Industrial Microbiology
Academic Year	2008
Advisor	Assist. Prof. Linchong Suklampoo

Abstract

The crude extracts and essential oils of pomelo peel of Kao- yai and Thong-dee varieties were studied for their antimicrobial activities against tested pathogenic and spoilage microorganisms such as *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Bacillus cereus* TISTR 5040, *Bacillus subtilis* TISTR 6633, *Listeria monocytogenes* DMST 17256, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar Typhimurium (*Salmonella typhimurium*) DMST 0562, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 and *Zygosaccharomyces rouxii* TISTR 5044. Susceptibility test by disk diffusion method indicated that crude hexane extract of flavedo of Kao- yai variety could inhibit tested gram-positive bacteria and yeasts, and the crude hexane extract of albedo of Khao-yai variety had no antimicrobial activities against any tested microorganisms. While, the crude hexane extract of albedo of Thong-dee variety showed inhibition of gram-positive bacteria from 100 mg/ml. The crude ethylacetate extract of Kao-yai could inhibit all tested bacteria but the ethylacetate extract of Thong-dee had no antimicrobial activities against any tested microorganisms. Furthermore, the ethanol extracts of Thong-dee variety were more effective against the tested microorganisms than that of Kao- yai variety. The essential oils from flavedo of Kao- yai and Thong-dee varieties were used to evaluate the antimicrobial activities using agar spot test method. The results showed that essential oils could not inhibit any tested microorganisms at concentration of 10,000-100,000 ppm. However, the antimicrobial activities of pure essential oil were more effective against the tested yeasts than bacteria.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงงานพิเศษในหัวข้อเรื่องการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบ และน้ำมันหอมระเหย จากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี ซึ่งโครงงานพิเศษฉบับนี้จะไม่สามารถสำเร็จบรรลุจุดประสงค์ไปได้ด้วยดี หากไม่ได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลดังต่อไปนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ลินจง สุขลำภู ดร.จิตติ ท่าไว และ รศ.สุขใจ ชูจันทร์ ที่ให้คำแนะนำ ชี้แนะแนวทางการแก้ปัญหาและความช่วยเหลือในทุกๆด้าน ตลอดจนกรุณาช่วยตรวจแก้ไขงานวิจัยนี้ให้สมบูรณ์ ซึ่งข้าพเจ้ามีความซาบซึ้งในความกรุณาที่ได้รับจากท่านอาจารย์ ทางคณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระ คุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิก-คืนสารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อและอุปกรณ์เครื่องมือต่างๆที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการต่างๆในการทำการทดลอง ตลอดจนให้คำปรึกษาแนะนำในเรื่องต่างๆ

ขอกราบขอบคุณบิดา มารดา ตลอดจนญาติพี่น้องทุกๆคนที่คอยเป็นกำลังใจให้ความช่วยเหลือ และให้คำปรึกษาต่างๆในการทำโครงงานพิเศษนี้ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในด้านค่าใช้จ่ายต่างๆ โดยเฉพาะ ผศ.ณัฐเสกข์ เรืองศิริ ที่คอยให้ความช่วยเหลือด้านค่าใช้จ่ายต่างๆตลอดมา

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ ทุกๆคนที่คอยให้ความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษาในเรื่องต่างๆ เป็นกำลังใจตลอดมา และคอยให้ความช่วยเหลือในการทดลองอีกทั้งให้ยืมอุปกรณ์และสารเคมีต่างๆในการทดลอง

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานเกี่ยวข้องทางด้านนี้ หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับโครงงานพิเศษนี้ หากมีข้อผิดพลาดประการใด คณะผู้จัดทำขออภัยมา ณ โอกาสนี้ด้วย

นางสาวปวลี คงศิริสัจธรรม
นายราเชฟ เรืองศิริ
นางสาวศศิภา เดชะปรากรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ข

กิตติกรรมประกาศ ค

สารบัญ ง

สารบัญตาราง ฉ

สารบัญรูป ช

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ 1

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ 2

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ 3

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

1.5 ขั้นตอนการดำเนินการ 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ประวัติส้มโอ 4

2.2 น้ำมันหอมระเหย 13

2.3 การจำแนกสารหอม 20

2.4 แบคทีเรียก่อโรคและทำให้อาหารเน่าเสีย 23

2.5 ยีสต์ที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียของอาหาร 43

2.6 ยาปฏิชีวนะ 46

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 52

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี 56

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง 57

3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ 58

3.4 วิธีการทดลอง 58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี โดยใช้ตัวทำละลายต่างๆ 64

4.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี 73

4.3 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี 74

4.4 การศึกษาการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และพันธุ์ทองดี 83

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 86

เอกสารอ้างอิง 88

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. รูปผลการทดลอง 94

ภาคผนวก ข. สูตรอาการเลี้ยงเชื้อ 105

ภาคผนวก ค. การวิเคราะห์ทางสถิติ 107

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	คุณค่าทางโภชนาการของส้มโอ	13
4.1	ปริมาณและเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวและเปลือกสีขาว ของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ และพันธุ์ทองดีในตัวทำละลายชนิดต่างๆ	68
4.2	การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาว ของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดีต่อชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด	69
4.3	การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียว ของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดีต่อชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด	70
4.4	การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวและเปลือก สีเขียวของเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด	71
4.5	การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวและเปลือก สีเขียวของเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด	72
4.6	ปริมาณและเปอร์เซ็นต์ผลได้ของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ ขาวใหญ่ และพันธุ์ทองดี	73
4.7	ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซน จากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และพันธุ์ทองดี	76
4.8	ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบชั้นเอธิลอะซิเตท จากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และพันธุ์ทองดี	79
4.9	ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบชั้นเอทานอล จากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และพันธุ์ทองดี	82
4.10	ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจาก เปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี	85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ผลส้มโอพันธุ์ขาวพวง	9
2.2 ผลส้มโอพันธุ์ทองดี	9
2.3 ผลส้มโอพันธุ์ขาวแป้น	10
2.4 ผลส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่	11
2.5 ผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง	11
2.6 ลักษณะเชื้อ *Escherichia coli*	23
2.7 ลักษณะเชื้อ *Salmonella typhimurium*	28
2.8 ลักษณะเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*	30
2.9 ลักษณะเชื้อ *Bacillus cereus*	34
2.10 ลักษณะเชื้อ *Bacillus subtilis*	37
2.11 ลักษณะเชื้อ *Staphylococcus aureus*	39
2.12 ลักษณะเชื้อ *Listeria monocytogenes*	41
2.13 ลักษณะเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*	44
2.14 ลักษณะเชื้อ *Zygosaccharomyces rouxii*	46
2.15 ลักษณะสูตรโครงสร้างของยาปฏิชีวนะ ceftazidime	51
2.16 ลักษณะสูตรโครงสร้างของยาปฏิชีวนะ vancomycin	51
2.17 ลักษณะสูตรโครงสร้างของยาปฏิชีวนะ ketoconazole	51
3.1 ขั้นตอนการสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอด้วยตัวทำละลายที่เรียงลำดับจากขั้วต่ำไปขั้วสูง	63
4.1 สีของตัวทำละลายที่ได้หลังจากสกัดเปลือกส้มโอส่วนเปลือกสีเขียวและสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่	65
4.2 สีของตัวทำละลายที่ได้หลังจากสกัดเปลือกส้มโอส่วนเปลือกสีเขียวและสีขาวของส้มโอพันธุ์ทองดี	66
4.3 สารสกัดหยาบที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอส่วนสีเขียวและส่วนสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่เมื่อสกัดด้วยด้วยตัวทำละลายต่างๆ	66
4.4 สารสกัดหยาบที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอส่วนสีเขียวและส่วนสีขาวของส้มโอพันธุ์พันธุ์ทองดีเมื่อสกัดด้วยด้วยตัวทำละลายต่างๆ	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.5	การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดีต่อชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด	69
4.6	การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดีต่อชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด	70
4.7	การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวและเปลือกสีเขียวของเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด	71
4.8	การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวและเปลือกสีเขียวของเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด	72
4.9	น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอส่วนสีเขียวสดของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี โดยใช้วิธี การกลั่นแบบใช้น้ำ (Water Distillation)	73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

พืชตระกูลส้มเป็นผลผลิตที่มีกำลังในการผลิตทั่วโลกประมาณ 80 ล้านตันต่อปี ส่วนใหญ่มักนำมาใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมอาหาร รวมไปถึงน้ำผลไม้หรือเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของพืชตระกูลส้มเป็นหลัก ดังนั้นพืชตระกูลส้มจึงมีส่วนที่เป็นของเหลือทิ้งทางอุตสาหกรรมอยู่ปริมาณมาก ซึ่งส่วนเหลือทิ้งเหล่านี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น อาหารสัตว์ เส้นในอาหาร และนำไปผลิตเชื้อเพลิง (Bocco และคณะ,1998) และได้มีการศึกษาพบว่าของเหลือทิ้งทางการเกษตรบางประเภทสามารถนำไปใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และสารยับยั้งการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ได้โดยเฉพาะพืชตระกูลส้ม เมื่อนำมาศึกษาแล้วพบว่ามีสารหลายชนิด เช่น flavanoid, limonin, naringin, pectin อยู่เป็นจำนวนมาก (Bocco และคณะ, 1998 ; Manthey และ Grohmann, 2001; Xu และคณะ, 2007)

ส้มโอเป็นพืชตระกูลส้ม ที่มีผลขนาดใหญ่สุด มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus maxima* Merr. หรือ *Citrus grandis* Linn. มีชื่อสามัญว่า Pomelo Shaddock ส้มโอเป็นไม้ผลขนาดใหญ่ที่สุดในบรรดาไม้ผลตระกูลส้ม ผลมีรูปร่างค่อนข้างกลม เปลือกชั้นนอกมีลักษณะเหนียว มีต่อมน้ำมัน (oil gland) กระจายอยู่ทั่วไปตามผิวผล เรียกชั้นนี้ว่าฟลาเวโด (flavedo) เปลือกชั้นกลางเป็นชั้นที่มีเนื้อเยื่อนุ่มมีสีขาวหรือสีอื่นๆ เรียกว่า อัลบิโด (albedo) เปลือกผลชั้นในบางส่วนเจริญไปเป็นถุงน้ำหวาน (juice sac) เป็นส่วนที่ใช้รับประทานซึ่งอาจจะมีสีขาว สีครีม สีชมพูจนถึงสีแดง พันธุ์ส้มโอที่ปลูกอยู่ในประเทศไทยมีหลายพันธุ์ บางพันธุ์ก็มีลักษณะใกล้เคียงกันแต่ปลูกคนละท้องที่จึงมีชื่อเรียกที่แตกต่างกันออกไป พันธุ์ส้มโอที่ปลูกเพื่อการค้าแบ่งออกเป็น พันธุ์การค้าหลัก ได้แก่ พันธุ์ขาวพวง พันธุ์ขาวทองดี พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง เป็นต้น และพันธุ์การค้าเฉพาะแห่ง ได้แก่ พันธุ์ขาวแป้น พันธุ์ขาวหอม พันธุ์ขาวแตงกวา พันธุ์ขาวใหญ่ พันธุ์ขาวแก้ว พันธุ์หอมหาดใหญ่ และพันธุ์เจ้าเสวย เป็นต้น

ปัจจุบันได้มีการศึกษาการควบคุมและการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยสารสกัดจากธรรมชาติและสมุนไพรเป็นจำนวนมาก เพื่อทดแทนสารเคมีซึ่งเป็นวิธีดั้งเดิมที่ใช้กันมาเป็นเวลานาน ดังนั้นการใช้สารสกัดจากธรรมชาติ เพื่อใช้ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จึงเป็นทางเลือกใหม่เพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้บริโภค มีรายงานหลายฉบับจากหลายประเทศทั่วโลกที่ศึกษาถึงสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดของพืชตระกูลส้มว่ามีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ดังเช่น Xu และคณะ (2007) ได้รายงานว่าสารสกัดจากเกรปฟรุ๊ต มีฤทธิ์ในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis cinerea* ได้อย่างมีประสิทธิภาพและได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดของพืชตระกูลส้ม ซึ่งพบว่ามีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรได้

น้ำมันหอมระเหยเป็นสารระเหยที่มีอยู่ในเซลล์พืช องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ประกอบด้วยสารสำคัญ 2 กลุ่ม คือ เทอร์ปีน(terpenes) และ ฟีนิลโพรปานอยด์ (phenyl propanois) ซึ่งพบว่ามีสารบางตัวสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Chang และคณะ, 2001) นอกจากนี้ Arias และ Laca (2005) ได้ศึกษาคุณสมบัติต่างๆของพืชตระกูลส้มหลายชนิดรวมถึงส้มโอและสรุปผลได้ว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากส้มโอสามารถยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ได้รวมทั้งยังมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น

ผลไม้ตัดแต่งพร้อมบริโภค (fresh cut) ได้รับความนิยมอย่างมาก เนื่องจากสามารถตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคได้อย่างดี จากการที่ส้มโอเป็นผลไม้ที่นิยมนำมาทำเป็นส้มโอตัดแต่งพร้อมบริโภค ทำให้เหลือส่วนเปลือกที่เป็นส่วนเหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก โครงงานพิเศษนี้ได้เล็งเห็นความสำคัญดังกล่าวจึงมีวัตถุประสงค์ในการใช้ประโยชน์จากส่วนที่เหลือใช้ของเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดีโดยนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหยจากส่วนเปลือกสีเขียว และสกัดสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกสีเขียวและเปลือกสีขาวโดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกันจากนั้นทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและเป็นสาเหตุของการเน่าเสียของอาหาร

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 เพื่อศึกษาเบื้องต้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและเป็นสาเหตุของการเน่าเสียในอาหารบางชนิดของสารสกัดหยาบ และน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ และพันธุ์ทองดี

1.2.2 เปรียบเทียบสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอที่ใช้ตัวทำละลายที่มีลำดับความเป็นขั้วจากต่ำไปสูง ได้แก่ เฮกเซน เอธิลอะซิเตท และเอทานอล ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและเป็นสาเหตุของการเน่าเสียในอาหารบางชนิด

1.2.3 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย และสารสกัดหยาบของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ และทองดีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและเป็นสาเหตุของการเน่าเสียในอาหารบางชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ทำการสกัดสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกสีเขียวและส่วนเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ เฮกเซน เอธิลอะซิเตท และเอทานอล รวมทั้งทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอส่วนสีเขียว พันธุ์ขาวใหญ่และทองดี จากนั้นนำไปศึกษาเบื้องต้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและเป็นสาเหตุของการเน่าเสียของอาหารบางชนิด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 เป็นแนวทางในการเพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้บริโภคโดยการใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและเป็นสาเหตุของการเน่าเสียของอาหารบางชนิด

1.4.2 เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการใช้สารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาระดับสูงต่อไป

1.4.3 เป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าเปลือกส้มโอ ซึ่งเป็นส่วนเหลือทิ้งที่ได้จากการบริโภคให้เกิดประโยชน์สูงสุด และเพิ่มทางเลือกของสารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติมาใช้ในการถนอมอาหาร

1.5 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

1.5.1 สกัดน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอส่วนสีเขียว (flavedo) และสกัดสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของเปลือกส้มโอ ได้แก่เปลือกสีเขียว (flavedo) เปลือกสีขาว (albedo) ของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ และทองดี โดยศึกษาตัวทำละลายต่างๆได้แก่ เฮกเซน เอธิลอะซิเตท และเอทานอล เป็นตัวทำละลายโดยเรียงตามลำดับความเป็นขั้วของสารจากน้อยไปหามาก

1.5.2 ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ของสารสกัดหยาบที่ได้แต่ละสายพันธุ์ โดยใช้วิธี Disk diffusion และ ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยโดยวิธี Agar spot test

1.5.3 เปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดที่ได้จากแต่ละส่วนของเปลือกส้มโอแต่ละสายพันธุ์และชนิดของสารละลายที่ใช้ในการสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ประวัติของส้มโอ (Pomelo)

นักวิทยาศาสตร์ได้ทำการแบ่งลำดับสายพันธุ์ทางวิทยาศาสตร์ของส้มโอได้ดังนี้

Kingdom :	Plantae
Division :	Magnoliophyta
Class :	Magnoliopsida
Sub Class :	Rosidae
Order :	Sapindales
Family :	Rutaceae
Subfamily :	Aurantioideae (The Orange Subfamily)
Tribe :	Citreae
Subtribe :	Citrinae (Citrus fruit trees)
Genus :	*Citrus*
Specie :	*Citrus maxima*

ดังนั้นชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name) ของส้มโอจึงเป็น *Citrus maxima* Merr. (มีชื่อพ้อง (Syn.) *Citrus grandis* Linn.) ส้มโอเป็นผลไม้ตระกูลเดียวกันกับมะนาวและส้ม มีวิตามินซีและเอสูง แคลเซียมสูง ผลจะนำมารับประทานกัน เมื่อสุกแล้วนำมาปรุงอาหารได้ เช่น ยำส้มโอ เปลือกมีรสขมนิยมนำมาแช่อิ่ม ประเทศจีนนิยมนำมาใช้เป็นยาแก้ธาตุไม่ปกติ และแก้ไอ ใช้ผสมยาหอมรับประทาน ขับลมในลำไส้ ลดอาการจุกแน่นหน้าอก (สมชาย และทวีศักดิ์ , 2527)

ส้มโอเดิมเข้าใจว่าเป็นส้มโอชนิดเดียวกับส้มโอผลเล็ก ที่เรียกว่า Grapefruit เพราะมีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก ต่อมาเมื่อปี ค.ศ. 1830 Macfadyen ได้แยกส้มโอออกจากส้มโอผลเล็ก (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus paradise* Mac.) ส้มโอมีชื่อสามัญหลายชื่อตามถิ่นที่อยู่ เช่น pomelo, pompelmoes, Forbidden fruit (ผลไม้ต้องห้าม) และ shaddock สำหรับ 3 ชื่อแรกมาจากภาษา Dutch ซึ่งเรียกส้มโอว่า Pompelmoes หรือ Pompelmoose ส่วนชื่อหลังเรียกตามชื่อกัปตันเรือชาวอังกฤษชื่อ Shaddock ซึ่งเป็นคนแรกที่ได้นำพันธุ์ส้มโอจากหมู่เกาะมลายูไปปลูกในหมู่เกาะ West Indies. (สมชาย และทวีศักดิ์, 2527 ; นฤมล, 2548)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื่อกันว่าส้มโอมีถิ่นกำเนิดเดิมอยู่ทางหมู่เกาะมลายู และหมู่เกาะโปลินีเซีย ต่อมาได้ขยายไปตามแหล่งต่างๆตามแถบมลายู หมู่เกาะ West Indies. อินเดีย จีน ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย เปอร์เซีย ปาเลสไตน์ และสหรัฐอเมริกา

สำหรับส้มโอในประเทศไทยนั้นจากการพิจารณาสภาพธรรมชาติตามป่าบางภาคของประเทศไทยแสดงให้เห็นว่าส้มโอทั้งหลายไม่ใช่ของพืชพื้นเมืองของประเทศไทย แต่ได้ถูกนำมาจากดินแดนใกล้เคียงแห่งใดแห่งหนึ่ง เป็นระยะเวลานานมาแล้ว จนประชาชนเจ้าของพื้นที่คุ้นเคยและเข้าใจว่าเป็นผลไม้พื้นเมือง การที่ส้มโอได้ถูกนำเข้ามาจากที่ใดและสมัยใดนั้น เราอาจสันนิษฐานได้ 3 ทางคือ

1. โดยทางบกจากดินแดนจีนตอนใต้ โดยพวกไทยน้อยซึ่งเป็นบรรพบุรุษของเรา เมื่ออพยพมาทางใต้จนเข้ามาตั้งถิ่นฐานอยู่ในอาณาจักรไทย (พ.ศ. 1650-1850) คงจะได้นำเอาพืชผลและสัตว์เลี้ยงต่างๆ รวมทั้งพวกส้มชนิดต่างๆ ติดขบวนเดินทางเข้ามาในประเทศ

2. โดยทางทะเลจากหมู่เกาะมลายู ซึ่งเชื่อกันว่าเป็นถิ่นฐานของส้มโอ ซึ่งทางประวัติศาสตร์เราทราบว่าดินแดนทางใต้ของประเทศไทยเคยเป็นเมืองขึ้นของประเทศชวา (อาณาจักรศรีวิชัย พ.ศ. 1214-1920) มาก่อน จึงอาจกล่าวได้ว่าส้มโอถูกนำมาปลูกในประเทศไทยในยุคนั้นได้

3. โดยทางทะเลจากประเทศจีนหรือแคว้นตังเกี๋ย ในสมัยกรุงธนบุรีหรือต้นกรุงรัตนโกสินทร์ในช่วงสมัยนั้น มีชาวจีนเข้ามาพึ่งพาพระบรมโพธิสมภารของพระมหากษัตริย์ไทยเป็นจำนวนมากและได้ตั้งรกรากอยู่บริเวณกรุงเทพและธนบุรี ชาวจีนเหล่านี้มีทั้งพ่อค้าและชาวไร่ชาวนา เพราะส่วนมากมาจากจีนใต้ จึงอาจนำส้มโอมาปลูกในประเทศไทย ต่อมาเมื่อส้มโอเหล่านี้ถูกปลูกมาเป็นเวลานานๆ ก็คงจะได้พันธุ์ที่เหมาะสมกับดินฟ้าอากาศของประเทศไทย

เข้าใจว่าครั้งแรกส้มโอคงจะถูกปลูกในบริเวณริมฝั่งแม่น้ำเจ้าพระยา ในเขตจังหวัดพระนครและธนบุรีก่อน ต่อมาจึงได้แพร่หลายไปยังจังหวัดอื่นๆ ในภาคกลางทั่วไป จากการสืบประวัติของต้นส้มโอที่มีปลูกอยู่ในบริเวณสวนส้มที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม และอำเภอกระทุ่มแบน จังหวัดสมุทรสาครซึ่งเป็นแหล่งส้มโอที่มีชื่อเสียงของไทยได้ความว่าได้พันธุ์มาจากสวนบริเวณกรุงเทพและธนบุรี ซึ่งส้มโอที่มีอยู่ในปัจจุบันสามารถแยกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆดังนี้

1. Thailand group ซึ่งถือเป็นกลุ่มที่มีสายพันธุ์แพร่กระจายมากที่สุดเท่าที่รวบรวมได้ ได้แก่พันธุ์ขาวแป้น ขาวพวง ขาวหอม ขาวจีบ ขาวทับทิม ขาวทองดี ขาวใหญ่ ขาวพ้อม ขาวแก้ว ขาวน้ำผึ้ง ขาวแตงกวา ขุนนนท์ มรกต แดงทับทิม กรุ่น น้ำตาลทราย หอมใบเตย ท่าข่อย ปัตตาเวีย สายน้ำผึ้ง ซึ่งแต่ละสายพันธุ์จะมีเนื้อสีต่างๆ เช่น สีครีมอ่อน สีครีมแก่ สีชมพู เป็นต้น จึงสามารถแบ่งสีเนื้อผล (color of flesh) ของส้มโอได้เป็น 4 สี คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) สีครีมอ่อน เช่น พันธุ์ขางพวง ขุนนนท์ ขาวจีบ ขาวใหญ่

2) สีครีมแก่ เช่น พันธุ์ขาวแป้น ขาวหอม

3) สีชมพูอ่อน เช่น พันธุ์ขาวทองดี ขาวน้ำผึ้ง มรกต ขาวพ้อม

4) สีชมพูแก่ เช่น พันธุ์แดงทับทิม

ถ้าจะแยกออกตามลักษณะเดิมของผลที่เห็นได้ชัด ก็จะได้ส้มโอเป็น 2 พวกคือ

1) ผลกลมแบน หรือเกือบกลม ไม่มีจุก ได้แก่ พันธุ์ขาวทองดี ขาวแป้น ขาวหอม ขาวใหญ่ ปัตตาเวีย เป็นต้น

2) ผลทรงสูง มีจุก ได้แก่ พันธุ์ขาวพวง ขาวจีบ เป็นต้น

2. Chinese group เป็นกลุ่มของส้มโอที่ปลูกแถว กวางสี กวางตุ้ง ฟูเกี๊ยน ไต้หวัน และส่วนใหญ่ของญี่ปุ่น เช่น Sha Tin Yau, Song ma Yau, Mato Butan, Shannyyuan

3. Indonesian group ส้มโอกลุ่มนี้รวมทั้งพวกที่มาจากมาเลเซียและอินเดียด้วย เช่น Pandan Wangi, Pedan Bener, Seeloompang, Bali Merah, Deleema Merch, Deleema Kopjor, Banpeiyu (สมชาย และทวีศักดิ์, 2527 ; วิเศษ, 2537 ; นฤมล, 2548)

2.1.1 ลักษณะทางพฤษศาสตร์ของส้มโอ

ส้มโอเป็นไม้ผลขนาดใหญ่ที่สุดในบรรดาไม้ผลตระกูลส้ม เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงขนาดกลาง ลำต้นมักเป็นเหลี่ยม สูงประมาณ 5–15 เมตร ใบมีขนาดใหญ่ แผ่นใบมีความกว้าง 2–12 เซนติเมตร ยาว 5–20 เซนติเมตร รูปร่างคล้ายรูปไข่หรือรูปไข่ยาว มีดอกขนาดใหญ่ อาจเกิดเป็นดอกเดี่ยวหรือดอกช่อที่บริเวณซอกใบ แต่ละช่อมีดอกจำนวน 2–10 ดอก ผลมีรูปร่างค่อนข้างกลมขนาดใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10–30 เซนติเมตร ผลมีสีเขียวเมื่ออ่อนและเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมเหลืองเมื่อแก่เปลือกหนา 1.5 – 2.0 เซนติเมตร 5 เปลือกอ่อนนุ่ม สีขาวหรือสีชมพู เนื้อของแต่ละกลีบจะแยกออกจากกัน ได้ง่ายภายในมีน้ำบรรจุอยู่ มีรสหวานหรือหวานอมเปรี้ยว จำนวนเมล็ดในผลมีน้อยมีหลายขนาด สีขาวอมเหลืองผิวเมล็ดมีลักษณะเป็นร่องเล็กๆ เปลือกชั้นนอกมีลักษณะเหนียว มีต่อมน้ำมัน (oil gland) กระจายอยู่ทั่วไปตามผิวผล เรียกชั้นนี้ว่าฟลาเวโด (flavedo) ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่นอกสุดของผล ประกอบด้วยเซลล์อิพิเดอร์มิส คิวติเคิลหุ้มหนามาก ชั้นของอิพิเดอร์มิสยังคงมีการแบ่งเซลล์ต่อไปจนถึงระยะผลสุก เซลล์ที่การแบ่งตัวระยะหลังนี้มีคิวติเคิลบาง และมีต่อมน้ำมันซึ่งสร้างตั้งแต่ในระยะที่เป็นรังไข่ของดอก ต่อมน้ำมันจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นในระยะที่ผลขยายใหญ่โต ชั้นของอิพิเดอร์มิสมีชั้นของเซลล์พาเรนไคมาที่มีคลอโรพลาสต์ทำให้เปลือกเป็นสีเขียว เมื่อผลสุกคลอโรลาสต์จะเปลี่ยนเป็นโครโมพลาสต์ที่เรียกว่า โครโมโตฟอร์ และมีการสร้างสารพวก แคโรทีนอยด์ ทำให้เปลือกเป็นสีเหลือง เปลือกชั้นกลางเป็นชั้นที่มีเนื้อเยื่อนุ่มมีสีขาวหรือสีอื่นๆ เรียกว่า อัลบิโด (albedo) เซลล์ชั้นกลางของเปลือกผลเป็นเซลล์พวกสปองจิพาเรนไคมา คล้ายกับสปองจิมีโซฟิลในใบเป็นส่วนที่ไม่มีหรืออาจมีสีชมพูตามลักษณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประจำพันธุ์ ชั้นอัลบิโดมีสีเขียวอ่อนนุ่มในระยะแรกของการเจริญของผล การเพิ่มขนาดของผลในระยะแรกเกิดจากการเพิ่มความหนาของชั้นอัลบิโด ส่วนการเพิ่มขนาดของผลมีน้อย เมื่อสุกเปลือกผลที่แกะออกมาจะเป็นชั้นของฟลาเวโดและชั้นอัลบิโด เปลือกผลชั้นนี้ประกอบด้วยเพคติน ไกลโคไซด์ วิตามินซีและน้ำตาล เปลือกผลชั้นใน (endocarp : rag) จัดเป็นชั้นในสุดของเปลือกผล ส่วนที่เป็นช่องหรือกลีบผลและผนังของพูรังไข่ ก่อนที่ช่องผลจะขยายขนาดส่วนที่เป็นจุดกำเนิดถุงน้ำหวาน (juice sac) เป็นส่วนที่ใช้รับประทานได้ ส่วนประกอบของน้ำหวานในถุงน้ำหวานจะเป็นน้ำตาลและกรด ซึ่งส่วนมากเป็นกรดน้ำส้ม (citric acid) ถุงน้ำหวานจะจัดเรียงกันอย่างหนาแน่นและเป็นระเบียบ เมื่อช่องผลขยายขนาดเต็มที่ถุงน้ำหวานจะกระจัดกระจายออกไม่เป็นระเบียบ ผนังของเปลือกชั้นในจะยืดตัวออกจนตึงและปกคลุมด้วยชั้นคิวติเคิล ซึ่งอาจจะมีสีขาว สีครีม สีชมพู จนถึงสีแดง ซึ่งส่วนต่างๆของส้มโอแบ่งออกได้ดังนี้

1. ลำต้น ส้มโอเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง มีความสูงประมาณ 6-10 เมตร แต่ถ้าปลูกในที่เหมาะสมและมีอายุมากๆอาจสูงได้ถึง 15 เมตร ทรงของต้นโปร่ง กว้าง 3-5 เมตร ลำต้นใหญ่ กิ่งใหญ่ บางต้นมีหนามตามลำต้น ยิ่งถ้าปลูกด้วยเมล็ดจะมีหนามแข็งยาวถึง 1 นิ้ว

2. ราก มีรากแก้วโดยธรรมชาติ ส่วนรากจะสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของทรงพุ่ม คือถ้าทรงสูงชะลูด จะมีรากหยั่งแนวลึก แต่ถ้าทรงพุ่มกว้าง รากจะลงแนวลึกน้อย ส่วนของรากที่หาอาหารจะอยู่ในระดับ 60-100 เซนติเมตร ที่ลึกจาก 120 เซนติเมตร ส่วนใหญ่ใช้เพื่อพยุงลำต้น

3. ส้มโอมีใบใหญ่รูปไข่ (ovate-oblong) หรือคล้ายผลสมอ (elliptic) ยาว 5-20 เซนติเมตร แบ่งออกเป็น 2 ตอน ตอนแรกเรียกตัวใบ ตอนล่างเรียก หูใบ ปลายใบมนและช้อนขึ้นเล็กน้อย สีของใบด้านบนเขียวเข้มเป็นมัน ด้านล่างเป็นสีเขียวอ่อนมีขนอ่อนนุ่มอยู่ด้วย ริมใบเรียบหรือหยักเล็กน้อย เส้นใบนูนเด่นชัด สีเขียวเข้มเป็นมัน

4. ดอก ดอกของส้มโอออกตอนปลายกิ่ง ออกเป็นช่อแบบ axillary raceme จำนวน 10-20 ดอก หรือบางทีออกดอกเดี่ยวๆก็มี ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ ดอกค่อนข้างใหญ่ ก้านดอกยาว กลีบดอกสีขาวมี 4-5 กลีบ กว้างประมาณ 1 เซนติเมตร ยาว 2-5 เซนติเมตร มีต่อมน้ำมันที่กลีบดอก กลีบรองมีสีเขียวอ่อน สั้นๆ 10-12 เซนติเมตร ถัดจากกลีบดอกเป็นเกสรตัวผู้มี 16-24 อัน ล้อมรอบรังไข่รูปกลม สีเขียวอ่อน ก้านเกสรตัวเมียยาวใหญ่ ปลายกลม เมื่อดอกบานมีกลิ่นหอม ในฤดูที่ออกดอกมากที่สุดอยู่ระหว่างกลางเดือนธันวาคม ถึงกลางเดือนกุมภาพันธ์ และอีกครั้งหนึ่งระหว่างเดือนสิงหาคม ถึงเดือนกันยายน ระยะจากผลิดอกถึงดอกบานใช้เวลา 25-30 วัน และจากดอกบานถึงผลแก่ประมาณ 180-210 วัน

5. ผล มีขนาดใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10-45 เซนติเมตร สูง 14-20 เซนติเมตร จัดอยู่ในประเภท berry จำนวก hesperidium ทรงผลมีหลายแบบ เช่น กลมแป้น กลมมน กลมสูง มีจุกคล้ายผลสาลี่ ผิวของผลส้มโอมีสีเขียวอ่อนถึงเหลืองอ่อน มีต่อมน้ำมันตามผิว เปลือกหนา 2-2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซนติเมตร มีลักษณะนุ่ม จัดเป็น pericarp ของผล เนื้อที่ใช้บริโภคเกิดจากส่วนเจริญของ endocarp มีลักษณะเป็นเส้นอวบยาวอัดรวมตัวกันอยู่ เรียกว่า กุ้ง (juice sac) ซึ่งภายในผลแบ่งออกเป็นช่องหรือกลีบ 12-14 กลีบ ตรงกลางมีแกน (core) แข็งแต่บางผลไม่มี เป็นโพรงกลวงกลางผล ซึ่งกุ้งจะมีเนื้อหวาน หอม หรือเปรี้ยว ตามแต่ละสายพันธุ์และแหล่งที่ปลูก ปริมาณผลในต้นหนึ่งมีตั้งแต่ 40-100 ผล เฉลี่ยประมาณ 40-50 ผลต่อต้น สีของเปลือกมีทั้งสีขาวและสีชมพู

6. เมล็ด ส้มโอมีเมล็ดค่อนข้างใหญ่ แบน เปลือกย่น อยู่รวมกันตรงใจกลางผลรอบๆแกน บางผลไม่มีเมล็ดหรือเมล็ดลีบ ซึ่งสาเหตุอาจเนื่องมาจาก ไม่ได้รับการผสมเกสร เป็นหมันเมื่อผสมตัวเอง บางฤดูเกสรตัวผู้มีสมรรถภาพต่ำ

2.1.2 พันธุ์ของส้มโอ (สมชาย และทวีศักดิ์, 2527 ; นฤมล, 2548 ; กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2545)

พันธุ์ส้มโอที่ปลูกในประเทศไทย มีอยู่หลายพันธุ์ซึ่งอาจเรียกชื่อต่างกันไปตามภาษาของท้องถิ่นที่ปลูก เช่น

จังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร ราชบุรี	ปลูกพันธุ์ ขาวพวง ขาวทองดี ขาวแป้น ขาวหอม ขาวน้ำผึ้ง
จังหวัดสมุทรสงคราม	ปลูกพันธุ์ ขาวใหญ่
จังหวัดชัยนาท	ปลูกพันธุ์ ขาวแตงกวา ขาวแก้ว ขาวกรุ่น
จังหวัดพิจิตร	ปลูกพันธุ์ ท่าข่อย
จังหวัดสงขลา สุราษฎร์ธานี	ปลูกพันธุ์ ปัตตาเวีย

แต่ที่ปลูกกันอย่างแพร่หลายและเป็นที่ต้องการของตลาดมีอยู่ 4 พันธุ์ คือ ขาวพวง ทองดี ขาวใหญ่ และขาวแป้น

พันธุ์ขาวพวง เป็นพันธุ์ที่ให้ผลดก ขนาดผลโตปานกลาง ทรงผลกลมสูงเล็กน้อย มีจุกสูงที่จีบกุ้ง เส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 15-20 เซนติเมตร สูงประมาณ 15-18 เซนติเมตร เฉพาะจุกสูงประมาณ 1.5-2 เซนติเมตร ด้านก้นเว้าเล็กน้อย ผิวเรียบมีสีเขียวอมเหลือง ต่อมน้ำมันค่อนข้างใหญ่อยู่ห่างกันพอสมควร กดดูรู้สึกแข็ง เปลือกค่อนข้างบาง เป็นสีขาว ผลหนึ่งมีกลีบผลประมาณ 12-14 กลีบ แยกออกจากกันได้ง่าย กุ้งมีสีขาวอมเหลือง ขนาดกุ้งค่อนข้างใหญ่เบียดกันอย่างหลวมๆ มีน้ำมากแต่ไม่แฉะน้ำ กุ้งค่อนข้างแข็ง รสหวานอมเปรี้ยว มีความหวานประมาณ 10 องศาบริกซ์ เมล็ดมีน้อยจนไม่มีเมล็ดเลยดังแสดงในรูปที่ 2.1 ซึ่งชาวต่างชาติรู้จักกันในนาม Siamese Seedledd Pomelo สามารถเก็บผลได้ก่อนกำหนด เมื่อผลมีความแก่ราว 60 เปอร์เซ็นต์ สามารถส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศได้ไกลๆ โดยคุณภาพยังคงเดิม โดยเฉพาะอย่างยิ่งชาวจีนในฮ่องกงและสิงคโปร์ สั่งซื้อในพิธีไหว้พระจันทร์กันมาก โดยอ้างว่าเป็นส้มที่มีทรงผลสวย นอกจากนั้นชาวยุโรปยังให้ความนิยมมากเนื่องจากรสหวานปมเปรี้ยวเล็กน้อย รวมทั้งลักษณะของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อที่แห้งไม่แฉะน้ำทำให้แกะกินง่ายไม่เปรอะมือ ดังนั้นส้มโอพันธุ์ขาวพวงจึงสามารถส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศได้มากที่สุด

รูปที่ 2.1 ผลส้มโอพันธุ์ขาวพวง
ที่มา : นฤมล (2548)

พันธุ์ขาวทองดี หรือทองดี ผลมีลักษณะกลมแป้น ขนาดโตปานกลาง เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 14-20 เซนติเมตร สูงประมาณ 12-14 เซนติเมตร ไม่มีจุก ที่หัวมีจีบเล็กน้อย ก้นเรียบถึงเว้าเล็กน้อย ผิวเรียบมีสีเขียวเข้ม ต่อมน้ำมันละเอียดและอยู่ชิดกัน กดดูจะรู้สึกนิ่ม เปลือกค่อนข้างบางเป็นสีขาวอมชมพูเรื่อๆ ผลหนึ่งจะมีกลีบประมาณ 14-26 กลีบ สีของผนังกลีบมีสีชมพูอ่อน กุ้งมีสีชมพูเรื่อๆ เบียดกันแน่นแต่นิ่ม ฉ่ำน้ำ รสหวานฉ่ำไม่อมเปรี้ยว มีความหวานประมาณ 11-12 องศาบริกซ์ เมล็ดมีขนาดเล็ก เมล็ดมาก เนื่องจากพันธุ์ทองดีมีรสชาติหวานฉ่ำถูกปากคนไทย จึงเป็นที่นิยมบริโภคกันมากดังแสดงในรูปที่ 2.2

รูปที่ 2.2 ผลส้มโอพันธุ์ทองดี
ที่มา : นฤมล (2548)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ขาวแป้น ให้ผลดกรองจากพันธุ์ขาวพวง ลักษณะผลกลมแป้น ขนาดผลโตปานกลาง เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 14-16 เซนติเมตร สูงประมาณ 12-14 เซนติเมตร ไม่มีจุก ที่หัวไม่มีจีบด้านก้นเรียบ ผิวเรียบมีสีเขียวอมเหลือง ต่อมน้ำมันค่อนข้างใหญ่ อยู่ห่างกันพอสมควร กดดูจะรู้สึกแข็งและสากมือ เปลือกหนาปานกลางถึงค่อนข้างหนามาก มีสีขาว เปลือกติดกับเนื้อ ผลแน่นแกะค่อนข้างยาก ผลหนึ่งจะมีกลีบประมาณ 12-13 กลีบ เยื่อหุ้มเนื้อสีขาวและเหนียวแกะออกยาก กุ้งมีสีขาวอมเหลือง เบียดกันแน่นปานกลาง รสหวานอมเปรี้ยว มีความหวานประมาณ 10-11 องศาบริกซ์ ดังแสดงในรูปที่ 2.3 เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ขาวพวงแล้ว พันธุ์ขาวแป้นจะให้รสชาติที่หวานแก่กว่า มีเมล็ดน้อย ส่วนมากเมล็ดจะลีบนิยมบริโภคกันทั่วไปภายในประเทศ

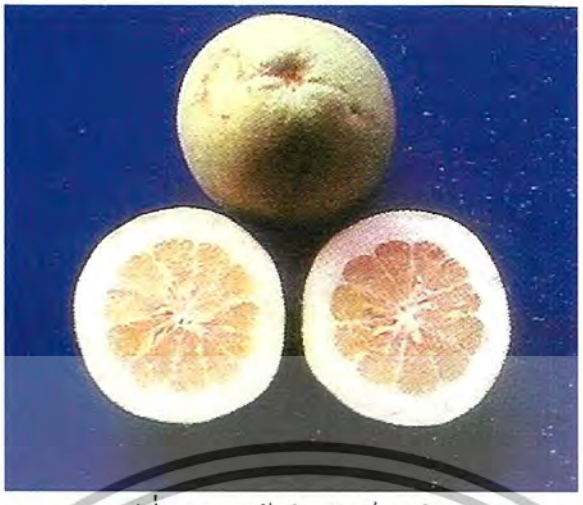
รูปที่ 2.3 ผลส้มโอพันธุ์ขาวแป้น

ที่มา : นฤมล (2548)

พันธุ์ขาวใหญ่ เป็นพันธุ์ที่ให้ผลไม่ค่อยดก ขนาดผลโตปานปลางถึงค่อนข้างใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 15-30 เซนติเมตร สูงประมาณ 18-20 เซนติเมตร ทรงผลกลมสูง แต่ไม่มีจุกเด่นชัดเหมือนพันธุ์ขาวพวง ด้านก้นเรียบ ผิวเรียบ สีเขียวเข้มอมเหลือง ต่อมน้ำมันค่อนข้างใหญ่ แต่เรียบ เปลือกหนาปานกลางเป็นสีขาว ผลหนึ่งมีกลีบประมาณ 11-12 กลีบ แยกออกจากกันง่าย กุ้งมีสีขาวอมเหลือง ขนาดของกุ้งค่อนข้างใหญ่ เบียดกันแน่น มีน้ำมากแต่ไม่แฉะ กุ้งค่อนข้างแข็ง รสชาติหวานกรอบอมเปรี้ยวนิดๆ มีความหวานประมาณ 9-10 องศาบริกซ์ สามารถแกะเนื้อออกมาได้ง่าย ไม่เปรอะเปื้อนมือ เมล็ดใหญ่ แต่มีเมล็ดไม่มากนักดังแสดงในรูปที่ 2.4

ส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่มีปลูกกันมากที่อำเภออัมพวา จังหวัดสมุทรสงคราม และอำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี เข้าใจว่าพันธุ์ขาวใหญ่ดั้งเดิมแพร่กระจายมาจากทางธนบุรี เข้ามาปลูกในเขตอำเภออัมพวา พร้อมกับทางด้านอำเภอสามพราน แต่ไม่ได้แพร่กระจายไปปลูกยังที่อื่นๆ ซึ่งอาจเนื่องจากการให้ผลไม่สู้จะดกนักก็เป็นได้ เนื่องจากปริมาณผลผลิตที่ส่งออกในแต่ละปีมีปริมาณน้อย จึงทำให้ราคาค่อนข้างสูงและหาซื้อได้เฉพาะในเขตจังหวัดสมุทรสงคราม และใกล้เคียงเท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 ผลส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่
ที่มา : กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2545)

พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง ผลมีขนาดค่อนข้างใหญ่ ทรงผลกลมสูง แต่ไม่มีจุกเด่นชัดเหมือนพันธุ์ขาวพวง ด้านก้นผลเรียบ ต่อมน้ำมันที่ผิวเปลือกมีขนาดใหญ่อยู่กันห่างๆ ผิวเปลือกมีสีเขียวเข้ม เปลือกค่อนข้างหนา ผลหนึ่งมีกลีบผลประมาณ 11-12 กลีบ แยกออกจากกันง่าย กุ้งมีสีขาวอมเหลือง ขนาดกุ้งค่อนข้างใหญ่ เบียดกันแน่น มีน้ำมากแต่ไม่แฉะ รสหวานอมเปรี้ยว สามารถแกะเนื้อออกมาได้ง่าย เมล็ดมีขนาดใหญ่ แต่มีเมล็ดไม่มากนัก เป็นที่นิยมบริโภคโดยทั่วไปดังแสดงในรูปที่ 2.5

รูปที่ 2.5 ผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง
ที่มา : นฤมล (2548)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ขาวแตงกวา ลักษณะผลกลมแป้น ขนาดผลกลมปานกลาง เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 14-25 เซนติเมตร ก้นผลป้านจนถึงเว้าเล็กน้อย ที่หัวไม่มีจุก ผิวเรียบ มีต่อมน้ำมันละเอียด ผิวมีสีเขียว เปลือกหนาปานกลาง ถ้ากดจะนิ่มมือ กุ้งมีสีขาว นิ่ม เบียดกันแน่น รสหวานอมเปรี้ยวนิดๆ ไม่แฉะน้ำ มีเมล็ดน้อย แกะเนื้อออกได้ง่าย ลักษณะทั่วไปคล้ายกับพันธุ์ขาวหอม แต่เปลือกหนากว่าเท่านั้น

พันธุ์ปัตตาเวีย ส้มโอพันธุ์นี้พบปลูกกันมากทางภาคใต้ของประเทศไทย ดูจากชื่อพันธุ์นี้คล้ายกับมีถิ่นกำเนิดในชวา แต่ก็ไม่มีผู้ยืนยัน ผลมีขนาดค่อนข้างใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 14-18 เซนติเมตร สูงประมาณ 12-15 เซนติเมตร ผลมีลักษณะกลมแป้น ทรงต่ำแบนๆ ผลสีเขียวอมเหลือง เปลือกค่อนข้างบางและมีสีขาว เนื้อมีสีชมพูเรื่อๆ เนื้อฉ่ำน้ำ รสหวานไม่มีรสเปรี้ยวเลย

พันธุ์ท่าข่อย ผลมีขนาดใหญ่เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 15-18 เซนติเมตร สูงประมาณ 14-16 เซนติเมตร ทรงผลกลมสูง แต่ไม่มีจุกเด่นชัด ด้านหัวมีจีบเล็กน้อย ด้านก้นเรียบถึงเว้าเล็กน้อย ผิวหยาบ สีค่อนข้างเหลือง เปลือกค่อนข้างหนามีลักษณะนุ่มคล้ายสำลี มีกลีบผล 12-14 กลีบ ผนังกลีบมีสีออกชมพู กุ้งสีชมพูเรื่อๆ กุ้งมีขนาดใหญ่และเบียดกันแน่น มีน้ำมากจึงดูฉ่ำน้ำ รสชาติหวานอมเปรี้ยว

2.1.3 คุณค่าทางโภชนาการของส้มโอ

ส้มโอเป็นผลไม้ที่มีวิตามินและธาตุหลายชนิดช่วยบำรุงร่างกายให้แข็งแรง ส้มโอประกอบไปด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต แคลเซียม ซึ่งช่วยบำรุงกระดูกและฟัน เหล็ก ฟอสฟอรัส วิตามินบี 1 ช่วยในการย่อยอาหาร เสริมสร้างการทำงานของกล้ามเนื้อและหัวใจ วิตามินบี 2 ป้องกันไขมันอุดตันในเส้นเลือด และวิตามินซีที่มีมากจะช่วยในการป้องกันเลือดออกตามไรฟัน และป้องกันโรคหวัดได้ (ดังตารางที่ 2.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 แสดงคุณค่าทางโภชนาการของส้มโอ

คุณค่าทางโภชนาการ (เนื้อส้มโอ 100 กรัม)	**ปริมาณ**
พลังงาน	41 แคลอรี่
โปรตีน	0.5 กรัม
ไขมัน	0.4 กรัม
คาร์โบไฮเดรต	8.8 กรัม
เส้นใยอาหาร	0.7 กรัม
แคลเซียม	21 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	18 มิลลิกรัม
เหล็ก	0.5 มิลลิกรัม
วิตามินเอ	26 หน่วย
วิตามินบี 1	0.07 มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	0.02 มิลลิกรัม
ไนอะซีน	0.4 มิลลิกรัม
วิตามินซี	60 มิลลิกรัม

ที่มา : สัมฤทธิ์ (2538)

2.2 น้ำมันหอมระเหย (essential oil หรือ volatile oil)

น้ำมันหอมระเหยจัดเป็นสารทุติยภูมิที่พบมากในพืชหลายชนิด คุณสมบัติทั่วไปมีกลิ่นเฉพาะตัวระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติ เบากว่าน้ำ พบมากในพืชสมุนไพรหลายชนิดที่เป็นเครื่องเทศ แยกออกมาได้โดยการกลั่น ในน้ำมันอาจมีส่วนผสมของสารเคมีหลายชนิด สรรพคุณทางยามักใช้เป็นยาขับลมและฆ่าเชื้อโรค ตัวอย่างพืชสมุนไพรที่ทำให้น้ำมันหอมระเหย ได้แก่ กระเทียม ขิง ข่า ตะไคร้ มะกรูด ส้ม ไพล สะระแหน่ อบเชย เป็นต้น

น้ำมันหอมระเหย คือ น้ำมันที่พืชสร้างขึ้นและเก็บไว้ในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ดอก ใบผล ลำต้น ตลอดจนเมล็ดซึ่งจะพบแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด คุณสมบัติที่เด่นชัด คือ มีกลิ่นหอมและระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติ น้ำมันหอมระเหยเป็นกลุ่มสารอินทรีย์ กลิ่นดังกล่าวไม่จำเป็นต้องหอมเสมอไป สะสมอยู่ในบริเวณผนังเซลล์จากพืชเป็นผลพลอยได้ที่เกิดขึ้นจากการเจริญเติบโต ซึ่งประกอบด้วย 2 ขบวนการ คือ การเผาผลาญ (catabolism) และการสร้าง (anabolism)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณและคุณภาพน้ำมันหอมระเหยขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ดิน ภูมิอากาศ อุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝน ความสูงจากระดับน้ำทะเล การเก็บเกี่ยว ตลอดจนเทคนิค และวิธีการสกัดและการกลั่น ซึ่งน้ำมันหอมระเหยเป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้น มักมีกลิ่นหอม ระเหยง่าย โดยพืชเหล่านี้จะมีเซลล์พิเศษต่อมหรือท่อ เพื่อสร้างและกักเก็บน้ำมันหอมระเหยซึ่งจะเห็นต่อมน้ำมันได้ชัดในส่วนของใบและเปลือกผลของพืชจำพวกส้ม น้ำมันหอมระเหยพบได้ตามส่วนต่างๆของพืชได้แก่ ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล เมล็ด (จุไรรัตน์, 2548 ; ประเทืองศรี, 2545)

2.2.1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยมีอยู่มากมายหลายร้อยชนิด แต่สามารถแยกเป็นกลุ่มของสารได้ 6 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มแอลกอฮอล์ (alcohol group) กลุ่มอัลดีไฮด์ (aldehyde group) กลุ่มเอสเทอร์ (ester group) กลุ่มคีโตน (ketone group) กลุ่มออกไซด์ (oxide group) กลุ่มฟีนอล (phenol group) และกลุ่มเทอร์ปีน (terpenes group) โดยปกติน้ำหอมระเหยแต่ละชนิดจะมีสารองค์ประกอบทางเคมีตั้งแต่ 50-500 ชนิด องค์ประกอบทางเคมีแต่ละชนิดก็จะมีคุณสมบัติแตกต่างกันออกไปประกอบด้วยสารสำคัญ 2 กลุ่ม คือ เทอร์ปีน (terpenes) และ ฟีนีลโพรปานอยด์ (phenyl pro- panoids) สารเทอร์ปีนที่พบมากในน้ำมันหอมระเหย เป็นพวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ได้แก่ โมโนเทอร์ปีน (monoterpenes, C-10) เช่น limonene, citral, geraniol, menthol, camphor และเซสควิเทอปีน (sesquiterpenes, C-15) เช่น b-bisabolene, b-caryophyllene ฟีนีลโพรปานอยด์ (C6-C1) พบได้น้อยกว่าสารกลุ่มเทอร์ปีน ได้แก่ eugenol, anethole (สิริลักษณ์, 2548)

กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยในส่วนของดอกไม้ มีบทบาทสำคัญในการช่วยดึงดูดแมลงมาผสมเกสร ในสารหอมระเหยในส่วนอื่นๆของพืชเชื่อว่ามีผลในการป้องกันตนเองจากศัตรูภายนอกที่จะมาทำลายพืชนั้นๆเช่นแมลง เชื้อแบคทีเรียและเชื้อราที่ก่อโรค ความแตกต่างระหว่างน้ำมันพืชและสัตว์ กับน้ำมันหอมระเหยก็คือ

น้ำมันทั่วไป หรือ น้ำมันพื้นฐาน (fixed oil) เป็น Primaty metabolite พืชใช้เป็นอาหารในการเจริญเติบโต แต่น้ำมันหอมระเหย (essential oil) เป็น Secondary metabolite พืชจะใช้เพื่อการดำรงชีวิตให้มีอายุยืนยาว และเจริญพันธุ์

น้ำมัน fixed oil มีจุดเดือด ประมาณ 100 องศาเซลเซียส ส่วนน้ำมันหอมระเหย ส่วนใหญ่มีจุดเดือดอยู่ที่อุณหภูมิห้อง (กองส่งเสริมพืชสวน, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหย

ในสมัยโบราณจะนิยมนำดอกไม้หอมมาแช่น้ำทิ้งไว้ และนำน้ำที่มีกลิ่นหอมนั้นมาดมหรืออาบ ต่อมาได้มีการพัฒนาวิธีการสกัดกลิ่นหอม เพื่อให้ได้กลิ่นหอมหรือน้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพ และมีปริมาณสูงสุด ซึ่งวิธีการสกัดมีหลายวิธี การที่จะเลือกใช้วิธีใดนั้นต้องพิจารณาลักษณะของพืชที่จะนำมาสกัดด้วย ซึ่งการกลั่นเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการสกัดน้ำมันหอมระเหยในปัจจุบัน หลักการของการกลั่น คือ ใช้น้ำร้อนหรือไอน้ำเข้าไปแยกน้ำมันหอมระเหยออกมาจากพืช โดยการแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อพืช ความร้อนจะทำให้สารละลายออกมากลายเป็นไอปนมากับน้ำร้อนหรือไอน้ำ อย่างไรก็ดีการกลั่นเพื่อให้ได้น้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพดีนั้น ต้องอาศัยเทคนิคและขบวนการทางเคมีและกายภาพหลายอย่างประกอบกันซึ่งวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหย สามารถแบ่งออกได้ดังนี้

1. การกลั่น(distillation)

เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเพราะเป็นวิธีที่ประหยัด และสูญเสียน้ำมันเพียงเล็กน้อยโดยแบ่งออกได้เป็น3วิธีคือ

1.1 การกลั่นด้วยน้ำ (water distillation and hydro distillation) เป็นวิธีที่ง่ายที่สุดของการกลั่นน้ำมันหอมระเหย การกลั่นโดยวิธีนี้ พื้นที่กลั่นต้องจุ่มในน้ำเดือดทั้งหมด อาจพบพืชบางชนิดเบา หรือให้ท่อไอน้ำผ่านการกลั่น น้ำมันหอมระเหยนี้ใช้กับของที่ติดกันง่ายๆ เช่น ใบไม้บางๆ กลีบดอกไม้อ่อนๆ

ข้อควรระวังในการกลั่นโดยวิธีนี้คือ พืชจะได้รับความร้อนไม่สม่ำเสมอ ตรงกลางมักจะได้ความร้อนมากกว่าด้านข้าง จะมีปัญหาในการไหม้ของตัวอย่าง กลิ่นไหม้จะปนมากับน้ำมันหอมระเหยและมีสารไม่พึงประสงค์ติดมาในน้ำมันหอมระเหยได้ วิธีแก้ไข คือ ใช้ไอน้ำหรืออาจใช้ closed steam coil จุ่มในหม้อต้ม แต่การใช้ steam coil นี้ไม่เหมาะกับดอกไม้บางชนิดเพราะเมื่อกลีบดอกไม้ถูก steam coil จะหดกลายเป็น glutinous mass จึงต้องใช้วิธีใส่ลงไปในน้ำ กลีบดอกไม้จะสามารถหมุนเวียนไปอย่างอิสระใน การกลั่น เปลือกไม้ก็เช่นกัน ถ้าใช้วิธีกลั่นด้วยน้ำ น้ำจะซึมเข้าไปและนำกลิ่นออกมา หรือกลิ่นจะแพร่กระจายออกจากเปลือกไม้ได้ง่ายขึ้น ดังนั้นการเลือกใช้วิธีการกลั่นจึงขึ้นกับชนิดของพืชที่นำมากลั่นด้วย

1.2 การกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (water and steam distillation) การกลั่นโดยวิธีนี้ใช้ตะแกรงรองของที่จะกลั่นให้เหนือระดับน้ำในหม้อกลั่น ต้มให้เดือด ไอน้ำจะลอยตัวขึ้นไปผ่านพืชหรือตัวอย่างที่จะกลั่นส่วนน้ำจะไม่ถูกกับตัวอย่างเลย ไอน้ำจากน้ำเดือดเป็นไอน้ำที่อิ่มตัว หรือเรียกว่า ไอเปียก ไม่ร้อนจัด เป็นการกลั่นที่สะดวกที่สุด คุณภาพของน้ำมันออกมาดีกว่าวิธีแรก การกลั่นแบบนี้ใช้กันอย่างกว้างขวางในการผลิตน้ำมันหอมระเหยทางการค้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 การกลั่นด้วยไอน้ำ (direct steam distillation) วิธีนี้วางของอยู่บนตะแกรงในหม้อกลั่น ซึ่งไม่มีน้ำอยู่เลย ไอน้ำภายนอกที่อาจจะเป็นไอน้ำเปียกหรือไอร้อนจัดแต่ความดันสูงกว่าบรรยากาศส่งไปตามท่อใต้ตะแกรงให้ไอผ่านขึ้นไปถูกกับของบนตะแกรง ไอน้ำต้องมีปริมาณเพียงพอที่จะช่วยให้น้ำมันแพร่ระเหยออกมาจากตัวอย่าง ตัวอย่างบางชนิดอาจใช้ไอร้อนได้ แต่บางชนิดก็ใช้ไอเปียก น้ำมันจึงจะถูกปล่อยออกมา

ข้อดีของการกลั่นวิธีนี้ คือ สามารถกลั่นได้อย่างรวดเร็ว เมื่อเอาพืชใส่หม้อกลั่นไม่ต้องเสียเวลารอให้ร้อนปล่อยไอร้อนเข้าไปได้เลย ปริมาณของสารที่นำเข้ากลั่นก็ได้มาก ปริมาณทำให้ได้น้ำมันหอมระเหยมาก

การกลั่นทั้ง 3 วิธี ผู้ปฏิบัติควรพิจารณาด้วยว่า การแพร่กระจายของน้ำมันหอมระเหยและน้ำร้อนผ่านเยื่อบางๆ ของพืช การไฮโดรไลซ์สาร องค์ประกอบต่างๆ เนื่องจากสัมผัสกับน้ำตลอดเวลา ตลอดจนการสลายตัวของสารในน้ำมันหอมระเหย อันเนื่องมาจากความร้อนถึงแม้ว่าก่อนนำพืชมากลั่นจะต้องหั่นหรือทำให้เซลล์แตกก่อน เพื่อให้ได้น้ำมันหอมระเหยออกมาจากเซลล์ได้ง่าย แต่ถึงกระนั้นก็ยังมีน้ำมันหอมระเหยบางส่วนที่อยู่ที่ผิวและถูกทำให้กลายเป็นไออย่างรวดเร็วด้วยไอน้ำ น้ำมันส่วนที่เหลือภายในจะออกมาสู่ผิวได้ โดยการซึมผ่านผนังบางๆของพืช และจะดำเนินไปได้ดีที่อุณหภูมิสูง สารประกอบพวกเอสเทอร์จะถูกไฮโดรไลซ์ให้เป็นกรด และแอลกอฮอล์ได้ง่าย ดังนั้นเพื่อให้ได้น้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพดีที่สุดควรกลั่นที่อุณหภูมิต่ำสุดเท่าที่จะทำได้ หากได้น้ำมันน้อยควรใช้อุณหภูมิสูงขึ้นใช้เวลาให้สั้นที่สุดการกลั่นจะต้องพิจารณาให้รอบคอบวัดอุณหภูมิและเวลาให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมที่สุด ในการกลั่นน้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 วิธีนี้ สามารถทำเองได้อุปกรณ์ที่สำคัญสำหรับใช้กลั่นมี 3 อย่าง คือ หม้อกลั่น (still) เครื่องควบแน่น (condenser) และภาชนะรองรับ (receiver) การกลั่นด้วยไอน้ำจะต้องมีหม้อต้มน้ำ (boiler) สำหรับทำไอน้ำเพิ่มอีกอย่างหนึ่ง

หม้อกลั่น (still) น้ำหรือไอน้ำ จะสัมผัสกับพืชในภาชนะ ซึ่งมีรูปร่างที่ง่ายที่สุดเป็นถังทรงกระบอก ทำด้วยเหล็กหรือทองแดง เส้นผ่าศูนย์กลางเท่าหรือน้อยกว่าความสูงเล็กน้อย มีฝาเปิด-ปิดได้ ด้านบนมีท่อต่อสายรัดให้ไอน้ำพาน้ำมันหอมระเหยไปสู่เครื่องควบแน่น ถ้าเป็นการกลั่นแบบใช้น้ำผสมไอน้ำ ต้องมีตะแกรงวางตัวอย่างที่จะกลั่นให้สูงกว่าก้นหม้อกลั่น ส่วนการกลั่นด้วยไอน้ำ น้ำจะถูกฉีดเข้าไปใต้ตะแกรงนั้น ก้นหม้อกลั่นจะต้องมีท่อก๊อกระบายน้ำที่กลั่นตัวลงหม้อกลั่น และฝาควรมีฉนวนหุ้มกันความร้อนสูญหาย

เครื่องควบแน่น (condenser) ส่วนผสมของไอน้ำและน้ำมันหอมระเหยที่ออกมาจากหม้อกลั่น จะถูกส่งผ่านไปยังเครื่องควบแน่น ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยนไอน้ำและน้ำมันหอมระเหยให้เป็นของเหลว ลักษณะเป็น coil ม้วนอยู่ใต้ถังที่มีน้ำเย็นผ่านจากด้านล่าง สวนทางกับไอน้ำ และน้ำมันหอมระเหยที่นิยมอีกแบบหนึ่ง คือ ให้ไอน้ำและน้ำมันหอมระเหยผ่านในท่อ (tube) ให้น้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

เย็นไหลเวียนรอบๆ tube เครื่องควบแน่นควรมีขนาดใหญ่พอให้ไอกลั่นตัวเร็ว เพื่อจะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพ ถ้านานไปจะทำให้เกิดไฮโดรไลซ์ของเอสเทอร์ วัสดุที่เป็น coil หรือ tube ควรใช้ทองแดงผสมดีบุกที่รองรับน้ำหรือน้ำมันหอมระเหย (receiver) น้ำมีปริมาณมากกว่าน้ำมันจึงต้องมีการไขน้ำทิ้งตลอดเวลา ส่วนนี้จึงทำหน้าที่แยกน้ำและน้ำมันหอมระเหยถ้าน้ำมันเบากว่าน้ำ น้ำมันก็จะอยู่ที่ส่วนบน ไขน้ำด้านล่างออกถ้าน้ำมันหนักกว่าน้ำ น้ำมันจะอยู่ด้านล่างก็ไขน้ำด้านบนออก เครื่องมือในห้องปฏิบัติการมักเป็นแก้วมองเห็นได้ง่าย ปริมาณน้อยกว่า 10 ลิตร แต่ถ้ามากกว่า 10 ลิตร ควรเป็นทองแดงผสมดีบุกไม่ควรใช้ตะกั่ว เพราะตะกั่วจะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันเกิดเป็นเกลือที่เป็นพิษ การกลั่นน้ำมันหอมระเหยไม่ควรใช้สายยางต่อ เพราะสายยางจะละลายไปติดน้ำมันหอมทำให้กลิ่นผิดไปจากความจริง หากน้ำมันหอมระเหยไม่ค่อยแยกจากกันต้องใช้กรวยยาวๆ รองรับ distillate ปลายกรวยงอขึ้น การไหลของ distillate จะไม่ไปรบกวนชั้นของน้ำมันและหยดน้ำมันจะลอยขึ้นช้าๆ ไปอยู่ในชั้นของน้ำมัน น้ำมันควรแยกออกจากน้ำให้เร็วที่สุดเก็บไว้ในภาชนะสุญญากาศที่อากาศเย็น

การกลั่นดังกล่าวแม้จะเป็นวิธีที่ใช้กันมาก แต่มีข้อเสียหลายประการอันเนื่องมาจากความร้อนทำให้ปฏิกิริยาสลายตัวต่างๆเกิดขึ้นกลิ่นที่ได้อาจผิดเพี้ยนไปจากธรรมชาติ สารประกอบบางตัวในน้ำมันหอมระเหยที่ละลายได้ดีมีจุดเดือดสูงจะไม่ถูกพามาโดยไอน้ำ ดังนั้นน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นอาจไม่ใช่ที่เกิดในธรรมชาติเสมอไป โดยเฉพาะน้ำมันหอมระเหยจากดอกไม้ทั้งหลายซึ่งเสียได้ง่าย เช่น มะลิ ซ่อนกลิ่น ไวโอเลต ดอกพุด ไฮยาซิน เป็นต้น เมื่อเวลากลั่นจะไม่ได้น้ำมันหรือน้ำมันที่ได้มีปริมาณน้อยมากและคุณภาพไม่ดี การใช้วิธีกลั่นจึงไม่เหมาะสมต้องใช้วิธีอื่นที่ทำให้ได้น้ำมันหอมระเหยใกล้เคียงที่เกิดในธรรมชาติมากที่สุด

2. การสกัดด้วยน้ำมันสัตว์ (extraction by animal fat)

ใช้กับน้ำมันหอมระเหยที่ระเหยได้ง่ายเมื่อใช้วิธีกลั่นด้วยไอน้ำ วิธีนี้จะใช้เวลานานเพราะต้องแช่พืชไว้ในน้ำมันหลายวัน ซึ่งน้ำมันจะช่วยดูดเอากลิ่นหอมของน้ำมันหอมระเหยออกมา วิธีนี้ใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกมะลิ ดอกกุหลาบ เป็นต้น

3. การสกัดโดยใช้สารละลาย (solvent extraction)

วิธีนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้นสูง แต่คุณภาพไม่ดีเท่าการกลั่นเพราะหลังจากการสกัดจะได้สารอื่นปนออกมาด้วย การสกัดแบบนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยที่เรียกว่า absolute oil วิธีนี้ใช้กับพืชใช้กับพืชทนความร้อนสูงไม่ได้ เช่น มะลิ และที่สำคัญคือ หลังจากการสกัดต้องทำการระเหยสารเคมีที่ใช้เป็นตัวสกัดออกให้หมด สารเคมีที่นิยมใช้เป็นตัวสกัดคือ แอลกอฮอล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
104448

3.1 การสกัดโดยใช้สารละลาย (solvent extraction) เป็นการสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย เช่น เฮกเซน เบนซีน หรือ ปิโตรเลี่ยมอีเทอร์ สกัดเอาน้ำมันหอมระเหยออกจากพืช แล้วจึงทำการสกัดเอาน้ำมันหอมระเหยออกมาอีกทีหนึ่ง วิธีนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยออกมาปริมาณมาก มักเป็นวิธีที่ใช้ในโรงงานเพราะต้องลงทุนสูง น้ำมันหอมระเหย concrete เมื่อไปทำให้บริสุทธิ์จะเรียกว่า absulute

3.2 การสกัดโดยคาร์บอนไดออกไซด์เหลวภาคใต้ความดันสูง (hypercritical carbon dioxide) เป็นวิธีการสกัดที่ใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้ความดันสูง 200 เท่า ของความดันบรรยากาศที่ อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ซึ่งจะสภาพกึ่งเหลวกึ่งก๊าซ มีคุณสมบัติในการละลายสูง สามารถสกัดน้ำมันหอมระเหยออกมาได้มาก ข้อดีอย่างหนึ่งคือ ไม่ใช้ความร้อน สารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจึงไม่สลายตัว คงสภาพเหมือนสภาวะธรรมชาติเป็นวิธีที่ปัจจุบันนิยมใช้มาก เพราะจะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีกลิ่นหอมมาก มีความบริสุทธิ์สูงแต่วิธีนี้จะมีต้นทุนการผลิตที่สูง ซึ่งการสกัดสามารถทำได้โดยทำการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกทำให้เป็นของเหลวที่ความดันสูง

4. การคั้นหรือบีบ

ทำให้น้ำมันที่อยู่ในเปลือกของผลไม้ เช่น เปลือกพืชตระกูลส้ม เช่น มะนาว ส้ม มะกรูด น้ำมันหอมระเหยจะถูกสะสมอยู่ในต่อมใต้ผิวของเปลือก ซึ่งจะแตกออกได้ง่ายเมื่อถูกบีบ และสารสำคัญมักสลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกความร้อน โดยทำการบีบโดยใช้เครื่องบีบออกมา แต่น้ำมันหอมระเหยที่ได้จะมีปริมาณน้อยและไม่ค่อยบริสุทธิ์

5. การสกัดโดยใช้ไขมัน (enfleurage)

การสกัดโดยใช้ไขมันเป็นวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมมักใช้กับดอกไม้กลีบบาง เช่น มะลิ ซ่อนกลิ่น โดยจะใช้ไขมันประเภทน้ำมันหมูเกลี่ยลงบนถาดไม้ แล้วนำดอกไม้มาเกลี่ยทับเป็นชั้นบางๆ จนเต็มถาด ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วเปลี่ยนดอกไม้ชุดใหม่ทำซ้ำประมาณ 7-10 ครั้ง ไขมันจะดูดซับสารหอมไว้เรียกไขมันที่ดูดซับ สารหอมนี้ว่า ปอมเมด (pomade) หลังจากนั้นใช้เอทานอลละลายสารหอมออกจากไขมัน นำไประเหยไล่ตัวละลายออกที่อุณหภูมิและความกดดันต่ำ จะได้หัวน้ำหอมชนิด concrete เมื่อแยกส่วนที่เป็นไขมันออกโดยการนำมาละลายเอทานอลแล้ว แช่เย็นเพื่อแยกส่วนที่เป็นไขออก หลังจากระเหยไล่ตัวละลายออกจะได้หัวน้ำหอมชนิด absolute ซึ่งจัดเป็นหัวน้ำหอมชนิดดีและราคาแพงที่สุด

5.1 การแช่ในไขมันเย็น (enfleurage) เป็นวิธีที่เก่าแก่ที่ใช้สกัดน้ำมันหอมระเหยในอดีต มักใช้กับดอกไม้ ซึ่งมักมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยน้อย ไม่สามารถสกัดได้หรือสกัดได้ยากด้วยวิธีการกลั่น เช่น มะลิ หรือซ่อนกลิ่น วิธีการนี้จะนำดอกไม้ หรือกลีบดอกไม้สดที่ต้องการมาวางบนไขมันเย็น (ไขมันวัวหรือหมู) ที่ไม่มีกลิ่นที่ถูกแผ่เป็นแผ่นฟิล์มบนกระจก ตั้งทิ้งไว้นานหลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงหรือหลายวัน ไขมันจะดูดซับน้ำมันหอมระเหยมาสะสมไว้ จากนั้นก็เปลี่ยนเอาดอกไม้ใหม่มาเปลี่ยนวางใหม่ ทำเช่นนี้หลายครั้งจนมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากพอหรืออิ่มตัว ไขมันที่ดูดซับน้ำมันหอมระเหยไว้นี้เรียกว่า ปอมเมดแล้วจึงนำไปสกัดอีกทีด้วยแอลกอฮอล์ เพื่อแยกเอาน้ำมันหอมระเหยออกจากน้ำมัน ซึ่งน้ำมันหอมระเหยสุดท้ายที่แยกได้จะถูกเรียกว่า absolute ซึ่งข้อระวังคือ ไขมันที่นำมาใช้ต้องสะอาด ปราศจากกลิ่น และมีความแข็งพอเหมาะ หากแห้งไปจะดูดซับกลิ่นได้ไม่ดี

5.2 การสกัดด้วยไขมันร้อน (maceration) เป็นวิธีการสกัดที่ใช้กับดอกไม้กลิ่นหอมไม่นานเมื่อถูกเด็ดออกจากต้นแล้วจึงต้องใช้ความร้อนเข้าช่วยกระตุ้นให้ได้น้ำมันหอมระเหย ทำโดยการนำดอกไม้ไปแช่ในน้ำมันพืชที่เตรียมให้ร้อนประมาณ 80 องศาเซลเซียส แช่ดอกไม้ เช่น กุหลาบ ดอกส้ม ลงไปประมาณ 30 นาที แล้วทำให้เย็นจากนั้นอุ่นให้ร้อนอีกครั้ง กรองดอกไม้ออก ล้างไขมันที่ติดอยู่ด้วยน้ำอุ่น หรือใช้ผ้ากรองห่อ ราดด้วยน้ำร้อนแล้วบีบ ชั้นของน้ำและไขมันจะแยกออกจากกัน น้ำมันพืชที่มีน้ำมันหอมระเหยนี้เรียกว่า ปอมเมด แล้วจึงไปสกัดอีกครั้งด้วยแอลกอฮอล์ ก็จะได้น้ำมันหอมระเหยออกมาเช่นเดียวกับการสกัดด้วยไขมันเย็น ซึ่งน้ำมันหอมระเหยสุดท้ายที่แยกได้จะถูกเรียกว่า absolute (คมสัน, 2549 ; วิรดี, 2543 ; สิริลักษณ์, 2548 ; สุชาด, 2548)

ตัวอย่างสมุนไพรที่ใช้ในการกลั่นน้ำมันหอมระเหย

ไพล เหมาะสมกับการกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (water and steam distillation) ใช้เหง้าในการกลั่น ก่อนจะทำการกลั่นควรมีการหั่นบางๆ เพื่อให้ไอน้ำผ่านได้ง่ายและได้น้ำมันที่มีคุณภาพและปริมาณมาก เมื่อกลั่นแล้วจะได้เป็นของเหลว ไม่มีสี หรือมีสีเหลืองอ่อน ปราศจากตะกอนและสารแขวนลอย ไม่มีการแยกชั้นของน้ำ มีกลิ่นเฉพาะตัวของไพล

ขมิ้น เหมาะสมกับการกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (water and steam distillation) ใช้ส่วนเหง้าในการกลั่น ก่อนจะทำการกลั่นควรมีการหั่นบางๆ เพื่อให้ไอน้ำผ่านได้ง่ายและได้น้ำมันที่มีคุณภาพและปริมาณมาก เมื่อกลั่นแล้วจะได้เป็นของเหลวใส มีสีเหลืองอ่อนปราศจากตะกอนและสารแขวนลอย ไม่มีการแยกชั้นของน้ำ มีกลิ่นเฉพาะตัวของขมิ้น

ตะไคร้หอม เหมาะสมกับการกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (water and steam distillation) ใช้ส่วนใบของตะไคร้หอมในการกลั่น เมื่อกลั่นแล้วจะได้ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ปราศจากตะกอนและแยกชั้นของน้ำ มีกลิ่นเฉพาะตัวของตะไคร้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การจำแนกสารหอม (classification of aromatic substances)

พิมพร (2545) และ สิริลักษณ์ (2548) ได้ทำการจำแนกสารหอมที่อยู่ในพืชออกเป็น

2.3.1. จำแนกตามแหล่งที่มา

1.1 Isolates คือ สารหอมที่ได้จากการนำเอา Essential oil หรือสิ่งหอมจากธรรมชาติอื่นๆ ที่เราทราบคุณสมบัติทางเคมี ฟิสิกส์ มาผ่านขบวนการแยกเพื่อได้สารหอมที่บริสุทธิ์เดี่ยว ๆ ชนิดเดียวออกมา เช่น

Eugenol	จาก	น้ำมันใบการพลู
Eucalyptol	จาก	น้ำมันยูคาลิปตัส
Cedrol	จาก	น้ำมัน Cedar wood
Citral	จาก	น้ำมันตะไคร้
Menthol	จาก	น้ำมัน Peppermint

1.2 Semi Synthetic ได้จากการนำ isolates มาสังเคราะห์ผ่านขบวนการทางเคมีอีกทีหนึ่ง เพื่อสร้างสารหอมชนิดใหม่ขึ้นมา เช่น

Carvone	จาก	Limonene
Cedryl acetate	จาก	Cedrol
Hydroxy citronellal	จาก	Citronellal
Terpineol	จาก	Pinene

1.3 Synthetic ได้จากการสังเคราะห์สารอินทรีย์พื้นฐาน เช่น Coal หรือ Petroleum ผ่านขบวนการทางเคมี เพื่อให้ได้สารที่มีโครงสร้างเหมือนกับสารที่พบในธรรมชาติหรือสารตัวใหม่ที่ไม่มีในสูตรโครงสร้างเหมือนสารหอม จากธรรมชาติแต่ให้แนวกลิ่นเหมือนกัน เช่น

Benzyl alcohol	Phenyl ethyl alcohol	Eugenol	Menthol
Anethol	Terpineol	Borneol	Isoeugenol
Gerniol	Thymol	Octanol	
Citronellol	Farnesol	Decanol	
Nerol	Linalool	Safrol	

2.3.2 จำแนกโดยแบ่งตามโครงสร้างทางเคมี แบ่งออกเป็น

1. Alcoholic group พวกนี้จะมีหมู่ –OH อยู่ในโครงสร้างโมเลกุล การเรียกชื่อมักจะลงท้ายด้วย –ol ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารกลุ่มนี้ได้แก่ ต้านไวรัส ต้านแบคทีเรีย กระตุ้นระบบประสาท สารในกลุ่มนี้ไม่พบว่าทำให้เกิดการระคายเคืองผิวหนัง เช่น

Benzyl alcohol	Phenyl ethyl alcohol	eugenol	menthol
Anethol	Terpineol	Borneol	Isoeugenol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gerniol	Thymol	Octanol
Citronellol	Farnesol	Decanol
Nerol	Linalool	Safrol

2. Aldehyde group พวกนี้จะมีหมู่ R-C-H อยู่ในโครงสร้างโมเลกุล การเรียกชื่อมักจะลงท้ายด้วย –al หรือเรียกชื่อลงท้ายด้วยแอลดีไฮด์ ตัวอย่างเช่น cinnamic aldehyde ส่วนใหญ่สารในกลุ่มนี้นิยมใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอมเนื่องจากเป็นสารที่มีกลิ่นหอม ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารกลุ่มนี้ได้แก่ ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ช่วยผ่อนคลาย ลดความดันเลือด ขยายหลอดเลือด ลดไข้ ข้อควรระวังคืออาจทำให้เกิดการระคายเคืองผิวหนัง และการแพ้ที่ผิวหนัง เช่น

Citral	Octanal	Cuminaldehyde
Citronellal	Furfural	Anisaldehyde
Decanal	Nonanal	Cinnaldehyde

3. Ketonic group พวกนี้จะมีหมู่ R-C-R อยู่ในโครงสร้างโมเลกุล การเรียกชื่อมักจะลงท้ายด้วย –one ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารกลุ่มนี้ได้แก่ กระตุ้นระบบประสาท ละลายเสมหะ ขับเสมหะ ต้านอักเสบ ช่วยย่อยอาหาร ระงับปวด สงบประสาท และช่วยกันเลือดเป็นลิ่ม (anticoagulant) สารในกลุ่มนี้ต้องระวังการใช้ในสตรีมีครรภ์ เช่น

Thujone	Camphor	Jasmone	Diacetyl
Carvone	Coumarin	Cectophenone	

4. Esteric group สารกลุ่มนี้จะมีสูตรโครงสร้างเป็น R-C-O-R เป็นสารเกิดจากการรวมตัวกันระหว่างกรดกับแอลกอฮอล์ได้สารที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น COOR และเรียกชื่อลงท้ายด้วย –ate ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารกลุ่มนี้ได้แก่ ต้านอักเสบ ต้านเชื้อรา แก้เกร็ง ช่วยผ่อนคลาย และบำรุงกำลังตัวอย่างเช่น

Benzyl acetate	Geranyl acetate	Methyl cinnamate
Benzyl benzoate	Isoamyl acetate	Methyl acetate
Benzyl acetate	Iinlyl acetate	Methyl anthramilate

5. Phenilic group (Phenolic compounds) เป็นสารที่มีโครงสร้างพื้นฐานของ aromatic ring ที่มีกลุ่ม –OH หรือเรียกว่า phenyl ring และเรียกชื่อลงท้ายด้วย –ol ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารกลุ่มนี้คล้ายกับกลุ่มแอลกอฮอล์ ได้แก่ ระงับเชื้อ ต้านแบคทีเรีย กระตุ้นระบบประสาทและระบบภูมิคุ้มกัน แต่สารในกลุ่มนี้มีพิษต่อตับและอาจทำให้เกิดการระคายเคืองผิวหนัง ดังนั้นควรใช้ในความเข้มข้นต่ำและระยะสั้นตัวอย่างเช่น

Carvacrol	Chavicol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบฟีนอลหลายชนิดอยู่ในรูปของฟีนอลอีเธอร์ (phenol ethers) ซึ่งจะมีคุณสมบัติในการแก้เกร็ง แก้ซึมเศร้า (antidepressant) สงบประสาท ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้คือ

Methyl chavicol Eugenol Methyl ester

6. สารประกอบอื่นๆ ได้แก่ สารที่ออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น 1,8-cineole หรือที่รู้จักกันในชื่อว่า eucalyptol ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพคือ ละลายเสมหะ ขับเสมหะ และอาจทำให้เกิดการระคายเคืองผิวหนังอื่น ๆ เช่น

Hydrocarbon : Myrcene, Limonene, Camphene, Dipentene, Cymene, β - Caryophyllene, Terpinene

Oxide : 1, 8 – cineol (Eucalyptol)

2.3.3 จำแนกสูตรโครงสร้างพื้นฐานของสารหอมที่เหมือนกัน คือ Isoperne $CH_2=\overset{\overset{CH_2}{|}}{C}CH-CH_2$ สามารถเรียกสารตามจำนวน C (Carbon) ที่มีอยู่ในโมเลกุลเป็นทวีคูณ

C_5	เรียกว่า	Isoprene
C_{10}	เรียกว่า	Monoterpene (Boiling point ~ 140-108 ^{O}C) เช่น Geraniol, Linalool, Myrcene, Cineol,Terpineol,Limonene, Menthol, Carvone,Menthone,pinene,Thujone เป็นต้น
C_{15}	เรียกว่า	Sesquiterpene เช่น Farnesol, Nerolidol, Bissbolene, β - caryphyllene
C_{20}	เรียกว่า	Diterpene เช่น resin
C_{30}	เรียกว่า	Triterpene เช่น Squalene, Sterol, Steroids, Saponins เป็นต้น
C_{40}	เรียกว่า	Carotenoid เช่น β - Carotene
C_n	เรียกว่า	Polyisoprene เช่น rubber

ที่มา : Lawless (1992)

จากที่ทราบแล้วว่า Fragrance (Flavour) เกิดจากสาร Aromatic Substance ที่มีอยู่ใน Fragrance เหล่านั้นรวมกัน บางชนิดประกอบด้วยสารหอมหลายตัว บางชนิดประกอบด้วยสารหอมไม่กี่ตัวรวมกันในปริมาณที่เหมาะสม เกิดแนวกลิ่นออกมา ซึ่งสามารถจำแนกได้หลายแบบขึ้นอยู่กับจุดประสงค์ในการจำแนก เช่น Herbal Notes, Spicy Notes, Floral Notes, Green Notes เป็นต้น แต่ในที่นี้จะไม่กล่าวถึง การจัดแนวกลิ่นอันเนื่องมาจากมีผู้รายงานมากแล้วแต่จะรายงานให้ทราบถึงสาร Aromatic Substances ที่เป็นองค์ประกอบหลักของ Essential Oil หรือ Fragrances บางชนิด (คมสัน, 2546 ; พิมพร, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 แบคทีเรียก่อโรคและทำให้อาหารเน่าเสีย (นงลักษณ์ และปรีชา, 2544 ; กนกรัตน์, 2541)

2.4.1 *Escherichia coli*

E. coli เป็นเซลล์รูปท่อน แกรมลบ ไม่มีสปอร์ อาจเคลื่อนที่ได้หรือเคลื่อนที่ไม่ได้ บางสายพันธุ์ที่แยกได้จากนอกลำไส้สร้างแคปซูลได้ดังแสดงในรูปที่ 2.6 ให้โคโลนีเรียบ ไม่มีสี มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตรในเวลา 18 ชั่วโมง แต่ถ้าเลี้ยงในอาหารที่แสดงความแตกต่าง (differential media) เช่น Mac Conkey agar โคโลนีมีสีแดงชมพู ขนาดใหญ่ เนื่องจากเฟอร์เมนต์แล็กโทส หรือเลี้ยงในอาหาร Eosin methylene blue agar (EMB) หรือ Endo agar โคโลนีสีมันวาวคล้ายโลหะ มีบางสายพันธุ์เฟอร์เมนต์แล็กโตสได้ช้า ถ้าเลี้ยงบนอาหารผสมเลือดบางสายพันธุ์เกิดการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบบีตาฮีโมไลซิสเชื้อนี้เจริญได้ในอุณหภูมิช่วงกว้าง บางสายพันธุ์ทนความร้อน 60 องศาเซลเซียส 15 นาที หรือ 55 องศาเซลเซียส 60 นาที

รูปที่ 2.6 ลักษณะเชื้อ *Escherichia coli*

ที่มา : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Escherichia_coli_Gram.jpg

ลักษณะการก่อโรค

การที่ *E. coli* ทำให้เกิดโรคได้เนื่องจากมีไวรูเลนซ์แฟกเตอร์ (virulence factors) หลายชนิดที่ไม่พบใน *E. coli* ที่เป็นเชื้อประจำถิ่นอย่างน้อยที่สุดจะต้องมีปัจจัยอย่างใดอย่างหนึ่งคือ

1. มีความสามารถที่จะเกาะติดกับเซลล์บางชนิดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม

2. ความสามารถที่จะบุกรุกและเข้าไปเจริญในเซลล์ของเยื่อบุผิวลำไส้

3. ความสามารถในการสร้างเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ที่ทำให้ร่างกายสูญเสียน้ำและของเหลว จึงเกิดอาการท้องร่วง การสร้างไซโททอกซิน (cytotoxin) ที่ไปขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน จึงทำให้เกิดการตกเลือดที่ลำไส้ (hemorrhagic colitis)

4. การมีแคปซูลที่ป้องกันไม่ให้ถูกเม็ดเลือดขาวจับกิน

ไวรูเลนซ์แฟกเตอร์ที่ทำให้เกิดโรคร่วงนี้เกิดจากยีนในพลาสมิด จึงสามารถถ่ายทอดยีนนี้ไปยัง *E.coli* สายพันธุ์อื่นโดยวิธีทรานดักชัน (transduction) หรือวิธีรีคอมบิเนชัน (recombination)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทำให้เกิดโรค

E. coli สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรค อาจทำให้เกิดโรคดังนี้คือ ท้องร่วง (gastoenteritis) ทางเดินปัสสาวะอักเสบ (urinary tract infections) โลหิตเป็นพิษ (septicemia) และเยื้อหุ้มสมองอักเสบ (necnate meningitis) ท้องร่วง (Gastoenteritis) เชื้อ *E. coli* ที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงในคนและสัตว์ คือ

1. Entreotoxigenic *E.coli* (ETEC) ทำให้เกิดโรคท้องร่วงในเด็กและผู้ใหญ่ เชื้อจะสร้างเอนเทอโรทอกซินเป็นเอนโซทอกซิอย่างหนึ่ง ทอกซินที่สร้างมี 2 ชนิดคือ

1.1 ทอกซินชนิดไม่ทนความร้อน (heat-labile enterotoxin,LT)

ทอกซินนี้จะถูกทำลายด้วยความร้อน 65 องศาเซลเซียส ในเวลา 30 นาที การสร้างทอกซินมี พลาสมิด (Ent plasmid) ควบคุม และถ่ายทอดไปยังเซลล์อื่นได้ เอนเทอโรทอกซินมีกลไกการทำงานคล้ายกับ cholera toxin (CT) ของเชื้อ *Vibro cholerae* LT มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 86,000 ดาลตัน ประกอบด้วยเพปไทด์ต่อกันมี 2ส่วนย่อย คือ ส่วนย่อย A และส่วนย่อย B ส่วนย่อย B จะเกาะติดกับ GM1 แกงกลิโอไซด์ที่บรัชบอร์เดอร์ ของเซลล์เยื่อบุลำไส้เล็ก เป็นตัวช่วยให้ส่วนย่อย A เคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ได้ง่ายขึ้น ส่วนย่อย A ประกอบด้วย A_1 (น้ำหนักโมเลกุล 24,000 ดาลตัน) และ A_2 (น้ำหนักโมเลกุล 5,000 ดาลตัน) เชื่อมกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ส่วนย่อย A 1 หน่วยจะจับกับส่วนย่อย B 5 หน่วย ส่วนย่อย A จะกระตุ้นเอมไซม์อะดีนิลไซเคลส หรืออะดินิเลตไซเคลสที่เยื่อบุลำไส้เล็ก ทำให้เปลี่ยน ATP เป็น cyclic adenosine-5'-monophospsate (cAMP) Cyclic AMP ที่เพิ่มขึ้นจะกระตุ้นให้หลั่งน้ำและคลอไรด์ไอออนออกมามากและนาน และยับยั้งการดูดโซเดียมคลอไรด์กลับ ในช่องลำไส้จึงเต็มไปด้วยของเหลว และเคลื่อนที่มากทำให้สูญเสียน้ำและอิเล็กตรอนจากลำไส้ เกิดอาการท้องเดินอยู่หลายวัน LT มีสมบัติเป็นแอนติเจนจึงกระตุ้นการสร้างนิวทรัลไลซิงแอนติบอดี (neutralizing antibody) ในซีรัมในคนที่ติดเชื้อ ETEC

1.2 ทอกซินชนิดทนความร้อน (heat-stable enterotoxin,STa และ STb)

STa มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 1,500-2,000 ดาลตัน ทนความร้อน 100 องศาเซลเซียส 30 นาที และทนเอมไซม์โปรติเอส (protease) ไม่มีสมบัติเป็นแอนติเจน STa จะกระตุ้นการทำงานของเอมไซม์กัวนีเลตไซเคลส (guanylate cyclase) ที่เยื่อบุผิวลำไส้ทำให้เพิ่มการสะสม cyclic guanosine-5'-monophospsate (cGMP) ภายในเซลล์ cGMP เป็นตัวยับยั้งการดูดโซเดียมไอออนและคลอไรด์ไอออนที่บรัชบอร์เดอร์ จึงกระตุ้นของเหลวจากลำไส้

STb เป็นทอกซินที่ทนความร้อนชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดท้องร่วง ในลูกหมู (weaned piglet) แต่ไม่ได้ผลเมื่อทดสอบกับลูกหนู (suckling mice) ยังไม่ทราบกลไกการทำงานของ STb แต่จะไม่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มการสะสมเอนไซม์ อะดีนิวไซเครส หรือกัวนิเลตเครส ในมิวโคซาเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(mucosa cell) ของลำไส้ แต่อาจกระตุ้นการสร้างโพรสตาแกรนดิน (prostaglandin E_2) ทำให้เพิ่มการหลั่งไบคาร์บอเนตไอออน (HCO_3^-)

ระยะฟักตัวของเชื้อ ETEC กินเวลา 1-2 วัน แต่โดยเฉลี่ยกินเวลา 3-4 วัน มีอาการท้องร่วง คลื่นไส้ อาเจียน และถ่ายเหลวเป็นน้ำ โดยทั่วไปมีอาการไม่รุนแรง

ปัจจุบัน ETEC เป็นตัวการทำให้เกิดโรคตั้งแต่อาการคล้ายอหิวาต์และท้องร่วงรุนแรงในเด็กทารก จนถึงท้องร่วงอ่อนในผู้เดินทาง โดยเกิดจากการกินน้ำหรืออาหารที่มีเชื้อปนเปื้อน และจะต้องมีเชื้อ 10^8 CFU/ml จึงทำให้เกิดโรคได้

2. Enteroadherent *E. coli* (EPEC) ทำให้เกิดท้องร่วงรุนแรงในเด็กแรกเกิดและเด็กทารกจนถึง 2 ขวบ ทำให้เกิดโรคในผู้ใหญ่ *E.coli* สายพันธุ์นี้ทำให้เกิดโรคท้องร่วงแบบเป็นน้ำ ไม่มีเลือดปน (watery darrhea) และมีอาการมีไข้ คลื่นไส้ อาเจียน

EPEC ไม่สร้างทอกซินทั้ง LT และ ST และไม่มี colonization factor เหมือน ETEC แต่พบว่ามีไซโททอกซิน คล้ายกับทอกซินที่สังเคราะห์โดย *Shiglla* บางตัว จึงเรียกว่า Shiga-like toxin เชื้อ EPEC จะจับแน่นกับผิวเยื่อบุลำไส้เล็กและทำลายไมโครวิลไล (microvilli) เฉพาะที่จึงอาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า enteroadherent *E. coli* แต่เชื้อนี้จะไม่บุกรุกเข้าเซลล์ ความสามารถของ EPEC ที่จะจับแน่นกับเซลล์ของลำไส้เล็ก เกี่ยวข้องกับพลาสมิดที่มีขนาด 55-65 ล้านดาลตัน พลาสมิดนี้จะบงการการสร้างสารแอดฮีซิน ที่เรียกวา EPEC adhsin (aherence) factor (EAF) การป้องกันโรคที่เกิดจาก EPEC พบว่าไม่มีวัคซีนป้องกัน การรักษาโรคนี้โดยให้นีโอไมซิน หรือเจนตาไมซิน ร่วมกับการให้น้ำเกลือ

3. Enteroinvasve *E. coli* (EIEC) ทำให้เกิดโรคท้องร่วงมีอาการคล้ายบิดที่เกิดจาก *Shigella* ถึงแม้ว่า *Shigella* จะมีความรุนแรงมากกว่า เพราะใช้เชื้อน้อยกว่าในการทำให้เกิดอาการ โรคนี้เกิดได้ทุกวัยทั้งเด็กโตและผู้ใหญ่ เชื้อ EIEC คล้ายกับ *Shigella* ทั้งกลไกการเกิดโรคและอาการของโรค นอกจากนี้เชื้อยังเคลื่อนที่เหมือน *Shigella* และให้ผลกับแล็กโตสเป็นลบทำปฏิกิริยาข้าม กับ โอแอนติเจนของ *Shigella*

ปัจจัยที่ทำให้เชื้อมีความรุนแรงอยู่ที่ความสามารถในการบุกรุกเข้าเยื่อบุลำไส้ นอกจากนี้ยังสร้าง Shiga-like toxin-l (SLT-l) และ shiga-like toxin – ll (SLT-ll) อย่างไรก็ตามริมาณทอกซินที่สร้างก็น้อยกว่าที่สร้างโดย *Shigella* หรือ EHEC

EIEC มีพลาสมิดขนาดใหญ่ อาจทำหน้าที่เกี่ยวกับการจับเชื้อกับเซลล์โฮสต์ ทำให้มันบุกรุกเข้าเยื่อบุผิวลำไส้คน เมื่อบุกรุกแล้วจะเพิ่มจำนวนในเซลล์เยื่อบุผิวของไอเลียม (ลำไส้เล็ก) และโคลอน (ลำไส้ใหญ่) และเข้าทำลายเซลล์ทำให้เกิดเป็นแผลจึงมีอาการปวดท้องมีหนองและเลือดออกในอุจจาระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมบัติในการบุกรุกเข้าเนื้อเยื่ออาจทดสอบโดยวิธี Sereny test โดยหยดเชื้อ EIEC เข้าในลูกตาของหนูตะเภา เพื่อดูว่าเกิดกระจกตาและเยื่อตาขาวอักเสบหรือไม่ การรักษาและป้องกัน ปฏิบัติเช่นเดียวกับโรคบิดที่เกิดจาก *Shigella*

4. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) พบครั้งแรกใน ค.ศ. 1982 ในสหรัฐอเมริกา *E. coli* ที่พบคือ *E. coli* O157 ที่พบมากคือ *E. coli* O157: H7 ที่ทำให้เกิดอาการ

1. ท้องร่วง ที่แตกต่างจากโรคบิดที่เกิดจาก *Shigella* และ EIEC คือทำให้เกิดการตกเลือดในลำไส้ มีอาการท้องเสียและปวดท้องอย่างรุนแรง อุจจาระเป็นน้ำ ต่อมามีเลือดปนมากจนถ่ายเป็นเลือด อาเจียน ไม่มีไข้ หรือมีไข้เล็กน้อย ระยะฟักตัว 3-9 วัน โดยทั่วไปมีอาการใน 4 วัน โดยมีอาการมีน้ำสะสม บวมน้ำ ลำไส้คดงอเหมือนลายนิ้วหัวแม่มือ มีเลือดคร่ั่งที่มิวโคซ่า โรคนี้เกิดได้กับทุกวัย แต่ส่วนใหญ่พบในเด็กและหายไปเอง

2. โรค hemolytic uremic syndrome (HUS) ซึ่งได้ในทุกวัยแต่พบมากในทารก และเด็กเป็นสาเหตุไตวายในเด็ก โดยผู้ป่วยจะถ่ายอุจจาระเป็นเลือดด้วย มีอาการอาเจียน เนื่องจากทอกซินทำลาย เอนโดทีเลียลเซลล์ (endrothelial cell) ในหลอดเลือดแดงในไต ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก ต่อมาเกล็ดเลือดลดลงและไตทำงานผิดปกติ

เชื้อนี้ไม่มี LT, ST และไม่บุกรุกเข้าเซลล์เยื่อบุ แต่มีทอกซินที่สามารถทำลายเวอโรเซลล์ ซึ่งเป็นเซลล์ไลน์จากเซลล์ไตลิงชนิดหนึ่ง จึงเรียกทอกซินชนิดว่า เวอโรไซโททอกซิน (Vero cytotoxin) หรือ เวอโรทอกซิน (Verotoxin) ดังนั้นจึงอาจเรียกชื่อ *E. coli* ชนิดนี้ว่า เวอโรไซโททอกซิเจนิก *E. coli* (Verocytotoxigenic *E. coli* หรือ VIEC)

กลไกที่สารพิษมีผลต่อการทำงานของลำไส้นั้นเนื่องจาก “Shiga-like toxin” ประกอบด้วยหน่วยย่อย A 1 ส่วน และหน่วยย่อย B 5 ส่วนย่อย B จะจับกับไกลโคลิพิด ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของไมโครวิลไล แล้วปล่อยส่วนย่อย A ออกไปเพื่อยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน โดยยับยั้งที่ 60 S ไรโบโซม การยับยั้งจะเกิดจากการที่ทอกซินไปย่อยโมเลกุลอะดีน 28 S ribosomal RNA ทำให้โครงสร้างของ 60 S ไรโบโซมเปลี่ยนไป ความสามารถในการจับกับ EF1 ลดลง จึงยับยั้งการจับของ aminoacyl-tRNA กับไรโบโซม นั่นคือผลของทอกซินจะไปหยุดยั้งการสังเคราะห์โปรตีนนั่นเอง จึงทำให้เซลล์ตายและหลุดลอกออกและเกิดการถ่ายเป็นเลือด

การที่ EHEC ทำให้เกิดการตกเลือดที่ลำไส้ ก็เนื่องจากเชื้อนี้มีความสามารถในการเกาะติดกับมิวโคซ่าของลำไส้ แล้วปล่อยสารพิษออกมาทำลายเยื่อบุผิว การเกาะติดเยื่อบุผิวลำไส้ได้เนื่องจากเชื้อมีพลาสมิด ที่บงการการสร้างฟิมเบรียแอนติเจนให้ไปเกาะติดเยื่อบุลำไส้นั้น

การระบาดของโรคที่เกิดจากเชื้อ *E. coli* ชนิดนี้ เกิดจากการรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อหรือได้รับความร้อนไม่เพียงพอรวมทั้งน้ำดื่มน้ำใช้ และติดต่อจากบุคคลหนึ่งไปสู่อีกบุคคล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หนึ่ง อาหารที่เป็นแหล่งนำเชื้อมาสู่คนมากที่สุด คือ แฮมเบอร์เกอร์ และคิดว่า วัว ควาย เป็นแหล่งสะสมเชื้อนี้

การรักษาและการป้องกัน

เชื้อนี้ไวต่อยาซัลโฟนาไมด์ อะมิโนไคโคไซด์ คลอแรมเฟนิคอล เตตราไซคลิน แอมพิซิลลิน คาร์เบนิซิลลิน เซฟาโลสปอริน

การรักษา ด้วยซัลโฟนาไมด์หรือแอมพิซิลลิน เพียงในรายที่ติดเชื้อทางปัสสาวะเฉียบพลัน แต่ไม่มีโรคแทรกซ้อน ในรายที่เป็นเรื้อรังจึงใช้ยาเมธีนามีนแมนดีเลท กรดนาลิดิซิก ไตรเมโทพริม-ซัลฟาเม ธอกซาโซล เซฟาเลกซินและคาร์เบนิซิลลิน

การป้องกัน คือการหลีกเลี่ยงการได้รับเชื้อจากอาหารและน้ำที่ปนเปื้อน รวมทั้งให้ความรู้เกี่ยวกับสุขอนามัยในการจับต้องหรือปรุงอาหาร โดยเฉพาะที่ปรุงให้เด็ก ๆ นักเดินทางที่ต้องเดินทางเข้าไปในท้องถิ่นที่ด้อยพัฒนาโดยเฉพาะในเขตร้อน ควรระวังเลือกรับประทานอาหารที่ทำเสร็จใหม่ ๆ และยังร้อนอยู่ รวมทั้งน้ำดื่มที่บรรจุขวดที่แน่ใจว่าผ่านกระบวนการบรรจุที่สะอาดปลอดภัย และไม่รับประทานอาหารที่ไม่ได้ผ่านการปรุงให้สุก หรือไม่รับประทานอาหารสุก ๆ ดิบ ๆ รวมทั้งดื่มน้ำที่ผ่านความร้อนแล้ว

ทางเดินปัสสาวะอักเสบเนื่องจาก *E. coli*

E. coli เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดทางเดินปัสสาวะอักเสบได้บ่อยที่สุด (มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์) ในหญิงสาวกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคได้แก่ ซีโรทัยป์ 1 2 4 6 7 9 15 16 18 และ 75 การที่เชื้อก่อโรคได้รุนแรงเนื่องจาก ฮีโมไลซิน และเกาะติดกับเยื่อบุผิวของทางเดินปัสสาวะได้ การเกาะติดนี้เกี่ยวข้องกับพีพิไล (P pili) และแอดฮีซิน (adhesion) ผู้หญิงมีโอกาสเป็นโรคนี้ได้มากกว่าผู้ชาย เพราะหลอดปัสสาวะของผู้หญิงสั้นกว่า โดยเชื้อจะอยู่ในอุจจาระและอาจรวมกลุ่มอยู่ใกล้ช่องคลอดและรอบๆ หลอดปัสสาวะ ทำให้เชื้อมีโอกาสเข้าไปยังกระเพาะปัสสาวะได้ ผู้ป่วยที่ได้รับการสวนหลอดปัสสาวะมีโอกาสติดเชื้อประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ ของคนไข้ ทำให้มีแบคทีเรียจำนวนมากอยู่ในน้ำปัสสาวะอาการจะเกิดขึ้นเมื่อเชื้อบุกรุกเข้ามิวโคซา ทำให้เซลล์ตาย และเกิดการอักเสบทำให้เกิดโรคกระเพาะปัสสาวะอักเสบ เชื้อที่บุกรุกอาจเข้าสู่ท่อไต เพิ่มจำนวนขึ้นในกรวยไตและกรวยไตอักเสบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar Typhimurium (*Salmonella typhimurium*)

Salmonellla มีลักษณะเป็นแท่ง ติดสีแกรมลบ (gram negative) รูปร่างเป็นท่อนเล็ก ๆ (rod shape) ไม่มีสปอร์ (non-spore forming) เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobes) เคลื่อนที่ได้โดยใช้ flagella ดังแสดงในรูปที่ 2.7

รูปที่ 2.7 ลักษณะเชื้อ *Salmonella typhimurium*
ที่มา : http://www.magma.ca/%7Epavel/science/Salmonella.htm

Sallmonellla สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลกลูโคสและแมนโนสได้กรด บางทีได้ก๊าซด้วย แต่ไม่สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลแล็กโทสและซูโครสได้ให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์หรือก๊าซจากเฟอร์เมนต์คาร์โบไฮเดรต เจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา เชื้อส่วนใหญ่ไม่ต้องการวิตามินหรือกรดอะมิโน ยกเว้นเชื้อไทฟอยด์บางชนิดต้องการทริปโทเฟน นอกจากนี้ยังทนต่อสารเคมีบางอย่าง เช่น บริลเลียนกรีน (brilliant green) โซเดียมเตตราไทโอเนต (sodium tetrathionate) โซเดียมดีออกซีโคเลต (sodium deoxycholate) ซึ่งยับยั้งการเจริญของเชื้อพวกโคลิฟอร์ม จึงใช้เป็นหลักในการแยกเชื้อจากอุจจาระ มีสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญได้ดีที่ pH 7.0 – 7.5

อุณหภูมิ 35 – 43 องศาเซลเซียส ปัจจุบันพบว่าแบคทีเรีย *Salmonella* มีเพียง 2 สปีชีส์ (species) คือ *S. bongori* และ *S. enterica* และในทางการแพทย์เชื้อ *Salmonella* ที่ก่อโรคร้อยละ 95 อยู่ในจีนัส (genus) *S. enterica*

S. enterica มีมากกว่า 2,200 ซีโรวาร์ ดังนั้นการเรียกชื่อที่สมบูรณ์จึงต้องระบุถึง ซีโรวาร์ เช่น *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* หรือ *Salmonella* Enteritidis โดยทราบว่าเป็นเชื้อ *S. enterica* Subspecies ที่ I (คือ enterica) ซึ่งมี serovar เป็น Enteritidis

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การก่อโรคและอาการของโรค

เชื้อนี้สามารถก่อโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ โดยจำนวนเชื้อที่สามารถก่อโรคได้ (Infection dose) อยู่ที่ 10^5 - 10^8 เซลล์ มักมีการติดเชื้อในลำไส้โดยกินอาหารหรือน้ำที่มีเชื้อปนเปื้อน อาการของโรคที่เกิดจากเชื้อ *Salmonella* มี 3 แบบคือ

Enteric fever (Typhoid fever) ไข้ไทฟอยด์

สาเหตุจาก *Salmonella* Typhi หรือ *Salmonella* Paratyphi A, B หรือ C รับเชื้อจากการกิน หากเชื้อไปถึงลำไส้เล็ก เชื้อจะไชผ่านผนังลำไส้เล็ก ileum mucosa (Peyer›s patches) และถูกกินโดย macrophage พาผ่านท่อน้ำเหลืองไปสู่ต่อมน้ำเหลืองแพร่สู่อวัยวะต่าง ๆ เช่น ตับ ถุงน้ำดี ม้าม ไต และ ไขกระดูก เชื้อแบ่งตัวเพิ่มจำนวนแล้วแพร่สู่กระแสเลือดเป็น Primary bacteremia จากนั้นเชื้อแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในอวัยวะดังกล่าวแพร่เข้าสู่กระแสเลือดอีกครั้งเป็น Secondary bacteremia ระยะฟักตัว 7-20 วัน อาการของโรค มีไข้ขึ้นสูง นาน 7-20 วัน (จะตรวจพบเชื้อในเลือดและเชื้อจะถูกขับออกทางปัสสาวะในอาทิตย์ที่ 2 และจะตรวจพบเชื้อในอุจจาระในอาทิตย์ที่ 2 หรือ 3)

Gastroenteritis and food poisoning สาเหตุ จากเชื้อ *Salmonella* Enteritidis ระยะฟักตัว 8 - 48 ชั่วโมง อาการของโรคคือปวดหัว คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องร่วง และมีไข้ 2-5 วัน (อาจมีเชื้อหลงเหลืออยู่เป็น reservior ได้หากไม่กิน antibiotic)

Septicemia สาเหตุ จากเชื้อ *Salmonella* Cholerasui หรือ serovars อื่น ๆ ระยะฟักตัว ไม่แน่นอน เพราะเกิดจากเชื้อหลายชนิด อาการมีไข้สูงอย่างฉับพลัน อาการไม่ต่อเนื่องเป็นๆหายๆ อาจมีอาการท้องเสียเล็กน้อยร่วมด้วย

เชื้อ *Salmonella* นี้ถูกค้นพบโดยนักวิทยาศาสตร์ชาวอเมริกันชื่อ Salmon เชื้อจัดอยู่ในแฟมมิลี่ enterobacteriacae จีนัส *Salmonella* มีมากกว่า 2460 ซีโรไทป์ที่สามารถทำให้เกิด โรคในคนได้ การติดต่อส่วนใหญ่เกิดจากรับประทานอาหาร หรือน้ำดื่ม ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ ส่วนน้อยติดจากการสัมผัสกับสัตว์ ทุกคนสามารถติดเชื้อนี้ได้เท่ากันแต่กลุ่มที่ติดเชื้อแล้วจะมีอาการรุนแรงหรือเกิดผลแทรกซ้อนตามมา ได้แก่ใน กลุ่มเด็กทารก คนแก่ และคนที่มีปัญหาเรื่องภูมิคุ้มกันบกพร่องไม่ว่าจากสาเหตุใดก็ตามเชื้อ *Salmonella* อาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์ รวมทั้งในนกด้วย การติดต่อสู่คนส่วนใหญ่เกิดจากการรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อน อาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนจะมองดูปกติ กลิ่นและสีไม่ เปลี่ยนแปลง จึงทำให้ไม่ทราบ อาหารส่วนใหญ่ที่พบจะเป็นอาหารจากสัตว์ต่างๆ เช่น เนื้อสัตว์ สัตว์ปีก รวมทั้งผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น นม และ ไข่ อาหารประเภทผัก และ ผลไม้พบว่ามีเชื้อ *Salmonella* ปนเปื้อนได้เช่นกัน แต่ขั้นตอนการปรุงอาหารถ้าทำให้ สุกจะทำให้เชื้อตายจึงไม่เกิดโรค การล้างมือ และล้างอาหารทุกชนิดให้สะอาดก่อนการปรุง มีส่วนสำคัญช่วยลดจำนวนเชื้อลงในอุจจาระของสัตว์เลื้อยคลาน เช่น งู อีกัวน่า เต่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งในปัจจุบันนิยม นำมาเลี้ยงกันเป็นสัตว์เลี้ยงสวยงาม จะมีเชื้อปนเปื้อนออกมาด้วย ดังนั้นการสัมผัสกับสัตว์เหล่านี้ก็เป็นปัจจัยเสี่ยงหนึ่งที่จะได้รับเชื้อโดยตรงและทำให้เกิดโรคขึ้นมา

2.4.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa จะเป็นแบคทีเรียรูปท่อนหรือโค้งเล็กน้อย ย้อมติดสีแกรมลบ จะมีขนาด 0.5-1.0 × 1.5-5.0 ไมโครเมตร ดังแสดงในรูปที่ 2.8 ลักษณะเด่นของเชื้อ *P. aeruginosa* คือกลิ่นที่พิเศษเฉพาะของเชื้อคล้ายกลิ่นองุ่นและเจริญได้ดีในอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส และในที่มีออกซิเจนมากกว่าไม่มีออกซิเจน สามารถเคลื่อนที่ได้ ซึ่งการเคลื่อนที่นั้นจะเคลื่อนที่ด้วยโพลาร์แฟลกเจลลาซึ่งจะมีผนังเซลล์ซึ่งประกอบด้วยลิโพพอลิแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide,LPS) มีโครงสร้างคล้ายแบคทีเรียในตระกูลเอนเทอโรแบคทีริเอซี (Enterobacteriaceae) แต่จะต่างกันที่มีสารเคมีบางหมู่ ส่วนพอลิแซ็กคาไรด์เช่น (Polysaccharide side chain) จะยื่นออกจากเมมเบรนชั้นนอก (LPS) นั้น จะเกี่ยวข้องกับความไว(susceptible)และความจำเพาะทางซีโรยีต่อแบคทีริโอซินหรือไพโอซิน (bacteriocin or pyocin) แฟลกเจลลาในที่นี้จะหมายถึงส่วนที่ยื่นออกมาจากเซลล์เพื่อที่จะใช้ในการเคลื่อนที่ มองดูแล้วจะคล้ายขน แฟลกเจลลาจะคล้ายกับซิเลีย แต่จะต่างกันที่แฟลกเจลลาจะขนาดยาวกว่าและมีจำนวนน้อยกว่าซิเลีย ซึ่งโครงสร้างทั้งสองจะมีส่วนประกอบพื้นฐานเดียวกันคือหลอดโปรตีนไมโครทูบูล (microtubules) ส่วนโคนของแฟลกเจลลาและซิเลียแต่ละอันนั้นจะอยู่ลึกเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ เรียกส่วนที่อยู่ลึกนี้ว่าเบซัลบอดี (basal body) ซึ่งจะทำหน้าที่ในการควบคุมการโบกพัดของแฟลกเจลลาและซิเลีย นอกจากนี้ *P. aeruginosa* ยังจะมีชั้นเมือกที่เรียกว่า slime layer ซึ่งจะประกอบไปด้วยพอลิแซ็กคาไรด์และมีพิไลอยู่ที่บริเวณผิวเซลล์ *P. aeruginosa* บางสายพันธุ์โคโลนีจะมีลักษณะคล้ายเมือก เพราะมีความสามารถที่จะสร้างสารเมือกห่อหุ้มเซลล์ที่คล้ายแคปซูล มีการผลิตสารเม็ดสีที่เรืองแสงอัลตราไวโอเลต ไพโอไซยานินซึ่งจะเป็นสารเม็ดสีเขียวน้ำเงิน อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งจะสามารถสลายเม็ดเลือดแกะได้อย่างสมบูรณ์อีกด้วย

รูปที่ 2.8 ลักษณะเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา : http://www.gasdetection.com/news2/health_news_digest84.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิเวศวิทยา (Ecology)

Pseudomonas aeruginosa ดำรงชีวิตได้ดีโดยใช้ออกซิเจนมากกว่าไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งสามารถจะเจริญและได้พลังงานโดยได้แหล่งของคาร์บอนและไนโตรเจนจากสารอาหารธรรมดาอย่างเช่น คาร์บอนไดออกไซด์และแอมโมเนีย จึงไม่ต้องการอาหารที่ซับซ้อนในการเจริญ สามารถเพิ่มจำนวนและมีชีวิตอยู่ได้ในอุณหภูมิกว้างๆ ตั้งแต่ 20-42 องศาเซลเซียส จะพบได้ในธรรมชาติทั่วไป อย่างเช่น ในน้ำ ดิน หรือต้นไม้ โดยจะมีความทนทานในสภาวะแวดล้อมต่างๆได้ดี ซึ่งจะเป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในโรงพยาบาลและต่อผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง มะเร็งระยะสุดท้ายและแผลไฟไหม้ รวมทั้งในสภาพที่มีเกลือสูงๆได้อีกด้วย ซึ่งเชื้อ *P. aeruginosa* สามารถจะได้พลังงานจากกระบวนการออกซิเดทีฟ และสามารถสร้างไซโทโครมออกซิเดส (cytocrome oxidase) ได้มาก ทำให้ได้ผลกับออกซิเดสเป็นบวก เชื้อ *P. aeruginosa* ส่วนใหญ่จะเพิ่มจำนวนได้อย่างช้าๆซึ่งเป็นที่ที่มีออกซิเจน ถ้ามีไนเตรตเป็นตัวรับไฮโดรเจน

P. aeruginosa จะสามารถเจริญได้ในอาหารธรรมดาที่ใช้แยกเชื้อ แต่จะไม่เร็วเท่าแบคทีเรียในตระกูลเอนเทอโรแบคทีริเอซี ซึ่งเมื่อบ่มเชื้อไว้ค้างคืนจะมีการเจริญขึ้นเป็นโคโลนี จะสร้างรงควัตถุไพโอซายานินที่มีสีฟ้า ไพโอเวอดินที่เป็นสีเหลืองที่เป็นสีเหลือบ เมื่อมีการส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเลต รงควัตถุทั้งสองสีจะรวมกันเป็นสีเขียวละลายน้ำได้ โคโลนีนี้จะแพร่กระจายและจะมีขนาดใหญ่ ซึ่งลักษณะของโคโลนีนั้นจะมันเงาคล้ายโลหะ (metallic sheen) เมื่อมีการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวจะจับกันเป็นแผ่นบริเวณผิวหน้าอาหาร (pellicle) ซึ่งจะแสดงให้เห็นว่าเชื้อนี้จะชอบออกซิเจน

ลักษณะทางการก่อโรค (Pathogenesis)

ก่อนที่จะมารู้จักกับลักษณะทางการก่อโรคนั้น ควรทราบโครงสร้างที่เกี่ยวข้องกับการทำให้เกิดโรคก่อน ซึ่งจะเป็นปัจจัยที่ร่วมกันที่จะทำให้เชื้อมีความรุนแรงขึ้นในการก่อโรค ดังนี้

1. แคปซูลหรือเมือก จะเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่จะทำให้โคโลนีนั้นเป็นเมือกเยิ้ม ซึ่งแคปซูลจะช่วยให้เชื้อเกาะติดกันและติดกับผิวเซลล์ โดยเฉพาะคนไข้ที่เป็นโรคทางเดินหายใจเรื้อรัง และนอกจากนี้ยังช่วยป้องกันเชื้อจากกระบวนการฟาโกไซโทซิสอีกด้วย

2. พิไลหรือฟิมเบรีย (pili หรือ fimbriae) จะเป็นส่วนที่คล้ายเส้นขนเล็กๆที่ยื่นออกมาจากผิวเซลล์ เพื่อที่จะจับกับเยื่อบุผิวทางเดินหายใจ

3. เอนโดทอกซินหรือลิพิดเอ (endotoxin หรือ lipid A) เอนโดทอกซินจะเป็นลิโพพอลิแซกคาไรด์ที่อยู่ตามผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบและจะเป็นแอนติเจนที่สำคัญอีกด้วย ส่วนลิพิดเอจะเป็นองค์ประกอบของเอนโดซินที่เกี่ยวกับความเป็นพิษ แต่ความเป็นพิษของเชื้อ *P. aeruginosa* นั้นจะมีน้อยกว่าแบคทีเรียในตระกูลเอนเทอโรแบคทีเรียเอซีอยู่ประมาณ 10 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. อีลาสเทส (Elastase) เป็นเอนไซม์ที่จะทำลายอีลาสติกไฟเบอร์ที่ผนังหลอดเลือด ซึ่งจะทำให้เกิดเลือดออกและเชื้อแพร่กระจายออกไปอีกด้วย

5. เอกโซทอกซินเอ (ExotoxinA) เป็นปัจจัยที่ทำให้เชื้อรุนแรง จะขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ยูคาริโอต ทอกซินนี้จะทำให้เซลล์ตายและมีความเป็นพิษแต่จะน้อยกว่าดิฟทีเรีย

6. โปรตีนเอส (Proteases) เป็นเอนไซม์ที่ถูกขับออกนอกเซลล์ จะย่อยสลายเนื้อเยื่อของโฮสต์และทำลายอิมมิวโนกลอบิวลินและคอมพลีเมนต์ นอกจากนี้ยังจะช่วยให้เชื้อบุกรุกและแพร่กระจายออก

7. เอกโซทอกซินเอส (Exotoxin S) เป็นสารที่ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน จะต่างกับเอกโซทอกซินเอตรงที่ทนความร้อนได้ จะพบในบางสายพันธุ์ของ *P. aeruginosa*

8. ฟอสโพลิเพสซี (Phospholipase C) จะย่อยสลายไขมันและเลซิทินเพื่อที่จะให้ปล่อยฟอสโพริลโคลีนออกมาช่วยทำลายเนื้อเยื่อ

ผู้ป่วยที่อยู่ในโรงพยาบาลจะมีโอกาสติดเชื้อ *Pseudomonas* ได้ง่ายและรุนแรง โดยที่เชื้อจะเพิ่มจำนวนอยู่ตามเครื่องมือหรือเครื่องช่วยหายใจที่มีความชื้นหรือเพิ่มจำนวนอยู่ในน้ำ การติดเชื้อตามเครื่องมือจะเกิดขึ้นเมื่อมีการใช้เครื่องมือทางการแพทย์เพื่อตรวจหรือรักษา อย่างเช่นคนที่มีแผลเปื่อยอักเสบ แผลไฟไหม้ การติดเชื้อที่ตา การใช้เครื่องสวนในหลอดเลือดหรือหลอดปัสสาวะ คนไข้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำเนื่องจากสูงอายุ โรคภูมิคุ้มกันถูกกด เช่น มะร็งเม็ดเลือดขาว และคนที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกันมักจะเกิดการติดเชื้อ *Pseudomonas* ได้ง่าย ซึ่งทำให้เชื้อเข้าสู่ร่างกายและเกิดเซพติซีเมียและปอดบวมตามมา ในการทำให้เกิดของเชื้อนั้นจะอาศัยพิไล เอนไซม์ และทอกซิน เป็นปัจจัยในการที่ทำให้เกิดโรค

โรคติดเชื้อจาก *P. aeruginosa*

1. การติดเชื้อที่แผลไฟไหม้

เมื่อมีการรวมตัวของเชื้อ *P. aeruginosa* ที่บริเวณแผลไฟไหม้จะเกิดการทำลายของผนังหลอดเลือดและจะเกิดการติดเชื้อของเนื้อเยื่อ จนทำให้เชื้อนั้นสามารถเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดตรงบริเวณผิวหนังที่ไหม้นั้นจะมีความชุ่มชื้นและจะไม่มีนิวโทรฟิวป้องกันการบุกรุกของเชื้อจึงทำให้เกิดการติดเชื้อของ *P.aeruginosa* ได้ง่ายอีกด้วย

2. การติดเชื้อที่ปอด (Pulmonary infaction)

การติดเชื้อ *P. aeruginosa* บริเวณทางเดินหายใจส่วนล่างจะมีตั้งแต่หลอดคอและหลอดลมปอดอักเสบจนถึงปอดอักเสบอย่างรุนแรง ซึ่งการติดเชื้อจะพบในคนไข้ที่เป็นโรคปอดเรื้อรังและผู้ที่มีนิวโทรฟิวน้อยกว่าปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การติดเชื้อที่หู (Ear infaction)

สำหรับคนที่ชอบเล่นน้ำมักจะเกิดการติดเชื้อ *P. aeruginosa* จะส่งผลทำให้หูชั้นนอกอักเสบ และการติดเชื้อนั้นสามารถจะลุกลามเข้าไปในเนื้อเยื่อชั้นใน ทำให้เกิดอันตรายได้ จึงจำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะและผ่าตัดในการรักษา

4. การติดเชื้อในกระแสเลือด (bacteremia) และเยื่อบุหัวใจอักเสบ (endocarditis)

ในการติดเชื้อ *P. aeruginosa* ในกระแสเลือดนั้นจะไม่แตกต่างกันเลยจากการติดเชื้อแกรมลบชนิดอื่น ถึงจะมีอัตราการตายสูงกว่า เนื่องจากความรุนแรงของเชื้อและเนื่องจากเชื้อจะติดเชื้อในคนไข้ที่มีภูมิคุ้มกันผิดปกติ (Immunocompromised)

5.การติดเชื้อที่อวัยวะอื่น

นอกจากที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว *P. aeruginosa* ยังจะเกี่ยวของกับอวัยวะอื่นอีกด้วย อย่างเช่น ระบบประสาทส่วนกลาง ทางเดินอาหาร ตา ทางเดินปัสสาวะ ระบบกล้ามเนื้อและกระดูก การติดเชื้อ *Pseudomonas* นั้นคนไข้จะไม่มีกลไกการติดเชื้อและเชื้อจะอยู่ในแหล่งที่ชื้นๆ อย่างเช่น การเกิดบาดแผลบริเวณผิวหนัง การสูญเสียเชื้อประจำถิ่น เนื่องจากเกิดภาวะนิวโทรฟีวน้อยหรือเนื่องจากการการใช้ยาปฏิชีวนะ การติดเชื้อ *P. aeruginosa* ในท่อปัสสาวะนั้นจะพบในคนไข้ที่ใช้เครื่องสวนหลอดปัสสาวะเป็นส่วนใหญ่

การติดเชื้อ *P. aeruginosa* ทางผิวหนังจะมีลักษณะ 4 แบบ ดังนี้

1. Vesicles และ bullae อาจจะมีขนาดเล็กๆรวมกันเป็นกลุ่มหรืออาจเป็นเพียงอันเดียว พบได้ทั่วไปตามร่างกาย ซึ่งจะกลายเป็น hemorrhagic bleb และมี erythrema รอบๆในทารก ซึ่ง lesionจะเหมือน erythema multiforme sinv คล้ายกับถูกยุงกัดหรือถูกแมลงกัด

2. Ecthyma gangrenosum มีลักษณะบวม แดง ค่อนข้างแข็ง ต่อมาจะกลายเป็นเนื้อตาย จะไม่มีอาการเจ็บปวดเนื่องจากมี scar สีดำคลุมอยู่ ซึ่งอาจจะเกิดหลังจาก Vesicles และ bullae ก็ได้

3. Macular หรือ maculopapular lesionเป็นmacule จะพบได้ตามส่วนต่างๆของร่ายกาย โดยเฉพาะบริเวณแขนและขา ซึ่งจะมีขนาดเล็กรูปไข่สีแดง

4.Gangrenous cellulites เป็นsuperficial necrotic ulcer จะมีขอบเขตชัดคล้ายdecubitus ulcer บางครั้ง cellulitis ตรงกลางจะเป็นเนื้อตาย ซึ่งจะพบบริเวณใกล้กับทวารหนักหรือบริเวณสะโพกจะเป็น perianal abscessหรือ perirectal จะไม่พบ lesion หากไม่มีการตรวจเช็คร่างกายอย่างละเอียด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

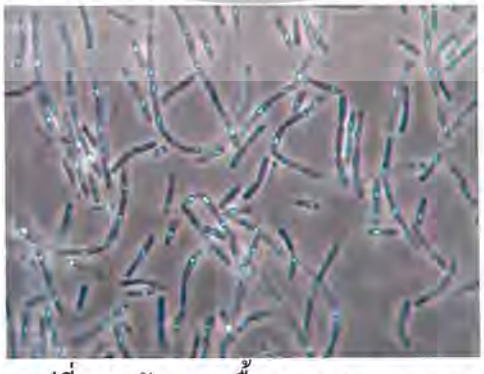
การรักษา (Tratrient)

เมื่อเชื้อแบคทีเรียอื่นที่ไวต่อยาถูกยับยั้งการเจริญ จะทำให้เชื้อ *P. aeruginosa* เพิ่มจำนวนขึ้นเนื่องจากการติดเชื้อ *P. aeruginosa* ร้ายแรงและดื้อต่อยาที่ใช้ในการรักษาจากการติดเชื้อนี้จากการกระตุ้นของเอมไซม์ จะทำให้เชื้อเกิดการพัฒนาการดื้อยาที่ใช้ในการรักษา อย่างเช่น การถ่ายทอดพลาสมิดที่นำยีนจากการดื้อยาจากเชื้อหนึ่งไปยังอีกเชื้อหนึ่ง หรือบีตา-แล็กทาแมส (B-lactamase) และรวมถึงยาปฏิชีวนะบางกลุ่มด้วย อย่างเช่น อะมิโนไกลโคไซด์ ซึ่งไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อตรงบริเวณที่มีเกิดการติดเชื้อ เพราะบริเวณที่เกิดเชื้อจะเกิดหนองซึ่งมีสภาพเป็นกรดมาก ยาจึงมีประสิทธิภาพลดต่ำลง

เชื้อ *P. aeruginosa* จะดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด ปัจจุบันจึงมีการทดสอบความไวของเชื้อเชื้อ *P. aeruginosa* ต่อยาปฏิชีวนะก่อนใช้ ซึ่งการใช้ยาชนิดเดียวจะไม่ค่อยได้ผลในการรักษาจากการติดเชื้อนี้ ส่วนใหญ่จึงใช้ยากลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ อย่างเช่น เจนตาไมซิน โทบราไมซิน หรืออะมิคาซันร่วมกับยากลุ่มเพนิซิลลิน เช่น เมสโลซิลลิน (mezlocilln) ไพเพอราซิลลิน (piperacillin) และไทคาร์ซิลลิน (ticarcillin) ส่วนยาอื่นที่ได้ผลที่ใช้ในการรักษาคือ ไซโพรฟลอกซาซิน (ciprofloxacin) ซีโพเพอราโซน (cefoperaxone) และเซฟตาซีดีน (ceftazidime)

2.4.4 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นรูปท่อนตรง ขนาด 0.3 - 2.2 x 1.2 - 7.0 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ ดังแสดงในรูปที่ 2.9 สามารถสร้างสปอร์และสร้างสารพิษ ซึ่งจะขับสารพิษออกมาขณะปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ช่วงอุณหภูมิในการเติบโตอยู่ระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์สามารถเติบโตได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 55 องศาเซลเซียส และบางสายพันธุ์เติบโตได้ที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส สำหรับค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อชนิดนี้อยู่ระหว่าง 6-7 และสามารถเติบโตได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนและจะสร้างสารพิษเมื่ออยู่ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนน้อย



รูปที่ 2.9 ลักษณะเชื้อ *Bacillus cereus*

ที่มา : http://www.flickr.com/photos/peteredin/400555369/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bacillus cereus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก สามารถสร้างสปอร์ได้ทั้งในที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนเซลล์ของมันเป็นแท่งขนาดใหญ่ และ sporangium ในสปอร์ของมันจะไม่บวม ลักษณะพิเศษเหล่านี้และอื่นๆรวมถึงลักษณะสำคัญทางชีวเคมี ซึ่งใช้บอกความแตกต่างและยืนยันลักษณะเฉพาะของ *B. cereus* แม้ว่าลักษณะลักษณะพิเศษนี้จะมีอยู่ใน *B. cereus var. mycoides, B. thuringiensis* และ *B. anthracis*

การแยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตชนิดนี้อาศัยการวิเคราะห์การเคลื่อนไหว (*B. cereus* ส่วนใหญ่จะเคลื่อนไหวได้) การมี toxin crystals ของ *B. thuringiensis* การกระตุ้นการแตกของเม็ดเลือดซึ่งใน *B. cereus* และตัวอื่น ๆ จะเป็นเบตาฮีโมลีติก ส่วน *B. anthracis* ปกติแล้วจะไม่ทำให้เม็ดเลือดแตก และการงอกของไรซอยด์เป็นลักษณะพิเศษของ *B. cereus* var. mycoides

แหล่งที่มาของเชื้อ

เชื้อ *Bacillus cereus* พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ในดิน ฝุ่นละออง ผลิตภัณฑ์จากพืช เช่น ข้าว ธัญพืช แป้ง ผลิตภัณฑ์จากแป้ง เครื่องเทศ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ และเครื่องปรุงแต่งรสต่างๆ นอกจากนี้ยังพบในอุจจาระของคนที่มีสุขภาพปกติได้ประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์

การเข้าสู่ร่างกาย

Bacillus cereus เป็นแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเป็นพิษ และสามารถถ่ายทอดเข้าสู่ร่างกายได้โดยการรับประทานอาหารที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อน อาหารที่พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อเข้าไปจนทำให้เกิดอาการอาเจียนได้แก่ อาหารประเภทข้าว และแป้ง อาทิ มักกะโรนี และข้าวผัด เนยแข็ง ผลิตภัณฑ์จากวานิลลาที่ทำในลักษณะยัดไส้ครีม ส่วนอาหารที่พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจนทำให้เกิดอาการท้องร่วง ได้แก่ ผักต่างๆ สลัด อาหารที่มีเนื้อสัตว์เป็นส่วนประกอบ ซอส ซุป และอาหารที่มีแป้งและครีมเป็นส่วนประกอบ

อันตรายของเชื้อ

Bacillus cereus เป็นแบคทีเรียที่สร้างสารพิษ การเกิดพิษมี 2 ลักษณะอาการคือ ทำให้อาเจียน (Emetic illness) และทำให้ท้องเสีย (Diarrhea illness) อาการอาเจียนมักเกิดจากการได้รับสารพิษชนิดที่มีความคงทน ที่สามารถมีชีวิตรอดได้ในอุณหภูมิสูงและค่าความเป็นกรด-ด่างสูง โดยผู้ป่วยจะเกิดอาการคลื่นไส้และอาเจียน ภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไป 11-15 ชั่วโมง แต่โดยทั่วไปมักปรากฏอาการภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไป 30 นาทีถึง 6 ชั่วโมง ส่วนอาการท้องเสียมักเกิดจากสารพิษชนิดที่ไม่ทนความร้อนและกรด ตามปกติใช้เวลาฟักตัวประมาณ 6-12 ชั่วโมง หลังจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนสารพิษของเชื้อ อาการประกอบด้วย การปวดท้องและถ่ายอุจจาระเหลวเนื่องจากมีน้ำมาก โดยทั่วไปอาการจะทรงอยู่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง แล้วก็จะทุเลาลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาเหตุที่ทำให้เกิดโรค

การวินิจฉัยโรคของมนุษย์ มีการยืนยันว่า *B. cereus* เป็นตัว etiologic ใน foodborne การระบาดของโรคต้องมีการตรวจสอบ

1. การแยกเชื้อสายพันธุ์ที่เป็น serotype เหมือนกัน จากอาหารที่สงสัย รวมถึงอุจจาระและอาเจียนของผู้ป่วย

2. การแยก *B. cereus* จำนวนมากที่ทราบว่าเป็น serotype ซึ่งทำให้เกิด foodborne illness จากอาหารที่สงสัยรวมถึงอุจจาระและอาเจียนของผู้ป่วย

3. การแยก *B. cereus* จากอาหารที่สงสัยและวิเคราะห์ enterotoxigenicity ของเชื้อ โดยการทดสอบทาง serological (พิษที่ทำให้ท้องร่วง) หรือทางชีวเคมี (ท้องร่วงหรืออาเจียน) โรคที่มีการอาเจียนจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วซึ่งเกิดขึ้นเมื่อทานอาหารบางชนิด ซึ่งบ่อยครั้งก็พอเพียงที่จะวินิจฉัยโรคว่าเป็นชนิดของอาหารเป็นพิษ

อาหารที่เป็นตัวกลาง : เป็นอาหารที่มีอย่างกว้างขวางและหลายชนิด รวมถึงพวกเนื้อสัตว์ นม ผัก และปลา ก็มีส่วนที่ทำให้ท้องร่วงจากอาหารเป็นพิษได้การระบาดของอาหารที่ทำให้เกิดโรคโดยทั่วไปจะเกิดจากผลิตภัณฑ์จากข้าว อย่างไรก็ตามอาหารจำพวกแป้งอื่น ๆ เช่น มันฝรั่ง พาสต้า และผลิตภัณฑ์เนยแข็งก็มีส่วนเกี่ยวข้อง อาหารปรุงแต่ง เช่น ซอส พุดดิ้ง ซุป ลูกชิ้น พาย และสลัด ซึ่งบ่อยครั้งก็มีส่วนเกี่ยวข้องที่ทำให้เกิดการระบาดของอาหารเป็นพิษ

อาการของโรค

อาการที่เกิดจาก *B. cereus* คือท้องร่วงที่เกิดจากอาหารเป็นพิษซึ่งจะเหมือนกับอาการท้องร่วงที่เกิดจากการได้รับเชื้อ *Clostridium perfringens* เมื่อถ่ายอุจจาระเป็นน้ำ มีอาการปวดและเกร็งที่ช่องท้อง ประมาณ 6 - 15 ชั่วโมง หลังจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อน มีอาการคลื่นไส้พร้อม ๆ กับปวดท้องแต่อาการอาเจียนเกิดขึ้นไม่บ่อย อาการของโรคจะยังคงอยู่นานที่สุด 24 ชั่วโมงอาหารเป็นพิษชนิดที่ทำให้เกิดอาการอาเจียนจะมีลักษณะเฉพาะ คือมีอาการคลื่นไส้และอาเจียน ในเวลา 0.5 - 6 ชั่วโมงหลังจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนบางครั้งมีอาการปวดเกร็งที่ช่องท้องและหรือท้องร่วง ซึ่งก็แล้วแต่โอกาส ระยะเวลาของอาการตามปกติจะน้อยกว่า 24 ชั่วโมง อาการของอาหารเป็นพิษชนิดนี้สามารถเปรียบเทียบได้กับอาการที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* บางสายพันธุ์ของ *B. subtilis* และ *B. licheniformis* ที่แยกได้จากลูกแกะและไก่ซึ่งบางครั้งเป็นตัวทำให้อาหารเป็นพิษ สิ่งมีชีวิตชนิดนี้จะมีการผลิตสารพิษที่สามารถทนความร้อนได้สูงมาก ซึ่งบางครั้งจะเหมือนกับสารพิษที่ทำให้เกิดอาการอาเจียนที่ผลิตขึ้นโดย *B. cereus* การที่ *B. cereus* มีจำนวนมาก ๆ (มากกว่า 10^6 organism / กรัม) ในอาหารแสดงว่ามีการเจริญเติบโตที่ดีแพร่ขยาย organism และมีความคงทน สามารถทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การป้องกัน

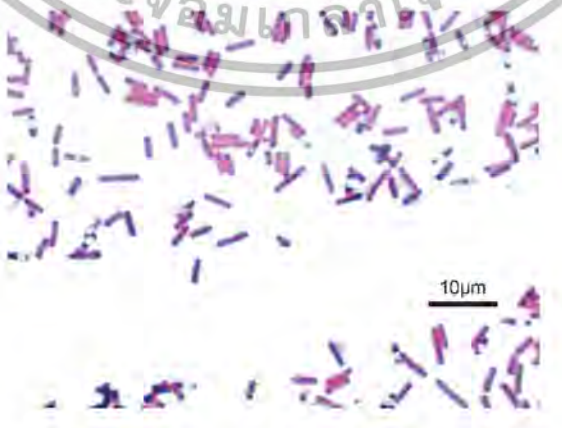
เป็นที่ทราบกันดีว่าเชื้อ *Bacillus cereus* นั้นเป็นเชื้อที่มีอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ และยังมักพบเสมอในอาหารที่ผ่านการทำแห้งที่เก็บไว้นานๆ การป้องกันนั้นสามารถทำได้โดยการป้องกันการงอกของสปอร์เชื้อชนิดนี้ด้วยการเก็บอาหารที่ปรุงเสร็จแล้วไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 7 องศาเซลเซียส หรือเก็บที่อุณหภูมิสูงกว่า 55-60 องศาเซลเซียส และควรจะมีการอุ่นอาหารที่เก็บไว้ก่อนที่จะนำมารับประทานเสมอ

2.4.5 *Bacillus subtilis*

เดิมถูกเรียกว่า *Vibrio subtilis* โดยChristian Gottfried Ehrenberg ในปีค.ศ. 1835 ต่อมาในปีค.ศ. 1872 ได้เปลี่ยนชื่อเป็น *Bacillus subtilis* โดย Ferdmand Cohn และในปีค.ศ. 1966 U.S. Army's Special Operations Division ได้นำเชื้อชนิดนี้มาใช้ทดลองเกี่ยวกับสงครามชีวภาพ

สัณฐานวิทยา

B. subtilis เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เป็น rod-shaped group เซลล์เป็นรูปท่อนตรง ขนาด 0.3 –2.2 x 1.2 –7.0 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่สามารถเคลื่อนที่ได้ หายใจโดยใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเลกตรอนตัวสุดท้าย ดังแสดงในรูปที่ 2.10 *B.subtilis* สามารถที่จะผลิต robust endospore ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อ microorganism อื่นได้ มีโครงสร้างที่เป็นส่วน refractile สูง อยู่ตรงบริเวณ cell และ Endospores เป็น widespread มี Arrangement ทั้งแบบ chains or single ซึ่ง Forms colonies ของ *B. Subtilis* จะเป็นแบบ dull และอาจมีลักษณะ wrinkled เป็นสี cream ถึง brown มี Cell shape แบบ bacillus ผลทดสอบ catalase เป็นบวก มี flagella แบบ peritrichous สามารถสร้าง capsule ได้ อยู่ในกลุ่ม obligate aerobe สามารถสร้าง endospore ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญได้ดี แหล่งที่อยู่อาศัยพบได้ทั่วไปในดิน



รูปที่ 2.10 ลักษณะเชื้อ *Bacillus subtilis*

ที่มา : http://www.absoluteastronomy.com/topics/Bacillus_subtilis

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสืบพันธุ์

สืบพันธุ์โดยการแบ่งเซลล์จากหนึ่งเป็นสอง (binary fission) โดยการแบ่งเป็นแบบไม่สมมาตร นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อมีสภาวะในการเจริญที่ไม่เหมาะสม เช่น ขาดอาหาร หรือขาดน้ำ แบคทีเรียชนิดนี้จะมีการสร้าง endospore ซึ่งเป็นโครงสร้างพิเศษที่มีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญนั้นได้เป็นระยะเวลานาน และจะงอกออกมาเป็นเซลล์ที่สมบูรณ์ได้เมื่อมีสภาวะเหมาะสมต่อการเจริญอีกครั้ง ในบางครั้งอาจไม่ถือว่า endospore เป็นโครงสร้างสืบพันธุ์ เนื่องจากไม่มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์

การก่อโรค

ไม่ถูกพิจารณาว่าเป็นเชื้อก่อโรคในคน แต่อาจก่อโรคได้ในโอกาสที่ยากยิ่งโดยการปนเปื้อนไปกับอาหารแล้วทำให้เกิดอาหารเป็นพิษขึ้น และอาจทำให้แป้งขนมปังเน่าเสียได้

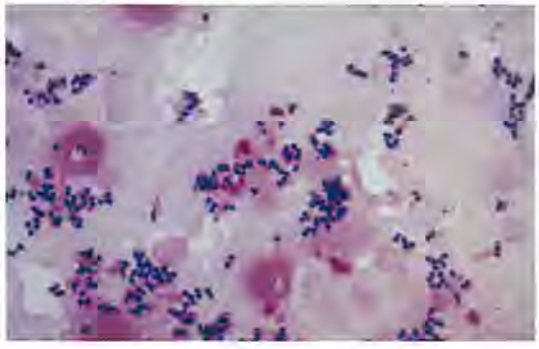
การใช้ประโยชน์

Bacillus subtilis มีการนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายประการ กล่าวคือ สามารถใช้ในการทดลองเรื่องสงครามชีวภาพเป็นประการแรก และยังสามารถใช้เป็นโมเดลการศึกษาในห้องทดลอง นอกจากนี้ยังใช้ในด้านการอาหารซึ่งก็คือ การทำถั่วเน่านั้นเอง เป็นการเพิ่มคุณค่าให้กับอาหารและช่วยถนอมอาหารได้ยาวนานยิ่งขึ้น ในด้านการเกษตร *B. subtilis* strain QST 713 ถูกใช้เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพซึ่งมีประสิทธิภาพในการผลิตสารต้านเชื้อรา ในด้านการอุตสาหกรรม *Bacillus subtilis* สามารถผลิตเอนไซม์ที่ใช้เติมในผงซักผ้าซึ่งใช้กันอยากแพร่หลายในอุตสาหกรรมการผลิตผงซักผ้า นอกจากนั้น recombinants *B. subtilis* str. pBE2C1 และ *B. subtilis* str. pBE2C1AB ยังถูกใช้ในการผลิต polyhydroxyalkanoates (PHA) ซึ่งสารPHA สามารถนำไปผลิตพลาสติกได้

2.4.6 *Staphylococcus aureus*

S. aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ที่มีลักษณะกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น หรือเป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ ไม่เคลื่อนที่ดังแสดงในรูปที่ 2.11 โคโลนีมีสีเหลืองหรือสีทอง เจริญเติบโตได้ดีในสภาพมีออกซิเจนมากกว่าในสภาพไม่มีออกซิเจน ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตคือ 35-40 องศาเซลเซียส ช่วง pH หรือความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ที่ 7-7.5 ส่วนค่า Aw (ปริมาณน้ำอิสระในอาหารที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเติบโต) ต่ำสุดสำหรับการเติบโตในสภาพมีออกซิเจนประมาณ 0.86 สภาพไม่มีออกซิเจนประมาณ 0.90 *S. aureus* บางสายพันธุ์ผลิตสารพิษที่เรียกว่า เอนเทอโรทอกซิน ทำให้อาหารเป็นพิษ เอนเทอโรทอกซินที่ผลิตมีหลายชนิด แต่ชนิดที่พบว่าทำให้เกิดอาหารเป็นพิษบ่อย คือ ชนิดเอ และดี โดยช่วงอุณหภูมิที่เชื้อผลิตเอนเทอโรทอกซินอยู่ระหว่าง 15.6 และ 46.1 องศาเซลเซียส และผลิตได้ดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.11 ลักษณะเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ที่มา : http://biomarker.korea.ac.kr:8080/pathogen/pathogen_view_en.jsp?pclass=1&id=81

ที่มาของเชื้อ

S. aureus จะมีชีวิตอยู่ได้ในอากาศ ฝุ่นละออง ขยะมูลฝอย น้ำ อาหารและนม หรืออาหารบรรจุเสร็จ สภาวะแวดล้อมภายนอกมนุษย์และสัตว์ ซึ่งมนุษย์และสัตว์นั้นเป็นแหล่งของเชื้อชนิดนี้ โดยจะพบอยู่ตามทางเดินหายใจ ลำคอ หรือ เส้นผมและผิวหนังถึง 50 เปอร์เซ็นต์ หรือมากกว่านี้ในคนที่มีสุขภาพดี และอาจพบเชื้อชนิดนี้ 60-80 เปอร์เซ็นต์ ในผู้ที่สัมผัสโดยตรงกับผู้ป่วยหรือผู้ที่สัมผัสกับสภาพแวดล้อมในโรงพยาบาล ตลอดจนผู้ประกอบอาหารรวมทั้งในขั้นตอนของการบรรจุและสภาพแวดล้อมภายนอกนั้นนับเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการปนเปื้อน สิ่งที่ต้องคำนึงถึงอีกอย่างหนึ่งก็คือ การเก็บอาหารไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมเป็นผลให้อาหารที่มีการปนเปื้อนอยู่แล้วมีการเพิ่มจำนวนของเชื้อและสร้างสารพิษได้อย่างรวดเร็ว

การเข้าสู่ร่างกาย

S. aureus เข้าสู่ร่างกายได้จากการรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนอาหารที่มักพบการปนเปื้อนได้แก่ เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ เนื้อสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์จากไข่ อาหารประเภทสลัดเช่น ไข่ ทูน่า เนื้อไก่ มันฝรั่ง และมักกะโรนี ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ครีมพาย เอแคลร์ ช็อกโกแลต แซนวิช และผลิตภัณฑ์นม ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม และเก็บไว้เป็นเวลานานก่อนรับประทาน

อันตรายของเชื้อ

S. aureus บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษ คือ เอนเทอโรทอกซิน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทนต่อความร้อนได้ดี และเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยในมนุษย์ สารพิษชนิดนี้ทนความร้อนถึงระดับ 143.3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วินาทีได้ ดังนั้น อุณหภูมิในการหุงต้มธรรมดาหรืออุณหภูมิน้ำเดือดจึงไม่สามารถทำลายสารพิษชนิดนี้ได้ โรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* นั้นมีชื่อเรียกว่า Stapyhloenterotoxicosis และ Staphylorenterotoxemia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาการของโรค

ลักษณะอาการที่บ่งบอกว่าติดเชื้อ *S. aureus* นั้นจะแสดงให้เห็นอย่างรวดเร็วและรุนแรงในหลายๆกรณี โดยทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานสารพิษของร่างกาย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในอาหาร และปริมาณสารพิษที่สร้างขึ้นในอาหาร รวมทั้งสภาพร่างกายโดยทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อด้วย อาการทั่วไปที่พบคือผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้อง และอ่อนเพลีย ในผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการอื่นแทรกซ้อน หลายรายจะมีอาการปวดหัว เป็นตะคริว ที่กล้ามเนื้อ และมีการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเป็นระยะ ๆ รวมทั้งอาจมีการเต้นของชีพจรผิดปกติซึ่งโดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นภายใน 2-3 วัน

การป้องกัน

การติดเชื้อ *Staphylococcus* จะไม่สามารถควบคุมได้อย่างสมบูรณ์ เพราะยังมีคนที่เป็นพาหะของโรคอยู่ทั่วไปทั้งในบ้านหรือในโรงพยาบาล การแพร่กระจายของเชื้อจะลดลงถ้าทุกคนมีสุขอนามัยที่ดีพอ และทิ้งหรือทำลายสิ่งของที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อ ในโรงพยาบาลทุกคนมีสิทธิ์ได้รับเชื้อที่รุนแรงเช่นเดียวกับคนที่อ่อนแอ บุคคลที่มีเชื้อนี้อยู่ควรแยกตัวห่างจากเด็กแรกเกิด และจากคนที่อ่อนแอ ควรหลีกเลี่ยงการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างพร่ำเพรื่อเพื่อป้องกันการแพร่ของเชื้อที่ดื้อยา ควรระมัดระวังการติดเชื้อในระหว่างการผ่าตัดและเครื่องมือผ่าตัดควรให้ปลอดเชื้อมากที่สุด ในเด็กแรกเกิดควรระวังเรื่องการตัดสายสะดือ และบุคลากรในโรงพยาบาลควรมีการตรวจหาผู้เป็นพาหะของเชื้อด้วย ด้านผู้ปรุงอาหาร สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงในระหว่างการเตรียมอาหาร หรือปรุงอาหารนั้นก็คือ ผู้ปรุงต้องไม่ไอ หรือจามรดอาหาร ควรรับประทานอาหารขณะร้อน หากต้องการเก็บรักษาอาหารควรเก็บไว้ในตู้เย็น ไม่ควรเก็บอาหารที่เตรียมเสร็จแล้วไว้ในที่ที่อุณหภูมิสูง เพราะจะเป็นสาเหตุให้มีการเพิ่มจำนวนเชื้ออย่างรวดเร็วซึ่งกรณีดังกล่าวเป็นกรณีที่พบได้บ่อยในการเกิดอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *S. aureus*

2.4.7 *Listeria monocytogenes*

จีนัส *Listeria* มี 7 สปีชีส์ *L. monocytogenes* เป็นสปีชีส์ที่สำคัญที่สุด เพราะทำให้เกิดโรคในสัตว์และคน *Listeria monocytogenes* เป็นเชื้อก่อโรคที่สำคัญในสัตว์ ที่ทำให้เกิดการแท้งและสมองอักเสบในแกะ วัว ควาย และเกิดอีกหลายโรคในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม นก และปลา การติดโรคในคนอาจพบในประชากรบางกลุ่ม เช่น ทารกแรกเกิด หญิงตั้งครรภ์และคนไข้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ ทำให้เกิดโรคทางเดินหายใจ โลหิตเป็นพิษและสมองอักเสบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะของเชื้อ

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อนสั้น กว้าง 0.4-0.5 μm. ยาว 0.5-2.0 μm. ไม่สร้างสปอร์ แอโรบิกจนถึงไมโครแอโรฟิลิก ดังแสดงในรูปที่ 2.12 เจริญดีขึ้นถ้าบ่มในที่มีออกซิเจนน้อยๆและมีคาร์บอนไดออกไซด์ 5-10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงที่ 20-25 องศาเซลเซียส มีการเคลื่อนที่แบบกลิ้งไป (tembling) โดยใช้แฟลกเจลลารอบตัว 4 เส้น แต่จะไม่เกิดที่ 37 องศาเซลเซียส

รูปที่ 2.12 ลักษณะเชื้อ *Listeria monocytogenes*
ที่มา : http://bacterio.iph.fgov.be/missions/listeria

เชื้อเจริญได้ดีในอาหารทั่วไป (nutrient agar) หรืออาหารผสมเลือด (blood agar) ถ้าเลี้ยงเชื้อครั้งแรกในอาหารที่มีเลือดแกะ จะเกิดบีตาฮีโมไลซิส วงแคบๆรอบโคโลนี ทำให้เข้าใจผิดว่าเป็นฮีโมไลติกสเตรปโตค็อกคัส โคโลนีที่เจริญบนอาหารทริปโตสอะการ์ (tryptose agar) จะให้สีฟ้าแกมเขียว เมื่อส่องด้วยแสงที่ทำมุม 45 องศา การแยกเชื้อครั้งแรกทำได้ยาก แต่เมื่อแยกได้แล้วก็จะเลี้ยง (subculture) ต่อไปได้ง่าย การแยกเชื้อครั้งแรกทำได้โดยตัวอย่างที่เก็บจากเนื้อเยื่อ นำมาเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส (cold enrichment) ระยะหนึ่ง ก่อนนำไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

การระบาดของโรค

เชื้อ *L. monocytogenes* เป็นเชื้อที่เจริญได้ในที่เย็น (psychrophile) และอุณหภูมิปานกลาง (mesophiles) พบได้ในธรรมชาติทั่วไป เช่น ตามดิน น้ำ ผัก และในสัตว์ต่างๆ

L. monocytogenes เป็นเชื้อก่อโรคในสัตว์ สามารถแยกเชื้อได้จากดิน น้ำ น้ำเสีย จากอุจจาระของคนและสัตว์ที่แสดงอาการ โรคที่เกิดขึ้นในคนเรียกว่า ลิสเทอริโอซิส (listeriosis) ปกติไม่ทำให้เกิดโรค จะทำให้เกิดโรคได้ในคนที่ระบบภูมิคุ้มกันผิดปกติ หรือสภาพที่ร่างกายขาด T cell ผู้ที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรค ได้แก่หญิงมีครรภ์ ผู้สูงอายุ ผู้ที่ระบบภูมิคุ้มกันถูกกด การติดเชื้อในคนเกิดจากการสัมผัสกับสัตว์และอุจจาระของสัตว์ นอกจากนี้ยังเกิดจากการกินอาหารที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อ หรือกินผักสดที่รดด้วยปุ๋ยคอก รวมทั้งการกินนมและเนยที่ไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ เพราะพบเชื้อ *L. monocytogenes* จำนวนมากในนมดิบจากวัวที่ติดเชื้อ และถ้ามีเชื้อจำนวน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากการพาสเจอร์ไรซ์ธรรมดาไม่สามารถกำจัดเชื้อได้หมด ซึ่งมีรายงานว่ามีคนตายถึง 29 เปอร์เซ็นต์ จากโรคนี้หลังจากกินนมพาสเจอร์ไรซ์ นอกจากนี้ยังมีคนตายถึง 90 คนจากการกินเนยแข็ง (Mexican style cheese) ที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อ *L. monocytogenes* ในกรณีหลังไม่ทราบว่านมที่นำมาทำเนยแข็งนั้นได้ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่ดีพอหรือไม่ แต่ทั้งสองกรณีก็แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *L. monocytogenes* สามารถแพร่กระจาย อาจเป็นไปได้ว่าเชื้อนั้นอยู่ในเซลล์เม็ดเลือดขาวที่อยู่ในนม จึงทำให้ทนความร้อนขนาดพาสเจอร์ไรซ์ได้

ผลจากการติดเชื้อ มากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เกิดสมองอักเสบโดยเฉพาะในคนไข้ที่เปลี่ยนไตเพราะคนไข้มีภูมิคุ้มกันต่ำ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ หลอดปัสสาวะอักเสบ เยื่อตาขาวอักเสบ และเกิดการแท้ง ส่วนใหญ่พบในทารกแรกเกิดอายุต่ำกว่า 4 สัปดาห์และในผู้สูงอายุ

อาการของโรค

1. โรคที่เกิดกับทารกแรกเกิด (neonatal listeriosis)

โรคที่เกิดกับทารกแรกเกิดมี 2 แบบ คือ โรคที่เป็นตั้งแต่เกิดโดยติดต่อผ่านรก เรียกว่า early onset disease และโรคที่เกิดตอนคลอดหรือหลังคลอด (late-onset disease)

1.1 แบบที่เป็นตั้งแต่เกิด (early onset listeriosis) เกิดจากการติดเชื้อจากมดลูกหรือช่องคลอดของมารดา ทำให้ติดเชื้อที่ทารกและรก การติดเชื้อแบบนี้อาจเรียกว่า granulomatosis infantiseptica การติดเชื้ออาจเป็นตั้งแต่อาการอ่อนๆจนถึงรุนแรง โดยอาจเกิดการแท้งและคลอดก่อนกำหนด ทารกที่ติดเชื้ออาจตายภายใน 2-3 วันหลังคลอด โดยมีอาการโลหิตเป็นพิษ (neonatal septicemia) ปอดบวม มีหนองและเนื้องอกเม็ดเล็กๆกระจายที่อวัยวะต่างๆ เช่นตับ หรือสมอง ตับโต ม้ามโต เยื่อบุช่องท้องอักเสบ ลำไส้อักเสบและโคลอนอักเสบ ทารกมีอัตราการตาย 15-50 เปอร์เซ็นต์

1.2 การติดเชื้อตอนคลอดหรือหลังคลอด (late-onset listeriosis) เกิดการติดเชื้อหลังจากคลอดแล้ว 2-3 สัปดาห์ โดยติดจากทารกคนอื่นหรือจากบุคลากรในโรงพยาบาล และอาจทำให้เกิดเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningitis) หรือสมองและเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningoencephalitis) และโลหิตเป็นพิษ (septicemia) ทารกมีอัตราการตาย 10-20 เปอร์เซ็นต์

2. การติดเชื้อในผู้ใหญ่

การติดเชื้อ *Listeria* ในผู้ใหญ่จะเกิดที่ระบบประสาทส่วนกลาง เกิดโลหิตเป็นพิษ และเยื่อบุหัวใจอักเสบ (endocarditis) กรณีที่เกิดมากที่สุดจะพบในคนไข้ที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน หรือได้รับการบำบัดด้วยรังสี และเกิดในผู้สูงอายุ อายุมากกว่า 60 ปีขึ้นไป การติดเชื้อที่ระบบประสาทส่วนกลาง จะทำให้เกิดเยื่อหุ้มสมองอักเสบซึ่งพบมากที่สุดในผู้ใหญ่ สารเกิดโลหิตเป็นพิษจะทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้มีไข้ หนาวสั่น ซึ่งมักพบในหญิงมีครรภ์ ในคนไข้ที่ภูมิคุ้มกันต่ำมากอาจถึงตายได้ ส่วนการเกิดเยื่อบุหัวใจอักเสบเป็นอาการแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นจาดการเกิดโลหิตเป็นพิษ

เชื้อนี้ค่อนข้างเป็นปรสิต ที่อยู่ภายในเซลล์ และเข้าสู่เซลล์โฮสต์ โดยวิธีเอนโดไซโทซิส (endocutosis) เชื่อว่ามีปัจจัยหลายชนิดที่ทำให้เชื้อมีความรุนแรงในการเกิดโรค ปัจจัยอย่างหนึ่งคือ ฮีโมไลซินที่เรียกว่า ลิสเทอโรไลซินโอ (listerolysin O) ซึ่งจะช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อที่อยู่ในเซลล์โฮสต์

การรักษา ป้องกัน และควบคุม

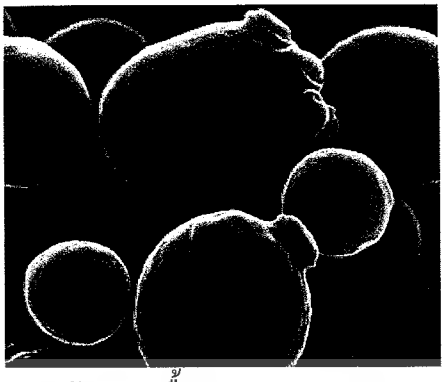
เชื้อ *L. monocytogenas* ไวต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด เช่น แอมพิซิลลิน เพนิซิลลิน เตตราไซคลิน คลอแรมเฟนิคอล อะมิโนไกลโคไซด์ และโค-ไตรมอกซาโซล เมื่อทดลองในหลอดแก้วมีคนไข้จำนวนมากที่รักษาได้ผลดีด้วยแอมพิซิลลินหรือเพนิเซลลินอย่างเดียว หรือใช้ร่วมกับอะมิโนไกลโคไซด์ โดยเฉพาะในคนไข้ที่มีความเสี่ยงสูง เช่น ทารกแรกเกิดและผู้ป่วยที่ภูมิคุ้มกันถูกกด ในคนไข้ที่แพ้เพนิซิลลินให้รักษาด้วยไตรเมโทพริม-ซัลฟาเมธอกซาโซล

2.5 ยีสต์ที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียของอาหาร (นงลักษณ์ และปรีชา, 2544 ; คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, 2548)

2.5.1 *Saccharomyces cerevisiae*

เป็น fungi มักอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ จัดเป็น Ascomycetes หรือยีสต์แท้ เซลล์รูปกลม รูปรีทรงกระบอก ไข่ มะนาว ลูกแพร์ หรือยาวดังแสดงในรูปที่ 2.13 *S. cerevisiae* จัดเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว (Unicellular) จึงสามารถนำมาใช้ศึกษาได้ง่ายกว่าสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ (Multicellular) เนื่องจากมีความซับซ้อนน้อยกว่า *S. cerevisiae* จัดเป็นยูคาริโอตเหมือนกับ พืชชั้นสูง (Higher plant) รา (Fungi) และสาหร่าย (Blue-green algae) ซึ่งมีความสามารถในการผลิตลิปิดได้สูง วิธีการขยายพันธ์นั้นมีการสืบพันธุ์ทั้งอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ แบบไม่มีเพศ คือขยายพันธุ์ด้วยการแตกหน่อภายใต้สภาวะแวดล้อมที่อำนวย เมื่อหน่อใหม่เจริญวัยจนเป็นยีสต์สมบูรณ์แล้ว มันก็จะแยกตัวออกไปเป็นยีสต์ต้นใหม่ต่อไป แบบอาศัยเพศ ด้วยการสร้างสปอร์ เกิดภายใต้สภาวะที่มีสารอาหารต่ำ ยีสต์ที่สามารถขยายพันธ์แบบมีเพศนั้น มีการสร้าง ascospores

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.13 ลักษณะเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

ที่มา : http://www.chateauneuf.dk/en/production/vinification.htm

ลักษณะทางชีวเคมีและสรีรวิทยา (Biochemistry and Physiology)

S. cerevisiae มีโครงสร้างของผนังเซลล์ที่ ผนังเซลล์ของ *S. cerevisiae* มีโครงสร้างทางเคมีเป็นลักษณะ bi-layered องค์ประกอบหลักของผนังเซลล์ประมาณ 85-90 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วย mannoprotein และ β-D glucan ซึ่งเป็นสารประกอบ polysaccharide ที่มีน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β 1, 3-linkage และ β 1,6-linkage การกำจัด mycotoxin ของยีสต์นั้น ตัว toxin จะถูกจับที่ผนังเซลล์ ไม่ได้เกิดจากกระบวนการ metabolism ภายในเซลล์

ความสำคัญ

1. ใช้ในการผลิตเครื่องดื่มแอลกลฮอล์ เช่น เบียร์ซึ่งเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักข้าวมอลต์ โดยไม่มีการกลั่น *S. cerevisiae* สามารถหมักรัฟฟีโนสได้เพียง 1 ใน 3 คือมีเฉพาะเอนไซม์อินเวอเตสสลายรัฟฟีโนสเมลิไบโอส และฟรุกโตสนอกจากนี้อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตจะอยู่ประมาณ 28-32 องศาเซลเซียสดังนั้นในการหมักลาเกอร์จะใช้อุณหภูมิต่ำกว่าคือ 6-15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-12 วัน ส่วนการหมักเอลใช้อุณหภูมิ 18-22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน

2. ใช้ผลิตอาหารโปรตีน

3. ใช้ในการผลิตยีสต์ขนมปัง ยีสต์ขนมปังมี 2 แบบคือยีสต์สด ซึ่งมีความชื้นประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ ต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ และยีสต์แห้งความชื้นประมาณ 7.5 - 8.5 เปอร์เซ็นต์ ยีสต์แบบนี้สามารถเก็บไว้ได้นานและไม่จำเป็นต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ

4. ใช้ในการผลิตเอนไซม์และกรดอะมิโน ใช้ในการผลิตเอนไซม์อินเวอเตส หรือซูเครส ซึ่งใช้ในอุตสาหกรรมทำลูกกวาด ทำน้ำผึ้งสังเคราะห์ ทำช็อกโกแลต ใช้ในการผลิตไลซีน ซึ่งใช้เติมในแป้งสาลีสำหรับทำขนมปัง

5. มีบทบาทในการหมักโอกิ อาหารหมักของไนจีเรีย แอฟริกาตะวันตกที่ทำจากข้าวโพด

6. ทำให้เครื่องดื่มไม่มีแอลกอฮอล์เน่าเสีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณสมบัติและลักษณะทางอุตสาหกรรม

มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เป็นต้นว่าการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดต่าง ๆ เช่น เบียร์ ไวน์ และ วิสกี้ การผลิตเอธิลแอลกอฮอล์เพื่อใช้เป็นสารเคมีและเชื้อเพลิง การผลิตเซลล์ยีสต์ เพื่อใช้เป็นยีสต์ขนมปังและเป็นโปรตีนเซลล์เดียว

แหล่งอาศัยและนิเวศวิทยา (Habitat and Ecology)

แหล่งที่พบ *S. cerevisiae* อยู่บ่อย ๆ คือแหล่งที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูง เช่น น้ำผลไม้ น้ำผึ้ง และผลไม้ที่มีรสหวาน

เนื่องจาก *S. cerevisiae* สามารถนำไปใช้ในการรักษา แผลที่เกิดจากไฟไหม้ (burns) อาการบวมของริดสีดวงทวาร (hemorrhoids) และการเกิดบาดแผลต่างๆ (wounds) ได้ดี มีการนำ *S. cerevisiae* มาใช้ในการรักษาผิวหน้าได้เช่นกัน จะช่วยรักษาโรคท้องร่วง (diarrhea) และควบคุมรักษาระดับคลอเลสเตอรอล (controlling cholesterol levels) ได้

การเน่าเสียที่เกิดจาก *Saccharomyces cerevisiae*

1. เจริญบนผิวหน้าอาหารเหลวทำให้มีลักษณะเป็นฟิล์ม
2. ทำให้เกิดจุดสี เช่น สีเหลือง ส้ม บนอาหารจำพวกเนื้อสัตว์และผลไม้
3. ทำให้น้ำผลไม้เสีย มีกลิ่นของแอลกอฮอล์
4. *S. cerevisiae* สามารถเจริญได้ในอาหารที่มี a_w ต่ำ เช่น น้ำเชื่อม นมข้น แยม ผลไม้แช่อิ่ม น้ำผึ้ง ซึ่งสามารถทำให้อาหารเหล่านี้เน่าเสียได้

2.4.2 *Zygosaccharomyces rouxii*

เป็นยีสต์ที่จัดอยู่ใน Ascomycetes หรือยีสต์แท้ เซลล์รูปกลม รูปรีทรงกลม ไข่ ลูกแพร์ หรือยาว ดังแสดงในรูปที่ 2.14 มีลักษณะคล้าย *Saccharomyces* มีการสืบพันธุ์ทั้งอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ แบบไม่มีเพศ คือขยายพันธุ์ด้วยการแตกหน่อจากภายใต้สภาวะแวดล้อมที่อำนวย เมื่อหน่อใหม่เจริญวัยจนเป็นยีสต์สมบูรณ์แล้ว มันก็จะแยกตัวออกไปเป็นยีสต์ต้นใหม่ การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยการสร้างสปอร์ เกิดภายใต้สภาวะที่มีสารอาหารต่ำ ยีสต์ที่สามารถขยายพันธุ์แบบมีเพศนั้น มีการสร้าง ascospores ยีสต์ชนิดนนี้ เป็นยีสต์ที่ทนเค็ม หรือสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มี pH สูง จึงเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารหมักดองเน่าเสีย เช่น ปลาเค็ม กะปิ ซีอิ๊ว น้ำปลา เป็นต้น โดยจะทำให้อาหารดังกล่าวสูญเสียรสชาติที่เป็นที่ต้องการไป *Z. rouxii* สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ไม่ดีนัก สามารถผลิตได้ในปริมาณที่ต่ำกว่ามากเมื่อเทียบกับ *S. cerevisiae* และยังสามารถเจริญได้ในอาหารที่มี a_w ต่ำ เช่น กากน้ำตาล น้ำผึ้ง ทำให้เกิดการเน่าเสียได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.14 ลักษณะเชื้อ *Zygosaccharomyces rouxii*

ที่มา : http://envis.kuenvbiotech.org/yeast.htm

2.6 ยาปฏิชีวนะ (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2548)

ยาปฏิชีวนะมีทั้งรูปกินและรูปฉีด ยารูปกินมักมีอัตราการเอื้อประโยชน์ไม่สูงนัก นั่นคือ ยามักไม่ถูกดูดซึมจากกระเพาะอาหารและลำไส้ได้สมบูรณ์ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาไม่พึงประสงค์สำคัญ 2 ประการคือ อาการทางระบบทางเดินอาหาร เช่น คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อุจจาระเหลว หรืออุจจาระร่วง และการเปลี่ยนแปลงทางนิเวศวิทยาของเชื้อในลำไส้ ยารูปฉีดนิยมใช้โดยการฉีดหรือหยดเข้าหลอดเลือดดำมากกว่าจะใช้ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ยาปฏิชีวนะมีการกระจายเข้าสู่เนื้อเยื่อ 2 แบบ คือ แบบกระจายเข้าสู่เนื้อเยื่อนอกเซลล์ และแบบกระจายเข้าสู่เซลล์ ซึ่งนับเป็นแนวคิด และการค้นพบใหม่เกี่ยวกับการซึมผ่านเนื้อเยื่อของยาปฏิชีวนะ และจะก่อให้เกิดผลทางคลินิกต่างกัน ยาปฏิชีวนะถูกขจัดจากร่างกาย 2 วิธีคือ ทางไต และทางอื่นที่ไม่ใช่ไต ยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่ถูกขจัดทางไต และมักจะมีสัดส่วนของ tubular secretion อยู่ด้วย ยาปฏิชีวนะที่ถูกกำจัดทางไตเป็นกลุ่มละลายน้ำได้ดี (water soluble) ซึ่งรวมถึงยากลุ่ม ß-Lactam ส่วนใหญ่ ยากลุ่ม Aminoglycosides ยาปฏิชีวนะที่มีการขจัดจากร่างกายทางอื่นที่ไม่ใช่ไต จะเกิดโดยมีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งมักเกิดขึ้นที่ตับทำให้เป็นรูปที่ละลายน้ำได้และไม่ออกฤทธิ์ โดยยาปฏิชีวนะแบ่งออกได้เป็นกลุ่ม ๆ ดังนี้

1. Betalactams

Lactam เป็นชื่อเรียกสารประกอบที่มี amide อยู่ภายในส่วนของโครงสร้างที่เป็นวงแหวน ยาในกลุ่มนี้สามารถแยกประเภทได้โดยอาศัยสูตรโครงสร้างทางเคมี และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่แตกต่างกันออกเป็น กลุ่มย่อยดังนี้

1.1 ยาปฏิชีวนะกลุ่มเพนิซิลลิน (Penicillins)

Penicillins มีฤทธิ์เป็น bactericidal คือ สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ โดยออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรียในขั้นตอนสุดท้าย โดยยับยั้งปฏิกิริยา transpeptidation ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดการเชื่อมกันระหว่างสาย peptidoglycan การที่ Penicillins สามารถยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยานี้ได้เนื่องจากสามารถทำปฏิกิริยา acylation กับเอนไซม์ D alanine transpeptidase ของแบคทีเรีย ซึ่งส่งผลต่อรูปร่างของแบคทีเรียให้มีการเปลี่ยนแปลงไป และในที่สุดทำให้เซลล์แบคทีเรียตายได้

1.2 ยาปฏิชีวนะกลุ่มเซฟาโรสปอริน (Cephalosporins)

Cephalosporins ถูกจัดแยกออกเป็นรุ่น โดยพิจารณาจากขอบเขตการออกฤทธิ์ของยาเป็นหลัก โดยเฉพาะฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมลบ ปัจจุบัน Cephalosporins ถูกแบ่งออกเป็นรุ่นทั้งหมด 4 รุ่น ดังนี้

Cephalosporins รุ่นที่ 1 มีลักษณะคล้าย penicillins รุ่นแรก ๆ ในด้านขอบเขตของการออกฤทธิ์ คือต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกชนิด cocci เช่น staphylococci และ streptococci ได้ดี แต่มีขอบเขตจำกัดกับพวกแบคทีเรียแกรมลบ

Cephalosporins รุ่นที่ 2 มีขอบเขตการออกฤทธิ์กว้างกว่ารุ่นแรก สามารถใช้ได้กับเชื้อ *serratia , neisseria* และ *haemophilus* ได้ แต่ไม่ออกฤทธิ์กับ *P. aeruginosa*

Cephalosporins รุ่นที่ 3 มีขอบเขตการออกฤทธิ์กว้างกว่ารุ่นที่ 1 และรุ่นที่ 2 มีฤทธิ์ของยาต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นยังมีความทนต่อเอนไซม์ ß-Lactamase ยาที่เป็นที่รู้จักกันมากได้แก่ cefotaxime, ceftizoxime, ceftazidime และ cetiazone ยากลุ่มนี้ออกฤทธิ์ได้ดีทั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบส่วนใหญ่ แม้ว่าฤทธิ์ต่อแกรมบวกจะไม่ได้เพิ่มขึ้นเด่นชัดเท่ากับแกรมลบ และยังสามารถใช้ได้กับ *P. aeruginosa*

Cephalosporins รุ่นที่ 4 เป็น Cephalosporins ที่ออกฤทธิ์ได้ดีกับเชื้อ *Enterobacteriaceae* โดยถึงเชื้อที่สร้างเอนไซม์ cephalosporinase ได้ สามารถต้านเชื้อ *P. aeruginosa , S. aureus*

การจัดกลุ่มแบบนี้มีข้อเสียคือ มีการคาบเกี่ยวของยาค่อนข้างมาก อาจสร้างความสับสนในการเลือกใช้ยาได้

2. Aminoglycosides

ยาในกลุ่ม Aminoglycosides ที่ใช้ทางคลินิก ได้แก่ Streptomycin, Kanamycin, Neomycin, Gentamicin, Tobramycin, Netilmicin และ Amikacin ยาในกลุ่ม Aminoglycosides มีลักษณะสำคัญ 3 ประการคือ

1) เป็นยาที่มีการดัดแปลงสูตรโครงสร้างยากจึงมีเพียงไม่กี่ชนิด

2) มีฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบเป็นสำคัญ

3) มีพิษต่อไตและหูได้ง่าย เนื่องจากส่วนสำคัญในโครงสร้างของยามีผลทั้งการออกฤทธิ์และเกิดพิษ แต่พิษจะมากหรือน้อยขึ้นกับการบริหารยาที่ถูกวิธี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะพื้นฐาน

ยากลุ่ม Aminoglycosides ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีนของแบคทีเรียที่ส่วน30S subunit ของ ribosome ของแบคทีเรีย ยานี้จะออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (bactericidal) เมื่อมีความเข้มข้นสูง แต่จะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ (bacteristatic) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ

ยากลุ่ม Aminoglycosides ได้แก่ Gentamicin, Tobramycin, Netilmicin และ Amikacin มีฤทธิ์ครอบคลุมเชื้อแบคทีเรียรูปแท่งแกรมลบกลุ่ม Enterobacteriaceae ได้ดีมาก นอกจากนั้น ยายังมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* sp. และเชื้อกลุ่ม non-fermenter ตัวอื่น ๆ อย่างไรก็ตาม ยานี้ไม่มีฤทธิ์ต่อเชื้อ *P. pseudomallei* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียทรงแท่งแกรมลบที่สำคัญในประเทศไทย นอกจากนั้น Aminoglycosides ยังมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *S. aureus* แต่ยากลุ่มนี้ไม่ใช่ยาเลือกตัวแรกสำหรับโรคที่ติดเชื้อนี้ ยานี้ยังออกฤทธิ์ดีต่อเชื้อ *Enterococcus* sp. ซึ่งต้องใช้ร่วมกับ Ampicillin หรือ Penicillin และมีฤทธิ์ต่อเชื้อ *Neisseria* sp. ด้วย แต่ไม่ใช่เป็นยาเลือกตัวแรกในการรักษาโรคติดเชื้อจากเชื้อนี้ การใช้ยาในกลุ่ม Aminoglycosides มักไม่ค่อยได้ผลต่อเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน ยาบางตัวในกลุ่มนี้ เช่น Streptomycin และ Kanamycin ใช้ได้ผลดีต่อเชื้อ *M. tuberculosis* ส่วน Amikacin ใช้ได้กับ *Nocardia asteroides* และ MOTT bacilli (atypical mycobacterium) บางตัว เป็นต้น

การใช้ที่เหมาะสมทางคลินิกของยากลุ่ม Aminoglycosides

1. โรคติดเชื้อจากแบคทีเรียทรงแกรมลบ เช่น โรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะส่วนบน

2. การติดเชื้อมากกว่า 1 ชนิด (mixed infection) ที่มีส่วนประกอบเป็นเชื้อแบคทีเรียทรงแท่งแกรมลบ เช่น การติดเชื้อในช่องท้อง การติดเชื้อในอุ้งเชิงกราน การติดเชื้อในทางเดินน้ำดี และการติดเชื้อที่ชั้นลึกใต้ผิวหนัง

3. การติดเชื้อในโรงพยาบาล โดยเฉพาะเชื้อกลุ่ม non-fermenter

4. ใช้เป็นยาร่วมที่สำคัญในการรักษาโรคติดเชื้อ *P. aeruginosa* และ *Enterococcus*

5. การรักษาแบบ empiric ในภาวะ febrile granulocytopenia

3. Fluoroquinolone compounds

ยาปฏิชีวนะกลุ่มฟลูออโรควิโนโลนมีคุณสมบัติแตกต่างจากยาปฏิชีวนะกลุ่มอื่น ดังนี้

1. ยากลุ่มฟลูออโรควิโนโลนที่มีใช้ในทางคลินิกในปัจจุบันถือว่าเป็นยาที่มีฤทธิ์แรงมาก (highly potent) ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบทุกชนิด

2. ยามีกลไกการออกฤทธิ์และการฆ่าเชื้อที่ซับซ้อน และยังศึกษาไม่ได้สมบูรณ์แต่ได้รับการนำมาใช้ทางคลินิกอย่างแพร่หลายแล้ว เป็นตัวอย่างหนึ่งของความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีที่นำความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์ ซึ่งอาจเกิดผลเสียได้ในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ยามีปฏิกิริยาไม่พึงประสงค์ค่อนข้างมากและมีปฏิกิริยาไม่พึงประสงค์ที่รุนแรง (serious) หลายอย่าง นับว่ายากลุ่มนี้มีทั้งผลดี (effectiveness) ในการรักษาโรคติดเชื้อที่ไม่ยิ่งหย่อนไปกว่าผลเสีย

ยากลุ่มฟลูออโรควิโนโลนที่มีในประทศไทย คือ norfloxacin, ofloxacin, pefloxacin, ciprofloxacin และ fleroxacin

ลักษณะพื้นฐาน

ยากลุ่มฟลูออโรควิโนโลนออกฤทธิ์โดยการยับยั้งเอนไซม์ DNA gyrase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการเปลี่ยนรูปของ DNA ของแบคทีเรีย ฟลูออโรควิโนโลนเป็นยาสำคัญที่มีฤทธิ์ครอบคลุมเชื้อแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อน เชื้อแบคทีเรียแกรมลบตั้งแต่ *Neisseria* sp., *H. influenzae* เชื้อกลุ่ม Enterobacteriaceae รวมทั้งเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ cephalosporinase ไวต่อยามาก เชื้อ *P. aeruginosa, Acinetobacter* และ non fermenter ไวต่อยาด้วย ส่วนเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก คือ *S. aureus,* MRSA, *S. epidermidis* และ *Enterococcus* ไวต่อยาปานกลาง ไม่ควรเลือกใช้ยากลุ่มฟลูออโรควิโนโลนเป็นยาตัวแรกหรือยาแทน ในการรักษาโรคติดเชื้อแกรมบวก เพราะจะมีการดื้อยาเกิดขึ้นเร็วมากเป็นแบบการกลายพันธุ์ขั้นเดียว (single step mutation)

4. ยาปฏิชีวนะตัวอื่น ๆ (Other antimicrobial agent) เช่น

4.1 Tertracyclines

ยาปฏิชีวนะกลุ่ม Tertracyclines แบ่งเป็น

1. กลุ่มออกฤทธิ์สั้น (ระยะครึ่งชีวิต 6-9 ชั่วโมง) ได้แก่ tetracycline HCl, oxytetracycline, chlortracycline

2. กลุ่มออกฤทธิ์ปานกลาง (ระยะครึ่งชีวิต 12-14 ชั่วโมง) ได้แก่ methacycline และ demeclocycline

3. กลุ่มออกฤทธิ์ยาว (ระยะครึ่งชีวิต 16 -18 ชั่วโมง) ได้แก่ doxycycline, minocycline

4.2 Sulfamethuxazole trimethoprim (SMX TEM)

SMX TEM เป็นยารวมชนิดที่มีขนาดคงที่ที่ได้รับความนิยมแพร่หลายและมีการใช้ยานี้เกินข้อบ่งชี้อย่างมากที่สุดตัวหนึ่งในประเทศไทย คุณสมบัติที่สำคัญของยา SMX TEM ที่ยังไม่เป็นที่ทราบกันดีนักดังนี้คือ

1. การนำ SMX TEM มารวมกันจะเสริมฤทธิ์กันและทำให้ยามีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ แต่ไม่ได้ป้องกันการดื้อยาของเชื้อต่อยาแต่ละชนิด เชื้อแบคทีเรียมีความสามารถในการดื้อต่อยาทั้ง 2 ชนิดได้รวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การเสริมฤทธิ์กันของ SMX และ TEM สามารถเกิดได้ในอัตราส่วนของ SMX : TEM ตั้งแต่ 1 : 1 ถึง 1 : 40 ดังนั้น ระดับยาที่อาจไม่เท่ากันในเนื้อเยื่อต่าง ๆ จึงยังอาจทำให้มีการเสริมฤทธิ์หลงเหลืออยู่ ยาจะไม่มีผลเสริมฤทธิ์กันได้เมื่อเชื้อดื้อต่อ TEM ถึงแม้จะไวต่อ SMX

3. ยารูปฉีดไม่ได้ทำให้ระดับใน serum สูงกว่ายารูปกิน ดังนั้น ถ้ามีการดูดซึมยาเป็นปกติ ไม่จำเป็นต้องใช้ยารูปฉีด

4. ในปัจจุบันพบปฏิกิริยาไม่พึงประสงค์ต่อยาเพิ่มขึ้น อาจเกิดจากการใช้ยามากขึ้นหรือเกิดจากการใช้ยาในผู้ป่วยเอดส์

SMX TEM มีฤทธิ์ครอบคลุมเชื้อ *S. aureus,* MRSA และประมาณร้อยละ 50 ของเชื้อ Enterobacteriaceae ที่ดื้อต่อยา

คุณสมบัติที่ดีของยาปฏิชีวนะ (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2544)

ยาปฏิชีวนะ หรือ สารปฏิชีวนะ (antibiotic) เป็นยารักษาโรคที่ได้จากสิ่งมีชีวิตหรือสังเคราะห์ได้จากห้องปฏิบัติการ ซึ่งเป็นผลผลิตที่ได้จากเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง และมีผลในการทำลายหรือยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นโดยใช้ในปริมาณเล็กน้อยเท่านั้น

คุณสมบัติที่ดีของยาปฏิชีวนะที่เหมาะในการใช้เป็นยารักษาโรค

1. สามารถทำลายหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้หลายชนิดที่เรียกว่า มีขอบข่ายการออกฤทธิ์กว้าง (broad-spectrum antibiotics)

2. ไม่ทำให้ปรสิตเกิดการต้านต่อยาหรือเกิดการผ่าเหล่า

3. ไม่ทำให้เกิดผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์กับโฮสต์ เช่น ไม่ทำให้แพ้ยาหรือเกิดการระคายเคืองกับระบบทางเดินอาหาร หรือไต ไม่ทำอันตรายต่อระบบประสาทเป็นต้น

4. ไม่ทำลายจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามปกติในร่างกายโฮสต์ เพราะจะทำให้เสียสมดุลธรรมชาติ ทำให้เกิดการติดเชื้อจากจุลินทรีย์อื่นๆที่ไม่ทำให้เกิดโรคหรือจากเชื้อโรคอื่นๆ

5. สามารถเข้าสู่ร่างกายด้วยวิธีการต่างๆ โดยเฉพาะทั้งการฉีดและกิน

6. มีราคาถูก และสามารถผลิตได้ง่าย

7. ไม่ก่อหรือเหนี่ยวนำให้เกิดการดื้อยา หรือเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งในภายหลัง

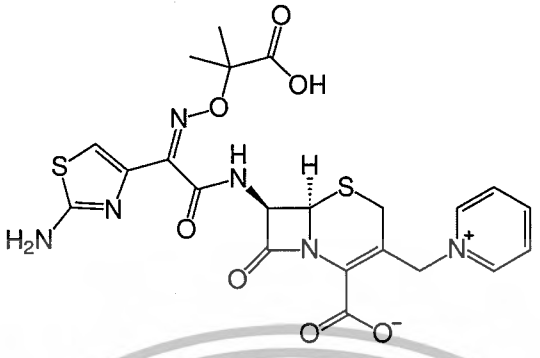
8. มีการดูดซึมและการกระจายตัวในร่างกายดี

ความไวต่อเชื้อจุลินทรีย์ต่อสารปฏิชีวนะ

นงลักษณ์ และปรีชา (2544) กล่าวไว้ว่า การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารปฏิชีวนะอาจทำได้หลายวิธี แต่วิธีที่ใช้กันมากที่สุดคือ วิธีทำในจานเพาะเชื้อ (disk-plate technique หรือ Single disk method) โดยพับกระดาษซับที่ตัดเป็นแผ่นกลมเล็กๆ ที่ชุบตัวยาที่ทราบปริมาณจะนำมาวางบนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นแล้วจะเกิดบริเวณโซนใส (Inhibition zone) รอบๆกระดาษซับที่มีตัวยาซึ่งซึมหรือแพร่กระจายออกไปในอาหารที่มีเชื้อนั้น วิธีการนี้โดยทั่วไปมักทำการทดสอบยา

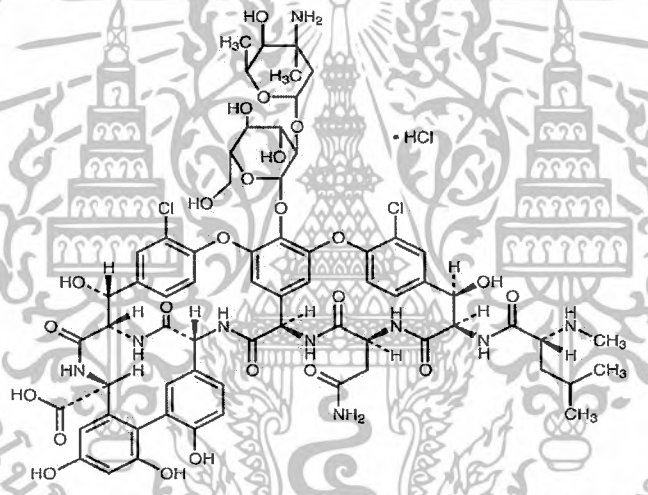
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพียงความเข้มข้นเดียว แล้วดูดขนาดบริเวณใสที่เกิดขึ้นเพราะขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสที่ได้พบว่าเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวของเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ



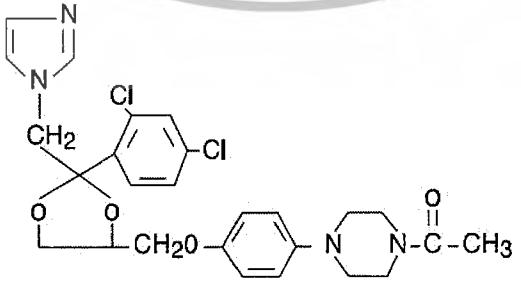
รูปที่ 2.15 ลักษณะสูตรโครงสร้างของยาปฏิชีวนะ ceftazidime

ที่มา : http://www.answers.com/topic/ceftazidime



รูปที่ 2.16 ลักษณะสูตรโครงสร้างของยาปฏิชีวนะ vancomycin

ที่มา : http://sitemaker.umich.edu/mc13/vancomycin



รูปที่ 2.17 ลักษณะสูตรโครงสร้างของยาปฏิชีวนะ ketoconazole

ที่มา : http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/fda/fdaDrugXsl.cfm?id=2653&type=display

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สิริพร และคณะ (2539) ได้ทดสอบความสามารถของเครื่องเทศและสมุนไพรในการยับยั้งการ เติบโตของจุลินทรีย์ปนเปื้อนในอาหาร ได้แก่ *Listeria monocytogenes* , *E.coli* O157:H7 และ *Yersinia enterocolotica* พบกานพลูมีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเติบโตของเบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้ สารสกัดใบพลูสามารถยับยั้งการเติบโตของ *E. coli* O157:H7 ได้ดีที่สุด ในขณะสารสกัดจากเปลือกทับทิมสามารถยับยั้งการเจริญของ *Listeria monocytogenes* จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิพบว่าที่ 35 องศาเซลเซียส ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตจะดีกว่าที่ 4 องศาเซลเซียสและประสิทธิภาพจะดีขึ้นถ้าเพิ่มความเข้มข้น

สุชาดา และคณะ (2549) ทำการสกัดสารจากเปลือกผลไม้ตระกูลส้ม ได้แก่ มะกรูด มะนาว และส้มโอ มาศึกษาหาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ โดยใช้ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย ทำการทดสอบด้วยวิธี agar dilution โดยทำการทดสอบกับเชื้อก่อโรค 3 ชนิดคือ *Bacillus cereu, Salmonella* Typhi และ *Staphylococcus aureus* ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าส่วนของสารสกัดจากเปลือกสดของเปลือกผลไม้ตระกูลส้มที่นำมาศึกษาทุกตัว ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อทั้งสามชนิดที่นำมาศึกษา และพบว่าน้ำมันสกัดจากเปลือกพืชตระกูลส้มที่นำมาศึกษาทุกชนิดแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *Bacillus cereus* ในระดับสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำมันสกัดจากเปลือกมะกรูด แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อสูงกว่ายาปฏิชีวนะ Chloramphenicol ในความเข้มข้น 30 มิลลิกรัม ที่นำมาใช้เป็นตัวควบคุม และน้ำมันสกัดจากเปลือกพืชตระกูลส้มที่นำมาศึกษาทุกชนิดแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ในระดับกลางและน้ำมันสกัดทุกตัวไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *Salmonella* Typhi ผลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าน้ำมันสกัดจากเปลือกพืชตระกูลส้ม ที่นำมาศึกษาทุกชนิดมีศักยภาพสูงในการต้านเชื้อก่อโรคทางเดินอาหารและโรคติดเชื้อชนิดที่นำมาศึกษาสองชนิดคือ *B. cereus* และ *S. aureus*

สุพัตตา และคณะ (2549) ได้ศึกษาสารสกัดจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่ปลูกทางภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ รากและใบของ Burdock (*Arctium lappa* Linn.) มาทำการพัฒนาตำรับเครื่องสำอางที่ใช้ในการรักษาสิว โดยทำการสกัดด้วย เมทานอล เอทิลอะซิเตต และ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มาทำการทดสอบด้วยวิธี agar diffusion โดยใช้แบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดที่ได้จากรากและใบ มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Arias และ Laca (2005) ทำการศึกษาสารประกอบต่างๆในมะนาว (*Citrus auantiifolia* Swingle), เลมอน (*Citrus limon* Osbeck), ส้มบีตเตอร์ (*Citrus aurantium* L.) และส้มโอ (*Citrus maxima* Merr.) แล้วมาทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย ด้วยวิธี agar diffusion พบว่า มะนาว มีฤทธิ์ในการต้าน *Staphylococcus aureus* และ *E. coli* น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากส้มโอ มีฤทธิ์ในการต้าน *Staphylococcus aureus* และ *E. coli* และเลมอนมีฤทธิ์ในการต้านยีสต์ *Puccinia arachidis* ได้

Benkeblia (2004) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกระเทียม (Allium sativum) และหอม (Allium cepa) ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิดคือ *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Enteritidis และเชื้อรา 3 ชนิด คือ *Aspergillus niger*, *Penicillium cyclopium, Fusarium oxysporum* กระเทียมแสดงให้เห็นว่ามีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรีย ส่วนต้นหอมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำที่สุด เมื่อนำผลทั้งหมดมาเปรียบเทียบกันน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากหอมที่ความเข้มข้น 50 และ100 มิลลิลิตรต่อลิตร ยับยั้งได้น้อยกว่าที่ความเข้มข้นสูง 200 300 และ 500 มิลลิลิตรต่อลิตร แต่ทว่ากระเทียมมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งทุกความเข้มข้น เชื้อ *S. aureus* มีความ sensitive น้อยต่อน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ ซึ่งหอมแดงและกระเทียมสามารถยับยั้ง *S.* Enteritidis ได้อย่างดี ส่วนเชื้อรา *F. oysporum* มีความทนต่อน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้

Fisher และ Phillip (2006) ได้ทำการศึกษามะนาว ส้มบีตเตอร์ และมะกรูด พบว่ามีส่วนประกอบของ linalool และ citral แต่ไม่มี limonene ซึ่งสารที่พบดังกล่าวมีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรีย *Campylobacter jejuni*, *E. coli* O157, *L. monocytogenes*, *B. cereus* และ *S. aureus* ซึ่งมีค่า MIC เป็นที่ยอมรับในห้องปฏิบัติการว่า มะกรูด 0.125-1 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) linalool 0.125-0.6 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) และ citral 0.03-0.06 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ให้ผลเป็นที่น่าพอใจกันการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว

Gachkar และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์จากน้ำมันหอมระเหยของยี่หร่า (*Cuminum cyminum*) และโรสแม่รี่ (*Rosmarinus officinalis*) พบว่าน้ำมันหอมระเหยของยี่หร่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* มีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) มากที่สุด

Giamperic และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาต้านสารอนุมูลอิสระในเปลือกเกรปฟรุ๊ต (*Citrus paradise*) โดยใช้ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบด้วยวิธี DPPH , 5-lipoxygenase , luminal /xanthine /xanthine oxidase chemiluminescence พบว่าสารสกัดที่ได้จากเปลือกเกรปฟรุ๊ตมีสารต้านอนุมูลอิสระสูง โดยจะมีค่าสูงสุดเมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี DPPH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kim และ คณะ (1995) ได้ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหย 11 ชนิด ในการยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* and *Vibrio vulnificus* ที่ระดับความเข้มข้น 5 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ 1 เปอร์เซ็นต์ Tween 20 เป็นตัวทำละลาย ทำการศึกษาด้วยวิธี paper disk ผลการทดสอบปรากฏว่า ส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหย 8 ชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้ง และฆ่าเชื้อ *V. vulnificus* ได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารตัวอื่นๆ และ carvacrol แสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียมากที่สุด ส่วน limonene, nerolidol และ β-ionone ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง ส่วน carvacrol มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *S. typhimurium* และ *V. vulnificus* ที่ระดับความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน citrol และ perillaldehyde มีฤทธิ์ในการฆ่า (MBC) *V. vulnificus* ที่ความเข้มข้น 100-250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน terpineol และ linalool มีฤทธิ์ในฆ่าเชื้อแบคทีเรียน้อยที่ระดับความเข้มข้นสูง 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร citrol, geraniol และ perillaldehyde ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S. typhimurium* ได้ ในขณะที่ citronellal ที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถฆ่าเชื้อ *V. vulnificus* ได้

Khan และคณะ (2003) ได้ศึกษาถึงฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากพืช *Artocarpus heterophyllus* โดยการแยกสารที่สกัดได้ออกเป็นส่วนที่ละลายในสารละลายที่มีคุณสมบัติของความเป็นขั้วแตกต่างกัน ได้แก่ petro dichloromethane , ethyl acetate และ butanol ซึ่งจากการทดสอบวิธี disk diffusion พบว่าสารสกัดที่ละลายอยู่ในส่วนของ butanol ที่ได้จากส่วนผลและราก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียมากที่สุด

Owen และ Palombo (2007) ทำการศึกษาพืชพื้นเมืองในประเทศออสเตรเลียที่มีคุณสมบัติทางยา จำนวน 2 ชนิด คือ *Eremophila alternifolia* และ *Eremophila duttonii* ต่อความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร *Listeria monocytogenes* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค ลิสเตอริโอซิส (Listeriosis) โดยอาหารที่นำมาวิเคราะห์ ได้แก่ นมไขมันเต็ม นมขาดมันเนย ไส้กรอกอิตาลีชนิดหนึ่งที่ใส่กระเทียม (Salami) ขนมปิ้งปาเต้ (Paté ; ประกอบด้วยตับ เนื้อ เนื้อปลา และอื่นๆ) และ บรีชีส (Brie cheese) พบว่าสารสกัดในชั้นเอทานอลของพืชดังกล่าว มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *L. monocytogenes* ในอาหาร ที่อุณหภูมิ 4 และ 37 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามสารที่พบในอาหารว่าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้นั้น จำต้องใช้ความเข้มข้นปริมาณสูงในการควบคุมการเจริญของแบคทีเรีย การตรวจสอบในเบื้องต้นทำให้เราได้ทราบว่า สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดนั้น ส่วนใหญ่เป็นสารจำพวกเทอร์ปีนหรือสเตอรอล งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า สารอนุพันธ์จากพืชธรรมชาติที่มีคุณสมบัติทางยา มีประสิทธิภาพในการใช้เป็นสารถนอมอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Phongmanee และ Sanampol (2007) ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำคั้นสด โดยทำการสกัดสารด้วยไอน้ำ และ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ จากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้านจำนวน 24 ชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร 2 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhimurium* พบว่า สารสกัดด้วยไอน้ำของผักแขยง (*Limnophilaaromatica* Merr.) สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้มากที่สุด โดยมีขนาดโซนใส 9.5 มม. ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และน้ำคั้นสดของกระถิน (*Leucaena leucocephala (Lam.)* de Wit.) สารสกัดด้วย เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ จากกวางตุ้ง (*Brassica chinensis* L.) และใบแค (*Sesbania grandiflora* (L.) Deav.) มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Salmonella typhimurium* มากที่สุด โดยมีขนาดโซนใส 8.0 มม. ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

Yano และคณะ (2006) ได้ศึกษาฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์จากพืชสมุนไพร 18 ชนิด ต่อเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* โดยพบว่าพืชสมุนไพร 7 ชนิด ได้แก่ โหระพา กานพลู กระเทียม ฮอสแรดิช มาร์โจแรม ออริกาโน และ โรสแมรี่ จากสมุนไพรทั้งหมด 18 ชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *V. parahaemolyticus* ได้ โดยทำการบ่มในอุณหภูมิที่ 5 และ 30 องศาเซลเซียส

Yi และคณะ (2008) ได้ศึกษาสารประกอบในพืชตระกูลส้ม พบว่าในพืชตระกูลส้มมีสารที่สำคัญที่ชื่อว่า hesperidin ซึ่งจากการศึกษาการยับยั้งการเจริยของเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด ปรากฏว่าสาร hesperidin ที่ได้จากเปลือกพืชตระกูลส้ม สามารถยับยั้ง *E. coli*, *S.* Typhi ได้ที่ระดับความเข้มข้น 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อีกทั้งยับยั้ง *Enterococcus faecalis* และ *S. epidermidis* ได้ที่ระดับความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และยังยั้ง *S. aureus* ได้ที่ระดับความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

ส้มโอ *Citrus maxima* Merr. พันธุ์ขาวใหญ่ จากอำเภออัมพวา จังหวัดสมุทรสงคราม และส้มโอพันธุ์ทองดี จากอำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม

3.1.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.2.1 สารเคมี

1. เฮกเซน (Commercial grade)
2. เอธิลอะซิเตท (Commercial grade)
3. เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ (Commercial grade)
4. Barium chloride ($BaCl_2$)
5. Sulfuric acid (H_2SO_4)
6. Dimethyl sulfoxide (DMSO)

3.1.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Mueller Hinton Agar (MHA; Merck)
2. Sabouraud Dextrose Agar (SDA; Merck)
3. Nutrient Agar (NA)
4. Potato Dextrose Agar (PDA)

3.1.2.3 ยาปฏิชีวนะ

1. แวนโคมัยซิน (Vancomycin) ชนิดผง จากบริษัท โนวาร์ตีส จำกัด
2. เซฟตะซิดีม (Ceftazidime) ชนิดผง จากบริษัท สยามฟาร์มาซูติคอล จำกัด
3. คีโตโคนาโซล (Ketoconazole) ชนิดเม็ด จากบริษัท โปลิฟาร์ม จำกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ	ยาปฏิชีวนะที่ใช้
Bacillus cereus	แวนโคมัยซิน
Bacillus subtilis	แวนโคมัยซิน
Listeria monocytogenes	แวนโคมัยซิน
Staphylococcus aureus	แวนโคมัยซิน
Escherichia coli	เซฟตะซิดีม
Pseudomonas aeruginosa	เซฟตะซิดีม
Salmonella enterica subsp. *Enterica* serovar Typhimurium (*Salmonella typhimurium*)	เซฟตะซิดีม
Saccharomyces cerevisiae	คีโตโคนาโซล
Zygosaccharomyces rouxii	คีโตโคนาโซล

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1 เครื่องบดอาหารแห้ง (blender)

3.2.2 เครื่องชั่งน้ำหนัก สี่ตำแหน่ง (balance) ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น AG204

3.2.3 ชุดกรองสุญญากาศ (vacuum funnel) ยี่ห้อ Gast manufacturing INCรุ่น 0523-101Q-G588DX

3.2.4 เครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ (rotary evaporator) ยี่ห้อ Buchi รุ่น V-800

3.2.5 แผ่นทดสอบ (paper disc) Whatman เบอร์ 1 เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

3.2.6 เครื่องเขย่า (shaker) ยี่ห้อ Platform Gallenkamp รุ่น SG95

3.2.7 หม้อนึ่งอัดไอ (autoclave) ยี่ห้อ Tomy รุ่น ES-315

3.2.8 ตู้อบลมร้อน (hot air oven) บริษัทกล้วยน้ำไทย

3.2.9 ตู้เขี่ยเชื้อ (laminar air flow) ยี่ห้อ Issco รุ่น HS 123

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.10 ตู้บ่มเชื้อ (incubator) D06062 Modell 600

3.2.11 ไมโครปิเปต ขนาด 2-100 ไมโครลิตร

3.2.12 เครื่องกลั่น (water steam distillation) ยี่ห้อ Pops model MS-E 103

3.2.13 Cork borer

3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ

ตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ นำมาจากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมข้อมูลจุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

3.3.1 เชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร

3.3.1.1 *Escherichia coli* ATCC 25922

3.3.1.2 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

3.3.1.3 *Salmonella typhimurium* DMST 0562

3.3.1.4 *Bacillus cereus* TISTR 5040

3.3.1.5 *Bacillus subtilis* TISTR 6633

3.3.1.6 *Listeria monocytogenes* DMST 17256

3.3.1.7 *Staphylococcus aureus* TISTR 118

3.3.2 เชื้อยีสต์ที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียของอาหาร

3.3.2.1 *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019

3.3.2.2 *Zygosaccharomyces rouxii* TISTR 5044

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมตัวอย่าง

3.4.1.1 นำส้มโอที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ พันธุ์ขาวใหญ่และทองดี มาล้างด้วยน้ำเปล่าให้สะอาด จากนั้นทำการปลอกเปลือกส่วนที่เป็นส่วนเปลือกสีเขียว (flavedo) และส่วนเปลือกสีขาว (albedo) ออกจากกัน

3.4.1.2 นำเปลือกส้มโอส่วนสีเขียวและส่วนเปลือกสีขาว มาทำการหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดเท่าๆกัน

3.4.1.3 นำไปอบด้วยตู้อบลบร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดด้วยเครื่องบดสำหรับอาหารแห้งจนละเอียด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 การสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอ โดยใช้ตัวทำละลาย ดัดแปลงจาก Mayachiew และ Devahastin (2008)

3.4.2.1 นำตัวอย่างที่บดแล้วไปทำการสกัดสาร โดยชั่งตัวอย่าง 50 กรัม สำหรับส่วนเปลือกสีเขียว และ30 กรัม สำหรับเปลือกสีขาว ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลาย เฮกเซน ลงไปปริมาตร 300 มิลลิลิตร

3.4.2.2 นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 rpm เป็นเวลา 3 วัน โดยใช้อะลูมิเนียมฟอยด์หุ้มฟลาสก์เพื่อไม่ให้ถูกแสง เมื่อครบ 3 วันกรองเอาส่วนน้ำหมักออกด้วยชุดกรองสุญญากาศ ผ่านกระดาษวัตต์แมนเบอร์ 1

3.4.2.3 จากนั้นใส่ตัวทำละลายชนิดเดิมลงไปแล้วทำการสกัดซ้ำอีกครั้งหนึ่ง

3.4.2.4 นำกากเปลือกส้มโอที่ได้หลังจากการกรองเอาของเหลวออกแล้วไปสกัดสารซ้ำอีกครั้ง โดยใช้ตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วสูงขึ้น ได้แก่ เอธิลอะซิเตท และเอทานอล ตามลำดับ โดยใช้วิธีการสกัดเช่นเดียวกับเฮกเซน

3.4.2.5 นำของเหลวที่กรองได้ของแต่ละการทดลองไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยภายใต้สภาวะสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

3.4.2.6 จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้ไปใส่ไว้ใน เดซิเคเตอร์ จนตัวทำละลายละลายระเหยออกไปจนหมด และเก็บสารสกัดหยาบที่ได้ไว้ในที่มืด ภายใต้อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.4.3 การกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอสดส่วนสีเขียว ดัดแปลงจาก Benkeblia (2004)

3.4.3.1 นำเปลือกส้มโอส่วนสีเขียว (flavedo) มาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆให้มีขนาดใกล้เคียงกัน จากนั้นชั่งเปลือกส้มโอที่หั่นแล้วใส่ลงในรีเซอร์วัวร์ขนาด 500 มิลลิลิตร โดยใช้อัตราส่วนเปลือกส้มโอต่อน้ำกลั่นเป็น 1 ต่อ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

3.4.3.2 นำมากลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยเครื่องกลั่นแบบใช้น้ำ (water steam distillation) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

3.4.3.3 เก็บตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยที่ได้ซึ่งจะปนอยู่กับน้ำที่กลั่นออกมาแล้วจึงนำไปแยกส่วนน้ำมันหอมระเหยที่ต้องการออกมา

3.4.3.4 นำน้ำมันหอมระเหยที่ได้เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ป้องกันไม่ให้โดนแสงแดด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4 การศึกษาเบื้องต้นในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบโดยใช้วิธี Disk diffusion ดัดแปลงจาก Benkeblia, (2004) และ CLSI (2006)

3.4.4.1 การเตรียมสารละลายมาตราฐาน Mcfarland เบอร์ 0.5

เตรียมโดยใช้ 1.175 เปอร์เซ็นต์ Barium Chloride 0.05 มิลลิลิตร ผสมกับ 1 เปอร์เซ็นต์ Sulfuric acid 9.95 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่าให้เข้ากันดี

3.4.4.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

1. เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ นำมาเลี้ยงบนอาหาร NA จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

2. เชื้อยีสต์ที่ใช้ในการทดสอบ นำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

3.4.4.3 การเตรียมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์

ทำการเขี่ยเชื้อจุลินทรีย์มาใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตน 0.1 เปอร์เซ็นต์ โดยเทียบความขุ่นให้สารละลายเชื้อมีความขุ่นเท่ากับสารละลาย Mcfarland เบอร์ 0.5 ที่เตรียมไว้ซึ่งจะได้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ $1.5 X10^8$ CFU ต่อมิลลิลิตร

3.4.4.4 การเตรียมสารละลายสารสกัดหยาบ

เตรียมสารสกัดหยาบแต่ละชนิดของส้มโอแต่ละพันธุ์ ให้มีความเข้มข้น 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ เฮกเซน เอธิลอะซิเตท และ เอทานอล เป็นตัวทำละลาย

3.4.4.5 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียพื่อใช้ในการทดสอบ

นำไม้พันสำลีจุ่มลงในสารละลายเชื้อ ที่เทียบความขุ่นกับสารละลายความขุ่นมาตราฐาน Mcfarland เบอร์ 0.5 ให้พอชุ่มจากนั้นทาลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ให้ทั่วผิวหน้าอาหาร MHA สำหรับเชื้อแบคทีเรีย และ SDA สำหรับเชื้อยีสต์ จากนั้นทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงจนจานอาหารแห้ง

3.4.4.6 การเตรียมยาปฏิชีวนะที่ใช้ทดสอบ (CLSI, 2006)

1. แวนโคมัยซิน

เตรียมสารละลายยาให้มีความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อแผ่นทดสอบ โดยใช้น้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อเป็นตัวทำละลาย เพื่อใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) ของเชื้อ *S. aureus* TISTR 118, *B. cereus* TISTR 5040, *B. subtilis* TISTR 6633 และ *L. monocytogenes* DMST 17256

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เซฟตะซิดีม

เตรียมสารละลายยาให้มีความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อแผ่นทดสอบ โดยใช้น้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อเป็นตัวทำละลาย เพื่อใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) ของเชื้อ *E. coli* DMST 4212, *S. typhimurium* DMST 0562 และ *P. aeruginosa* ATCC 27853

3. คีโตโคนาโซล

เตรียมสารละลายของยาให้มีความเข้มข้น 1,500 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ DMSO ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลายเพื่อใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) ของเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5019 และ *Z. rouxii* TISTR 5044 ตามลำดับ

3.4.4.7 วิธีการทดสอบ

เตรียมแผ่นทดสอบเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายของสารสกัดหยาบที่ทำการเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ หยดลงบนแผ่นทดสอบ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้ง 1 ชั่วโมง จากนั้นใช้คีมคีบปราศจากเชื้อ คีบแผ่นทดสอบ วางลงบนผิวหน้าอาหาร MHA และ SDA ที่เตรียมไว้ข้างต้น ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อแบคทีเรียและที่ 30 องศาเซลเซียส 48-72 ชั่วโมง สำหรับเชื้อยีสต์ จากนั้นบันทึกผลการทดลองโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งรอบแผ่นทดสอบ โดยวัดขนาดเป็นมิลลิเมตร สำหรับชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) ใช้ยาปฏิชีวนะแทนสารละลายของสารสกัดหยาบ และชุดควบคุมเชิงลบ (negative control) ใช้ตัวทำละลายแต่ละชนิดแทนสารสกัดหยาบ ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ เพื่อหาค่าเฉลี่ยของบริเวณยับยั้ง

3.4.5 การศึกษาเบื้องต้นในการต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยโดยวิธี Agar spot test ดัดแปลงมาจาก (Bagamboula, 2004)

3.4.5.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียเพื่อใช้ในการทดสอบ

เชื้อแบคทีเรียที่ได้จะนำมาเลี้ยงในอาหาร NA จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนเชื้อยีสต์นำมาเลี้ยงในอาหาร PDA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.4.5.2 การเตรียมสารละลายน้ำมันหอมระเหย

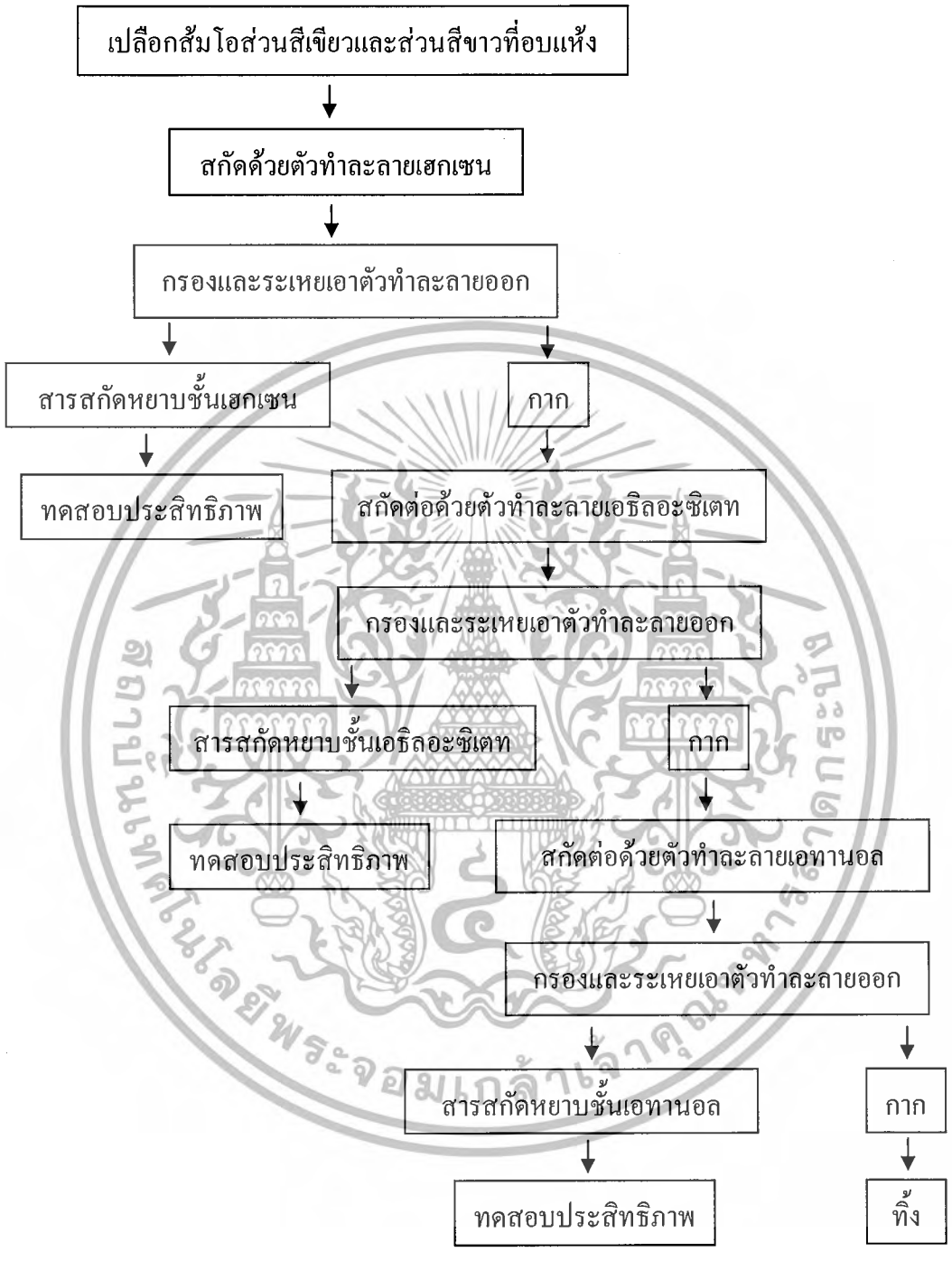
เตรียมน้ำมันหอมระเหยของส้มโอแต่ละพันธุ์ที่สกัดได้มาทำความเข้มข้นให้เท่ากับ 10,000 50,000 และ 100,000 ส่วนในล้านส่วน (ppm) โดยใช้ DMSO ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย และใช้น้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5.3 วิธีการทดสอบ

นำสารละลายของเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้มาทำการ pour plate ลงในอาหาร MHA สำหรับเชื้อแบคทีเรีย และ SDA สำหรับเชื้อยีสต์ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนอาหารแข็งตัว จากนั้นใช้ cork borer เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เจาะอาหารเลี้ยงเชื้อให้เป็นหลุม จากนั้นใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายน้ำมันหอมระเหย และน้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์ที่เตรียมไว้หยดลงในหลุมที่เจาะไว้หลุมละ 30 ไมโครลิตร สำหรับชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) ใช้ยาปฏิชีวนะ และใช้ DMSO 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นชุดควบคุมเชิงลบ (negative control) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อแบคทีเรีย และบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 48-72 ชั่วโมง สำหรับเชื้อยีสต์ จากนั้นบันทึกผลการทดลองโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งรอบหลุมที่เจาะ โดยวัดขนาดเป็นมิลลิเมตร ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ เพื่อนำมาหาค่าเฉลี่ย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอด้วยตัวทำละลายที่เรียงลำดับจากขั้วต่ำไปขั้วสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี โดยใช้ตัวทำละลายต่างๆ

ผลการสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีเขียว (flavedo) และส่วนสีขาว (albedo) ของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และพันธุ์ทองดี ด้วยตัวทำละลายต่างๆที่มีขั้วต่างกัน ได้แก่ เฮกเซน เอธิลอะซิเตท และเอทานอล ทำการสกัดโดยเรียงลำดับตามความเป็นขั้วของตัวทำละลายจากต่ำไปสูง พบว่าตัวทำละลายเอทานอลที่ได้หลังจากสกัดส่วนเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่จะมีสีเข้มมากที่สุด รองลงมาคือ เอธิลอะซิเตท และเฮกเซน ตามลำดับ อาจเป็นผลมาจากเม็ดสีของคลอโรฟิลล์ หรือเม็ดสีจากแคโรทีนอยด์ ซึ่งเป็นส่วนประกอบในเปลือกสีเขียวของส้มโอซึ่งถูกตัวทำละลายสกัด ส่วนตัวทำละลายที่ได้จากการสกัดส่วนสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่มีสีขาวอมเหลือง โดยในชั้นเอทานอลมีสีเข้มที่สุด รองลงมาคือเอธิลอะซิเตท และ เฮกเซน ตามลำดับ ดังแสดงในรูป 4.1 ส่วนตัวทำละลายที่ได้จากการสกัดส่วนเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ทองดี พบว่าในชั้นเฮกเซนมีสีเขียวเข้มมากที่สุดรองลงมาคือ เอธิลอะซิเตท และเอทานอล ตามลำดับ ในขณะที่ตัวทำละลายที่ได้จากการสกัดส่วนสีขาวของส้มโอพันธุ์ทองดี จะมีสีเหลืองเข้มมากที่สุดในชั้นเฮกเซน รองลงมาคือเอธิลอะซิเตทและเอทานอล ดังแสดงในรูปที่ 4.2 ซึ่งสีเหลืองเข้มนี้อาจเกิดจากเม็ดสีแคโรทีนอยด์จำพวกไลโคปีน ซึ่งเป็นส่วนประกอบในส่วนเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ทองดี ซึ่งสารไลโคปีนนี้จะให้สีแดง ทำให้มองเห็นเปลือกของส้มโอพันธุ์ทองดีเป็นสีแดงอมชมพู (สมชายและทวีศักดิ์, 2527)

เมื่อนำเอาตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ได้หลังจากการสกัดเปลือกส้มโอทั้ง 2 พันธุ์ไปทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกไป พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ในชั้นเฮกเซน มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเขียวเข้มอมเหลือง สารสกัดหยาบในชั้นเอธิลอะซิเตท มีลักษณะเป็นของแข็ง สีเขียวขี้ม้า และในชั้นเอทานอลสารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวหนืด สีเขียวเข้ม ส่วนสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาวพันธุ์ขาวใหญ่ในชั้น เฮกเซน สารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลว เหนียวหนืด สีเหลืองอมส้ม ในชั้นเอธิลอะซิเตท สารสกัดหยาบที่ได้ มีลักษณะเป็นของแข็ง สีน้ำตาลอมส้มและในชั้นเอทานอลสารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลว เหนียวหนืด สีน้ำตาลแดง ดังรูปที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ทองดี ในชั้นเฮกเซนสารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเขียวเข้มอมเหลือง ในชั้นเอธิลอะซิเตท สารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเขียวเข้ม และในชั้นเอทานอลสารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลว เหนียวหนืด สีเขียวเข้ม ส่วนสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ทองดีในชั้นเฮกเซน สารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะเป็นของแข็ง เหนียว สีเหลืองอมส้ม ในชั้นเอธิลอะซิเตทสารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะเป็นของแข็ง สีน้ำตาลอมส้ม ในชั้นเอทานอลสารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลว เหนียวหนืด สีน้ำตาลแดง ดังรูปที่ 4.4

รูปที่ 4.1 สีของตัวทำละลายที่ได้หลังจากสกัดเปลือกส้มโอส่วนเปลือกสีเขียวและสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่

หมายเหตุ Hex-AK หมายถึง เฮกเซน-เปลือกขาว-พันธุ์ขาวใหญ่

Hex-FK หมายถึง เฮกเซน-ปลือกเขียว-พันธุ์ขาวใหญ่

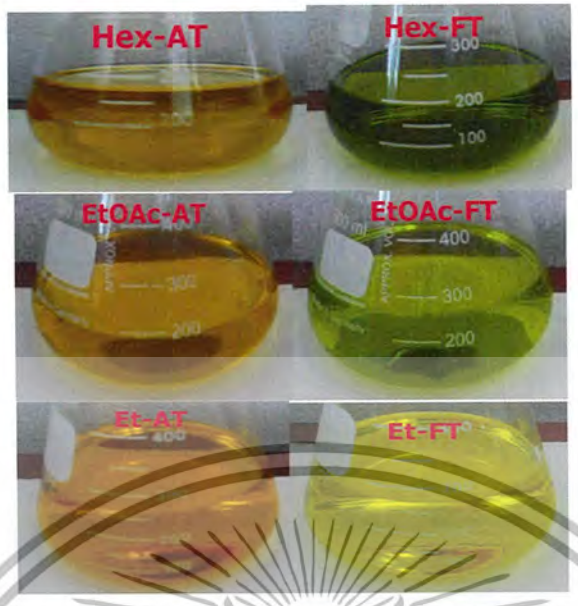
EtOAc-AK หมายถึง เอธิลอะซิเตท-เปลือกขาว-พันธุ์ขาวใหญ่

EtOAc-FK หมายถึง เอธิลอะซิเตท-เปลือกเขียว-พันธุ์ขาวใหญ่

Et-AK หมายถึง เอทานอล-เปลือกขาว-พันธุ์ขาวใหญ่

Et-FK หมายถึง เอทานอล-เปลือกเขียว-พันธุ์ขาวใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 สีของตัวทำละลายที่ได้หลังจากสกัดเปลือกส้มโอส่วนสีเขียวและสีขาวของส้มโอพันธุ์ทองดี

หมายเหตุ Hex-AT หมายถึง เฮกเซน-เปลือกขาว-พันธุ์ทองดี
Hex-FT หมายถึง เฮกเซน-ปลือกเขียว-พันธุ์ทองดี
EtOAc-AT หมายถึง เอธิลอะซิเตท-เปลือกขาว-พันธุ์ทองดี
EtOAc-FT หมายถึง เอธิลอะซิเตท-เปลือกเขียว-พันธุ์ทองดี
Et-AT หมายถึง เอทานอล -เปลือกขาว-พันธุ์ทองดี
Et-FT หมายถึง เอทานอล -เปลือกเขียว-พันธุ์ทองดี

รูปที่ 4.3 สารสกัดหยาบที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอส่วนสีเขียวและส่วนสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่เมื่อสกัดด้วยด้วยตัวทำละลายต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.4 สารสกัดหยาบที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอส่วนสีเขียวและส่วนสีขาวของส้มโอพันธุ์ทองดี เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ

จากการคำนวณเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบ พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ และทองดี มีเปอร์เซ็นต์ผลได้มากกว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนเปลือกสีขาวในทุกชั้นของตัวทำละลาย และตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดต่างกันพบว่ามีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบที่ได้ต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.1 โดยพบว่าส่วนเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี ในชั้นเอทานอลสามารถสกัดสารสกัดหยาบออกมาได้มากที่สุดคิดเป็น 5.8434 และ 5.6574 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือชั้นเอธิลอะซิเตท สามารถสกัดได้ 0.7424 และ 1.3424 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และในชั้นเฮกเซนสามารถสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวได้น้อยที่สุดคิดเป็น 0.7135 และ 1.0266 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนเปลือกขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี พบว่าเอทานอลสามารถสกัดได้มากที่สุดคิดเป็น 5.8434 และ 5.6574 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือ เอธิลอะซิเตทสามารถสกัดได้ 0.3204 และ 0.4569 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และเฮกเซนสามารถสกัดได้น้อยที่สุดคิดเป็น 0.1742 และ 0.1592 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ปริมาณและเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวและเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และพันธุ์ทองดีในตัวทำละลายชนิดต่างๆ

ชนิดของตัวทำละลาย / ส่วนของเปลือก	ส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่			ส้มโอพันธุ์ทองดี		
	ปริมาณวัตถุดิบ (กรัมน้ำหนักแห้ง)	ปริมาณสารสกัดหยาบ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์ผลได้	ปริมาณวัตถุดิบ (กรัมน้ำหนักแห้ง)	ปริมาณสารสกัดหยาบ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์ผลได้
<u>ตัวทำละลายเฮกเซน</u>						
เปลือกเขียว	500	3.5668	0.7135	500	5.1332	1.0266
เปลือกขาว	300	0.5225	0.1742	300	0.4775	0.1592
<u>ตัวทำละลายเอธิลอะซิเตท</u>						
เปลือกเขียว	500	3.7144	0.7424	500	6.7120	1.3424
เปลือกขาว	300	0.9612	0.3204	300	1.3707	0.4569
<u>ตัวทำละลายเอทานอล</u>						
เปลือกเขียว	500	29.3232	5.8646	500	28.3653	5.6731
เปลือกขาว	300	17.5302	5.8434	300	16.9723	5.6574

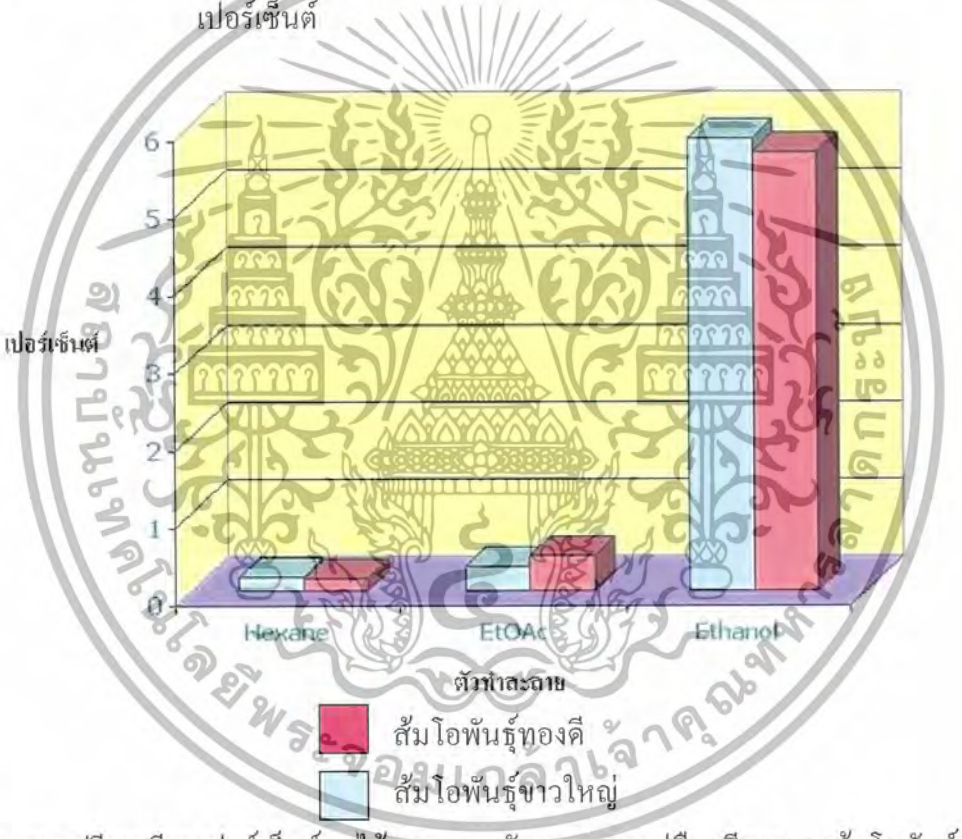
หมายเหตุ ค่าที่ได้เป็นค่าจากการเฉลี่ย 2 ซ้ำ

ตารางที่ 4.2 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดีต่อชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

พันธุ์ส้มโอ	เปอร์เซ็นต์ผลได้		
	เฮกเซน^{ns}	เอธิลอะซิเตท^{ns}	เอทานอล^{ns}
ขาวใหญ่	0.1742	0.3204	5.8434
ทองดี	0.1592	0.4569	5.6574

หมายเหตุ ตารางแสดงความสัมพันธ์กันตามแนวตั้ง

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.5 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดีต่อชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

จากตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.5 ซึ่งเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดีต่อชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด พบว่าในชั้นเฮกเซน เอธิลอะซิเตท และเอทานอล เปอร์เซ็นต์ผลได้ของส้มโอทั้ง 2 พันธุ์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

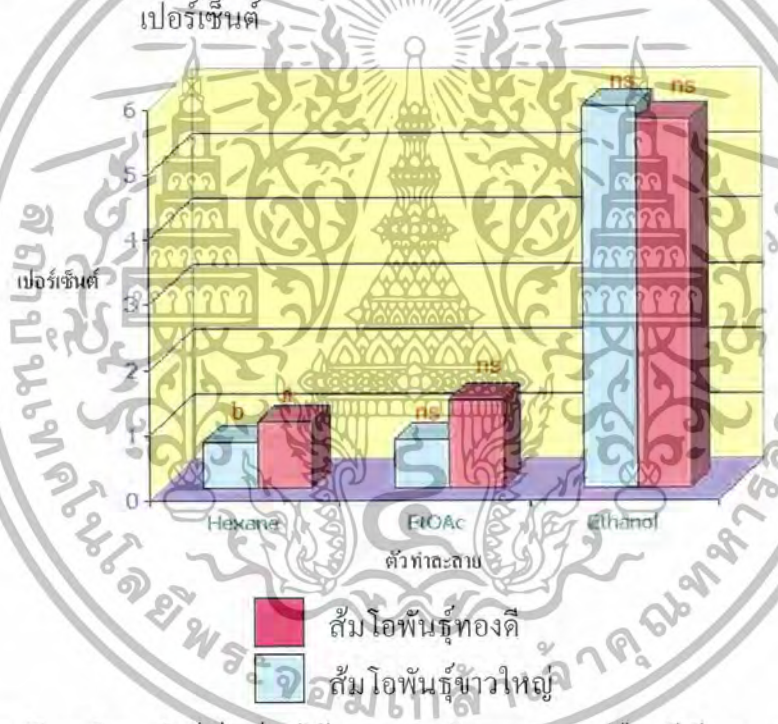
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดีต่อชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

พันธุ์ส้มโอ	เปอร์เซ็นต์ผลได้		
	เฮกเซน	เอธิลอะซิเตท^{ns}	เอทานอล^{ns}
ขาวใหญ่	0.7135^{b}	0.7424	5.8646
ทองดี	1.0266^{a}	1.3424	5.6731

หมายเหตุ (a , b) ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.6 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดีต่อชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

จากตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.6 ซึ่งเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดีต่อชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด พบว่า ในชั้นเฮกเซนเปอร์เซ็นต์ผลได้ของส้มโอทั้ง 2 พันธุ์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในตัวทำละลายเอธิลอะซิเตทและเอทานอลพบว่าเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบของส้มโอทั้ง 2 พันธุ์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

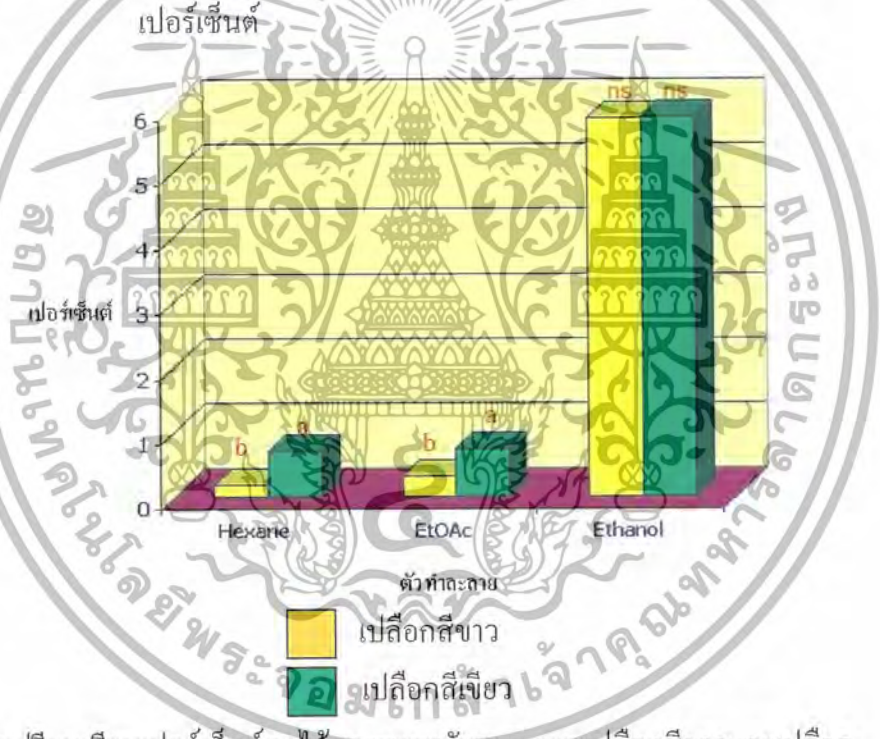
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวและเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

ชนิดของเปลือก	เปอร์เซ็นต์ผลได้		
	เฮกเซน	เอธิลอะซิเตท	เอทานอล[ns]
เปลือกสีขาว	0.1742[b]	0.3204[b]	5.8434
เปลือกสีเขียว	0.7135[a]	0.7424[a]	5.8646

หมายเหตุ (a , b) ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.7 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวและเปลือกสีเขียวของเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

ตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.7 ซึ่งเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวและเปลือกสีเขียวของเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด พบว่าในชั้นเฮกเซน และเอธิลอะซิเตท เปอร์เซ็นต์ผลได้ของเปลือกส้มโอทั้ง 2 ส่วน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในชั้นเอทานอล เปอร์เซ็นต์ผลได้ของเปลือกส้มโอทั้ง 2 ส่วน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

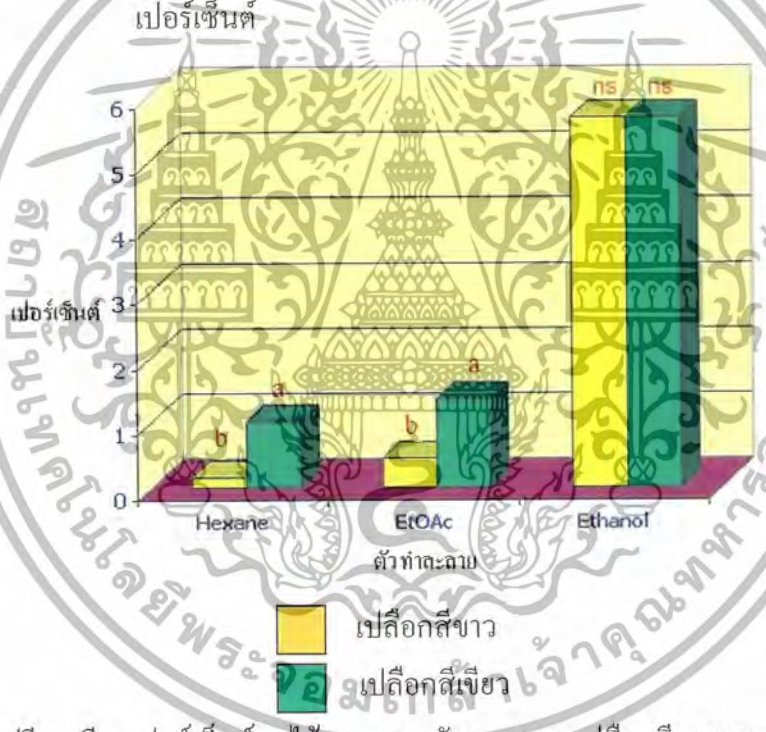
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวและเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ทองดีต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

ชนิดของเปลือก	เปอร์เซ็นต์ผลได้		
	เฮกเซน	เอธิลอะซิเตท	เอทานอล ns
เปลือกสีขาว	0.1592 b	0.4569 b	5.6574
เปลือกสีเขียว	1.0266 a	1.3424 a	5.6731

หมายเหตุ (a , b) ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.8 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวและเปลือกสีเขียวของเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

ตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.8 ซึ่งเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวและเปลือกสีเขียวของเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด พบว่าในชั้นเฮกเซน และเอธิลอะซิเตท เปอร์เซ็นต์ผลได้ของเปลือกส้มโอทั้ง 2 ส่วน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในชั้นเอทานอล เปอร์เซ็นต์ผลได้ของเปลือกส้มโอทั้ง 2 ส่วน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ และทองดี

ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี ด้วยวิธีการกลั่นโดยใช้น้ำ (Water Distillation) พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากส้มโอพันธุ์ทองดี มีลักษณะ เป็นของเหลวใส สีเหลืองอ่อนๆ มีกลิ่นหอมของส้มโอ ส่วนน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี มีกลิ่นหอมของส้มโอ (ดังรูปที่ 4.9) ซึ่งมีคุณลักษณะใกล้เคียงตามมาตรฐานอุตสาหกรรม ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดกันโดยทั่วไป (จุไรรัตน์, 2548) และเมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ผลได้ทั้งหมดของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอทั้ง 2 พันธุ์มีค่าเท่ากับ 0.1389 และ 0.1420 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ปริมาณและเปอร์เซ็นต์ผลได้ของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และพันธุ์ทองดี

พันธุ์ส้มโอ	ปริมาณวัตถุดิบ (กรัมน้ำหนักเปียก)	ปริมาณน้ำมันหอมระเหย (กรัม)	เปอร์เซ็นต์ผลได้
พันธุ์ขาวใหญ่	2400	3.3348	0.1389
พันธุ์ทองดี	1800	2.5567	0.1420

รูปที่ 4.9 น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอส่วนสีเขียวสดของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี โดยใช้วิธี การกลั่นแบบใช้น้ำ (Water Distillation)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี

ทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส่วนสีเขียวและส่วนสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี โดยใช้วิธี Disk diffusion ซึ่งเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบเป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร ได้แก่ *Bacillus cereus* TISTR 5040, *Bacillus subtilis* TISTR 6633, *Listeria* monocytogenes DMST 17256, *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 , *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar Typhimurium (*Salmonella typhimurium*) DMST 0562 และเชื้อยีสต์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหาร ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 และ *Zygosaccharomyces rouxii* TISTR 5044 ในการทดสอบครั้งนี้ใช้ยาปฏิชีวนะ แวนโคมัยซิน (vancomycin) เซฟตะซิดีม (ceftazidime) และคีโตโคนาโซล (ketoconazole) เป็นชุดควบคุมเชิงบวกสำหรับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ และเชื้อยีสต์ตามลำดับ และใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvents) ที่ใช้ในการละลายสารสกัดหยาบเป็นชุดควบคุมเชิงลบ โดยระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ใช้ในการทดสอบ คือ 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการทดสอบเพื่อหาระดับความเข้มข้นเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลอง โดยทำการทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 10 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีบริเวณยับยั้งเล็กน้อยกับเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดที่นำมาทดสอบ ผู้ทดลองจึงทำการทดสอบในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น คือที่ระดับความเข้มข้น 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งการทดลองได้ผลดังนี้

4.3.1 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบในขั้นเฮกเซน

ผลการทดลองในตารางที่ 4.7 พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบและเชื้อยีสต์ได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *S. typhimurium* โดยให้บริเวณการยับยั้ง (inhibition zone) เท่ากับ 16.6 8.6 และ 19.5 มิลลิเมตรตามลำดับ รวมทั้งยังพบว่าที่ทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Zygosaccharomyces rouxii* โดยสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้บริเวณการยับยั้งมากที่สุดเท่ากับ 18.4 และ 11.2 มิลลิเมตร ตามลำดับ และพบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้ในการทดสอบ ยกเว้นเชื้อ *B. cereus* ที่ถูกยับยั้งการเจริญจากสารสกัดหยาบในระดับความเข้มข้นที่ 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 8.4 และ 9.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ

สำหรับสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ทองดี ไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก แต่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *S. typhimurium* ได้ดีที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยให้บริเวณยับยั้งเท่ากับ 15.0 10.4 และ 18.3 มิลลิเมตร ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ส่วนสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ไม่แสดงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบใดๆเลยในทุกระดับความเข้มข้น แต่สารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ทองดี แสดงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย แกรมบวกที่ใช้ในการทดสอบทุกตัว ได้แก่ *B. cereus*, *B. subtilis*, *L. monocytogenes* และ *S. aureus* ที่ทุกระดับความเข้มข้น โดยให้บริเวณยับยั้งมากที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 21.9 18.1 13.2 และ 13.85 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ทองดีสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ และสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบและเชื้อยีสต์ที่นำมาทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดหยาบของส้มโอพันธุ์ทองดี โดยที่ Cristani และคณะ (2007) กล่าวไว้ว่าสารในกลุ่ม เทอร์ปีน ที่อยู่ในเปลือกพืชตระกูลส้ม จะส่งผลทำให้แบคทีเรียไม่สามารถลำเลียงสารต่างๆผ่านเข้าออกเซลล์ได้ และยังไปทำลายส่วนต่างๆของเซลล์เมมเบรน ทำให้สารอื่นเกิดการแทรกซึมเข้าไปภายในเซลล์ แล้วเกิดปฏิกิริยาที่ไม่พึงประสงค์และเป็นอันตรายต่อเซลล์ทำให้เซลล์ตายในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบชั้นเฮกเซนจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และพันธุ์ทองดี

เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) (มิลลิเมตร)															
	สารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียว พันธุ์ขาวใหญ่				สารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาว พันธุ์ขาวใหญ่				สารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียว พันธุ์ทองดี				สารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาว พันธุ์ทองดี			
	Positive control	100 มก./มล.	150 มก./มล.	200 มก./มล.	Positive control	100 มก./มล.	150 มก./มล.	200 มก./มล.	Positive control	100 มก./มล.	150 มก./มล.	200 มก./มล.	Positive control	100 มก./มล.	150 มก./มล.	200 มก./มล.
<u>แบคทีเรียแกรมบวก</u>																
Bacillus cereus	32.3	-	8.4	9.5	32.3	-	-	-	27.5	-	-	-	24.8	10.8	19.8	21.9
Bacillus subtilis	18.8	-	-	-	19.0	-	-	-	18.2	-	-	-	23.6	11.2	14.1	18.1
Listeria monocytogenes	15.6	-	-	-	16.6	-	-	-	18.2	-	-	-	18.0	9.0	12.6	13.2
Staphylococcus aureus	20.2	-	-	-	21.0	-	-	-	17.1	-	-	-	17.2	8.8	13.4	13.8
<u>แบคทีเรียแกรมลบ</u>																
Escherichia coli	32.3	-	-	16.6	30.3	-	-	-	25.5	-	-	15.0	24.3	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	25.0	-	-	8.6	25.6	-	-	-	21.4	-	-	10.4	23.5	-	-	-
Salmonella typhimurium	35.6	-	-	19.5	31.0	-	-	-	25.7	-	-	18.3	27.0	-	-	-
<u>ยีสต์</u>																
Saccharomyces cerevisiae	30.0	12.0	18.2	18.4	28.5	-	-	-	13.3	-	-	-	15.1	-	-	-
Zygosaccharomyces rouxii	17.3	7.50	9.8	11.2	16.4	-	-	-	27.6	-	-	8.3	26.2	-	-	-

หมายเหตุ ความเข้มข้นของชุดควบคุมเชิงบวก เท่ากับ 1.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยกเว้น *Z. rouxii* ใช้ความเข้มข้นของชุดควบคุมเชิงบวกเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4.3.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบในชั้นเอธิลอะซิเตท

จากการผลการทดลองในตารางที่ 4.8 พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวกและเชื้อยีสต์ โดยสามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *S. typhimurium* ได้ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้บริเวณยับยั้งมากที่สุดเท่ากับ 25.6 22.6 และ 26.3 มิลลิเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบที่ได้สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus*, *B. subtilis* ได้ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรให้บริเวณยับยั้งมากที่สุดเท่ากับ 18.5 และ 10.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วน *S. aureus* ถูกยับยั้งที่ระดับความเข้มข้น 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรให้บริเวณยับยั้งเท่ากับ 8.5 18.5 และ 21.3 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ส่วนสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่สามารถยังยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้แก่ *B. cereus*, *B. subtilis*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* ได้ตั้งแต่ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป โดยที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้บริเวณยับยั้งมากที่สุดเท่ากับ 14.8 12.6 11.1 และ 19.2 มิลลิเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่ายังสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้แก่ *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *S. typhimurium* ได้ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยให้บริเวณยับยั้งเท่ากับ 24.6 26.8 และ 26.4 มิลลิเมตร ตามลำดับ

สารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ทองดีสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบได้แก่ *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *S. typhimurium* ได้ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรให้บริเวณยับยั้งมากที่สุดเท่ากับ 19.5 14.8 และ 23.8 มิลลิเมตรตามลำดับ และยังพบว่าสามารถยับยั้ง *S. cerevisiae* ได้ที่ระดับความเข้มข้น 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 8.7 และ 10.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วน *Z. rouxii* สามารถยับยั้งได้ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป และพบว่าไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกที่นำมาทดสอบทุกชนิด

สำหรับสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ทองดีไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบทุกชนิดในทุกระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ

ดังนั้นจากผลการทดลองการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบในชั้นเอธิลอะซิเตทพบว่า สารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่สามารถยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ทองดีโดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกที่นำมาทดสอบตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป และยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวในชั้นเอธิลอะซิเตทของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ทองดี ในขณะที่สารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ทองดียับยั้งเชื้อยีสต์ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบชั้นเอธิลอะซิเตทจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และพันธุ์ทองดี

เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) (มิลลิเมตร)															
	สารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียว พันธุ์ขาวใหญ่				สารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาว พันธุ์ขาวใหญ่				สารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียว พันธุ์ทองดี				สารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาว พันธุ์ทองดี			
	Positive control	100 มก./มล.	150 มก./มล.	200 มก./มล.	Positive control	100 มก./มล.	150 มก./มล.	200 มก./มล.	Positive control	100 มก./มล.	150 มก./มล.	200 มก./มล.	Positive control	100 มก./มล.	150 มก./มล.	200 มก./มล.
<u>แบคทีเรียแกรมบวก</u>																
Bacillus cereus	31.5	-	17.6	18.5	30.8	14.1	14.0	14.8	24.4	-	-	10.8	20.4	-	-	-
Bacillus subtilis	17.6	-	7.5	10.0	17.6	11.0	12.3	12.6	21.2	-	-	8.6	26.0	-	-	-
Listeria monocytogenes	16.0	-	-	-	15.8	9.3	10.2	11.1	16.8	-	-	-	17.0	-	-	-
Staphylococcus aureus	21.3	8.5	18.5	21.3	20.3	12.8	14.6	19.2	17.2	-	-	8.4	19.7	-	-	-
<u>แบคทีเรียแกรมลบ</u>																
Escherichia coli	26.6	-	22.6	25.6	29.3	-	-	24.6	24.7	-	18.0	19.5	24.3	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	25.8	-	19.5	22.6	23.6	-	-	26.8	22.2	-	14.5	14.8	23.5	-	-	-
Salmonella typhimurium	31.3	-	21.3	26.3	31.3	-	-	26.6	26.4	-	21.7	23.8	27.	-	-	-
<u>ยีสต์</u>																
Saccharomyces cerevisiae	24.1	-	-	-	24.7	-	-	-	15.3	-	8.7	10.5	15.1	-	-	-
Zygosaccharomyces rouxii	15.1	-	-	-	16.6	-	-	-	25.9	8.4	9.5	9.7	26.2	-	-	-

หมายเหตุ **ความเข้มข้นของชุดควบคุมเชิงบวก** (Positive) 1.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยกเว้น *Z. rouxii* จะใช้ความเข้มข้นของชุดควบคุมเชิงบวก 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4.3.3 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบในชั้นเอทานอล

จากตารางที่ 4.9 พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบทุกชนิด ส่วนสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้แก่ *S. typhimurium* ได้ที่ระดับความเข้มข้น 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 9.9 9.5 และ 21.4 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสามารถยับยั้ง *E. coli* ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 17.2 มิลลิเมตร

ส่วนสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ทองดี มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้แก่ *B. cereus* และ *S. aureus* ได้ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 13.2 และ 12.0 มิลลิเมตรตามลำดับ และสามารถยับยั้ง *B. subtilis* สามารถยับยั้งได้ที่ระดับความเข้มข้น 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 11.5 11.1 และ 13.5 มิลลิเมตรตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดหยาบสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้แก่ ได้แก่ *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *S. typhimurium* ได้ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 18.0 17.6 และ 17.6 มิลลิเมตรตามลำดับ

สำหรับสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ทองดีสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้แก่ *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *S. typhimurium* ได้ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 20.3 15.1 และ 19.7 มิลลิเมตรตามลำดับ ในขณะที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้แก่ *B. cereus* และ *S. aureus* ได้ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 13.5 และ 9.5 มิลลิเมตรตามลำดับ

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวในชั้นเอทานอลของส้มโอพันธุ์ทองดีสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ โดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งตั้งแต่ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป ส่วนสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ทองดี สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียลบที่นำมาทดสอบได้ดีที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไปยกเว้น *B. subtilis* ที่ถูกยับยั้งตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบเลย

สารออกฤทธิ์ในเปลือกส้มโอที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ มีอยู่ด้วยกันหลายชนิด เช่น สารในกลุ่ม flavonoids เช่น naringenin, naringin, hesperetin, hesperidin apigenin, poncirin และ eriocitin ซึ่งสารเหล่านี้ได้ถูกรายงานไว้ว่าสามารถต่อต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Tripoli และคณะ, 2007) ซึ่งจากคุณสมบัติความเป็นขั้วของสารในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ เทอร์ปีน มนตรี และคณะ (2549) ได้ศึกษาคุณสมบัติเชิงเคมีฟีสิกส์ของสารในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ และเทอร์ปีน พบว่า ฟลาโวนอยด์ชอบที่จะละลายในสารละลายที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วต่ำมากกว่ามีขั้ว ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าในชั้นเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีขั้วสูงนั้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบน้อยกว่าเอธิลอะซิเตทและเฮกเซน ซึ่งมีระดับความเป็นขั้วที่ต่ำกว่า จึงอาจกล่าวได้ว่าสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในเปลือกส้มโอนั้น สามารถถูกดึงออกมาได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำ และมีรายงานว่าสาร carvacrol ซึ่งเป็นสารที่พบในเปลือกของพืชตระกูลส้ม ทำให้เมมเบรนเกิดการรั่ว และทำให้เกิดการสูญเสีย โปรตอน และโพแทสเซียม ไอออน ซึ่งส่งผลให้โปรตีนภายในเสียสภาพ และยังทำลายเซลล์เมมเบรน อีกด้วย ซึ่งทำให้ ไซโทพลาสมิกรั่วออกจากเซลล์ ส่งผลให้เซลล์แตกที่สุด (Ultee และคณะ, 2002) นอกจากนี้ Oussalah และคณะ (2006) ยังกล่าวไว้ว่า สารเทอร์ปีนที่พบในเปลือกส้มโอมีความสามารถทำให้เซลล์แตก และเจาะทะลุโครงสร้างไขมันที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งจะชักนำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพ ซ้ำยังทำลายเซลล์เมมเบรนส่งผลให้ไซโทพลาสมิกไหลออกจากเซลล์ทำให้เซลล์แตก บางรายงานยังกล่าวไว้ว่า แบคทีเรียแกรมบวกมีความไวต่อสารยับยั้งการเจริญมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีผนังเซลล์ชั้นนอกที่หนาและมีความซับซ้อนมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวกซึ่งมีผนังเซลล์ที่บางกว่า ทำให้แบคทีเรียแกรมลบทนต่อสารที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Smith-Palmer และคณะ, 2001) Benkeblia (2004) กล่าวไว้ว่าประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์นั้นจะมีความสัมพันธ์กันอย่างมากต่อชนิดและพันธุ์ของพืชที่นำมาใช้ในการทดสอบ รวมทั้งสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศมีก็ส่วนสำคัญที่ทำให้พืชผลิตสารประกอบที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบชั้นเอทานอลจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และพันธุ์ทองดี

เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) (มิลลิเมตร)															
	สารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียว พันธุ์ขาวใหญ่				สารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาว พันธุ์ขาวใหญ่				สารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียว พันธุ์ทองดี				สารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาว พันธุ์ทองดี			
	Positive control	100 มก./มล.	150 มก./มล.	200 มก./มล.	Positive control	100 มก./มล.	150 มก./มล.	200 มก./มล.	Positive control	100 มก./มล.	150 มก./มล.	200 มก./มล.	Positive control	100 มก./มล.	150 มก./มล.	200 มก./มล.
<u>แบคทีเรียแกรมบวก</u>																
Bacillus cereus	21.6	-	-	-	29.6	-	-	-	27.7	-	-	13.2	27.5	-	-	13.5
Bacillus subtilis	15.6	-	-	-	15.8	-	-	-	17.1	11.5	11.1	13.5	20.9	-	-	-
Listeria monocytogenes	14.8	-	-	-	15.6	-	-	-	16.5	-	-	-	15.9	-	-	-
Staphylococcus aureus	19.1	-	-	-	18.8	-	-	-	17.1	-	-	12.0	17.7	-	-	9.5
<u>แบคทีเรียแกรมลบ</u>																
Escherichia coli	26.6	-	-	-	28.5	-	-	17.2	24.6	-	-	18.0	23.8	-	-	20.3
Pseudomonas aeruginosa	24.8	-	-	-	25.5	-	-	-	23.8	-	-	17.60	22.2	-	-	15.1
Salmonella typhimurium	30.3	-	-	-	30.6	9.9	9.5	21.4	26.9	-	-	17.60	27.4	-	-	19.7
<u>ยีสต์</u>																
Saccharomyces cerevisiae	27.6	-	-	-	28.4	-	-	-	14.4	-	-	-	16.3	-	-	-
Zygosaccharomyces rouxii	15.5	-	-	-	26.5	-	-	-	26.6	-	-	-	26.0	-	-	-

หมายเหตุ ความเข้มข้นของชุดควบคุมเชิงบวก เท่ากับ 1.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยกเว้น *Z. rouxii* ใช้ความเข้มข้นของชุดควบคุมเชิงบวกเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4.4 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ และ พันธุ์ทองดี

จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและอาหารเน่าเสียบางชนิดของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี โดยทำการทดสอบด้วยวิธี Agar spot test ทำการทดสอบกับแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดได้แก่ *Bacillus cereus* TISTR 5040, *Bacillus subtilis* TISTR 6633, *Listeria* monocytogenes DMST 17256, *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* DMST 0562 และเชื้อยีสต์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหาร ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 และ *Zygosaccharomyces rouxii* TISTR 5044 โดยใช้ยาปฏิชีวนะ แวนโคมัยซิน (vancomycin) เซฟตะซิดีม (ceftazidime) และคีโตโคนาโซล (ketoconazole) เป็นชุดควบคุมเชิงบวกสำหรับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบและเชื้อยีสต์ตามลำดับ ส่วนชุดควบคุมเชิงลบใช้ DMSO ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการเจือจางน้ำมันหอมระเหย จากการทดสอบเบื้องต้นของน้ำมันหอมระเหย ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 และ 1,000 ส่วนในล้านส่วน (ppm) พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบเลย ผู้ทดลองจึงใช้ระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่สูงขึ้น โดยใช้ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 10,000 50,000 และ 100,000 ppm และน้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์

จากผลการทดลอง (ตารางที่ 4.10) พบว่าน้ำมันหอมระเหยของส้มโอพันธุ์ที่ความเข้มข้น 10,000 50,000 และ 100,000 ppm ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิดที่นำมาทดสอบ ส่วนน้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์จากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่สามารถยับยั้ง *B. cereus*, *S. cerevisiae* และ *Z. rouxii* โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 10.0 9.3 และ 9.2 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ส่วนการทดสอบของน้ำมันหอมระเหยจากส้มโอพันธุ์ทองดี ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 50,000 และ 100,000 ppm พบว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิดที่นำมาทดสอบในขณะที่น้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* , *S. typhimurium* , *S. cerevisiae* และ *Z. rouxii* โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 9.3 9.7 11.7 และ 12.7 มิลลิเมตรตามลำดับ การที่น้ำมันหอมระเหยจากส้มโอทั้ง 2 พันธุ์ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์อาจเป็นผลมาจากการสูญเสียสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระหว่างการสกัด ซึ่งวิรดี (2343) ได้กล่าวไว้ว่า การกลั่นน้ำมันหอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระเหยด้วยน้ำเป็นวิธีที่ทำให้เกิดการสูญเสียสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เนื่องจากตัวอย่างพืชสัมผัสกับน้ำตลอดเวลา น้ำร้อนจะผ่านเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดการ ไฮโดรไลซ์สารและองค์ประกอบต่างๆของสารที่มีในน้ำมันหอมระเหย ซึ่งน้ำร้อนจะทำให้เกิดการสูญเสียสารสำคัญไป ดังนั้นเพื่อให้ได้น้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพดีที่สุดควรกลั่นที่อุณหภูมิต่ำที่สุดเท่าที่จะทำได้ หรือควรใช้อุณหภูมิสูงโดยใช้เวลาให้สั้นที่สุด

อย่างไรก็ตาม น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้นั้น อาจมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ได้ทำการทดสอบ ดังเช่นรายงานของ Martos และคณะ (2008) ได้รายงานไว้ว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากมะนาว ส้มจีน ส้มโอ และส้มเกลี้ยง สามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Penicillium verrucosum* และ *P. chrysogenum* ได้เมื่อใช้ในระดับความเข้มข้น 0.27 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป และสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อใช้ในระดับความเข้มข้น 0.94 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนี้ Helander และคณะ (1998) รายงานไว้ว่าสารออกฤทธิ์ในน้ำมันหอมระเหยบางชนิด มีฤทธิ์ทำให้ผนังเซลล์ชั้นนอกของ *E. coli* และ *S. typhimurium* เกิดการแตกออก และทำให้ผนังเซลล์เกิดรอยรั่ว ส่งผลให้ของเหลวภายในเซลล์ไหลออกมาจากผนังเซลล์ ทำให้เซลล์เกิดการไลซิสในที่สุด ซึ่งการทำให้แตกของผนังเซลล์นี้เกิดการสารที่มีชื่อว่า carvacrol และ thymol ซึ่งสาร 2 ชนิดนี้ พบได้ในพืชตระกูลส้มบางชนิด นอกจากนี้ Conner และ Beuchat (1984) รายงานว่า กิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรียนั้น เป็นผลมาจากปฏิกิริยากระตุ้นที่มาจากสารประกอบในน้ำมันหอมระเหย ซึ่งส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์ ทำให้การสังเคราะห์ส่วนประกอบของโครงสร้างจุลินทรีย์ผิดปกติ และ Carson และคณะ (2002) กล่าวไว้ว่า น้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้นต่ำนั้นจะไปเปลี่ยนโครงสร้างของผนังเซลล์ ทำให้เกิดการยับยั้งการหายใจภายในเซลล์ และยับยั้งการผ่านเข้าออกของสารต่างๆของเซลล์เมมเบรน ทำให้จุลินทรีย์เสียสภาพและตายในที่สุด ในขณะที่ความเข้มข้นสูงจะไปกระตุ้นการทำลายของผนังเซลล์ ทำให้เสียสมดุลภายในเซลล์ และเหนี่ยวนำให้เซลล์เกิดการแตกในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) (มิลลิเมตร)									
	น้ำมันหอมระเหยส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่					น้ำมันหอมระเหยส้มโอพันธุ์ทองดี				
	Positive control	10,000 (ppm)	50,000 (ppm)	100,000 (ppm)	น้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์	Positive control	10,000 (ppm)	50,000 (ppm)	100,000 (ppm)	น้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์
<u>แบคทีเรียแกรมบวก</u>										
Bacillus cereus	17.7	-	-	-	10.0	17.2	-	-	-	-
Bacillus subtilis	17.8	-	-	-	-	18.2	-	-	-	-
Listeria monocytogenes	18.5	-	-	-	-	21.1	-	-	-	-
Staphylococcus aureus	18.8	-	-	-	-	19.3	-	-	-	9.3
<u>แบคทีเรียแกรมลบ</u>										
Escherichia coli	31.0	-	-	-	-	30.9	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	25.6	-	-	-	-	26.1	-	-	-	-
Salmonella typhimurium	28.9	-	-	-	-	25.8	-	-	-	9.7
<u>ยีสต์</u>										
Saccharomyces cerevisiae	14.4	-	-	-	9.3	13.7	-	-	-	11.7
Zygosaccharomyces rouxii	32.8	-	-	-	9.2	34.2	-	-	-	12.7

หมายเหตุ ความเข้มข้นของชุดควบคุมเชิงบวก (Positive) เท่ากับ 1.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยกเว้น *Z. rouxii* ใช้ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวและเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน เอธิลอะซิเตทและเอทานอล พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี มีเปอร์เซ็นต์ผลได้มากกว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาว ในทุกชั้นของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด และจากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี โดยวิธี Disk diffusion พบว่าในชั้นเฮกเซนสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบและเชื้อยีสต์ที่นำมาทดสอบได้ ส่วนสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ทองดีสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบที่นำมาทดสอบได้ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ทองดีสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี ส่วนในชั้นเอธิลอะซิเตทสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ทุกชนิดยกเว้น *L. monocytogenes* ในขณะที่สารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ทุกชนิด ส่วนสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ทองดีสามารถยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อยีสต์ที่นำมาทดสอบได้ทุกชนิดยกเว้น *L. monocytogenes* แต่สารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ทองดีไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทุกชนิด และในชั้นเอทานอลสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่สามารถยับยั้ง *E. coli* และ *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar Typhimurium (*Salmonella typhimurium*) ได้ ส่วนสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ทองดีสามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ทุกชนิดยกเว้น *L. monocytogenes* ในขณะที่สารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ทองดีสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบที่นำมาทดสอบได้ดีที่สุด เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี โดยวิธี Agar spot test พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้น 10,000 50,000 และ 100,000 ppm ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิดที่นำมาทดสอบ แต่น้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์ของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อยีสต์ได้ดีกว่าแบคทีเรียที่นำมาทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. ในการเตรียมตัวอย่างของเปลือกส้มโอที่นำมาสกัด ควรหลีกเลี่ยงวิธีที่ให้ตัวอย่างสัมผัสกับความร้อน เนื่องจากความร้อนอาจทำให้สูญเสียสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีอยู่ในเปลือกของส้มโอ ดังนั้นการ freeze dry จึงน่าจะเป็นวิธีที่มีความเหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างมากกว่า

2. ในการสกัดน้ำมันหอมระเหยควรใช้วิธีในการสกัดที่ใช้อุณหภูมิต่ำที่สุด หรือใช้อุณหภูมิสูงแต่ระยะเวลาสั้น เพื่อเป็นการลดการสูญเสียสารสำคัญที่อยู่ในสารสกัดที่ได้

3. การใช้แผ่นทดสอบวัดประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งรอบแผ่นทดสอบนั้น สารสำคัญอาจระเหยไปในขณะทำการทดสอบ เนื่องจากในระหว่างการเตรียมแผ่นทดสอบ จะต้องรอให้แผ่นทดสอบแห้งจึงจะสามารถนำไปวางบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ ในขณะที่รอให้แผ่นทดสอบแห้งอาจมีการสูญเสียสารสำคัญหรือสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และความสามารถในแพร่ในอาหารเลี้ยงเชื้อของสารสกัดหยาบแต่ละชนิดอาจไม่เท่ากัน จึงอาจมีผลกระทบต่อขนาดของบริเวณยับยั้ง

4. อาจใช้ตัวทำละลายชนิดอื่นที่มีความเป็นขั้วแตกต่างกันออกไปได้อีกตามความเหมาะสม เนื่องจากสารประกอบต่างๆที่อยู่ในเปลือกส้มโอ อาจจะถูกดึงออกมาได้ดีในตัวทำละลายชนิดอื่นก็ได้

5. อายุและสถานที่ปลูกของส้มโอที่นำมาเป็นตัวอย่างในการสกัดสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหย อาจมีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกรัตน์ ศิริพานิชกร. 2541. โรคติดเชื้อ.พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร.

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2545. เกษตรที่เหมาะสมสำหรับส้มโอ. กรมวิชาการเกษตร พิมพ์ครั้งที่1.

กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร. 2545. คู่มือพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ ชุดที่ 3 พืชสมุนไพรน้ำมันหอมระเหย. กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร.

คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร. คณะอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพมหานคร. พิมพ์ครั้งที่ 1.

คมสัน หุตะแพทย์. 2546. มหัศจรรย์น้ำมันหอมระเหย : น้ำมันหอมระเหยจากดอกไม้และสมุนไพร. วารสารเกษตรกรรมธรรมชาติ ฉบับที่ 3.

คมสัน หุตะแพทย์. 2549 . การสกัดน้ำมันหอมระเหยการใช้ประโยชน์และการทำผลิตภัณฑ์น้ำมันหอม. วารสารเกษตรกรรมธรรมชาติ. กรุงเทพมหานคร.

จุไรรัตน์ แสงสวัส. 2548 . การสกัดน้ำมันหอมระเหย. [online].Available. http://72.14.235.132/search?q=cache:X3TDIyFj0YJ:agriman.doae.go.th/home/news3/news3_1/vagetable/0007sakad.doc+A2&cd=.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2544. แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์กรุงเทพมหานคร. พิมพ์ครั้งที่ 2.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2548. จุลชีววิทยาทั่วไป. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. พิมพ์ครั้งที่ 5.

นฤมล มานิพพาน. 2548 . การเพาะปลูกและขยายพันธุ์ส้มโอ. สำนักพิมพ์ส่งเสริมอาชีพธุรกิจเพชรกะรัต. กรุงเทพมหานคร.

ประเทืองศรี สินชัยศรี . 2545 . การผลิตสมุนไพรและเครื่องเทศ. กรมส่งเสริมการเกษตร.

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ . 2545. สุคนธบำบัด. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

มนตรี ตั้งใจ, สมาน เดชสุภา, ไพบูลย์ เรืองพัฒนพงศ์, วิภพ สุทธนะ, วินิจ ช้อยประเสริฐ. 2549. คุณสมบัติเชิงเคมีฟิสิกส์ และการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดชนิด erythromyeogenous leukemic และเซลล์มะเร็งปอดชนิด small cell lung carcinoma ของโมเลกุล ฟลาโวนอยด์. ห้องปฏิบัติการเคมีฟิสิกส์ ชีววิทยาระดับเซลล์และโมเลกุล ภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วิรดี ศรอ่อน. 2543. การสกัดน้ำมันหอมระเหย. เกษตรกรรมธรรมชาติ ฉบับที่ 9.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิเศษ อัครวิทยากุล. 2537 . โครงการหนังสือเกษตรชุมชน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์บางเขน กรุงเทพมหานคร.

สมชาย สุคนธสิงห์ และ ทวีศักดิ์ ด้วงทอง. 2527. ส้มโอ. โครงการตำราชาวบ้าน สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พิมพ์ครั้งที่ 1.

สัมฤทธิ์ เพื่อจันทร์. 2538. แร่ธาตุอาหาร พืชสวน. โรงพิมพ์สิริภัณฑ์ออฟเซ็น.

สิริพร สธนเสาวภาคย์, พรทิพย์ เจริญธรรมวัฒน์, มาลัย บุญรัตนกรุกิจ และ ปทุมพร ฉิมเอนก. 2539. ผลของเครื่องเทศและสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงงานวิจัย.

สิริลักษณ์ มาลานิยม. 2548. น้ำมันหอมระเหย สารสกัดจากพืชสมุนไพรไทย.[online]. Available. http://library.tisi.go.th/multim/bulletin/2545/325Jul02.pdf.

สิริลักษณ์ สำราญบำรุง. 2548. ผลของสารสกัดบัวบกต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* *Salmonella Anatum* และเชื้อแบคทีเรียแลคติก (บางชนิด) ที่เกี่ยวข้องกับอาหารหมัก. วิทยานิพนธ์หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสุขาภิบาล สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สุชาดา ไชยสวัสดิ์. 2548. อโรมาเธอราปีคืออะไร.[online]. Available. http://72.14.235.132/search?q=cache:j2ldlJoxwNIJ:digital.lib.kmutt.ac.th/magazine/issue1/article/aroma.html BA3&cd=1&hl=th&ct=clnk&gl=th&client=firefox-a.

สุชาดา ไชยสวัสดิ์ วราภรณ์ เมธาวิริยะศิลป์และเพ็ญประภา บัวลอย. 2549. การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพเบื้องต้นของเปลือกผลไม้ตระกูลส้ม. สถาบันพัฒนาและฝึกอบรมโรงงานต้นแบบ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

สุพัตตา ธรรมซองเมือง, โอวาท ต๊ะใส, สุมาลี พฤกษากร,อำไพ พฤติวรพงศ์กุล และลีลา พรพิสิฐ. 2549. โครงงานการพัฒนาผลิตภัณฑ์รักษาสิวจากสารสกัดพืชที่ปลูกในท้องถิ่นภาคเหนือ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Arias, B. A. and Laca, L. R. 2005. Pharmacological properties of *citrus* and their ancient and medieval uses in the Mediterranean region. *Jurnal of Ethnopharmacology*. 97 : 89 – 95.

Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M. and Debevere, J. 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology*. 21 : 33-42.

Benkeblia N. 2004. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). Lebensm.-Wiss. *U.-Technology*. 37 : 263–268.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bocco, A., Cuvelier, M., Richard, H. and Berset, C. 1998. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 46 : 21-23.

Carson, C. F., Me, B. J., & Riley, T., V. 2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 46 : 1914–1920.

Chambers, J. R. 2007. *Salmonella.* [online]. Available. http://www.magma.ca/%7Epavel/science/Salmonella.htm.

Chang, S.T., Chen, P.F. and Chang, S.C. 2001. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of Ethnopharmacology*. 77 (1) :123-127.

Clay Park Laboratory. 2006. ketoconazole. [online]. Available. http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/fda/fdaDrugXsl.cfm?id=2653&type=display.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2006. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests ; Approved Standard-Ninth Edition. CLSI document M2-A9. CLSI, Wayne, PA.

Conner, D. E., and Beuchat, L., R. 1984. Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *Journal of Food Science*. 49 : 429–434.

Cristani, M., d'Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Micieli, D. 2007. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, available on line.

Fankhauser, B., D. 2008. *E. coli* . [online]. Available. http://biology.clc.uc.edu/fankhauser/Labs/Microbiology/Gram_Stain/Gram_stain_images/index_gram_stain_images.html.

Fisher, K., and Phillips, C. 2006. The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems. *Journal of Applied Microbiology*. 101(6) :1232-1240.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh,M., Astaneh, S.A. and Rasoolo, I. 2007. Chemical and biological characteristic of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Journal of Food Chemistry*. 102 : 898-904.

Giamperic, L., Fraternale, D., Bucchini, A. and Ricci, D. 2004. Antioxidant activity of *Citrus paradisi* seeds glyceric extract. *Fitoterapja*. 75 : 221-224.

Gottfried, C. 2009. *Bacillus subtilis*. [online]. Available. http://www.absoluteastronomy.com/topics/Bacillus_subtilis.

Helander, I. M., Alakomi, H. L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E. J. 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*. 46(9) : 3590-3595.

Kim, J., Marshall, M. R., and Wei, C. 1995. Antibacterial activity of some essential oil components againts five foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43 : 2839-2845.

Khan, M.R., Omoloso, A.D. and Kihara, M. 2003. Antibacterial activity of *Artocarpus heterophyllus*. *Fitoterapia*. 74 : 501-505.

Kruse, C. 2008. The Vinification. [online]. Available. http://www.chateauneuf.dk/en/production/vinification.htm.

Lawless, J., 1992. The Encyclopedia of Essential Oils. Thorsons, London .

Manthey , J.A. and Grohmann , K. 2001. Phenols in *citrus* peel by product : concentration of hydroxycinnamates and polymethoxylated flavones in *critus* peel molasses. *Journal of Agricultural food Chemistry*. 49 :32-68.

Martos, M.V., Navajas, Y. R., Lopez, J. F., Alvarez, J.P. 2008. Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Food Control*. 19 : 1130-1138.

Mayachiew, P. and Devahastin, S. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *Food Science and Technology*. 41. : 1153–1159.

Oussalah, M., Caillet, S., and Lacroix, M. 2006. Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory oils against cell membrane and walls of Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes. *Journal of Food Protection*., 69(5). : 1046-1055.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Owen, R. J. and Palombo, E. A. 2007. Anti-listerial activity of ethanolic extracts of medicinal plants, *Eremophila alternifolia* and *Eremophila duttonii* , in food homogenates and milk. *Food Control.* 18 : 387–390.

Phongmanee, S. and Sanampol, G. 2007. The Extraction of medicinal herbs for inhibit food pathogen. *Agricultural Science Journal.* 38(6) : 54-57.

Ruangsiri, S. 2009. *Bacillus cereus*. [online]. Available. http://www.flickr.com/photos/peteredin /400555369.

Santa, S., C. 2009. Yeast. [online]. Available. http://envis.kuenvbiotech.org/yeast.htm.

Seoul National University. 2005. *Staphylococcus aureus.* [online]. Available. http:// biomarker.korea.ac.kr:8080/pathogen/pathogen_view_en.jsp?pclass=1&id=81.

Shaw, D., M. 2006. The Story Behind The Bacterial Outbreak That Killed Two Preemies In Los Angeles. [online]. Available. http://www.gasdetection.com/news2/ health_ news_digest84.html.

Smith-Palmer, A., Stewart, J., and Fyfe, L. 2001. The potentialapplication of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology.* 18(4) : 463-470.

Tripoli, E., Guardia, M. L., Giammanco, S., Majo, D. D., Giammanco, M. 2007. *Citrus* flavonoids : Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. *Food Chemistry*. 104 : 466-479.

University of Michigan. 2009. Vancomycin. [online]. Available. http://sitemaker.umich.edu/ mc13/vancomycin.

Ultee, A., Bennik, M. H. J., and Moezelaar, R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen Bacillus cereus. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(4) : 1561-1568.

White, N., J. 2003. Ceftazidime. [online]. Available. http://www.answers.com/topic/ceftazidime.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Xu, W., Qu, W., Huang, K., Guo, F., Yang, J., Zhao, H. and Luo, Y. 2007. Antibacterial effect of grapefruit seed extract on food-borne pathogens and its application in the preservation of minimally processed vegetables. *Postharvest Biology and Technology*. 45 :126–133.

Xu , W., Huang, K.L., Guo, F., Qu, W., Yang, J., Liang, Z. and Luo, Y. 2007. Postharvest grapefruit seed extract and chitosan treatments of table grapes to control *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Tecnology*. 46 : 86-94.

Yde, M. 2007. *Listeria monocytogenes* and listeriosis. [online]. Available. http://bacterio.iph. fgov.be/missions/listeria.

Yano, Y., Satomi,M., Oikawa, H. 2006. Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Food Microbiology*. 111 : 6–11.

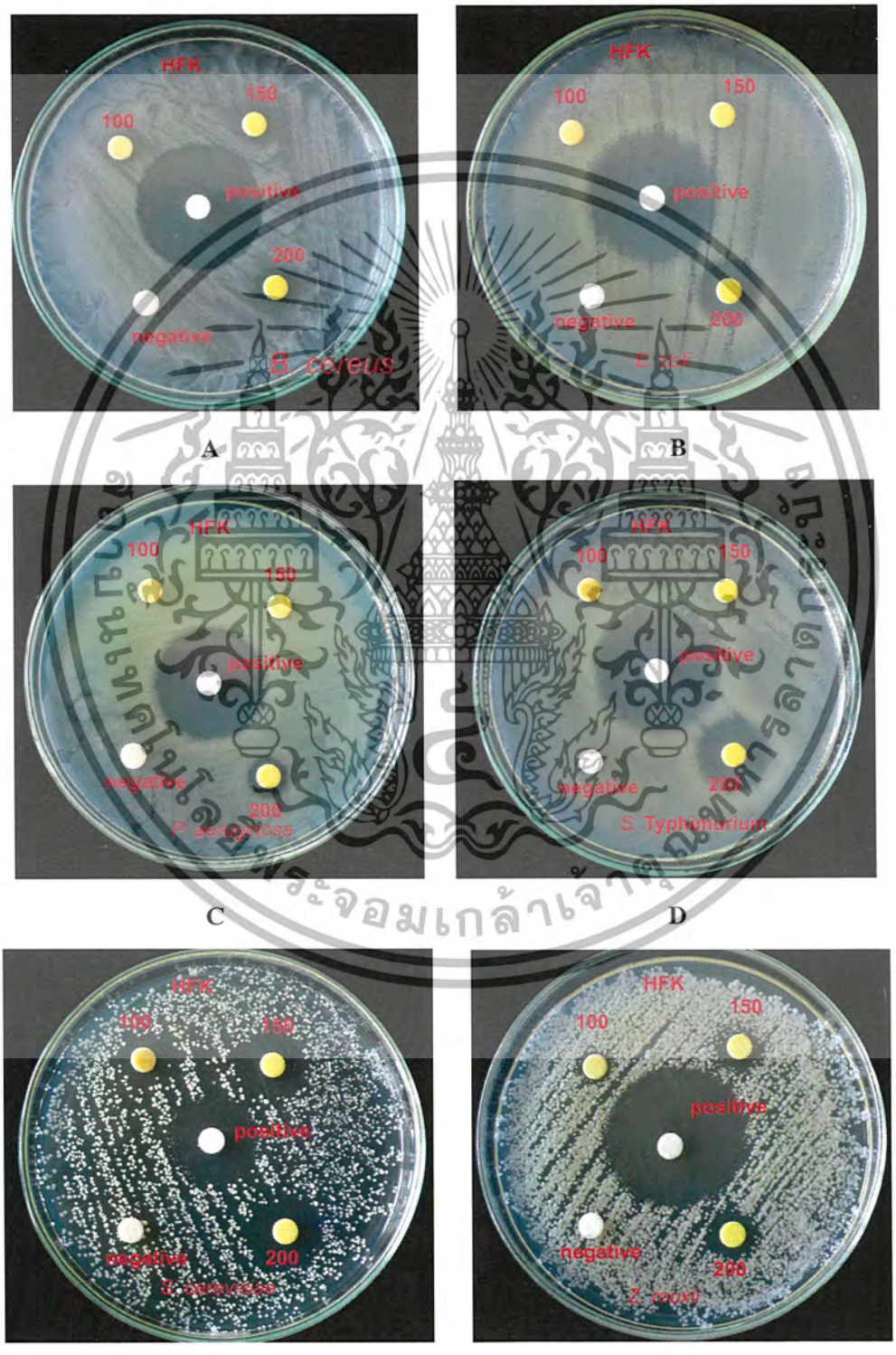
Yi, Z., Yu. Y., Liang, Y., Zeng, B. 2008. In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus ciltivar and its main flavonoids. *Food Science and Technology*.41: 597-603.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

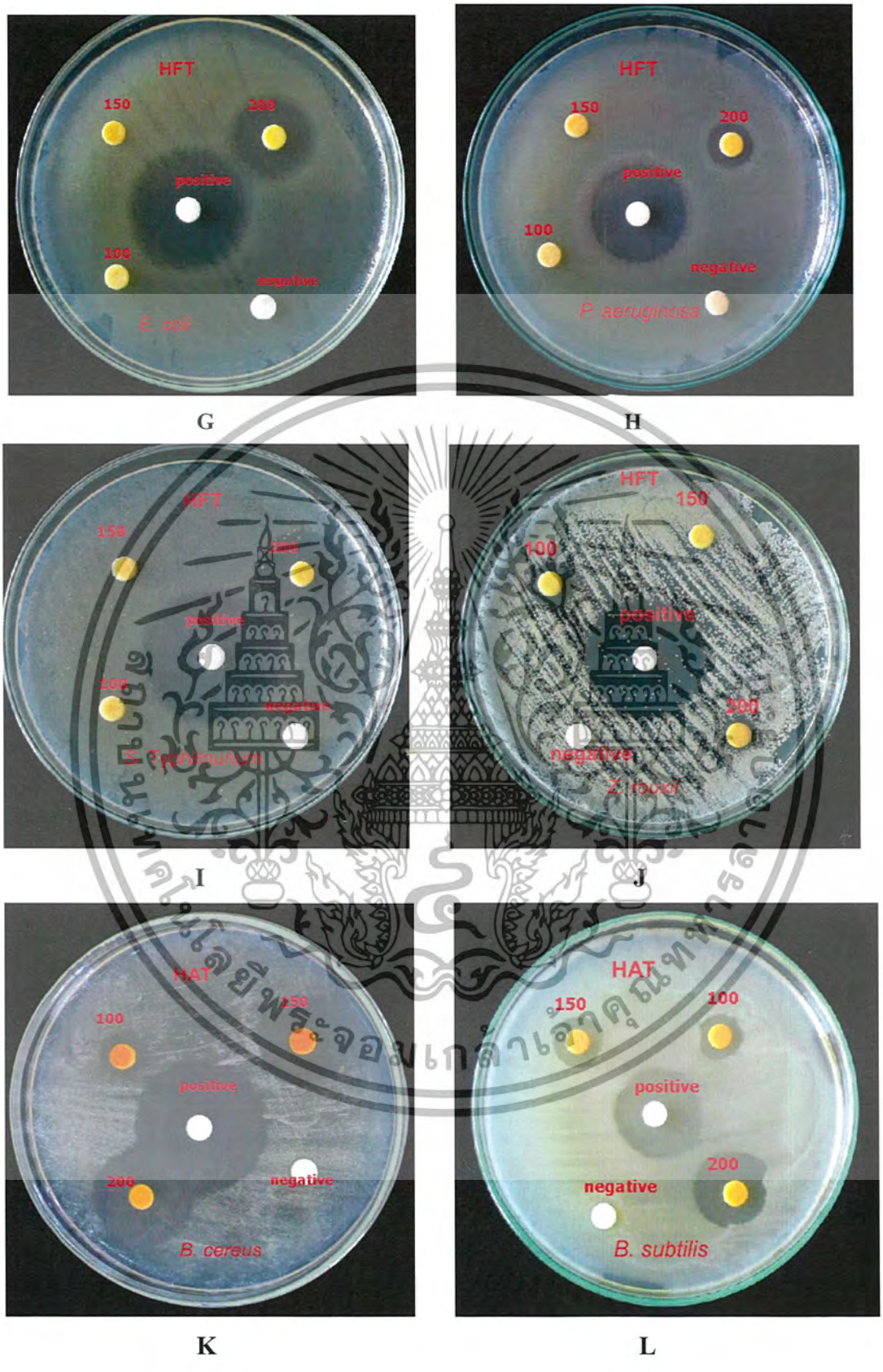
ภาคผนวก ก.

รูปผลการทดลอง

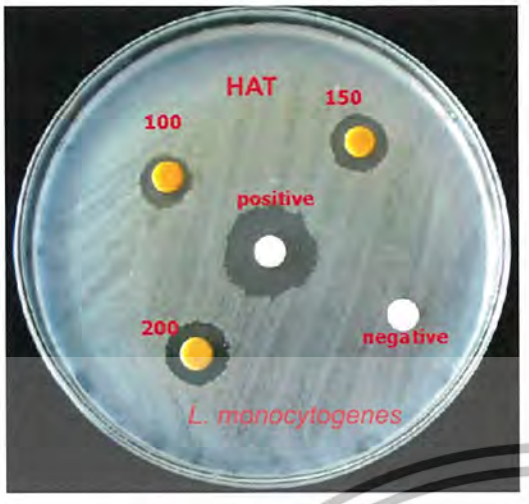
บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของสารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน



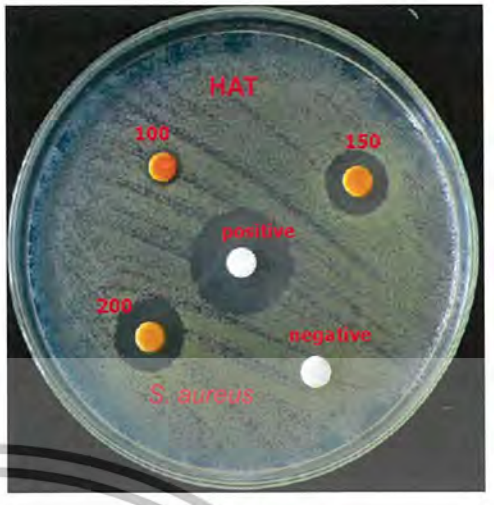
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



M



N

หมายเหตุ A หมายถึง เฮกเซน-เปลือกเขียว-ขาวใหญ่ - *B. cereus*

B หมายถึง เฮกเซน-เปลือกเขียว-ขาวใหญ่ – *E. coli*

C หมายถึง เฮกเซน-เปลือกเขียว-ขาวใหญ่ – *P. aeruginosa*

D หมายถึง เฮกเซน-เปลือกเขียว-ขาวใหญ่ – *S. typhimurium*

E หมายถึง เฮกเซน-เปลือกเขียว-ขาวใหญ่ – *S. cerevisiae*

F หมายถึง เฮกเซน-เปลือกเขียว-ขาวใหญ่ – *Z. rouxii*

G หมายถึง เฮกเซน-เปลือกเขียว-ทองดี – *E. coli*

H หมายถึง เฮกเซน-เปลือกเขียว-ทองดี – *P. aeruginosa*

I หมายถึง เฮกเซน-เปลือกเขียว-ทองดี – *S. typhimurium*

J หมายถึง เฮกเซน-เปลือกเขียว-ทองดี – *Z. rouxii*

K หมายถึง เฮกเซน-เปลือกขาว-ทองดี – *B. cereus*

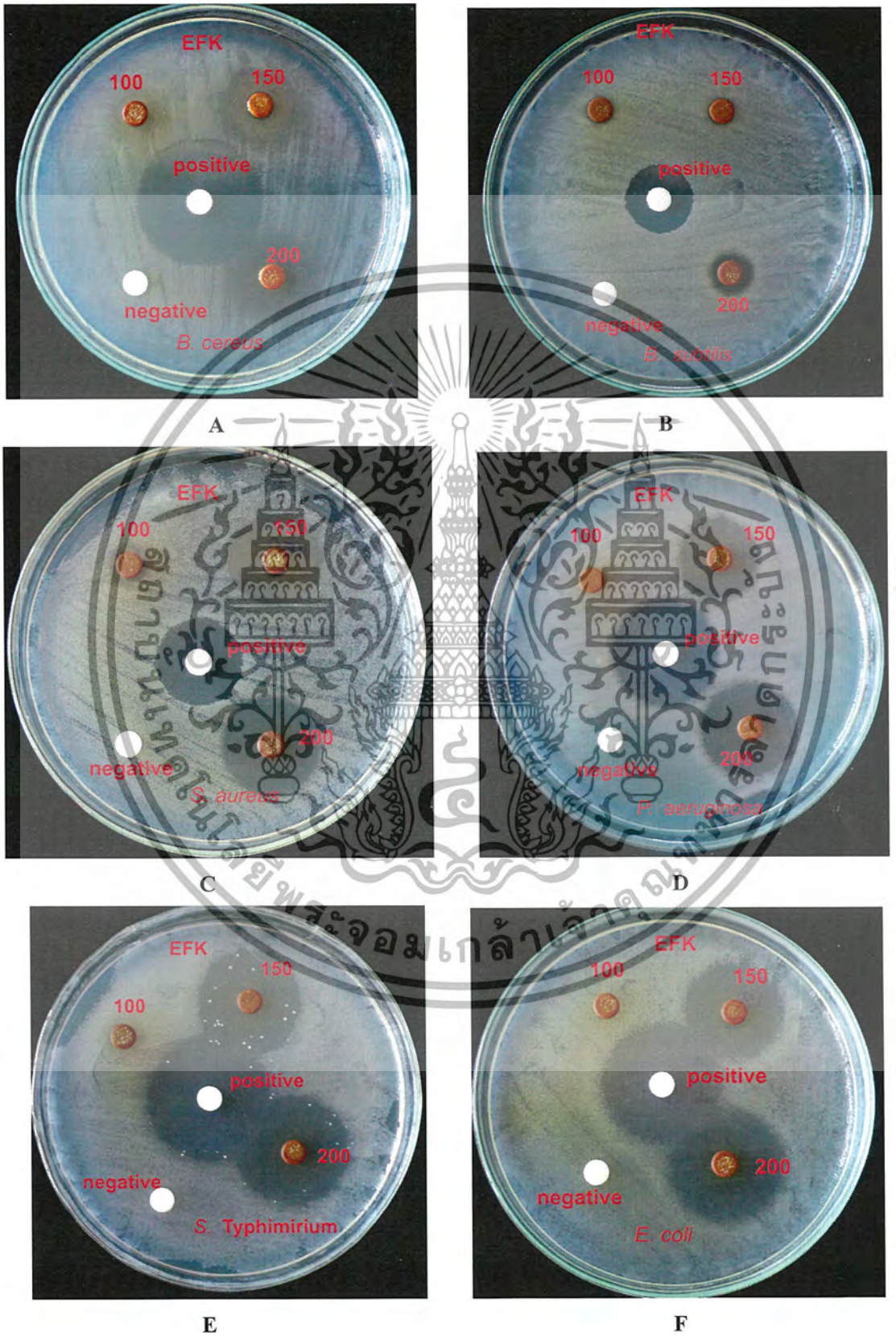
L หมายถึง เฮกเซน-เปลือกขาว-ทองดี – *B. subtilis*

M หมายถึง เฮกเซน-เปลือกขาว-ทองดี – *L. monocytogenes*

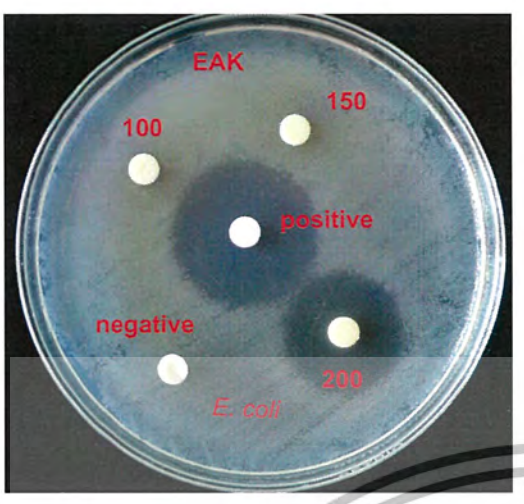
N หมายถึง เฮกเซน-เปลือกขาว-ทองดี – *S. aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

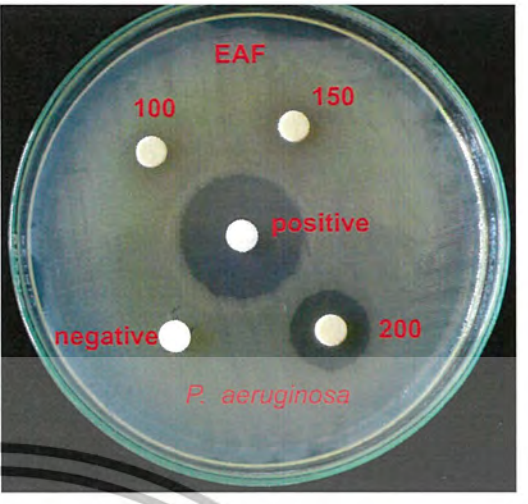
บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของสารสกัดหยาบในชั้นเอธทิลอะซิเตท



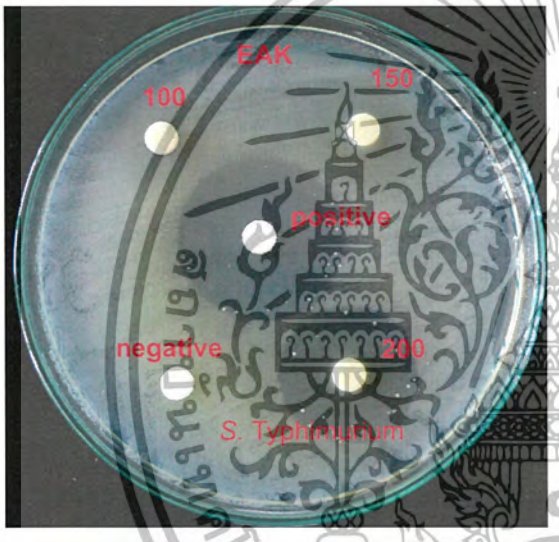
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



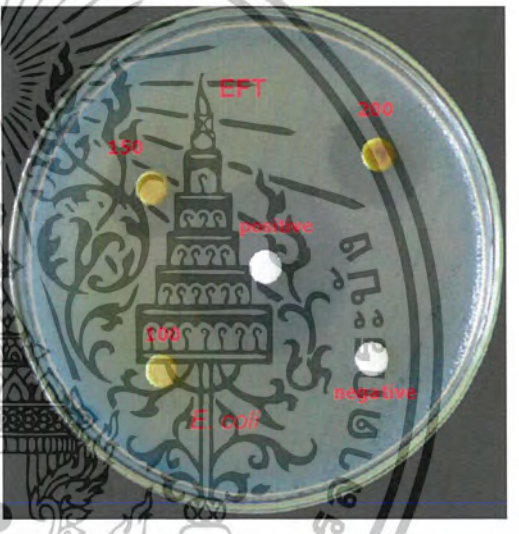
G



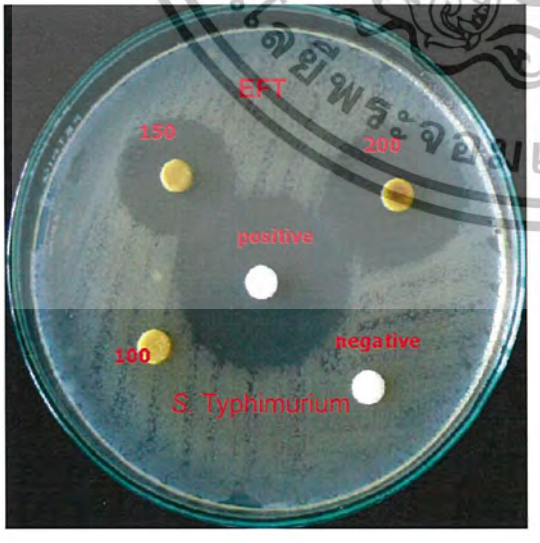
H



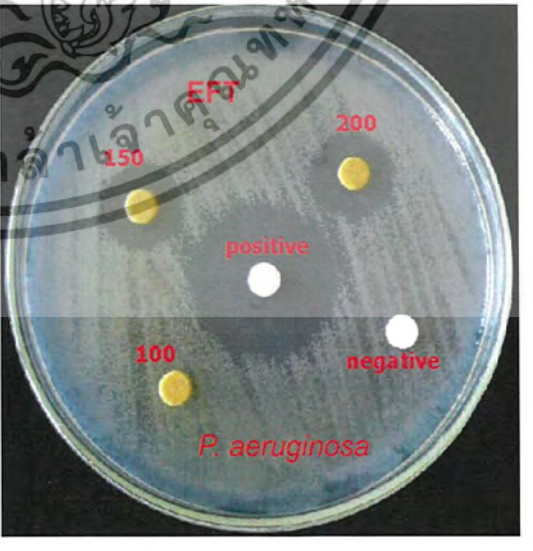
I



J



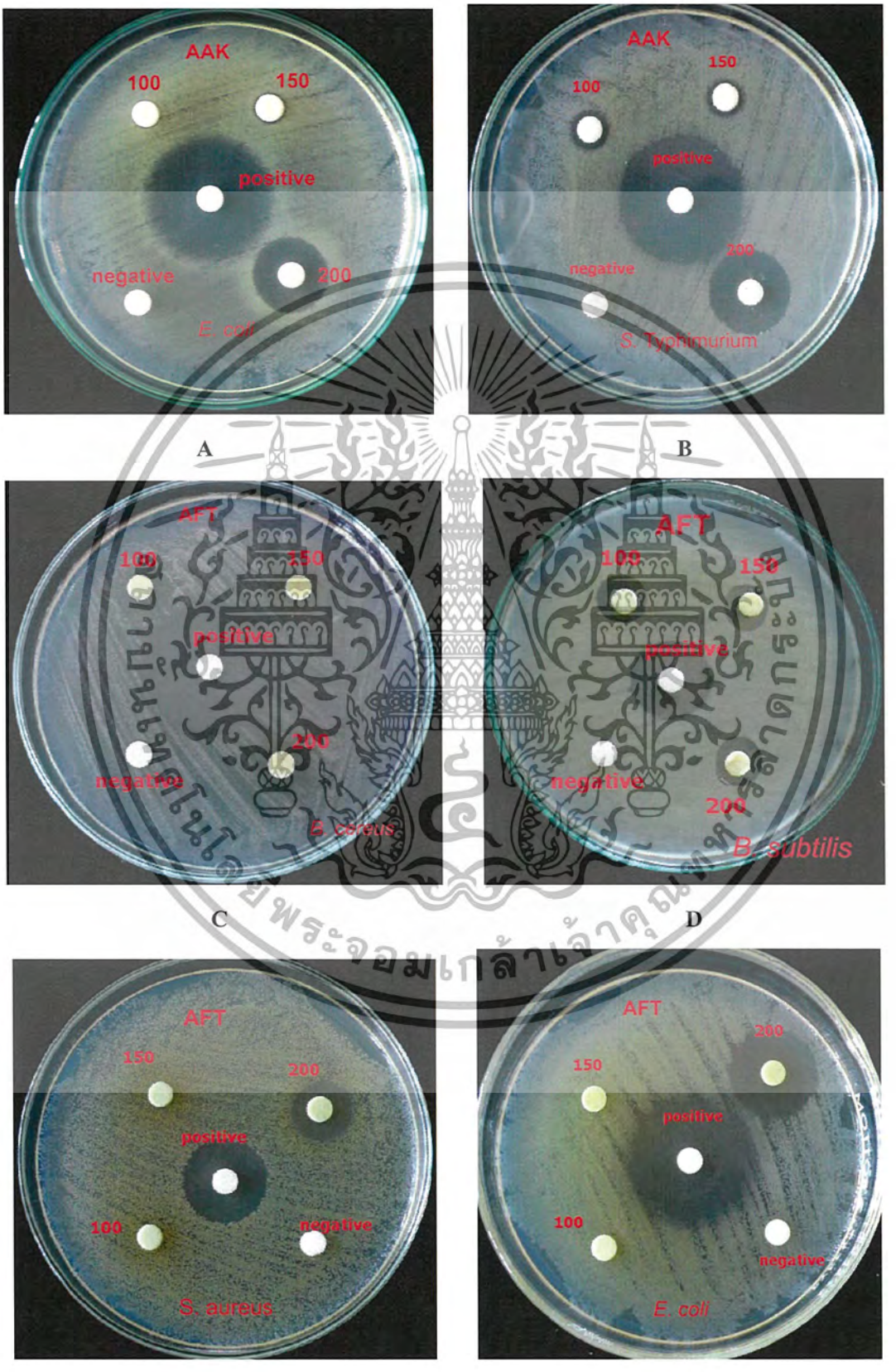
K



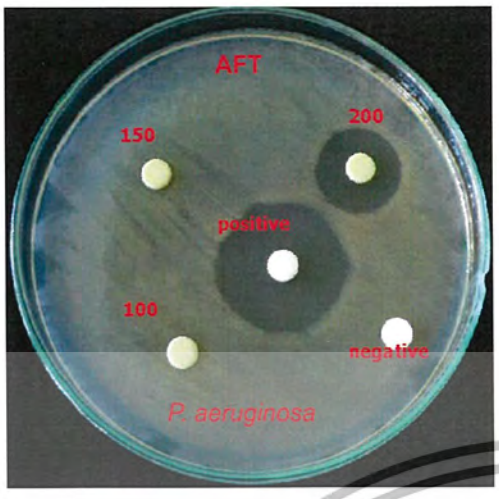
L

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

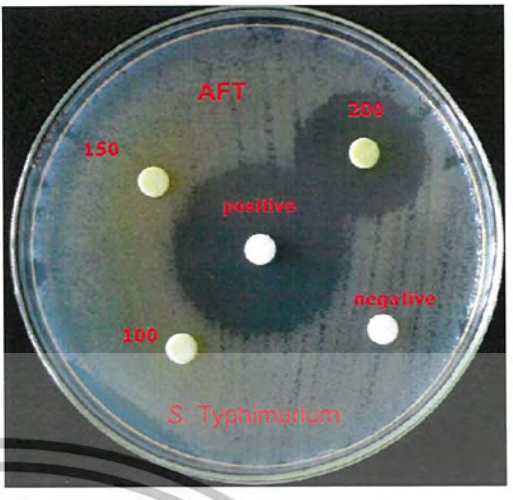
บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของสารสกัดหยาบในชั้นเอทานอล



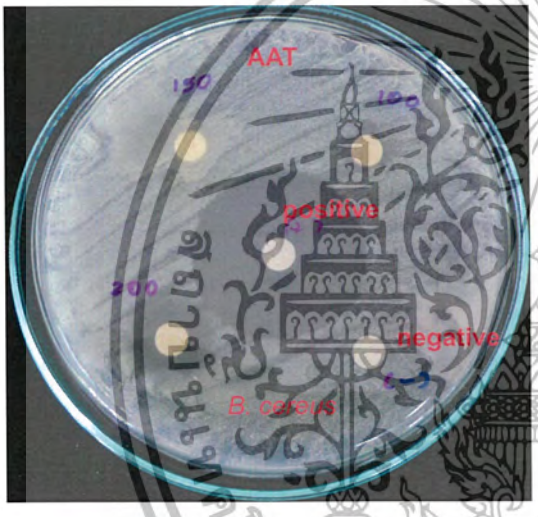
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



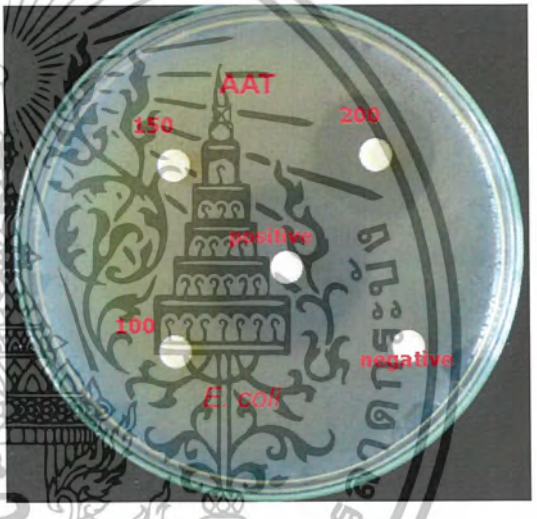
G



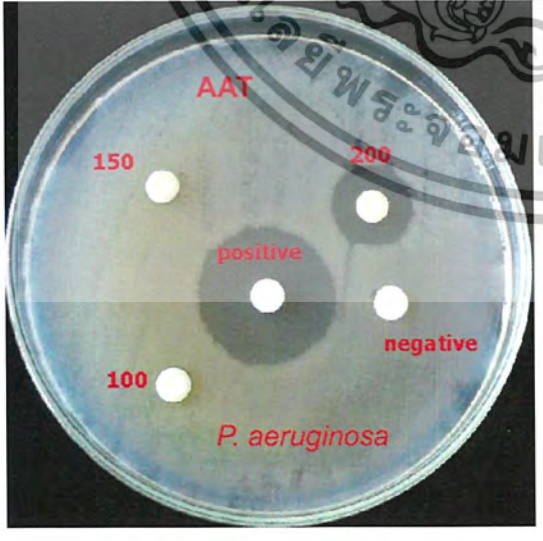
H



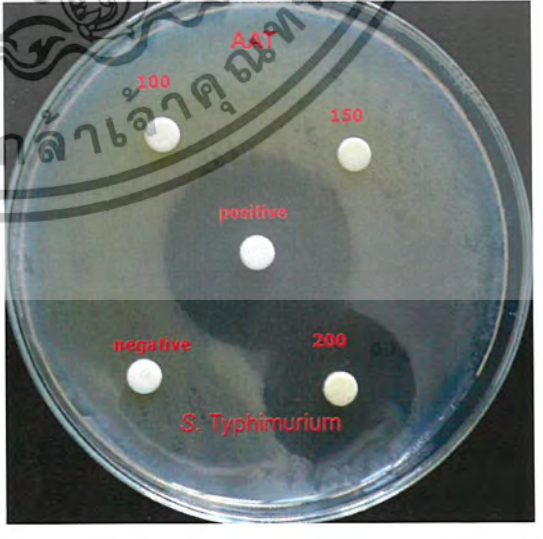
I



J



K



L

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ A หมายถึง เอทานอล-เปลือกขาว-ขาวใหญ่ -*E. coli*

B หมายถึง เอทานอล-เปลือกขาว-ขาวใหญ่ -*S. typhimurium*

C หมายถึง เอทานอล-เปลือกเขียว-ทองดี -*B. cereus*

D หมายถึง เอทานอล-เปลือกเขียว-ทองดี - *B. subtilis*

E หมายถึง เอทานอล-เปลือกเขียว-ทองดี - *S. aureus*

F หมายถึง เอทานอล-เปลือกเขียว-ทองดี -*E. coli*

G หมายถึง เอทานอล-เปลือกเขียว-ทองดี - *P. aeruginosa*

H หมายถึง เอทานอล-เปลือกเขียว-ทองดี - *S. typhimurium*

I หมายถึง เอทานอล-เปลือกขาว-ทองดี -*B. cereus*

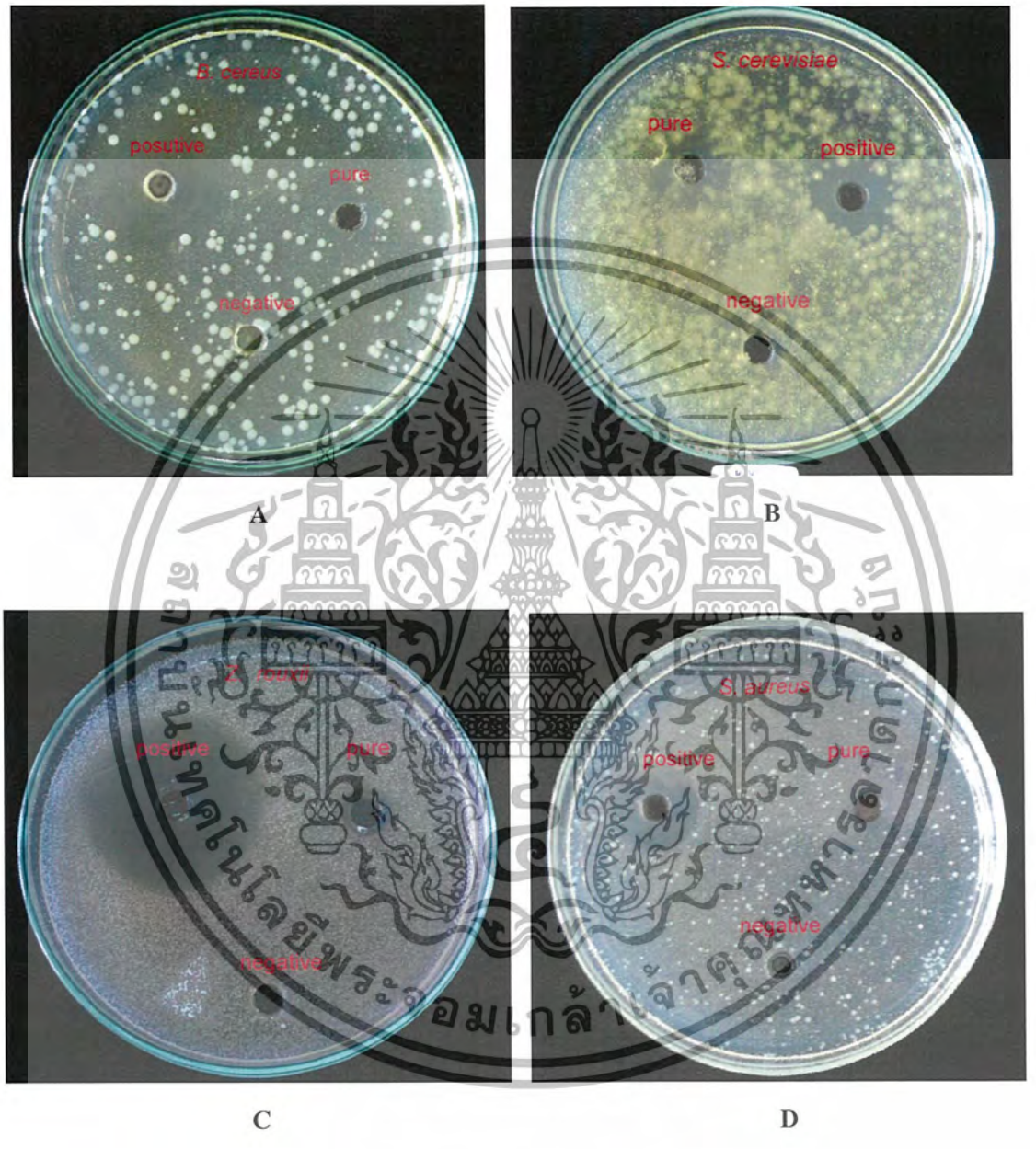
J หมายถึง เอทานอล-เปลือกขาว-ทองดี -*E. coli*

K หมายถึง เอทานอล-เปลือกขาว-ทองดี - *P. aeruginosa*

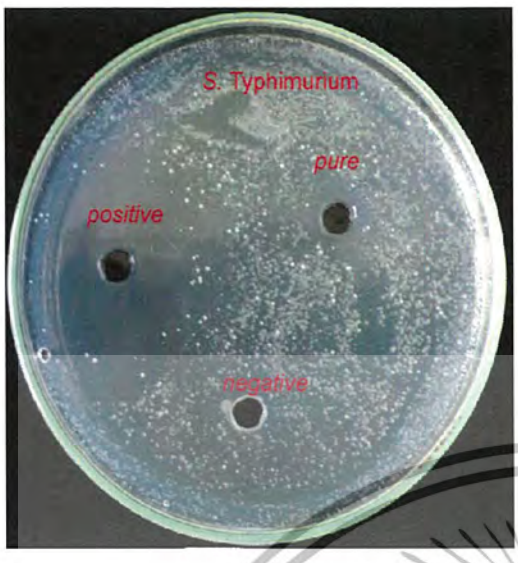
L หมายถึง เอทานอล-เปลือกขาว-ทองดี - *S. typhimurium*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของน้ำมันหอมระเหย

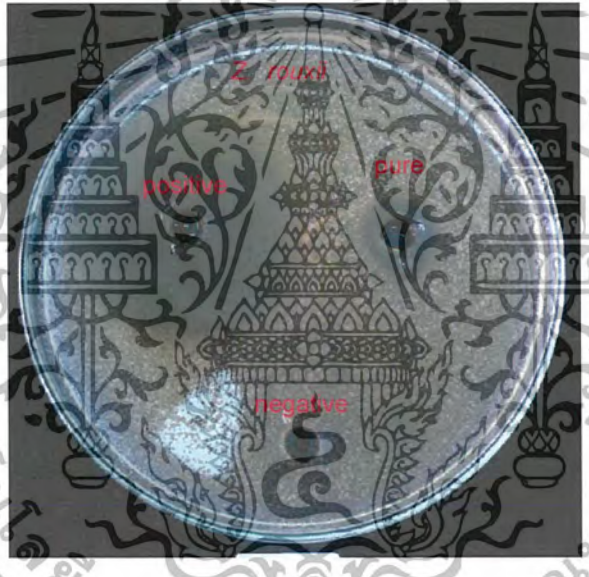


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



E

F



G

หมายเหตุ pure หมายถึง น้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์

A หมายถึง ขาวใหญ่-*B. cereus*

B หมายถึง ขาวใหญ่-*S. cerevisiae*

C หมายถึง ขาวใหญ่-*Z. rouxii*

D หมายถึง ทองดี-*S. aureus*

E หมายถึง ทองดี-*S. typhimurium*

F หมายถึง ทองดี-*S. cerevisiae*

G หมายถึง ทองดี-*Z. rouxi*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

Mueller Hinton Agar (MHA)

เป็นอาหารสำเร็จรูป ปริมาตรที่ใช้คือ 38 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ประกอบด้วย

Beef , infusion form	300	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Casein acid hydrolysate	17.5	กรัม
Agar	17	กรัม
Distilled Water	1	ลิตร

pH 7.3 ± 0.2

ชั่งอาหารมา 38 กรัม ละลายในน้ำกลั่นโดยปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อได้หม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

Sabourand's Dextrose Agar (SDA)

เป็นอาหารสำเร็จรูป ปริมาตรที่ใช้คือ 65 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ประกอบด้วย

Mycological peptone	10	กรัม
Dextrose	40	กรัม
Agar	15	กรัม
Distilled Water	1	ลิตร

pH 5.6 ± 0.2

ชั่งอาหารมา 65 กรัม ละลายในน้ำกลั่นโดยปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Potato Dextrose Agar (PDA)

เป็นอาหารสำเร็จรูป ปริมาตรที่ใช้คือ 65 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ประกอบด้วย

Potato infusion	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Agar	20	กรัม
Distilled Water	1	ลิตร

pH 5.6 ± 0.2

ชั่งอาหารมา 39 กรัม ละลายในน้ำกลั่นโดยปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปรับ pH สุดท้ายให้ได้ 5.6 ± 0.2

Nutrient Agar (NA)

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Agar	15	กรัม
Distilled Water	1	ลิตร

pH 7 ± 0.2

ผสมส่วนผสมทุกชนิดในน้ำกลั่น ให้ความร้อนจนวุ้นละลาย แบ่งใส่ขวด นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปรับ pH สุดท้ายให้เป็น 6.8 ± 0.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.
การวิเคราะห์ทางสถิติ

การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดีต่อชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

ชั้นเฮกเซน

Group Statistics

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
1	2	.1742	.00636	.00450
2	2	.1592	.00580	.00410

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Equal variances assumed	1.012E14	.000	2.464	2	.133	.01500	.00609	-.01119	.04119
Equal variances not assumed			2.464	1.983	.134	.01500	.00609	-.01141	.04141

ชั้นเอธิลอะซิเตท

Group Statistics

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
1	2	.3204	.01768	.01250
2	2	.4569	.07948	.05620

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Equal variances assumed	8.536E15	.000	-2.371	2	.141	-.13650	.05757	-.38422	.11122
Equal variances not assumed			-2.371	1.099	.236	-.13650	.05757	-.72964	.45664

ชั้นเอทานอล

Group Statistics

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
1	2	5.8434	.24353	.17220
2	2	5.6574	.06661	.04710

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Equal variances assumed	2.014E17	.000	1.042	2	.407	.18600	.17853	-.58213	.95413
Equal variances not assumed			1.042	1.149	.469	.18600	.17853	-1.49339	1.86539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดีต่อชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

ชั้นเฮกเซน

Group Statistics

	treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ta	1	2	.7135	.02630	.01860
	2	2	1.0266	.05572	.03940

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
ta	Equal variances assumed	5.514E15	.000	-7.186	2	.019	-.31310	.04357	-.50057	-.12563
	Equal variances not assumed			-7.186	1.425	.043	-.31310	.04357	-.59558	-.03062

ชั้นเอธิลอะซิเตท

Group Statistics

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
1	2	.7424	.05190	.03670
2	2	1.3424	.21963	.15530

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Equal variances assumed	5.289E16	.000	-3.760	2	.064	-.60000	.15958	-1.28661	.08661
Equal variances not assumed			-3.760	1.111	.148	-.60000	.15958	-2.20531	1.00531

ชั้นเอทานอล

Group Statistics

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
1	2	5.8646	.06859	.04850
2	2	5.6731	.31891	.22550

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Equal variances assumed	2.466E16	.000	.830	2	.494	.19150	.23066	-.80094	1.18394
Equal variances not assumed			.830	1.092	.549	.19150	.23066	-2.21412	2.59712

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวและเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

ชั้นเฮกเซน

Group Statistics

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
1	2	.7135	.02630	.01860
2	2	.1742	.00636	.00450

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Equal variances assumed	.	.	28.182	2	.001	.53930	.01914	.45696	.62164
Equal variances not assumed			28.182	1.117	.016	.53930	.01914	.34868	.72992

ชั้นเอธิลอะซิเตท

Group Statistics

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
1	2	.7424	.05190	.03670
2	2	.3204	.01768	.01250

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Equal variances assumed	4.501E16	.000	10.885	2	.008	.42200	.03877	.25518	.58882
Equal variances not assumed			10.885	1.229	.036	.42200	.03877	.10110	.74290

ชั้นเอทานอล

Group Statistics

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
1	2	5.8646	.06859	.04850
2	2	5.8434	.24353	.17220

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Equal variances assumed	.	.	.119	2	.916	.02120	.17890	-.74854	.79094
Equal variances not assumed			.119	1.158	.923	.02120	.17890	-1.63639	1.67879

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสีขาวและเปลือกสีเขียวของส้มโอพันธุ์ทองดีต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

ชั้นเฮกเซน

Group Statistics

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
1	2	1.0266	.05572	.03940
2	2	.1592	.00580	.00410

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Equal variances assumed	1.557E16	.000	21.897	2	.002	.86740	.03961	.69696	1.03784
Equal variances not assumed			21.897	1.022	.027	.86740	.03961	.38860	1.34620

ชั้นเอธิลอะซิเตท

Group Statistics

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
1	2	1.3424	.21963	.15530
2	2	.4569	.07948	.05620

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Equal variances assumed	2.060E16	.000	5.362	2	.033	.88550	.16516	.17489	1.59611
Equal variances not assumed			5.362	1.257	.081	.88550	.16516	-.42640	2.19740

ชั้นเอทานอล

Group Statistics

treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
1	2	5.6731	.31891	.22550
2	2	5.6574	.06661	.04710

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Equal variances assumed	2.361E16	.000	.068	2	.952	.01570	.23037	-.97549	1.00689
Equal variances not assumed			.068	1.087	.958	.01570	.23037	-2.41147	2.44287

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้