สำนักหอสมุดกลาง
06 พ.ย. 2561

รายงานการวิจัย

การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดจากเปลือกมะนาวและใบพลู ยับยั้งเชื้ออีโคไล

The Feasibility Study for Coarse Extraction from Lime Bark and Betel Leaves to Inhibit the Growth of *E. coli*

วัลภา แก้วหนูนวล
สุนิดา จินพล

รายงานวิจัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
2560

ใบรับรองการวิจัยสิ่งแวดล้อม

โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)

เรื่อง การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดจากเปลือกมะนาวและใบพลูยับยั้งเชื้ออีโคไล
The Feasibility Study for Coarse Extraction from Lime Bark and Betel Leaves to Inhibit the Growth of *E. coli*

ผู้วิจัย นางสาววัลภา แก้วหนูนวล รหัสนักศึกษา 564231035

นางสาวสุนิดา จินพล รหัสนักศึกษา 564231046

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

คณะกรรมการที่ปรึกษา

.....ประธานกรรมการ
(นางสาวหิรัญวดี สุวิบูรณ์)

.....กรรมการ
(นางสาวสัลวา ตอปี)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(ดร.สุชีวรรณ ยอยรู้รอบ)

.....กรรมการ
(นางสาวนัดดา โปดำ)

.....กรรมการ
(ดร.สิริพร บริรักวิสิฐศักดิ์)

.....กรรมการ
(นางสาวหิรัญวดี สุวิบูรณ์)

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา รับรองแล้ว

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุมัติ เดชนะ)
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงและสมบูรณ์ลงด้วยดี โดยการชี้แนะแนวทาง คำแนะนำ และตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่อง ตลอดจนให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัยด้วยดีเสมอมา จากอาจารย์ที่ปรึกษาหลัก อาจารย์หิรัญวดี สุวิบูรณ์ และอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์สัลวา ตอปี ขอขอบคุณคณาจารย์โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมทุกท่านที่ให้คำแนะนำ และกรุณาช่วยให้ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมเพื่อแก้ไขข้อบกพร่อง จนงานวิจัยฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม โปรแกรมวิชาเคมีและเคมีประยุกต์ และโปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ ที่ช่วยเหลือให้คำแนะนำการใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ และการวิเคราะห์ตัวอย่าง และขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ นักศึกษาโปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมทุกท่าน ที่คอยให้กำลังใจตลอดการทำวิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และทุกคนในครอบครัวที่อุปถัมภ์กำลังทรัพย์และให้กำลังใจเพื่อให้ทำงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี คุณค่าและประโยชน์ที่พึงได้จากงานวิจัยฉบับนี้ ขอมอบเป็นรางวัลแห่งความภาคภูมิใจแด่บิดา มารดา รวมทั้งผู้สนับสนุนทุกท่าน อนึ่งหากงานวิจัยฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใดผู้วิจัยขออภัยไว้ ณ ที่นี้

วัลภา แก้วหนูนวล

สุนิดา จินพล

24 มิถุนายน 2561

เลข Bib# 1142387
วันที่ ... ส.ค. 2561
เลขเรียกหนังสือ 615.321 ว1177

ชื่อการวิจัย การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดจากเปลือกมะนาวและใบพลูยับยั้งเชื้ออีโคไล
ชื่อผู้วิจัย นางสาววัลภา แก้วหนูนวล
นางสาวสุนิดา จินพล
โปรแกรมวิชา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
คณะ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
ปีการศึกษา 2560
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก นางสาวหิรัญวดี สุวิบูรณ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม นางสาวสัลวา ตอปี

บทคัดย่อ

เชื้ออีโคไล (*Escherichia coli; E. coli*) เป็นเชื้อที่พบได้ในลำไส้ใหญ่และในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น เมื่อมนุษย์ได้รับเชื้ออาจส่งผลให้ถ่ายอุจจาระเหลว การรักษานิยมใช้ยาปฏิชีวนะ ซึ่งอาจเกิดการตกค้างในร่างกายและเกิดอาการดื้อยา การนำพืชสมุนไพรมาใช้เป็นยาจึงเป็นทางเลือกที่ดีในการลดผลกระทบที่เกิดขึ้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวและใบพลูด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดจากเปลือกมะนาวและใบพลูในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

ผลการศึกษาพบว่าอัตราส่วนของพืชแห้งต่อเอทานอลร้อยละ 95 ที่ 1:7 เหมาะสมในการสกัดสาร โดยใช้ระยะเวลาในการสกัด 7 วัน ซึ่งให้ร้อยละผลิตภัณฑ์ของสารสกัดจากเปลือกมะนาวและใบพลู เท่ากับร้อยละ 31.37 และ 34.71 ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดจากสมุนไพรที่ได้ไปทดสอบการยับยั้งเชื้ออีโคไล ด้วยวิธีอาร์กา เวล ดิฟฟิวชั่น (Agar well diffusion) ที่ความเข้มข้น 0.1 0.2 0.3 และ 0.4 µg/mL พบว่าที่ความเข้มข้น 0.4 µg/mL สารสกัดสูตรใบพลูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไลสูงสุด ซึ่งมีประสิทธิภาพของบริเวณการยับยั้ง (Inhibition zone) เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 100 รองลงมาเป็นสูตรผสมเปลือกมะนาวและใบพลู (อัตราส่วน 1:1) และสูตรเปลือกมะนาวมีค่าเฉลี่ยร้อยละของบริเวณยับยั้งเท่ากับ 79.17 และ 52.08 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Study Title The feasibility study for coarse extraction from lime bark and betel leaves to inhibit the growth of *E. coli*

Authors Miss Wanlapa Kaewnunual
Miss Sunida Jinpol

Program Environmental Science
Faculty Science and Technology
Academic year 2017
Advisor Miss Hirunwadee Suviboon
Miss Salwa Torpee

Abstract

Escherichia coli (*E. coli*) can find in the large intestine and poo of human and warm-blooded animals. When people have been infected *F. coli* they will have diarrhoea. At present, antibiotics are not recommended because it may increase side effects including antibiotic resistance and long-term debilitating complications. Herb medicines for treatments are alternative treatments that can reduce side effects. The study aimed to assess appropriate conditions for lime bark and betel leaves extractions with 95 % ethanol. Moreover, also feasibility study of lime bark and betel leave extractions to inhibit *E. coli* infection was investigated.

This study found a strength ratio of dried herbs and 95% ethanol was 1:7 (one part dried herbs to 7 parts of solvent 95% ethanol). The optimal duration was seven days. The percentage of extraction outputs from lime bark and betel leaves were 31.37 and 34.81 respectively. Then dried herbs with different concentrations including 0.1, 0.2, 0.3 and 0.4 µg/mL were investigated to find the optimal conditions with the Agar well diffusion method. The extraction from betel leaves at 0.4 µg/mL was the most efficient to inhibit *E. coli* with 100 % of average extractions. Then effective extractions of mixed extractions between lime bark and betel leaves (1:1 ratio) and only lime bark extraction were reported an average

percentage of 79.17 % and 52.08 % respectively. The average percentage of herb extractions from that concentrations were significant at 95% confidence interval.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ตัวแปร	3
1.4 นิยามศัพท์ที่ใช้ในการวิจัย	3
1.5 สมมติฐาน	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.7 ระยะเวลาดำเนินการวิจัย	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ข้อมูลเบื้องต้นเชื้อ *Escherichia coli*	5
2.2 การปนเปื้อนของเชื้ออีโคไลสู่สิ่งแวดล้อม	10
2.3 วิธีการสกัดพืชสมุนไพร	12
2.4 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับมะนาว	13
2.5 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับใบพลู	16
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	
3.1 กรอบแนวคิดในการศึกษา	22
3.2 ขอบเขตการวิจัย	23
3.3 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี	23
3.4 การเก็บและการเตรียมตัวอย่างพืช	25
3.5 วิธีการวิเคราะห์	27

มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร SAKON NAKHON RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล	30
บทที่ 4 ผลและการอภิปรายผลการวิจัย	
4.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวและใบพลู	32
4.2 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล	36
4.3 ผลการศึกษาต้นทุนการผลิตเบื้องต้น	39
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปการวิจัย	42
5.2 ข้อเสนอแนะ	43
บรรณานุกรม	44
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก แบบเสนอโครงร่างวิจัย	ผก-1
ภาคผนวก ข ภาพประกอบขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	ผข-1
ภาคผนวก ค ผลการวิเคราะห์สถิติแบบ T-test	ผค-1
ภาคผนวก ง การคำนวณต้นทุนการผลิต	ผง-1
ภาคผนวก จ ประวัติผู้วิจัย	ผจ-1

มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร SAKON NAKHON RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.7-1	ระยะเวลาดำเนินการวิจัย	4
2.4-1	องค์ประกอบทางเคมีที่พบในมะนาว	15
2.5-1	องค์ประกอบทางเคมีที่พบในใบพลู	18
2.6-1	งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพของสารสกัดจากธรรมชาติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย	19
3.5-1	อัตราส่วนของเปลือกมะนาวและใบพลูต่อเอทานอลร้อยละ 95	27
3.5-2	ระยะเวลาในการสกัดเปลือกมะนาวและใบพลูต่อเอทานอลร้อยละ 95	28
3.5-3	การเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม	28
4.1-1	ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาว และใบพลูแห้งด้วยเอทานอลร้อยละ 95	33
4.1-2	ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาว และใบพลูแห้งด้วยเอทานอลร้อยละ 95	35
4.2-1	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้งเชื้ออีโคไล และประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไลของสารสกัด	38
4.3-1	ต้นทุนเบื้องต้นในการสกัดสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว	40
4.3-2	ต้นทุนเบื้องต้นในการสกัดสารสกัดสูตรใบพลู	40

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1-1	ลักษณะเซลล์ของเชื้ออีโคไล	5
2.4-1	ผลมะนาว	14
2.4-2	โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบลิโมนีน	16
2.5-1	ใบพลู	17
2.5-2	โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบยูจีนอล	19
3.1-1	กรอบแนวคิดในการศึกษา	22
3.4-1	การเก็บตัวอย่างพืช	26
3.4-2	การร่อนผงเปลือกมะนาว และใบพลู	26
3.4-3	ผงเปลือกมะนาว และใบพลู เก็บไว้ในถุงซิปล็อค	27
3.6-1	ลักษณะของเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส	31
4.1-1	การเปรียบเทียบร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้งของเปลือกมะนาวและใบพลู ตามอัตราส่วนในการสกัด	34
4.1-2	การเปรียบเทียบร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้งของเปลือกมะนาวและใบพลู ตามระยะเวลาในการสกัด	35
4.2-1	ลักษณะของเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส	36
4.2-2	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดและประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไล	39

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

Escherichia coli หรืออีโคไล (*E. coli*) เป็นแบคทีเรียชนิดแกรมลบ ที่มีรูปร่างเป็นแท่ง มีแฟลกเจลลา (Flagella) สามารถเคลื่อนที่ได้ ขนาดยาวประมาณ 2 ไมโครเมตร และกว้างประมาณ 0.5 ไมโครเมตร พบได้ทั่วไปในธรรมชาติและในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่น ซึ่งเชื้ออีโคไลถูกนำมาเป็นตัวบ่งชี้ในการตรวจการปนเปื้อนอุจจาระแหล่งน้ำธรรมชาติในสิ่งแวดล้อม รวมทั้งในอาหาร (สุธินี แต้โสตถิกุล, 2555 และ จันทรเพ็ญ วิวัฒน์, 2556) ถึงแม้เชื้ออีโคไลไม่ใช่แบคทีเรียที่เป็นตัวแทนความเสี่ยงต่อสุขภาพแต่การพบแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถชี้ชัดได้ว่ามีการปนเปื้อนอุจจาระและมีแนวโน้มตรวจพบจุลินทรีย์ก่อโรคอื่นในระบบทางเดินอาหาร แบคทีเรียในกลุ่มนี้จึงมีความสำคัญทั้งการควบคุมคุณภาพอาหาร น้ำเพื่อการอุปโภคบริโภค จึงมีการกำหนดไว้ในคุณภาพมาตรฐานน้ำบริโภคขึ้นตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 61 (2524) และฉบับที่ 135 (2534) กำหนดไว้ว่าแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์มต้องน้อยกว่า 2.2 เอ็มพีเอ็นต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร และต้องไม่พบแบคทีเรียชนิดอีโคไล รวมทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ซึ่งในสภาวะร่างกายปกติ เชื้ออีโคไลจะไม่ก่อให้เกิดโรค แต่เมื่อร่างกายมีภูมิคุ้มกันบกพร่อง จะมีอาการถ่ายอุจจาระเหลวหรือเป็นน้ำ ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน มีไข้ต่ำร่วมด้วย และอาจรุนแรงถึงขั้นมีอาการปวดท้อง ถ่ายเป็นมูกเลือด ทั้งนี้อาการรุนแรงต่างๆ ขึ้นอยู่กับสภาพร่างกายของแต่ละคนที่ได้รับเชื้อและปริมาณของเชื้อที่ได้รับเข้าสู่ร่างกาย (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2557)

แนวทางป้องกันเชื้ออีโคไล สามารถทำได้หลายวิธี โดยปัจจุบันส่วนใหญ่นิยมใช้มี 2 วิธี ได้แก่ การป้องกันเชื้ออีโคไลเบื้องต้น และการใช้ยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้ออีโคไล สำหรับการป้องกันเชื้ออีโคไลเบื้องต้น เป็นการดูแลสุขอนามัยเบื้องต้น โดยเฉพาะการเลือกดื่มน้ำและอาหารที่สะอาด ตลอดจนอนามัยส่วนบุคคลที่สามารถป้องกันการติดเชื้อและการแพร่เชื้อโรคให้ผู้อื่น ส่วนการรักษาในปัจจุบันจะใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่มเพนิซิลลิน (Penicillin) ออกฤทธิ์โดยกำจัดหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียบางชนิดในร่างกาย ยากลุ่มนี้สามารถทำลายแบคทีเรียได้อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ซึ่งยาส่วนใหญ่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ เมื่อใช้เวลานานจะทำให้เกิดการสะสมสารพิษในร่างกายและมีแนวโน้มของการดื้อยาของแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น ทั้งยังมีราคาแพง บางครั้งมีอาการข้างเคียงจากการใช้ยา เช่น มีไข้ เจ็บคอ ปวดศีรษะ ผื่นผิวหนังลอก อาเจียน ผิวแดง และเป็นขุย เป็นต้น (นันทนา สิทธิชัย, 2547 และ วฤษณี ปรีชานฤชิตกุล, 2554)

จากปัญหาดังกล่าวจึงมีการพยายามศึกษาพืชสมุนไพรตามธรรมชาติที่พบได้ในประเทศมาใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย อาทิเช่น การใช้สารสกัดจากสมุนไพรจำนวน 4 ชนิด คือ สบู่ดำ ชุมเห็ดเทศ ฝรั่ง และพลู โดยทดสอบด้วยวิธีอาร์กา เวล ดิฟฟิวชั่น (Agar well diffusion) มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* เท่ากับ 21.6 15.0 14.3 และ 14.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ (วันทนี สว่างอารมณ์ และ พาฝัน จันทร์เล็ก, 2555) และการใช้สารสกัดหยาบจากใบชะมวง ใบหูกวาง ใบพริกไทยและใบมะยม โดยวิธีดิส ดิฟฟิวชั่น (Disk diffusion) ให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไล เท่ากับ 19.33±2.36 11±0.82 และ 9.67±0.47 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนใบชะมวงไม่สามารถยับยั้งเชื้ออีโคไลได้ (พาตีเมาะ มะแซ และ ภรณ์ทิพย์ แก้วมณี, 2557) ซึ่งพืชสมุนไพรจากการศึกษาข้างต้น มีสารบางชนิดที่สามารถยับยั้งเชื้ออีโคไลได้ นอกจากนี้เปลือกมะนาวที่มีมากในกระบวนการเหลือใช้จากการประกอบอาหาร ยังมีสารลิโมนีน (Limonene) สูงถึงร้อยละ 44.82 (สมศักดิ์ วรรณศิริ, 2541) จากการศึกษาของวรรณี จันทร์ลัดดา (2544) พบว่าสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ รวมถึงใบพลูซึ่งเป็นพืชที่พบมากในป่าชุมชน มีสารยูจีนอล (Eugenol) สูงถึงร้อยละ 54.71 (วีณา จิรัจฉริยากูล, 2543) ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิก มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถทำลายเชื้อราและแบคทีเรีย รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด (สุคนธ์ ตันติไพบูลย์วุฒิ, 2555) ซึ่งสารสำคัญทั้ง 2 ชนิด มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะใช้สารสกัดจากเปลือกมะนาวและใบพลู มาใช้ประโยชน์ในการยับยั้งเชื้ออีโคไล ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรในท้องถิ่นให้เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และเป็นการส่งเสริมพืชสมุนไพรในท้องถิ่นให้เกิดประโยชน์สูงสุด

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวและใบพลู

1.2.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

1.3 ตัวแปร

ตัวแปรต้น : สารสกัดจากเปลือกมะนาวและใบพลู

ตัวแปรตาม : ประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

ตัวแปรควบคุม : อุณหภูมิการบ่มเชื้ออีโคไล วิธีการสกัดสารสกัด และอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.4 นิยามศัพท์ที่ใช้ในการวิจัย

1.4.1 เปลือกมะนาว หมายถึง ส่วนเปลือกของมะนาว มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus aurantifolia* Swing. ลักษณะของเปลือกจะบางและชุ่มน้ำ ภายในมีเนื้อแบ่งออกเป็นกลีบๆและมีรสเปรี้ยว ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ใช้เปลือกมะนาวเหลือทิ้ง ขูดเอาเนื้อส่วนในออกให้เหลือแต่เปลือก

1.4.2 ใบพลู หมายถึง ใบของต้นพลู มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Piper betle* Linn. ลักษณะของใบแหลมคล้ายใบโพ ผิวใบมัน และมีกลิ่นฉุน ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้เด็ดเฉพาะใบในส่วนล่างถึงช่วงกลางของลำต้นที่มีสีเขียวเข้ม

1.4.3 การสกัดด้วยตัวทำละลาย หมายถึง การสกัดผงพืชแห้งด้วยตัวทำละลาย เป็นการนำสารบางชนิดออกจากพืช ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลายในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวแห้ง และใบพลูแห้ง แช่ทิ้งไว้ตามระยะเวลาที่กำหนด และระเหยตัวทำละลายออกโดยกลั่นด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporating) ที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส

1.4.4 เชื้ออีโคไล หมายถึง แบคทีเรียชนิดแกรมลบ (Gram negative bacteria) มีรูปร่างเป็นแท่ง ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae และเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น ใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะของอาหารและน้ำ (วฤษณี ปรีชานฤชิตกุล, 2554)

1.4.5 การยับยั้งเชื้ออีโคไล หมายถึง การควบคุมไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเจริญออกไปนอกบริเวณที่ถูกยับยั้ง

1.5 สมมติฐาน

สารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไลได้แตกต่างกัน

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ทราบถึงประสิทธิภาพของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

1.6.2 สามารถใช้เป็นแนวทางในการส่งเสริมการใช้พืชสมุนไพรท้องถิ่นให้เกิดประโยชน์สูงสุด

1.6.3 สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรในท้องถิ่นและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

1.7 ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

ระยะเวลาที่ได้ดำเนินงานวิจัยเริ่มตั้งแต่ เดือนธันวาคม 2558 ถึง เดือนกรกฎาคม 2561 ดังแสดงใน**ตารางที่ 1.7-1** ซึ่งแนวทางดำเนินการเป็นไปตามโครงร่างวิจัย (**ภาคผนวก ก**)

ตารางที่ 1.7-1 ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนการดำเนินงาน	ระยะเวลาดำเนินงานวิจัย (เดือน/ปี)																
	2558	2560							2561								
	ธ.ค.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.
1. ศึกษาเอกสารและรวบรวมข้อมูล	—	—	—									—	- -	- -		
2. สอบโครงร่างวิจัย	▲															
3. ดำเนินงานวิจัย				—	—	—	—									
4. วิเคราะห์ผลการทดลอง							—	—								
5. สอบความก้าวหน้าวิจัย							▲									
6. สรุปและอภิปรายผลการศึกษา									—	—	—					
7. การสอบวิจัยฉบับสมบูรณ์														▲		
8. การจัดทำรูปเล่มวิจัยและแก้ไข												—	—	—	—	—

หมายเหตุ : ▲ หมายถึง ช่วงดำเนินการสอบวิจัย

— หมายถึง ช่วงระยะเวลาดำเนินงานวิจัย

- - หมายถึง ช่วงเวลาขยายจากแผนดำเนินงานวิจัย

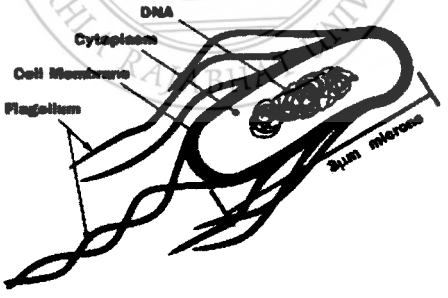
บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลเบื้องต้นเชื้อ *Escherichia coli*

Escherichia coli หรือที่นิยมเรียกกันว่าอีโคไล (*E. coli*) เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นพบได้ทั่วไปในธรรมชาติและในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่น ซึ่งสามารถอาศัยอยู่ภายนอกร่างกายได้ จึงถูกนำมาเป็นตัวบ่งชี้ที่ดีในการตรวจการปนเปื้อนอุจจาระในสิ่งแวดล้อม รวมทั้งการตรวจในอาหารและน้ำ

2.1.1 ลักษณะรูปร่างและสรีวิทยาของเชื้ออีโคไล

เชื้ออีโคไล เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างเป็นแท่ง มีแฟลกเจลลา (Flagella) สามารถเคลื่อนที่ได้ ขนาดยาวประมาณ 2 ไมโครเมตร และกว้างประมาณ 0.5 ไมโครเมตร อยู่ในกลุ่มเอ็นเทอโรแบคทีเรียซี (Family Enterobacteriaceae) มีชั้นของเพปติโดไกลแคนบางๆ อยู่รอบเยื่อหุ้มเซลล์ มีเมมเบรนห่อหุ้มรอบผนังเซลล์ และเป็นแบคทีเรียที่ย้อมแกรมติดสีแดงของ Safranin ไม่สร้างสปอร์ เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน บางสายพันธุ์ที่แยกได้จากนอกลำไส้ สร้างแคปซูลได้ เป็นโคโลนีเรียบ ไม่มีสีมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร เชื้อนี้เจริญได้ในอุณหภูมิช่วงกว้าง 15-45 องศาเซลเซียส (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ 2544; สมฤทัย บูรพาศิริวัฒน์ และ สุภัชชา หมื่นแก้ว, 2547) ดังแสดงในภาพที่ 2.1-1



ภาพที่ 2.1-1 ลักษณะเซลล์ของเชื้ออีโคไล

ที่มา : สุธินี แต้โสตถิกุล (2555)

2.1.2 สายพันธ์ก่อโรคของเชื้ออีโคไล

เชื้ออีโคไล เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงในคนและสัตว์ สามารถจำแนกได้เป็นกลุ่มต่างๆ ตามลักษณะการก่อโรค ซึ่งแต่ละกลุ่มจะประกอบด้วยเชื้ออีโคไลหลากหลายสายพันธุ์ที่มี

คุณสมบัติในการก่อโรคที่แตกต่างกัน สามารถสร้างสารพิษ และปัจจัยในการก่อโรคแตกต่างกัน (นงลักษณ์ พิสุทธิลาภ, 2544 และ จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์, 2556) ได้แก่

1) เอนเทอโรท็อกซิก อีโคไล (Enterotoxic *E. coli*) คือ เชื้ออีโคไลที่ก่อให้เกิดอาการท้องเสียในกลุ่มนักท่องเที่ยวต่างชาติ โดยท็อกซิน (Toxin) ที่สร้างจากเชื้อเป็นท็อกซินที่ทนและไม่ทนความร้อน จะรบกวนการดูดซึมแร่ธาตุของเซลล์เยื่อบุลำไส้ทำให้เกิดอาการท้องเสีย

2) เอนเทอโรเพโทเจนิก อีโคไล (Enteropathogenic *E. coli*) คือ เชื้ออีโคไลที่ก่อให้เกิดอาการท้องเสียในเด็กเล็ก เมื่อเชื้อเกาะติดกับเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้แล้วจะปล่อยสารเข้าสู่เซลล์ ซึ่งจะรบกวนการดูดซึมน้ำและแร่ธาตุต่างๆ ทำให้เกิดอาการท้องเสีย

3) เอนเทอโรอินเวซีบ อีโคไล (Enteroinvasive *E. coli*) คือ เชื้ออีโคไลที่มีสภาพก่อโรคคล้ายกับเชื้อ *Shigella* คือ ทำให้เกิดโรคบิดและท้องเสียแบบมีเลือดปน เชื้อทั้งสองเหมือนกันตรงที่ไม่มีแฟลกเจลลา ที่จะช่วยให้เชื้อเคลื่อนที่ การติดเชื้อเกิดจากการสัมผัสส่งเชื้อจากเซลล์หนึ่งไปยังอีกเซลล์หนึ่ง ทำให้เชื้อสามารถทำลายเซลล์ในชั้นที่ลึกกว่าเยื่อบุลำไส้ได้

4) เอนเทอโรฮีโมเรจิก อีโคไล (Enterohemorrhagic *E. coli*) คือ เชื้ออีโคไลที่ก่อให้เกิดอาการท้องเสียแบบมีเลือดปน พบได้ทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ เป็นเชื้อที่ปนเปื้อนมากับอาหารจำพวกเนื้อวัว สร้างสารพิษท็อกซิน ที่เรียกว่า ชิก้า ท็อกซิน (Shiga toxin) โดยท็อกซินนี้จะยับยั้งกระบวนการสร้างโปรตีนและทำลายเซลล์เยื่อบุลำไส้ และท็อกซินสามารถเข้าสู่หลอดเลือดและก่อพยาธิสภาพทำให้เกิดอาการท้องเสียที่มีเลือดปน

5) เอนเทอโรเอกกริเกทีฟ อีโคไล (Enteroaggregative *E. coli*) คือ เชื้ออีโคไลที่ก่อให้เกิดอาการท้องเสียในกลุ่มนักท่องเที่ยวต่างชาติได้บ่อยรองจากเอนเทอโรท็อกซิก อีโคไล (Enterotoxic *E. coli*) โดยมีอาการท้องเสียเป็นน้ำ แต่ในบางรายอาจรุนแรง มีเลือดปนได้ สามารถพบเชื้อได้ทั้งในลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ เชื้อจะอยู่รวมกันเป็นลักษณะของไบโอฟิล์ม (Biofilm) ทำให้เชื้อเจริญผ่านชั้นเยื่อเมือกที่คลุมเซลล์เยื่อบุลำไส้ ทำให้เชื้อเกาะติดกับเยื่อบุลำไส้ และปล่อยสารต่างๆ ไปรบกวนกระบวนการดูดซึมของเซลล์ ทำให้เกิดอาการท้องเสียได้

2.1.3 ประโยชน์และโทษที่ได้รับจากเชื้ออีโคไล

เชื้ออีโคไล เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่นรวมถึงมนุษย์กลุ่มใหญ่ เชื้ออีโคไลเป็นสายพันธุ์ที่ไม่มีอันตรายและอาจมีประโยชน์ แต่การติดเชื้ออีโคไลบางสายพันธุ์ก็ทำให้เกิดการเจ็บป่วยและภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงได้ (จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์, 2556) มีรายละเอียดดังนี้

1) ประโยชน์ที่ได้รับจากเชื้ออีโคไล

อีโคไลเป็นเชื้อประจำถิ่น เป็นสายพันธุ์ที่ไม่มีอันตรายและอาจมีประโยชน์ได้ เช่น เชื้ออีโคไลสามารถสร้างวิตามินเค และวิตามินบี 6 ทำหน้าที่รักษาพื้นที่ป้องกันในลำไส้สำหรับแบคทีเรียที่มีประโยชน์อื่นๆ และรักษาสมดุลระหว่างเชื้อ ไม่ก่อโรคกับเชื้อก่อโรคต่างๆในลำไส้ เมื่ออยู่ในลำไส้ใหญ่ก็จะทำงานเกี่ยวกับกระบวนการทำให้ของเสียออกจากร่างกายได้ดี และยังเป็นตัวดัชนีชี้วัดความสะอาดของน้ำในแหล่งน้ำและอุสาหกรรมน้ำดื่มได้

2) โทษที่เกิดจากเชื้ออีโคไล

2.1) อาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ (Urinary tract infection ; UTI) เกิดจากเชื้ออีโคไลที่อาศัยอยู่ในลำไส้และอุจจาระ โดยเชื้อสามารถเคลื่อนที่ไปยังบริเวณทางเดินปัสสาวะขึ้นไปยังกระเพาะปัสสาวะหรือไต จากนั้นจะมีการแบ่งตัวของเชื้ออย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดภาวะพบแบคทีเรียในปัสสาวะ โดยสายพันธุ์ของเชื้ออีโคไลที่ทำให้เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะจะมีการสร้างสารเอ็กซ์ แอดอีซินส์ (X adhesins) ช่วยในการยึดเกาะให้เชื้ออยู่บริเวณทางเดินปัสสาวะได้ และเชื้อจะสร้างสารฮีโมไลซิน (Hemolysin) เพื่อทำลายเซลล์ทำให้เซลล์เม็ดเลือด รวมถึงเซลล์ต่างๆแตก โดยผู้ที่ติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ จะมีอาการปวดแสบบริเวณถ่ายปัสสาวะ มีอาการปวดท้องเสียดท้องขณะปัสสาวะ ปัสสาวะบ่อย และรู้สึกเหมือนปัสสาวะไม่สุด

2.2) อาการเยื่อหุ้มสมองอักเสบในทารก เกิดจากเชื้ออีโคไลสายพันธุ์ที่มีการสร้างเควันแคปซูล (K1 capsule) ที่ช่วยป้องกันการถูกกินจากเซลล์เม็ดเลือดขาว และการถูกทำลายด้วยระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย มักเกิดกับทารกแรกเกิด โดยการติดเชื้อจากมารดาเข้าสู่ทางเดินหายใจหรือทางเดินอาหารของทารก จากนั้นเชื้อจะผ่านผนังลำไส้เข้าสู่กระแสเลือดไปยังเยื้อหุ้มสมองในที่สุด โดยทารกที่ติดเชื้อที่เยื่อหุ้มสมอง จะมีอาการ ไข้สูง คอแข็ง บางรายอาจจะมีอาการซึมลง คลื่นไส้อาเจียน ความดันต่ำ

2.3) อาการท้องร่วง เกิดจากรับประทานอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนของเชื้ออีโคไลเข้าสู่ร่างกาย ส่วนใหญ่เกิดกับเด็กทารก ผู้ที่เดินทางไปต่างถิ่น หรือผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยเชื้อจะเกาะติดกับผนังลำไส้ จากนั้นจะสร้างสารพิษที่ทำให้เกิดอาการท้องร่วงได้ เชื้ออีโคไลบางสายพันธุ์สามารถผลิตสารพิษท๊อกซิน ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคที่มีความรุนแรงมาก มี 2 ชนิด คือ ชิก้า ท๊อกซิน (Shiga toxin) และเอนเทอโรท๊อกซิน (Enterotoxin) สารพิษชิก้า ท๊อกซิน สามารถทำให้เกิดท้องร่วงอย่างรุนแรง มีเลือดออกและมีไข้ร่วมด้วย ในการเกิดโรคเชื้อจะเข้าสู่เซลล์และทำลายเซลล์ ส่วนสารพิษเอนเทอโรท๊อกซิน ทำให้เกิดอาการท้องร่วงเป็นน้ำซาวข้าวคล้ายอหิวาห์ โดยการกระตุ้นให้เกิดการหลั่งน้ำเข้าสู่ช่องท้อง

2.1.4 แนวทางการป้องกันและยับยั้งเชื้ออีโคไล

แนวทางป้องกันเชื้ออีโคไล สามารถทำได้หลายวิธี โดยปัจจุบันนิยมใช้ มี 2 วิธี ได้แก่ การป้องกันเชื้ออีโคไลเบื้องต้น และการใช้ยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้ออีโคไล (วฤษณี ปรีชานฤชิตกุล, 2554 และ วรวุฒิ เจริญศิริ, 2557) มีรายละเอียดดังนี้

1) การป้องกันเชื้ออีโคไลเบื้องต้น

สำหรับการป้องกันเชื้ออีโคไล เป็นกระบวนการดูแลสุขอนามัยเบื้องต้นจากการดื่มน้ำและอาหารที่สะอาด ตลอดจนอนามัยส่วนบุคคลที่สามารถป้องกันการติดเชื้อและการแพร่เชื้อโรคให้ผู้อื่นได้ ได้แก่

1.1) ปรุงอาหารให้สุกอย่างทั่วถึง ห้ามรับประทานอาหารดิบ หรือดิบๆสุกๆ ซึ่งเชื้อจะถูกทำลายได้โดยความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียสขึ้นไป โดยเฉพาะอาหารประเภทเนื้อสัตว์ เก็บถนอมอาหารไว้ในตู้เย็น ไม่ควรวางทิ้งไว้ข้างนอกนานเกิน 2 ชั่วโมง สำหรับอาหารค้างมื้อก่อนกินควรอุ่นให้เดือดทั่วถึงก่อน

1.2) เก็บอาหารที่ปรุงสุกแล้วอย่างระมัดระวัง เช่น ข้าวกล่อง อาหารถุง หากจะนำมารับประทานใหม่ ต้องนำมาอุ่นให้ร้อนอย่างทั่วถึงเสียก่อน ภาชนะที่ใช้รับประทานอาหารและดื่มน้ำ ต้องทำความสะอาดและเก็บไว้ในที่มิดชิดไม่ให้แมลงวันตอม ใช้ฝาชีครอบอาหารหรือนำใส่ตู้กับข้าวป้องกันแมลงวันตอมอาหาร

1.3) เลือกอาหารที่มีขบวนการผลิตที่ปลอดภัย ใช้วัตถุดิบที่สะอาด และสดใหม่ในการประกอบอาหาร

1.4) ล้างมือให้สะอาดทุกครั้ง ก่อนและหลังรับประทานอาหาร และภายหลังการเข้าส้วม อย่าใช้มือสัมผัสอาหารที่ปรุงสุกแล้วโดยตรง ควรใช้ช้อนกลาง ล้างมือให้สะอาดด้วยน้ำและสบู่ก่อนปรุงอาหาร ก่อนรับประทานอาหาร ก่อนใช้มือหยิบอาหารป้อนเด็ก และหลังใช้ห้องน้ำทุกครั้ง เนื่องจากแบคทีเรียสามารถติดต่อและผ่านทางอาหารและน้ำ

1.5) รักษาสิ่งแวดล้อมในครัวให้สะอาด โดยเฉพาะโต๊ะที่ใช้ปรุงอาหาร หลีกเลี่ยงการปนเปื้อนระหว่างอาหารด้วยกัน เพื่อไม่ให้อาหารที่ปรุงสุกแล้วปนเปื้อนกับอาหารดิบ เช่น การใช้มีด เขียง ต้องแยกระหว่างอาหารดิบ และอาหารสุก เป็นต้น รวมทั้งแยกประกอบอาหารระหว่างวัตถุดิบที่นำมาประกอบอาหารชนิดดิบและที่ปรุงสุกแล้ว

1.6) น้ำดื่ม และน้ำใช้ต้องสะอาด เช่น น้ำต้มสุก น้ำดื่มบรรจุขวดที่ได้มาตรฐาน และเลือกซื้อน้ำแข็งรับประทานที่ถูกหลักอนามัย

1.7) เลือกซื้อผัก ผลไม้ที่สะอาด ปลอดสารเคมี และยาฆ่าแมลง ลอกหรือปอกเปลือกชั้นนอกของผักสดหรือผลไม้ออกทิ้ง แกะเป็นกลีบหรือแกะใบออกจากต้นหรือตัดส่วนขอบรอบนอกแล้วแช่น้ำสะอาด นานประมาณ 10-15 นาที

1.8) ล้างผัก และผลไม้ให้สะอาด ก่อนนำมารับประทาน โดยการเด็ดใบ คลี่ใบล้างผ่านน้ำให้สะอาดหลายๆ ครั้ง ล้างผักด้วยน้ำสะอาดหลายๆ ครั้งและคลี่ใบถู หรือล้างด้วยการเปิดน้ำไหลออกจากก๊อกแรงพอประมาณให้ไหลผ่านผักสด อย่างน้อย 2 นาที หรือใช้สารละลายอื่นๆในการล้าง เช่น น้ำส้มสายชู เกลือ เป็นต้น

1.9) ใช้ฝาปิดถังขยะ และกำจัดขยะมูลฝอยสิ่งปฏิกูลเพื่อไม่ให้เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของแมลงวัน

2) การใช้ยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

ยาปฏิชีวนะเป็นหนึ่งในยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์เฉพาะกับแบคทีเรียใช้รักษาการติดเชื้อ ซึ่งยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่ที่ถูกนำมาใช้ในการยับยั้งเชื้ออีโคไล คือ กลุ่มยาเพนิซิลลิน (Penicillin) มีรายละเอียดดังนี้ (อภัย ราษฎรวิจิตร, 2557)

2.1) ชนิดของกลุ่มยาเพนิซิลลิน (Penicillin)

- อะมิโนเพนิซิลลิน (Aminopenicillins) คือ กลุ่มยาเพนนิซิลินที่มีโครงสร้างของเบต้าแลคแตม (Beta-lactam) มีฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย โดยมีฤทธิ์เหมือนเพนิซิลลิน แต่มีสรรพคุณครอบคลุมเชื้อได้มากกว่า อะมิโนเพนิซิลลินสามารถรักษาการติดเชื้อของแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบ เช่น เชื้ออีโคไล (*Escherichia coli*) หรือเชื้อฮีโมฟิลุส อินฟลูเอนเซ (*Haemophilus influenzae*) ใช้รักษาการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจส่วนบนและส่วนล่าง ทางเดินปัสสาวะอักเสบ ผิวหนังอักเสบ และอื่นๆยาที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ เช่น อะม็อกซี่ซิลลิน (Amoxicillin) แอมพิซิลลิน (Ampicillin)

- แอนตี้ซูโด เพนิซิลลิน (Antipsudo penicillins) คือ ยาต้านจุลชีพที่มีสรรพคุณใช้รักษาการติดเชื้อซูโดโมนาส โดยยานี้มีฤทธิ์ในการรรักษาเหมือนเพนิซิลิน (Penicillin) และอะมิโนเพนิซิลลิน (Aminopenicillins) รวมทั้งต้านเชื้อซูโดโมนาส (*Pseudomanas*) เอนทีโรค็อกคัส (*Enterococcus*) ยาเพนนิซิลินชนิดนี้ เช่น ยาพิเพอราซิลลิน (Piperacillin)

- เบต้าแลคแทมเมส (Beta-lactamase) คือ ยาที่มีเบต้าแลคแทมเป็นส่วนประกอบ ใช้ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย รวมทั้งมีส่วนผสมของสารที่ช่วยกำจัดการสร้างเอนไซม์เบต้าแลคแทมเมส เนื่องจากแบคทีเรียบางสายพันธุ์จะมีการสร้างชนิดของเอนไซม์เบต้าแลคแทมเมสขึ้นมาต้านยาฆ่าเชื้อ ทำให้เกิดอาการดื้อยา มักใช้คู่กับสารยับยั้งเบต้าแลคแทมเมสเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยยาที่มีสารยับยั้งเบต้าแลคแทมเมส ได้แก่ คลาวูลาเนท (Clavulanate) ทาโซแบคแทม (Tazobactam) และซุลแบคแทม (Sulbactam)

- เพนิซิลลินที่ได้จากธรรมชาติ (Natural penicillins) คือ ยาปฏิชีวนะตัวแรกที่ใช้ในทางการแพทย์ ซึ่งใช้ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรียและกำจัดแบคทีเรีย ยาชนิดนี้ใช้ต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบได้ เพนิซิลลินที่ได้จากธรรมชาติ ประกอบด้วย เพนิซิลลิน จี (Pencillin G) เพนิซิลลิน วี (Penicillin V) โปรเคนเพนิซิลลิน(Procaine penicillin) และเบนซาธีน เพนิซิลลิน จี (Benzathine penicillin G)

- เพนิซิลลินที่ทนการถูกทำลายของเพนนิซิลลิเนส (Penicillinase resistant penicillins) คือ ยาปฏิชีวนะที่ไม่ถูกเอนไซม์เพนิซิลลิเนสทำลาย แบคทีเรียบางอย่างจะผลิตเอนไซม์เพนิซิลลิเนสขึ้นมาทำลายเบต้าแลคแทมในยาปฏิชีวนะ ทำให้ตัวยาใช้ไม่ได้ผล ยานี้จะใช้รักษาการดื้อยาของเชื้อสแตฟิโลค็อกคัส (*Staphylococcus*) และการติดเชื้ออื่น ๆ ยาที่อยู่ในกลุ่มนี้ เช่น คลอกซาซิลลิน (Cloxacillin) ไดคลอกซาซิลลิน (Dicloxacillin) ออกซาซิลลิน (Oxacillin) หรือ เมธิซิลลิน (Methicillin)

2.2) ผลข้างเคียงจากการใช้ยากลุ่มเพนิซิลลิน

อาการของผลข้างเคียงที่พบได้ทั่วไปจะหายไปเองในขณะที่ร่างกายปรับตัวให้เข้ากับยาที่ใช้รักษา โดยผลข้างเคียงจากการใช้เพนิซิลลินที่พบได้ทั่วไป ได้แก่ มีไข้ เวียนศรีษะ ผิวแดง และเป็นขุย มีผื่นหรือลมพิษขึ้นบนผิวหนัง ท้องร่วงอ่อน ๆ เป็นแผลในปากและลิ้น คันบริเวณช่องคลอด มีตกขาว เป็นต้น อาการของผลข้างเคียงที่พบได้น้อยมาก และควรปรึกษาแพทย์ทันทีหากเกิดอาการต่อไปนี้ เช่น รู้สึกปวดบีบ ๆ บริเวณท้องอย่างรุนแรง รู้สึกเจ็บเหมือนถูกกดที่ท้อง ชัก ถ่ายเหลวอย่างรุนแรง หรือถ่ายมีเลือดปนออกมา ตกอยู่ในภาวะซึมเศร้า ตาและผิวมีสีเหลือง

หากมีการติดเชื้ออีโคไลสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดอาการที่รุนแรง ควรพิจารณาให้ใช้ยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งเชื้ออีโคไลได้ ซึ่งชนิดของยาปฏิชีวนะมีหลายชนิด และมีกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันไป จึงควรใช้งานในปริมาณที่เหมาะสม เพราะส่วนใหญ่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ เมื่อใช้เวลานานจะทำให้เกิดการสะสมสารพิษในร่างกายและมีแนวโน้มของการดื้อยาของแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้นและบางครั้งอาจมีผลข้างเคียงจากการใช้ยาอีกมากมาย

2.2 การปนเปื้อนของเชื้ออีโคไลสู่สิ่งแวดล้อม

เชื้ออีโคไลเป็นตัวบ่งชี้ที่ดี และเป็นดัชนีในการตรวจการปนเปื้อนอุจจาระในสิ่งแวดล้อม รวมทั้งการปนเปื้อนของเชื้อโรคจากอุจจาระ สู่อาหาร น้ำและดิน มีรายละเอียดดังนี้

2.2.1 การปนเปื้อนเชื้ออีโคไลในแหล่งน้ำ

เชื้ออีโคไล เป็นตัวชี้การปนเปื้อนของอุจจาระในน้ำ แบคทีเรียในกลุ่มนี้ จึงมีความสำคัญทั้งการควบคุมคุณภาพน้ำอุปโภค น้ำบริโภค และน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิตอาหารทำให้มีการกำหนดคุณภาพมาตรฐานน้ำบริโภคขึ้นเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค (สุพรรณี เทพอรุณรัตน์ และ สุลาวดี เขียวชม, 2558) มีรายละเอียดดังนี้

1) โคลิฟอร์มแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำ

โคลิฟอร์มแบคทีเรีย เป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน สามารถพบได้ในดิน พืช และทางเดินอาหารของสัตว์เลือดอุ่น โคลิฟอร์มแบคทีเรียประกอบด้วย กลุ่มของแบคทีเรียในสกุล *Escherichia, Enterobacter, Klebsiella, Citrobacte, Serratia* เป็นต้น แบคทีเรียในกลุ่มนี้ สามารถบ่งชี้ถึงความสกปรกที่ปนเปื้อนมาจากสิ่งขับถ่ายของมนุษย์และสัตว์ ซึ่งถ้าตรวจพบโคลิฟอร์มแบคทีเรียในน้ำ แสดงว่าน้ำมีการปนเปื้อน และไม่ปลอดภัยต่อสุขภาพอนามัย และแหล่งน้ำเหล่านั้นมีโอกาสที่จะมีเชื้อก่อโรคบางชนิด ที่มีการแพร่กระจายปะปนอยู่ในแหล่งน้ำได้ เช่น ท้องร่วง อหิวาต์ บิด ไทฟอยด์ (สุพรรณี เทพอรุณรัตน์ และสุลาวดี เขียวชม, 2558)

2) มาตรฐานคุณภาพน้ำทางแบคทีเรีย

กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (2537) ได้ออกพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2537 เรื่องกำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน มีการตรวจสอบการปนเปื้อนของแบคทีเรียในแหล่งน้ำผิวดิน จะตรวจวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และฟีคัลโคลิฟอร์ม ซึ่งปริมาณของโคลิฟอร์มแบคทีเรีย จะเป็นดัชนีบ่งชี้ความสะอาดของแหล่งน้ำ และฟีคัลโคลิฟอร์ม พบได้เฉพาะในอุจจาระของสัตว์เลือดอุ่น ดังนั้นฟีคัลโคลิฟอร์มสามารถเป็นตัวชี้วัดการปนเปื้อนของสิ่งปฏิกูลจากมนุษย์ และสัตว์ในแหล่งน้ำ สำหรับเชื้ออีโคไล ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของฟีคัลโคลิฟอร์มนั้น จึงเป็นแบคทีเรียตัวชี้วัดที่ดีของมลพิษที่เกิดจากสิ่งขับถ่ายของมนุษย์และสัตว์ และความเสี่ยงของการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารในแหล่งน้ำผิวดิน

มาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน ได้กำหนดปริมาณของเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย โดยมีการวิเคราะห์น้ำตัวอย่าง และอ่านค่าในตารางดัชนี MPN โดยค่าในตารางดัชนี MPN เป็นค่าการวิเคราะห์ทางสถิติ ซึ่งจะเป็นการประมาณทางสถิติถึงปริมาณของโคลิฟอร์มที่น่าจะตรวจพบได้ในน้ำ กำหนดไว้ว่า สำหรับแหล่งน้ำประเภทที่ 1 ให้เป็นไปตามธรรมชาติ ประเภทที่ 2 โดยกำหนดค่า MPN โคลิฟอร์มแบคทีเรีย ไม่เกินกว่า 5,000 ต่อ 100 มิลลิลิตร และฟีคัลโคลิฟอร์มมีค่า MPN ไม่เกินกว่า 1,000 ต่อ 100 มิลลิลิตร แหล่งน้ำประเภทที่ 3 โดยกำหนดค่า MPN ของ

โคลิฟอร์มแบคทีเรีย ไม่เกินกว่า 20,000 ต่อ 100 มิลลิลิตร และฟีคัลโคลิฟอร์ม มีค่าไม่เกินกว่า 4,000 ต่อ 100 มิลลิลิตร

2.2.2 การปนเปื้อนเชื้ออีโคไลในอาหาร

โดยปกติแล้วจะพบเชื้ออีโคไลได้ในสิ่งแวดล้อมทั่วไป โดยเฉพาะในมูลสัตว์ และส่วนใหญ่แพร่สู่คนได้ทางการรับประทานอาหาร หรือเครื่องดื่มที่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่ พบเชื้อได้ในอาหารที่ได้รับการปรุงไม่ถูกสุขลักษณะ เช่น เนื้อหรือผักดิบ ปรุงไม่สุก รวมถึงน้ำที่ไม่ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อด้วยความร้อนอย่างเหมาะสม นอกจากนี้การปนเปื้อนของเชื้อโรคจากอุจจาระสู่อาหารและน้ำ อาจเกิดขึ้นได้ระหว่างการเตรียมและการปรุงอาหาร การป้องกันที่ดีที่สุด คือ รับประทานอาหารที่ปรุงสุกถูกสุขลักษณะ เนื่องจากเชื้อจะถูกทำลายด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ขึ้นไป และล้างมือให้สะอาดเป็นประจำ รวมทั้งรักษาสุขอนามัยเรื่องอาหาร เช่น ผัก ผลไม้ ต้องสะอาด ปลอดภัยไม่มีการปนเปื้อนและมีการเก็บรักษาในอุณหภูมิที่เหมาะสม และน้ำดื่มหรือเครื่องดื่ม ควรอยู่ในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท มีคุณภาพและมาตรฐานน้ำดื่ม ตลอดจนความสะอาดของภาชนะที่ใช้เพื่อลดการติดเชื้อหรือการแพร่กระจายสู่ผู้อื่น (สุรเกียรติ อาชานานุภาพ, 2551)

2.3 วิธีการสกัดพืชสมุนไพร

การสกัดพืชโดยใช้เทคนิคการแยกสารออกจากพืชสมุนไพร สามารถทำได้หลายวิธีดังนี้ (ชนานันท์ แพงไทย, 2551)

2.3.1 การกลั่น (Distillation)

การกลั่นเป็นวิธีที่ง่ายที่สุด และนิยมใช้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นวิธีที่ประหยัด โดยการให้ความร้อน หรือไอน้ำผ่านพืชสมุนไพรที่จะสกัดน้ำมันหอมระเหยในหม้อกลั่นแล้วน้ำมันหอมระเหยจะถูกสกัดออกมาพร้อมกับไอน้ำ ซึ่งจะผ่านไปตามท่อ และถูกทำให้เย็นตัวเป็นของเหลวเก็บไว้ในขวด โดยจะแยกตัวออกจากชั้นน้ำ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้โดยวิธีนี้ ได้แก่ น้ำมันไพล น้ำมันตะไคร้ เป็นต้น แต่มีข้อเสีย คือ ความร้อนอาจทำให้ปฏิกิริยาสลายตัวเกิดขึ้น ทำให้กลิ่นเพี้ยนไปจากธรรมชาติได้ และสารประกอบบางตัวในน้ำมันหอมระเหยที่มีจุดเดือดสูงจะไม่ถูกพามาโดยไอน้ำ

2.3.2 การสกัดโดยใช้ไขมัน (Enfleurage)

การสกัดโดยใช้ไขมันเป็นวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม ใช้กับดอกไม้กลีบบาง เช่น มะลิ ซ่อนกลิ่น โดยจะใช้ไขมันประเภทน้ำมันหมูเกลี่ยลงบนถาดไม้ แล้วนำดอกไม้มาเกลี่ยทับเป็นชั้นบางๆ จนเต็มถาด ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วเปลี่ยนดอกไม้ ชุดใหม่ ทำซ้ำประมาณ 7-10 ครั้ง ไขมันจะดูดซับสารหอมไว้ เรียกไขมันที่ดูดซับสารหอมนี้ว่าน้ำมันแต่ง (Pomade) หลังจากนั้นใช้เอทานอลละลาย

สารหอมออกจากไขมัน นำไประเหยไล่ตัวละลายออกที่อุณหภูมิและความกดดันต่ำ จะได้หัวน้ำหอมชนิดคอนกรีต (Concrete) เมื่อแยกส่วนที่เป็นไขมันออก โดยการนำมาละลายเอทานอลแล้ว นำไปแช่เย็นเพื่อแยกส่วนที่เป็นไขออก หลังจากระเหยไล่ตัวละลายออกจะได้หัวน้ำหอมชนิดที่แน่นอน ซึ่งจัดเป็นหัวน้ำหอมชนิดดีและราคาแพงที่สุด

2.3.3 การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (Sovent extraction)

การสกัดพืชโดยใช้ตัวทำละลาย เป็นการนำสารบางชนิดออกจากพืช ซึ่งตัวทำละลายที่นิยมนำมาใช้สกัดสาร ได้แก่ น้ำ เบนซิน อีเทอร์ โทลูอีน เฮกเซน และเอทานอล เป็นต้น นำมาแช่ทิ้งไว้ตามระยะเวลาที่กำหนด และระเหยตัวทำละลายออกโดยการกลั่นด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporating) ที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส

2.3.4 การคั้นหรือการบีบ (Hydraulic and screw press)

การคั้นหรือการบีบเป็นวิธีที่เหมาะกับการผลิตน้ำมันหอมที่สลายตัว หรือแปรสภาพเมื่อโดนความร้อน วิธีการนี้จะนำวัตถุดิบเข้าเครื่องบีบคั้น จากนั้นกรองน้ำมันที่ได้แล้วนำไปกลั่นใต้สุญญากาศ แต่ข้อเสียคือได้น้ำมันหอมระเหยมีปริมาณน้อยและไม่บริสุทธิ์ นิยมใช้ในการสกัดสารจากพืชตระกูลส้ม เช่น น้ำมันหอมระเหยส้ม (Orange oil) น้ำมันหอมระเหยมะกรูด (Bergamot oil) และน้ำมันหอมระเหยจากมะนาว (Lemon oil)

2.3.5 การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลว (Liquid carbon dioxide extraction)

การสกัดด้วยวิธีนี้เป็นวิธีที่ทันสมัยที่สุด เนื่องจากใช้เทคโนโลยีขั้นสูง โดยการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์เหลวที่ความดันสูงผ่านพืชสมุนไพร วิธีนี้จะมีต้นทุนการผลิตที่สูงแต่จะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพดี และมีความบริสุทธิ์สูง อีกทั้งปลอดภัยต่อผู้บริโภค และไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม (กัญจน์ญาดา นิลวาศ และ พัชรี ดวงจันทร์, 2547)

2.4 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับมะนาว

มะนาว เป็นไม้ผลชนิดหนึ่งที่มีรสเปรี้ยวจัด จัดอยู่ในสกุลส้ม (Citrus) ลักษณะของผลอ่อนจะมีสีเขียว เมื่อสุกจัดจะออกเป็นสีเหลือง ลักษณะของเปลือกจะบางและชุ่มน้ำ ส่วนภายในมะนาวนั้นจะมีเนื้อที่แบ่งออกเป็นกลีบๆ และชุ่มน้ำมาก เป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางโภชนาการและทางการแพทย์ (สมศักดิ์ วรรณศิริ, 2541)

2.4.1 ข้อมูลทั่วไปของมะนาว

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Citrus aurantifolia* Swing.

ชื่อวงศ์ : Rutaceae

ชื่อสามัญ : Lime, Common Lime

ชื่อท้องถิ่น : ภาคกลาง เรียกส้มมะนาว หรือมะนาว กาญจนบุรี เรียกว่า ปะโหน่งกลยาน ภาคเหนือ เรียกว่าส้มมะนาว มะนาว หรือมะลิว ภาคอีสาน เรียกบักมะนาว หรือหมากนาว ภาคใต้ เรียกนาว หรือส้มนาว

ถิ่นกำเนิด : มะนาวมีถิ่นกำเนิดไม่เป็นที่แน่ชัด แต่จากข้อมูลที่มีส่วนใหญ่คาดการณ์ว่า มะนาวน่าจะมาจากทางแถบประเทศอินเดีย แล้วกระจายไปยังส่วนต่างๆ ของโลก และถึงประเทศไทยก่อนช่วงสมัยรัตนโกสินทร์

2.4.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มะนาวเป็นไม้พุ่ม หรือไม้ยืนต้นขนาดเล็ก แผ่กิ่งก้านสาขากว้าง กิ่งแตกออกค่อนข้างไม่เป็นระเบียบ เปลือกต้นมีสีเทาปนน้ำตาล กิ่งอ่อนมีสีเขียวอ่อน กิ่งแก่สีค่อยๆเข้มขึ้น ลำต้นมีหนามแหลมแข็งอ้วนสั้น ซึ่งหนามมักเกิดขึ้นที่บริเวณซอกใบ ใบเป็นใบเดี่ยวสีเขียวอ่อน ปลายใบแหลม ขอบใบหยัก แผ่นใบกว้าง 3-6 เซนติเมตร และยาวประมาณ 6-12 เซนติเมตร ก้านใบสั้น ใบอ่อนมีสีเขียวอมแดง ดอกเป็นดอกเดี่ยวหรือดอกช่อเกิดบริเวณซอกใบ ดอกตูมจะมีขนาดความยาวประมาณ 1-2 เซนติเมตร ดอกจะมีสีขาว กลีบเกลี้ยงจะมีสีเขียวอ่อน กลีบดอกสีขาวและด้านท้องมีสีม่วงปน เกสรตัวผู้มีจำนวนประมาณ 20-40 อัน เชื่อมติดกันเป็นกลุ่มๆละ 4-8 อัน เกสรตัวเมียมีรังไข่รูปร่างเกือบเป็นรูปทรงกระบอก หรือทรงถังเบียร์ ผลมีรูปร่างเหมือนลักษณะไข่ หรือรูปร่างยาว ผลจะมีลักษณะความยาวประมาณ 7-12 เซนติเมตร ผิวของผลเมื่อสุกจะมีสีเหลือง หรือสีทอง มีต่อมน้ำมันที่ผิวเปลือกเห็นได้ชัด ผิวเปลือกจะมีลักษณะขรุขระใน 1 ผล มี 8-10 กลีบ เนื้อสีเหลืองอ่อน เนื้อของผลประกอบด้วยถุงเล็กใสรูปใข่มากมาย ในถุงมีน้ำและกรดจำนวนมาก เมล็ดมีขนาดเล็ก ลักษณะรูปร่างคล้ายรูปไข่ ส่วนหัวและส่วนท้ายเมล็ดแหลมมีเนื้อเยื่อสะสมอาหาร ภายในเป็นสีขาว (**ภาพที่ 2.4-1**) (สมศักดิ์ วรรณศิริ, 2541)

ภาพที่ 2.4-1 ผลมะนาว

2.4.3 ประโยชน์ทางยาของมะนาว

เปลือกและน้ำในผลมะนาวที่แก่จัด สามารถช่วยรักษาโรคกระเพาะ แก้อาหารเป็นพิษ ท้องร่วง ท้องผูก ฆ่าพยาธิ และช่วยป้องกันโรคหวัด เหงือกบวม แก้ระดูขาว แก้ไข้ทับฤดู และลักปิดลักเปิด น้ำจากผลมีรสเปรี้ยว ไว้ปรุงอาหาร ช่วยบรรเทาอาการไอ เจ็บคอ เสียงแหบแห้ง บำรุงเสียง และช่วยขับเสมหะ เปลือกมะนาว คลึงให้น้ำมันออก แล้วนำไปชงน้ำดื่มแก้ปวดท้อง ท้องอืด ท้องเฟ้อ ปูนแดงที่รับประทานกับหมาก นำมาทาบนมะนาวที่ฝานไว้แล้วนำมาปิดที่ขมับช่วยบรรเทาอาการปวดศีรษะได้ดี น้ำมะนาวผสมกับดินสอพองพอกบริเวณที่ปวดบวม แก้ฟกช้ำหัวโน น้ำมะนาวหยอดลงคอ กรดในน้ำมะนาวจะทำให้ก้างปลาอ่อนลง และหลุดได้ แก้ก้างติดคอ น้ำมะนาวทาแก้กลากเกลื้อน แก้พุพอง น้ำกัดเท้า แก้หิดหูด และกากเปลือกมะนาวที่บีบน้ำใช้แล้ว สามารถใช้ถูล้างทำความสะอาดผิวหนัง โดยเฉพาะข้อศอก หัวเข่า ซอกเล็บและส้นเท้า ช่วยป้องกันข้อศอก และหัวเข่าด้าน เล็บขบ และส้นเท้าแตก หรือถูฟันช่วยให้ฟันสะอาดและดับกลิ่นปาก น้ำมะนาวยังสามารถใช้เป็นส่วนผสมน้ำยาทำความสะอาด เครื่องหอม หรือน้ำยาล้างจาน (เต็ม สมิตินันทน์, 2544)

2.4.4 องค์ประกอบทางเคมีที่พบในมะนาว

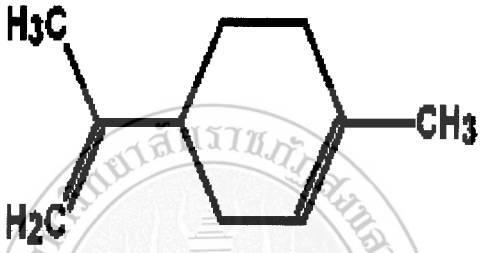
องค์ประกอบทางเคมีของมะนาว เมื่อนำมาสกัดด้วยกระบวนการต้มกลั่น พบสารลิโมนีน (Limonene) สูงถึงร้อยละ 44.82 รองลงมา เจอเรนิว อะซิเตท (Geranyl acetate) ร้อยละ 8.98 เจเรเนียล (Geranial) ร้อยละ 7.66 และอื่นๆ ร้อยละ 38.54 (สมศักดิ์ วรรณศิริ, 2541) ดังแสดงใน**ตารางที่ 2.4-1**

ตารางที่ 2.4-1 องค์ประกอบทางเคมีที่พบในมะนาว

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละปริมาณสาร
Limonene	44.82
Geranyl acetate	8.98
Geranial	7.66
Neral	4.95
6-methyl-5-hepten-2-one	3.19
Caryophyllene oxide	2.31
อื่นๆ	28.09

ที่มา : เสงี่ยม พงษ์บุญรอด (2519)

สารลิโมนีน ที่พบในมะนาวพบได้มากในพืชตระกูลส้ม สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ เช่น ส่งเสริมการหลั่งของน้ำย่อย ลบการสะสมก๊าซในลำไส้ มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ (วรรณี จันทร์ลัดดา, 2544) ซึ่งจากการศึกษาของลินจง สุขลำภู และคณะ (2553) ได้ศึกษากิจกรรมต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี พบว่าสารลิโมนีนจากเปลือกส้มโอ สามารถยับยั้งเชื้ออีโคไล ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบได้เท่ากับร้อยละ 53.25 สำหรับโครงสร้างทางเคมีของสารลิโมนีน ดังแสดงใน**ภาพที่ 2.4-2**



ภาพที่ 2.4-2 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบลิโมนีน

ที่มา : วรรณี จันทร์ลัดดา (2544)

2.5 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับใบพลู

พลูเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีความเกี่ยวพันกับวิถีชีวิตและความเป็นอยู่ของคนไทยมาเป็นเวลานานในลักษณะของการบริโภคกับหมาก พลูเป็นพันธุ์ไม้จากต่างประเทศมีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย ต่อมาได้แพร่กระจายไปยังประเทศต่างๆ ทั่วทวีปเอเชีย และแอฟริกา (รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2540)

2.5.1 ข้อมูลทั่วไปของใบพลู

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Piper betle* Linn.
ชื่ออังกฤษ : Betle Leaf, Betle Vine และ Betle Pepper
ชื่อพ้อง : พลูจีน ซีเก๊ะ เปล้ายวน ปู ดื่อเจี่ย
ชื่อวงศ์ : Piperaceae
ชื่อท้องถิ่น : พลู พลูจีน เปล้าอ้วน ซีเก๊าะ ซีเก๊ะ ซีเก เปล้ายวน

2.5.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้เลื้อยที่มีข้อ และปล้องเห็นชัดเจน มีรากออกรอบข้อไว้ยึดเกาะ หรือเกี่ยวพันกับไม้หรือหลักด้วยรากที่อยู่ตามข้อ ใบเป็นใบเดี่ยว รูปร่างรีถึงรูปไข่ ฐานใบป้านถึงมนกลม หรือเว้าเป็นรูปหัวใจ ปลายใบแหลม ใบยาวประมาณ 5-18 เซนติเมตร ก้านใบยาวติดกับลำต้น ใบมีสีเขียวเหลืองถึงเขียวเข้ม ผิวใบด้านบนมีสีเขียวเข้มกว่าผิวใบด้านล่าง ขอบใบเรียบมีกลิ่นฉุน และมีรสเผ็ด ดอกมีสีขาว ขนาดเล็กเป็นช่อบน แกนยาว ผลมีรูปกลมเล็ก เนื้อนุ่ม เมื่อสุกมีสีแดง แต่ละผลมีเมล็ด 1 เมล็ด (**ภาพที่ 2.5-1**) ปลูกได้ทุกภาคของประเทศ แหล่งปลูกพลู คือ จังหวัดฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี นครนายก นครปฐม กรุงเทพมหานคร มหาสารคาม ขอนแก่น และนครราชสีมา

ภาพที่ 2.5-1 ใบพลู

2.5.3 ประโยชน์ทางยาของใบพลู

ใบพลูได้ถูกนำมาใช้ในการบำบัดรักษาโรคต่าง ๆ ในตำรายาไทย โดยใบพลูมีสรรพคุณในการรักษาอาการช้ำบวม รักษาอาการปวดท้อง รักษาอาการไอเจ็บคอ และขับเสมหะ รักษาอาการผื่นคัน เนื่องจากเกิดลมพิษ รักษาโรคผิวหนัง รักษาโรคกลากเกลื้อน แผลอักเสบ ฝี หนอง และสิว ในประเทศอินเดียมีการใช้น้ำคั้นจากใบพลูสดในการรักษาอาการเหล่านี้ คือเป็นยาถ่ายพยาธิ ยาระบายอาการท้องผูก ยาเจริญอาหาร ขับเสมหะ ลดไข้ แก้ปวดศีรษะ ขับลมในกระเพาะอาหาร ทำให้ลมหายใจหอมสดชื่น เป็นยาสมานแผล และใช้ป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ ในตำรายาไทยใช้น้ำคั้นใบสดกินเป็นยาขับลม และทาแก้ลมพิษ โดยใช้ 3-4 ใบ ขยี้หรือตำให้ละเอียด ผสมเหล้าโรงเล็กน้อย ทาบริเวณที่เป็น

ใบพลูมีน้ำมันหอมระเหย มีสีน้ำตาลปนเหลือง และมีกลิ่นฉุน เรียกว่าน้ำมันพลู สารที่พบมากในน้ำมันพลู ได้แก่ ชาวิคอล (Chavicole) และ ยูจีนอล (Eugenol) ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโรค ทำให้ปลายประสาทชา แก้อาการคันได้ น้ำมันและสารสกัดจากใบพลู มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมลบแกรมบวก และเชื้อราเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด อาทิเช่น *Bacillus subtilis, Salmonella sp., Escherichia coli* และ *Aspergillusniger A.* (สุคนธ์

ตันติไพบูลย์วุฒิ และคณะ, 2555) และจากการศึกษาของกานต์ วงศาริยะ และมัลลิกา ชมนาวัง (2552) น้ำมันพลูและสารสกัดจากใบพลูที่สกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ไดเอทิลอีเทอร์ อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม และเอทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *B-hemolytic Streptococcus*

2.5.4 องค์ประกอบทางเคมีที่พบในใบพลู

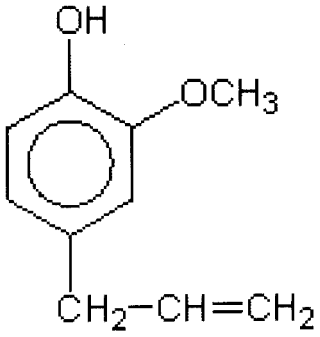
องค์ประกอบทางเคมีของใบพลู เมื่อนำมาสกัดด้วยกระบวนการต้มกลั่น พบสารยูจีนอล (Eugenol) สูงถึงร้อยละ 54.71 รองลงมา ดี คาไดนีน (D-cadinene) ร้อยละ 9.95 เจอร์เมกรีน (Germacrene) ร้อยละ 7.77 และอื่นๆ ร้อยละ 27.57 (วีณา จิรัจฉริยากูล, 2543) ดังแสดงใน**ตารางที่ 2.5-1**

ตารางที่ 2.5-1 องค์ประกอบทางเคมีที่พบในใบพลู

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละปริมาณสาร
Eugenol	54.71
Trans-b-ocimene	3.21
D-cadinene	9.95
Germacrene	7.77
Trans-caryophyllene	6.43
A-amorphene	5.34
Bicyclogermacrene	4.79
B-elemene	2.99
Humulene	2.06
A-pinene	1.30
อื่นๆ	1.45

ที่มา : วีณา จิรัจฉริยากูล (2543)

สารยูจีนอล เป็นสารประกอบฟีนอลิก ที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถทำลายเชื้อราและแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด และมีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบ (สุคนธ์ ตันติไพบูลย์วุฒิ และคณะ, 2555) สำหรับโครงสร้างทางเคมีของยูจีนอล ดังแสดงใน**ภาพที่ 2.5-2** และจากการศึกษาของอังคณา พันธ์ศรี (2541) ได้ศึกษาของใบพลูในการยับยั้งเชื้ออีโคไล พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไล ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้เท่ากับร้อยละ 70



ภาพที่ 2.5-2 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบยูจีนอล

ที่มา : ปิยะวดี เจริญวัฒนะ และ สุมนา ปานสมุทร (2550)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวกับการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดธรรมชาติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ มีรายละเอียดดังแสดง**ในตารางที่ 2.6-1**

ตารางที่ 2.6-1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพของสารสกัดจากธรรมชาติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

ชื่อเรื่อง	ผลการศึกษา	อ้างอิง
ประสิทธิของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรพื้นบ้านต่อการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *V. parahaemolyticus*	ผลการศึกษา พบว่าสารสกัดจากใบหูกวางที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ทดสอบการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ*V. parahaemolyticus* ด้วยวิธีดิส ดิฟฟิวชั่น(Disk diffusion) ที่ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* สูงสุดเท่ากับ 19.33±2.36 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดจากใบพริกไทยและใบมะยม เท่ากับ 11±0.82 และ 9.67±0.47 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดใบชะมวงไม่สามารถยับยั้งเชื้ออีโคไลได้ และทั้ง4 ชนิด ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus*	พาตีเมาะ มะแซ และ ภรณ์ทิพย์ แก้วมณี (2557)

ตารางที่ 2.6-1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพของสารสกัดจากธรรมชาติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (ต่อ)

ชื่อเรื่อง	ผลการศึกษา	อ้างอิง
ประสิทธิของสารสกัดหยาบจากเปลือกมะนาวและเปลือกทับทิมในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis*	ผลการศึกษา พบว่าสารสกัดจากเปลือกทับทิม ที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย ยับยั้งเชื้อ*S. epidermidis* ด้วยวิธีอาร์กา เวล ดิฟฟิวชั่น (Agar well diffusion) ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* สูงสุด เท่ากับ 20.87±1.57 มิลลิเมตร รองลงมาเป็นสารสกัดจากเปลือกมะนาว มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 12.77±0.57 มิลลิเมตร	ต่วนซาวีย๊ะ ยือแร และ นูรีดา โตะหิ (2558)
การเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*	ผลการศึกษา พบวาสารสกัดจากฝรั่งที่สกัดด้วยเอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย โดยทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ด้วยวิธีอาร์กา เวล ดิฟฟิวชั่น (Agar disc-diffusion) ที่ระดับความเข้มข้น 1:1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไลได้ดีที่สุด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้ง เท่ากับ 21.6 มิลลิเมตร รองลงมาคือ สารสกัดจากใบพลู ชุมเห็ดเทศและสบูดำ เท่ากับ 15.0 14.3 และ 14.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ	วันทนี สว่างอารมณ์ และ พาฝัน จันทร์เล็ก (2555)

ตารางที่ 2.6-1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพของสารสกัดจากธรรมชาติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (ต่อ)

ชื่อเรื่อง	ผลการศึกษา	อ้างอิง
ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากใบเฮนน่าต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*	ผลการศึกษา พบว่า สารสกัดจากใบเฮนน่าที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล จะให้ร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้งสูงสุด คือ 35.17 เปอร์เซ็นต์ โดยทดสอบวิธีดิส ดิฟฟิวชั่น (Disc diffusion) สามารถยับยั้งได้ทั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ได้ดีกว่าสารสกัดที่ได้จากการหมักด้วยอะซิโตน โดยมีขนาดวงใสเท่ากับ 16±1.7 และ 12.±2.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ	ตีญาณี สาหัด และ รอกายะ สนิ (2556)

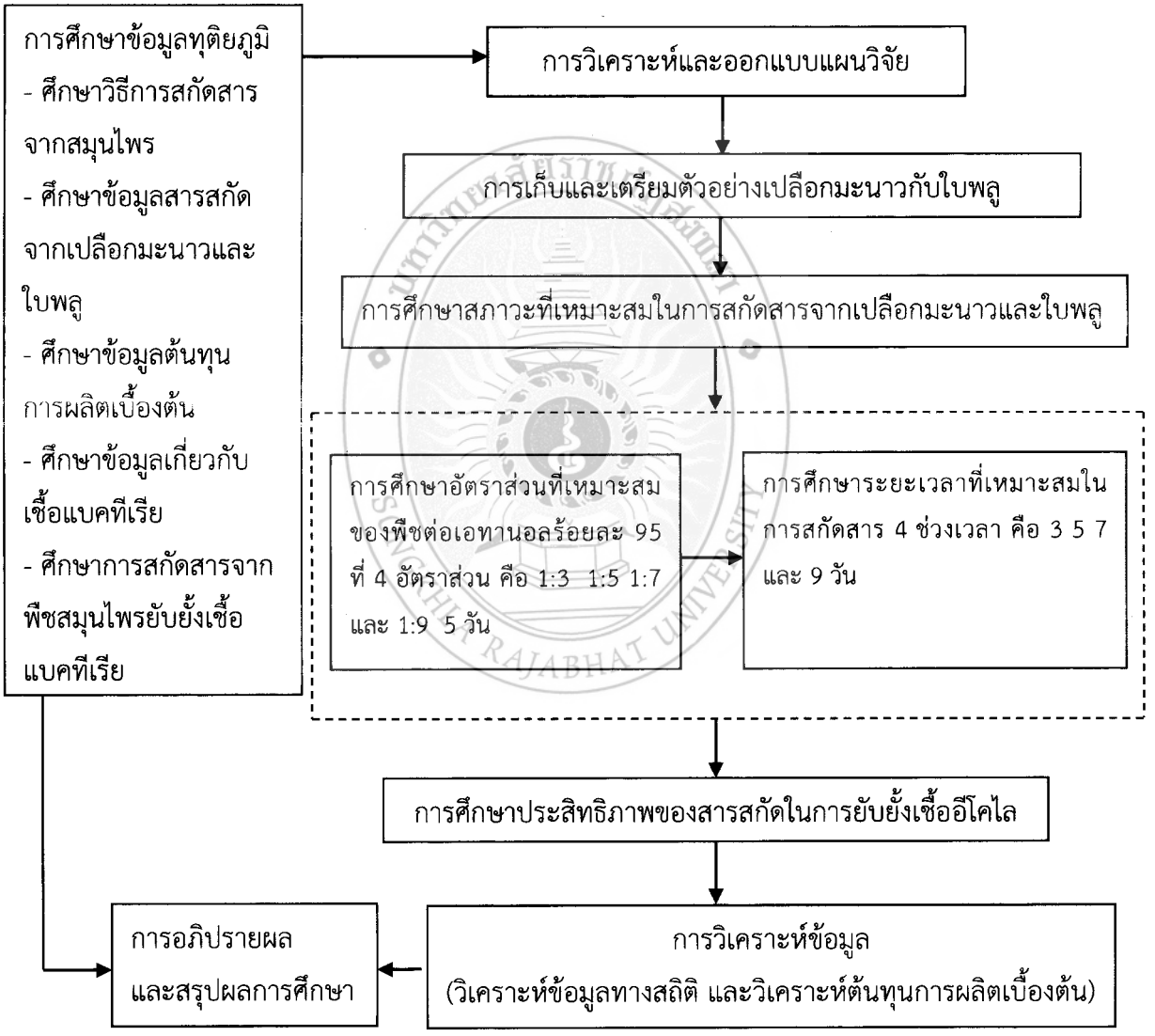
จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องจะเห็นได้ว่าสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ ซึ่งสารสกัดสมุนไพรจากธรรมชาติสามารถช่วยลดปริมาณการใช้สารเคมีสังเคราะห์ที่หากใช้ในปริมาณมาก อาจก่อให้เกิดการดื้อยาต่อผู้ที่ได้รับยา นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อโรคที่ปนเปื้อนมากับแหล่งน้ำ อาหาร และการสัมผัส เช่น ผลิตภัณฑ์เจลทำความสะอาดมือ และสบู่เหลวจากสมุนไพร เป็นต้น

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 3
วิธีการวิจัย

3.1 กรอบแนวคิดในการศึกษา

กรอบแนวคิดการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล แสดงรายละเอียดใน**ภาพที่ 3.1-1**



ภาพที่ 3.1-1 กรอบแนวคิดในการศึกษา

3.2 ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวแห้งและใบพลูแห้งด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่อัตราส่วน 1:3 1:5 1:7 และ 1:9 และศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด 3 5 7 และ 9 วัน และส่วนที่ 2 นำสารสกัดที่ได้มาศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไล โดยวิธีอาร์กา เวล ดิฟฟิวชั่น (Agar well diffusion)

3.2.1 ขอบเขตพื้นที่ในการศึกษา

1) พื้นที่เก็บตัวอย่าง

1.1) ใบพลู

จากบริเวณป่าชุมชน หมู่ 7 ตำบลวังใหม่ อำเภอป่าบอน จังหวัดพัทลุง

1.2) เปลือกมะนาว

ได้รับความอนุเคราะห์จากร้านพิชัยน้ำปั่น-เครื่องดื่ม ตำบลเขารูปช้าง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา

1.3) เชื้ออีโคไล

ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการของโปรแกรมวิชาชีววิทยาประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

2) พื้นที่ทำการทดลอง

ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด และประสิทธิภาพของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม ในการยับยั้งเชื้ออีโคไล ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

3.2.2 กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ

เชื้ออีโคไล

3.3 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.3.1 วัสดุที่ใช้ในการทดสอบ

1) วัสดุที่ใช้ในการเตรียมพืชและสกัดพืช

- กระดาษกรองเบอร์ 1
- กระดาษฟรอยส์

- ผ้าขาวบาง
- มีด กรรไกร
- ถาดสำหรับอบพืช
- บีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
- แท่งแก้ว
- กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร
- ขวดสีชา

2) วัสดุที่ใช้ในการทดสอบเชื้ออีโคไล

- ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลิน (Ampicillin) ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม
- Nutrient agar (NA)
- Nutrient broth (NB)
- จุกสำลี
- ปิเปต ขนาด 5 มิลลิลิตร
- หลอดทดลอง (Test tube)
- จานเพาะเชื้อ
- ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Mathylated spirit)
- เข็มเขี่ยเชื้อ (Loop)
- ปากคีบ
- ไมโครปิเปต ยี่ห้อ Glassco รุ่น 500.303.05

3.3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบ

1) อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมพืชและสกัดพืช

- เครื่องปั่น ยี่ห้อ Panasonic รุ่น MX-900 MW
- ตู้อบความร้อน ยี่ห้อ Memmert รุ่น D-91126 Schwabach
- เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) ยี่ห้อ Heidolph รุ่น Hed-1
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น AL104 ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น AL 104
- เครื่องกรองลดความดัน (Vacuum pump) รุ่น AC220V

สำนักวิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

2) อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบเชื้ออีโคไล

- เครื่องวัดปริมาณการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ยี่ห้อ Spectro รุ่น UV-VIS RS
- หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ยี่ห้อ ToMy รุ่น SX-700
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ยี่ห้อ Heto รุ่น SBD 50
- ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) ยี่ห้อ Memmert รุ่น BE 800

3.3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบ

1) สารเคมีที่ใช้ในการสกัดพืช

- เอทานอลร้อยละ 95 ยี่ห้อ ANTISEP A เกรด AR

2) สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบเชื้ออีโคไล

- เอทานอลร้อยละ 95 ยี่ห้อ ANTISEP A เกรด AR
- เอทานอลร้อยละ 70 ยี่ห้อ ANTISEP A เกรด AR
- ไดเมททิล ซัลฟ็อกไซด์ (Dimethy sulfoxide)
- โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride)

3.4 การเก็บและเตรียมตัวอย่างพืช

3.4.1 การเก็บเปลือกมะนาวและใบพลูแห้ง

1) เปลือกมะนาวสดที่เหลือทิ้ง ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากร้านพิชัยน้ำปั่น-เครื่องดื่ม ตำบลเขารูปช้าง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา ขูดเอาเนื้อส่วนในออกให้เหลือแต่เปลือกมะนาวสด ดังแสดงใน**ภาพที่ 3.4-1** (ก)

2) ใบพลูเก็บจากบริเวณป่าชุมชน ตำบลวังใหม่ อำเภอป่าบอน จังหวัดพัทลุง โดยเด็ดเฉพาะใบในส่วนล่างถึงช่วงกลางของลำต้นที่มีสีเขียวเข้ม ดังแสดงใน**ภาพที่ 3.4-1** (ข)

ส
615.321
ว117ก

ส.ค. 2561

(ก) เก็บเปลือกมะนาวที่เหลือทิ้ง

(ข) เก็บใบพลู

ภาพที่ 3.4-1 การเก็บตัวอย่างพืช

3.4.2 การเตรียมเปลือกมะนาวและใบพลู

1) นำเปลือกมะนาวและใบพลู ไปล้างด้วยน้ำสะอาด และนำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม เพื่อสะเด็ดน้ำ

2) นำเปลือกมะนาวและใบพลูมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 7-8 มิลลิเมตร

3) นำเปลือกของมะนาวและใบพลูอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน หรือจนได้เปลือกมะนาวแห้งและใบพลูแห้ง โดยสังเกตสีที่จางไป

4) นำเปลือกมะนาวและใบพลูที่ผ่านการอบแห้งแล้วไปบดละเอียดโดยใช้เครื่องปั่น แล้วจึงนำไปร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร ดังแสดงใน**ภาพที่ 3.4-2**

(ก) ร่อนผงเปลือกมะนาว

(ข) ร่อนผงใบพลู

ภาพที่ 3.4-2 การร่อนผงเปลือกมะนาวและใบพลูด้วยตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร

5) นำผงเปลือกมะนาว ซึ่งมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลอ่อน และผงใบพลูซึ่งมีสีเขียวเข้ม เก็บไว้ในถุงซิปล็อค และเก็บไว้ในที่แห้งไม่โดนแสง ดังแสดงใน**ภาพที่ 3.4.-3**

(ก) ผงเปลือกมะนาว (ข) ผงใบพลู

ภาพที่ 3.4-3 ผงเปลือกมะนาว และใบพลู เก็บไว้ในถุงซิปล็อค

3.5 วิธีการวิเคราะห์

สำหรับวิธีการวิเคราะห์ในการศึกษานี้ ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวแห้ง และใบพลูแห้ง ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และส่วนที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล (ภาพประกอบการศึกษาแสดงไว้ใน **ภาคผนวก ข**) มีรายละเอียดดังนี้

3.5.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาว และใบพลู ด้วยเอทานอลร้อยละ 95

1) การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัด ทำโดยนำผงเปลือกมะนาวและใบพลูแช่ในเอทานอลร้อยละ 95 ตามอัตราส่วนระหว่างผงพืชต่อตัวทำละลาย 4 อัตราส่วน ได้แก่ 1:3 1:5 1:7 และ 1:9 (**ตารางที่ 3.5-1**) ที่ระยะเวลา 5 วัน แล้วกรองเอาส่วนที่ใสด้วยผ้าขาวบาง และกรองอีกครั้งด้วยเครื่องกรองลดความดัน แล้วนำส่วนที่ใสไประเหยเอทานอลออก โดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส เก็บส่วนที่ได้เป็นสารสกัดหยาบ (Crude extract) นำมาชั่งและบันทึกผลการทดลอง ในการศึกษานี้จะทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 3.5-1 อัตราส่วนของเปลือกมะนาวและใบพลูต่อเอทานอลร้อยละ 95

อัตราส่วนของพืช : เอทานอลร้อยละ 95	น้ำหนักแห้งของพืช (กรัม)	ปริมาณเอทานอลร้อยละ 95 (มิลลิลิตร)
1:3	20	60
1:5	20	100
1:7	20	140
1:9	20	180

2) การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด โดยใช้อัตราส่วนที่เหมาะสมของพืชแห้งต่อเอทานอลร้อยละ 95 (ในข้อ 1) มาทดสอบระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด 4 ช่วงเวลา ได้แก่ 3 5 7 และ 9 วัน ดังแสดงใน**ตารางที่ 3.5-2** กรองเอาส่วนที่ใสด้วยผ้าขาวบาง และกรองอีกครั้งด้วยเครื่องกรองลดความดัน แล้วนำส่วนที่ใสไประเหยเอทานอลออก โดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส เก็บส่วนที่ได้เป็นสารสกัดหยาบ นำมาชั่งและบันทึกผลการทดลอง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 3.5-2 ระยะเวลาในการสกัดเปลือกมะนาวและใบพลูต่อเอทานอลร้อยละ 95

ระยะเวลาในการสกัดพืช (วัน)	น้ำหนักแห้งของพืช (กรัม)	ปริมาณเอทานอลร้อยละ 95 (มิลลิลิตร)
3	20	140
5	20	140
7	20	140
9	20	140

3) นำสารสกัดหยาบที่มีลักษณะข้นหนืดใส่ในขวดสีชา ปิดปากขวดให้สนิท เก็บที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.5.2 การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดเปลือกมะนาว และใบพลูในการยับยั้งเชื้ออีโคไล โดยส่วนที่ 2 จะประกอบด้วยสารสกัดทั้งหมด 3 สูตร ได้แก่ สูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลูและสูตรผสม

1) การเตรียมความเข้มข้นของสารสกัด

นำสารสกัดหยาบเปลือกมะนาว และใบพลู มาปรับปริมาตรด้วย Dimethyl sulfoxide (DMSO) ตามอัตราส่วนที่กำหนดไว้ ดังแสดงใน**ตารางที่ 3.5-3**

ตารางที่ 3.5-3 การเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม

สูตร	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณสารสกัดหยาบ (มิลลิลิตร)	ปริมาณ DMSO (มิลลิลิตร)	ปริมาณสารทดสอบฤทธิ์ (มิลลิลิตร)
สูตรเปลือกมะนาว	0.1	2	8	10
	0.2	4	6	10
	0.3	6	4	10
	0.4	8	2	10

ตารางที่ 3.5-3 การเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม (ต่อ)

สูตร	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณสารสกัดหยาบ (มิลลิลิตร)	ปริมาณ DMSO (มิลลิลิตร)	ปริมาณสารทดสอบฤทธิ์ (มิลลิลิตร)
สูตรใบพลู	0.1	2	8	10
	0.2	4	6	10
	0.3	6	4	10
	0.4	8	2	10
สูตรผสม (อัตราส่วนของสารสกัดเปลือกมะนาวและใบพลู 1:1)	0.1	2	8	10
	0.2	4	6	10
	0.3	6	4	10
	0.4	8	2	10

2) การเตรียมกล้าเชื้ออีโคไล

2.1) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (Nutrient broth) ในหลอดทดลองทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2.2) นำกล้าเชื้ออีโคไล ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ครั้งแรก นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.3) ใช้ห่วงถ่ายกล้าเชื้อครั้งที่ 2 ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.4) นำเชื้อจากข้อ 2.3) ปรับความขุ่น (Optical density; OD) ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ให้ได้ค่าความขุ่น เท่ากับ 0.5 ด้วย NaCl 0.85 เปอร์เซ็นต์ เพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนการทดสอบต่อไป

3) การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล (ดัดแปลงจาก วิสาตรี คงเจริญสุนทร และคณะ, 2548)

3.1) นำจานเพาะเชื้อไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อเป็นการฆ่าเชื้อ

3.2) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง (Nutrient agar) นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา15 นาที แล้วนำมาตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิเย็นลง แล้วนำมาเทใส่ในจานเพาะเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว

3.3) ทำเครื่องหมายไว้ที่จานเพาะเชื้อที่ทำการทดลอง โดยแบ่งออกเป็น 5 ส่วนเท่าๆ กัน เพื่อนำมาทดสอบโดยวิธีอาร์กา เวล ดิฟฟิวชั่น (Agar well diffusion) โดยแต่ละส่วนเจาะหลุมด้วย Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

3.4) นำไม้พันสำลีปราศจากเชื้อจุ่มลงในหลอดเชื้อฮีโคไลที่เตรียมไว้ กดข้างๆ หลอด ให้พอหมาดๆ แล้วป้ายบนผิวหน้าอาหาร NA เป็น 3 ระนาบ ให้ทั่วทั้งผิวหน้าอาหาร ทิ้งไว้ 3-5 นาที ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง

3.5) ใช้ไมโครปิเปตดูดสารสกัดจากพืชสมุนไพร 50 ไมโครลิตร ความเข้มข้น 0.1 0.2 0.3 และ 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หยดลงในหลุมที่เจาะไว้ในแต่ละหลุม ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิลิตร โดยใช้แอมพิซิลลิน (Ampicillin) ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (Positive control) และใช้ DMSO ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (Negative control)

3.6) บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (Clear zone) ในหน่วยมิลลิเมตร

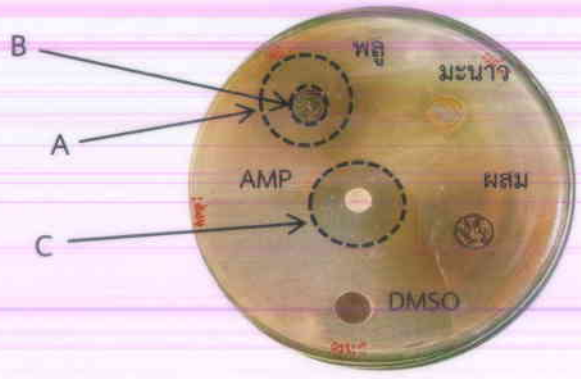
3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.6.1 การวิเคราะห์ร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้ง

คำนวณผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยาเคมี จะคำนวณออกมาในรูปร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้ง โดยคำนวณจากสมการที่ (1)

$$\% \text{ Yield} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่ได้}}{\text{น้ำหนักของสมุนไพรที่ใช้ในการสกัด}} \times 100 \qquad \text{สมการที่ (1)}$$

3.6.2 การวิเคราะห์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้ง (Inhibition zone) และการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อฮีโคไลออกมาในรูปร้อยละ (% Inhibition) (**ภาพที่ 3.6-1**) โดยคำนวณจากสมการที่ (2) และ (3) ตามลำดับ (วันทนี สว่างอารมณ์ และ พาฝัน จันทร์เล็ก, 2555)



ภาพที่ 3.6-1 ลักษณะของเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส

Inhibition zone (มิลลิเมตร) = A – B สมการที่ (2)

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Inhibition zone}}{C} \times 100 \quad \text{สมการที่ (3)}$$

หมายเหตุ A = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสของเชื้อ

B = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหลุมทดสอบ

C = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสของตัวควบคุมเชิงบวก

AMP = ยาแอมพิซิลลิน (Ampicillin)

DMSO = ไดเมททิล ซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide)

3.6.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1) สถิติแบบพรรณนา ได้แก่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เพื่อเสนอผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาว และใบพลู รวมถึงผลการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

2) สถิติแบบอ้างอิง แบบมีพารามิเตอร์ (Parametric inference) โดยวิธี T-test แบบ Paired Samples - Sample T Test เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดทั้ง 3 สูตร ได้แก่ สูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

3.6.4 การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตเบื้องต้น

การศึกษาต้นทุนการผลิตเบื้องต้นของสารสกัดจากสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม ซึ่งวิเคราะห์โดยการเก็บรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการผลิต คือ ค่าดำเนินการ (ค่าไฟฟ้า) และค่าสารเคมี (เอทานอลร้อยละ 95) ที่ใช้ในการวิจัย นำมาใช้ในการสรุปผลการศึกษา

บทที่ 4
ผลและการอภิปรายผลการวิจัย

สำหรับผลการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล สามารถแบ่งเป็น 3 ส่วนคือ ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวและใบพลู ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม (1:1) ในการยับยั้งเชื้ออีโคไล และผลการวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตเบื้องต้นของสารสกัด มีรายละเอียดดังนี้

4.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวและใบพลู

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวและใบพลูแห้ง แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของพืชแห้งต่อเอทานอลร้อยละ 95 จำนวน 4 อัตราส่วน (1:3 1:5 1:7 และ 1:9) แล้วนำผลของอัตราส่วนที่เหมาะสมมาศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด 4 ช่วง (3 5 7 และ 9 วัน) สำหรับผลการศึกษามีรายละเอียดดังนี้

4.1.1 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวและใบพลู

ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัดสารจากพืชแห้ง 2 ชนิด คือ เปลือกมะนาว และใบพลู ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่อัตราส่วน 1:3 1:5 1:7 และ 1:9 ซึ่งกำหนดระยะเวลาในการสกัดคงที่ 5 วัน ผลการศึกษาพบว่าลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากเปลือกมะนาว เป็นของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาลจนถึงสีน้ำตาลไหม้ และเมื่อเพิ่มปริมาณเอทานอลจะยิ่งมีสีน้ำตาลเข้ม โดยที่อัตราส่วนของเปลือกมะนาวแห้งต่อเอทานอล 1:9 จะให้ร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้งสูงสุด คือ 25.06 รองลงมา คือที่อัตราส่วน 1:7 1:5 และ 1:3 มีร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้ง เท่ากับ 24.79 15.51 และ 8.33 ตามลำดับ โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) ยกเว้นที่อัตราส่วน 1:7 และ 1:9 ดังแสดงใน**ตารางที่ 4.1-1 (ภาคผนวก ค)** ดังนั้นจึงเลือกใช้อัตราส่วนของเปลือกมะนาวแห้งต่อเอทานอลที่อัตราส่วน 1:7 เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสม ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาของต่วนซาวีย๊ะ ยือแร และ นูรีดา โตะหิ (2558) พบว่า อัตราส่วนในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวที่อัตราส่วน 1:3 ให้ร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้งเท่ากับ 7.42 ซึ่งต่ำกว่าสารสกัดจากเปลือกมะนาวที่ได้ในการศึกษานี้ร้อยละ 0.91

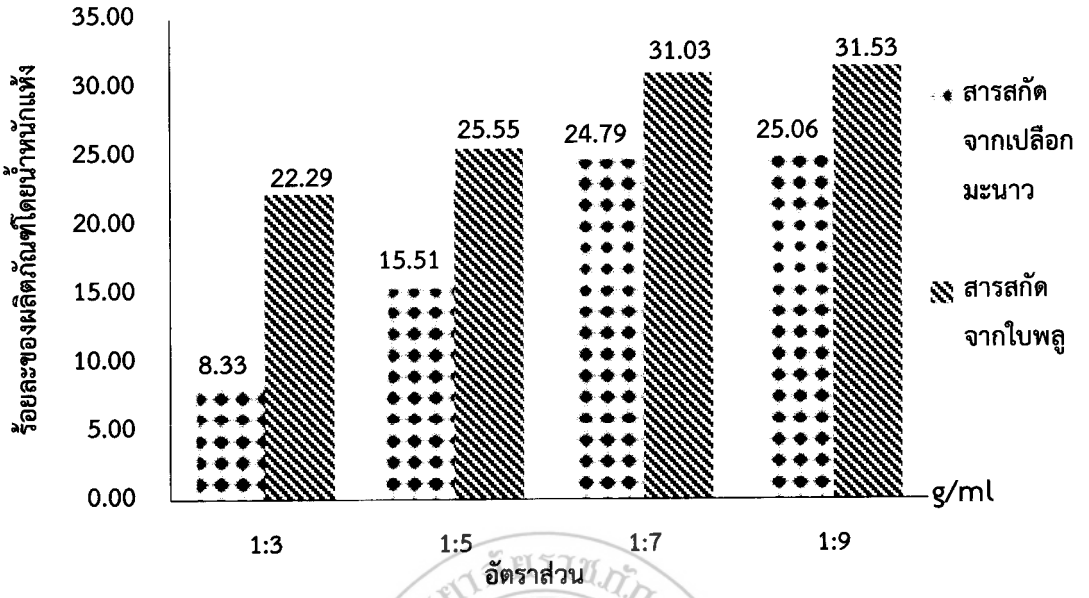
สำหรับสารสกัดจากใบพลู มีลักษณะทางกายภาพเป็นของเหลวข้นหนืดสีเขียวเข้ม โดยเมื่อเพิ่มปริมาณเอทานอลจะยิ่งทำให้มีสีเขียวมากขึ้น และที่อัตราส่วนของใบพลูแห้งต่อเอทานอล 1:9 จะให้ร้อยละผลิตภัณฑ์สูงสุด คิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง เท่ากับ 31.53 รองลงมา คือที่อัตราส่วน 1:7 1:5 และ 1:3 มีร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้ง เท่ากับ 31.02 25.55 และ 22.29 ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) ยกเว้นที่อัตราส่วน 1:7 และ 1:9 ดังแสดงใน**ตารางที่ 4.1-1 (ภาคผนวก ค)** ดังนั้นจึงเลือกใช้อัตราส่วนของใบพลูแห้งต่อเอทานอลที่อัตราส่วน 1:7 เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสม

ตารางที่ 4.1-1 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาว และใบพลูแห้งด้วยเอทานอลร้อยละ 95

อัตราส่วนพืชแห้ง : เอทานอล ร้อยละ 95	เปลือกมะนาว		ใบพลู	
	น้ำหนักเฉลี่ยของสารสกัดหยาบ (กรัม)	ร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้ง	น้ำหนักเฉลี่ยของสารสกัดหยาบ (กรัม)	ร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้ง
1:3	1.67±0.20	8.33[a]	4.46±0.17	22.29[a]
1:5	3.10±0.12	15.51[b]	5.11±0.09	25.55[b]
1:7	4.96±0.04	24.79[c]	6.20±0.08	31.03[c]
1:9	5.00±0.00	25.06[c]	6.31±0.02	31.53[c]

หมายเหตุ : ในสดมภ์เดียวกัน ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน หมายถึง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้งของสารสกัดจากเปลือกมะนาวและใบพลูแห้งตามอัตราส่วนที่ใช้ในการสกัด พบว่าใบพลูจะให้ร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้งสูงกว่าเปลือกมะนาวทุกอัตราส่วน (**ภาพที่ 4.1-1**) โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) (**ภาคผนวก ค**)



ภาพที่ 4.1-1 การเปรียบเทียบร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้งของสารสกัดจากเปลือกมะนาวและใบพลูแห้งตามอัตราส่วนในการสกัด

4.1.2 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวและใบพลู

เมื่อได้อัตราส่วนของพืชแห้งต่อเอทานอลที่เหมาะสมในการสกัด (1:7) จะนำมาศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสม โดยทดสอบที่ระยะเวลา 3 5 7 และ 9 วัน ผลการศึกษาพบว่าที่ระยะเวลาในการสกัด 9 วัน เปลือกมะนาวแห้งจะให้ร้อยละของผลิตภัณฑ์ของสารสกัดโดยน้ำหนักแห้งสูงสุดคือ 31.85 รองลงมา คือที่ระยะเวลาในการสกัด 7 5 และ 3 วัน มีร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้ง เท่ากับ 31.37 25.92 และ 14.45 ตามลำดับ โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) ยกเว้นที่ระยะเวลาในการสกัด 7 และ 9 วัน (**ตารางที่ 4.1-2**) ดังนั้นจึงเลือกใช้ระยะเวลาในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวแห้งด้วยเอทานอลที่ 7 วัน เป็นระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด

สำหรับการสกัดสารจากใบพลูแห้ง พบว่าที่ระยะเวลาในการสกัด 9 วัน ใบพลูแห้งมีร้อยละผลิตภัณฑ์ของสารสกัดโดยน้ำหนักแห้งสูงสุดคือ 34.81 รองลงมา คือ ที่ระยะเวลาในการสกัด 7 5 และ 3 วัน มีร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้ง เท่ากับ 34.71 31.10 และ 15.61 ตามลำดับ โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) ยกเว้นที่ระยะเวลาในการสกัด 7 และ 9 วัน (**ตารางที่ 4.1-2**) ดังนั้นจึงเลือกใช้ระยะเวลาในการสกัดสารจากใบพลูแห้งด้วยเอทานอลที่ 7 วันเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาของประภัสสร รักถาวร และคณะ (2553) พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารจากใบพลูที่

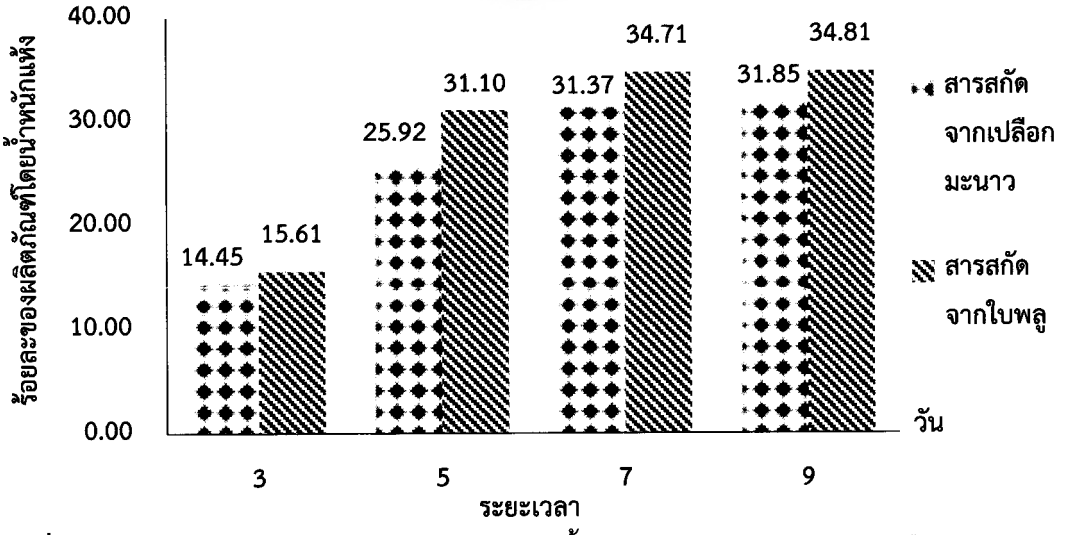
ระยะเวลาในการสกัดเดียวกัน (3 วัน) อัตราส่วนของสารสกัดต่อตัวทำลายต่างกัน (1:3) จึงทำให้ร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้งเท่ากับ 10.53 ซึ่งต่ำกว่าสารสกัดจากใบพลูที่ได้ถึงร้อยละ 5.08

ตารางที่ 4.1-2 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาว และใบพลูแห้งด้วยเอทานอลร้อยละ 95

ระยะเวลาในการสกัดพืชแห้ง (วัน)	เปลือกมะนาว		ใบพลู	
	น้ำหนักเฉลี่ยของสารสกัดหยาบ (กรัม)	ร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้ง	น้ำหนักเฉลี่ยของสารสกัดหยาบ (กรัม)	ร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้ง
3	2.89±0.14	14.45[a]	3.12±0.13	15.61[a]
5	5.18±0.09	25.92[b]	6.22±0.06	31.1[b]
7	6.27±0.08	31.37[c]	6.94±0.09	34.71[c]
9	6.37±0.04	31.85[c]	6.96±0.09	34.81[c]

หมายเหตุ : ในสดมภ์เดียวกัน ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน หมายถึง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้งของสารสกัดจากเปลือกมะนาวและใบพลูแห้งตามระยะเวลาในการสกัด พบว่าใบพลูจะให้ร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้งสูงกว่าเปลือกมะนาวเกือบทุกช่วงเวลา (**ภาพที่ 4.1-2**) โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) ยกเว้นระยะเวลาที่ 3 วัน (**ภาคผนวก ค**)



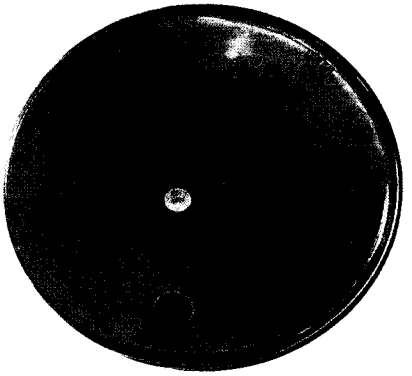
ภาพที่ 4.1-2 การเปรียบเทียบร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้งของสารสกัดจากเปลือกมะนาวและใบพลูแห้งตามระยะเวลาในการสกัด

4.2 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

ผลการศึกษาประสิทธิภาพจากการใช้สารสกัดหยาบสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม (สารสกัดจากเปลือกมะนาวต่อใบพลู 1:1) ในการยับยั้งเชื้ออีโคไล โดยทดสอบด้วยวิธีอาร์กา เวล ดิฟฟิวชั่น (Agar well diffusion) ที่ระดับ 4 ความเข้มข้น คือ 0.1 0.2 0.3 และ 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับผลการศึกษามีรายละเอียดดังนี้

4.2.1 ผลการใช้สารสกัดสูตรเปลือกมะนาวในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้ออีโคไล (Inhibition) พบว่าที่ความเข้มข้น 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณการยับยั้ง (Inhibition zone) เชื้ออีโคไล ค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 8.33±0.47 มิลลิเมตร คิดเป็นร้อยละการยับยั้ง (%Inhibition) เท่ากับ 52.08 รองลงมา คือ สารสกัดที่ความเข้มข้น 0.3 0.2 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 5.67±0.47 4.00±0.00 และ 3.00±0.47 มิลลิเมตร คิดเป็นร้อยละ 35.42 25.00 และ 18.75 ตามลำดับ ซึ่งในการทดลองนี้ใช้แอมพิซิลลิน (AMP) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และDimethyl sulfoxide (DMSO) เป็นตัวควบคุมเชิงลบเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวก จะเห็นได้ว่าสารสกัดสูตรเปลือกมะนาวทุกความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำกว่าตัวควบคุมเชิงบวก (**ตารางที่ 4.2-1** และ**ภาพที่ 4.2-1**) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าหากเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดอาจทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไลเท่ากับหรือใกล้เคียงกับตัวควบคุมเชิงบวก และเมื่อเปรียบเทียบกับวิจัยของลินจง สุขลำภู และคณะ (2553) ได้ศึกษากิจกรรมต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ และทองดีที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 ที่ความเข้มข้นเดียวกัน (0.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) พบว่าสารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ และทองดี ให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไล เท่ากับร้อยละ 51.39 และ 58.82 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าสารสกัดสูตรเปลือกมะนาวถึงร้อยละ 26.39 และ 33.82 ตามลำดับ



ภาพที่ 4.2-1 ลักษณะของเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส

4.2.2 ผลการใช้สารสกัดสูตรใบพลูในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้ออีโคไล พบว่าที่ความเข้ม 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณการยับยั้ง (Inhibition zone) เชื้ออีโคไล ค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 16.00±0.00 มิลลิเมตร คิดเป็นร้อยละการยับยั้ง (%Inhibition) เท่ากับ 100.00 รองลงมา คือสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.3 0.2 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 12.67±0.47 8.33±0.47 และ 5.67±0.47 มิลลิเมตร คิดเป็นร้อยละ 79.17 52.08 และ 35.42 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวก ซึ่งการทดลองนี้ใช้แอมพิซิลลิน จากผลการทดลองเห็นได้ว่าสารสกัดสูตรใบพลูทุกความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำกว่าตัวควบคุมเชิงบวก ยกเว้นความเข้มข้นที่ 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไลเท่ากับตัวควบคุมเชิงบวก (**ตารางที่ 4.2-1 และภาพที่ 4.2-1**) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า หากเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดอาจทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอีโคไลได้ดีกว่าตัวควบคุมเชิงบวก และเมื่อเปรียบเทียบกับวิจัยของประภัสสร รักถาวร (2553) ได้ศึกษาสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากใบพลู ที่กลั่นด้วยเอทานอลและไอน้ำที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเชื้ออีโคไล เท่ากับ 8.33±0.29 และ 7.00±0.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีบริเวณการยับยั้งเชื้ออีโคไลใกล้เคียงกับสารสกัดจากใบพลูของผู้วิจัยที่ใช้ความเข้มข้นเพียง 0.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่สกัดด้วยเอทานอล แสดงให้เห็นว่าสารสกัดใบพลูในการศึกษานี้มีประสิทธิภาพสูงกว่าถึง 4.34 มิลลิเมตร

4.2.3 ผลการใช้สารสกัดสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้ออีโคไล พบว่าที่ความเข้มข้น 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้ออีโคไลสูงสุด โดยมีร้อยละการยับยั้ง (%Inhibition) เท่ากับ 79.17 รองลงมา คือสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.3 0.2 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คิดเป็นร้อยละเท่ากับ 58.33 37.50 และ 29.17 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวก ซึ่งการทดลองนี้ใช้แอมพิซิลลิน จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าทุกความเข้มข้นของสารสกัดสูตรผสมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไลต่ำกว่าตัวควบคุมเชิงบวก (**ตารางที่ 4.2-1 และภาพที่ 4.2-1**) ดังนั้นหากเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจะทำให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้ออีโคไลเท่ากับตัวควบคุมเชิงบวก และจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเมื่อใช้สารสกัดจากสูตรผสมจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไลได้ดีกว่าสารสกัดจากสูตรเปลือกมะนาวเพียงอย่างเดียว เนื่องจากฤทธิ์ของสารสกัดจากใบพลูเพียงอย่างเดียว มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไลสูงกว่าสารสกัดจากเปลือกมะนาวที่ความเข้มข้นเดียวกัน ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไลของสูตรผสม มีค่าสูงกว่าสารสกัดจากเปลือกมะนาวเพียงอย่างเดียว

4.2.4 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไล พบว่า สารสกัดสูตรใบพลูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไลสูงกว่าสารสกัดสูตรผสม และสูตรเปลือกมะนาวในทุกความเข้มข้น โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) ดังแสดงใน **ตารางที่ 4.2-1 (ภาคผนวก ค)**

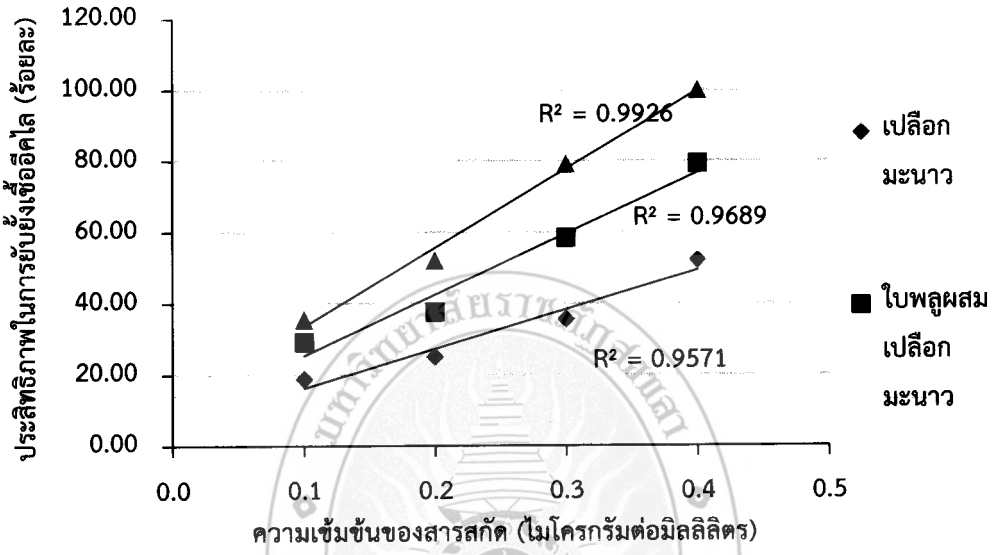
ตารางที่ 4.2-1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้งเชื้ออีโคไล (Inhibition zone) และประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไลของสารสกัด (% Inhibition)

สารที่ใช้ทดสอบ	ความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ	Inhibition zone ± S.D (มิลลิเมตร)	% Inhibition
สูตรเปลือกมะนาว[a]	0.1 µg /mL	3.00±0.47	18.75
	0.2 µg /mL	4.00±0.00	25.00
	0.3 µg /mL	5.67±0.47	35.42
	0.4 µg /mL	8.33±0.47	52.08
สูตรใบพลู[b]	0.1 µg /mL	5.67±0.47	35.42
	0.2 µg /mL	8.33±0.47	52.08
	0.3 µg /mL	12.67±0.47	79.17
	0.4 µg /mL	16.00±0.00	100.00
สูตรผสม[c] (อัตราส่วนของสารสกัดเปลือกมะนาวและใบพลู 1:1)	0.1 µg /mL	4.67±0.47	29.17
	0.2 µg /mL	6.00±0.00	37.50
	0.3 µg /mL	9.33±0.47	58.33
	0.4 µg /mL	12.67±0.47	79.17
Ampicillin (Positive control)	10 µg /mL	16.00±0.00	100.00
DMSO (Negative control)	1 เปอร์เซ็นต์	-	-

หมายเหตุ : ในสดมภ์เดียวกัน ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$)

- ไม่พบบริเวณยับยั้ง

จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดทุกสูตรกับประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไล พบว่าในช่วงความเข้มข้น 0.1-0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดสูตรใบพลูมีค่าสัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไล (R^2) สูงสุด เท่ากับ 0.9926 รองลงมาสูตรผสมและสูตรเปลือกมะนาว เท่ากับ 0.9689 และ 0.9571 ตามลำดับ ดังแสดงใน**ภาพที่ 4.2-2**



ภาพที่ 4.2-2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดและประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

4.3 ผลการศึกษาต้นทุนการผลิตเบื้องต้น

สำหรับการคำนวณการศึกษาต้นทุนการผลิตเบื้องต้นของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม จะพิจารณาจากต้นทุนเฉพาะ 2 ส่วนค่าดำเนินการ โดยประเมินค่าจากค่าไฟฟ้าที่อุปกรณ์ใช้ไปในกระบวนการสกัด รวมถึงค่าสารเคมี (ค่าเอทานอลร้อยละ 95)

4.3.1 ต้นทุนการผลิตเบื้องต้นของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว

สำหรับการคำนวณต้นทุนเบื้องต้นในการผลิตสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว คำนวณที่อัตราส่วนของเปลือกมะนาวแห้งต่อเอทานอล 1:7 และระยะเวลาในการสกัด 7 วัน ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสาร จากน้ำหนักเฉลี่ยของสารสกัดเปลือกมะนาว 6.27 กรัม ใช้ค่าไฟฟ้า 5.49 บาท และค่าเอทานอลร้อยละ 95 10.11 บาท รวมมีต้นทุนการผลิตเบื้องต้นของสารสกัด 15.60 บาท (**ตารางที่ 4.3-1**) ดังนั้นเมื่อต้องการผลิตสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว ปริมาณ 1 กรัม จะมีต้นทุนการผลิตเบื้องต้นสุทธิ 2.49 บาท/กรัม (**ภาคผนวก ง**)

ตารางที่ 4.3-1 ต้นทุนเบื้องต้นในการสกัดสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว

รายการ	ราคา/หน่วย (บาท)	หน่วย	ปริมาณที่ใช้ในการผลิต	ต้นทุนเบื้องต้น (บาท)
(1) ค่าดำเนินการ				
- ค่าไฟ	0.7124	หน่วย	7.71	5.49
รวมค่าดำเนินการ (1)				**5.49**
(2) ค่าวัตถุดิบ				
- เอทานอลร้อยละ 95 เกรด AR	72.22	ลิตร	0.14	10.11
รวมค่าวัตถุดิบ (2)				**10.11**
ราคาต้นทุนรวมดังนี้ (1) + (2) = 5.49 + 10.11= 15.60				

4.3.2 ต้นทุนการผลิตเบื้องต้นของสารสกัดสูตรใบพลู

สำหรับการคำนวณการคำนวณต้นทุนเบื้องต้นในการผลิตสารสกัดสูตรใบพลู โดยคำนวณที่อัตราส่วนของใบพลูแห้งต่อเอทานอล 1.7 และระยะเวลาในการสกัด 7 วัน ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสาร จากน้ำหนักเฉลี่ยของสารสกัดจากใบพลู 6.94 กรัม ใช้ค่าไฟฟ้า 3.67 บาท และค่าเอทานอลร้อยละ 95 10.11 บาท รวมมีต้นทุนการผลิตเบื้องต้นของสารสกัด 13.78 บาท (**ตารางที่ 4.3-2**) ดังนั้นเมื่อต้องการผลิตสารสกัดสูตรใบพลู ปริมาณ 1 กรัม จะมีต้นทุนการผลิตเบื้องต้นสุทธิ 1.98 บาท/กรัม (**ภาคผนวก ง**)

ตารางที่ 4.3-2 ต้นทุนเบื้องต้นในการสกัดสารสกัดสูตรใบพลู

รายการ	ราคา/หน่วย (บาท)	หน่วย	ปริมาณที่ใช้ในการผลิต	ต้นทุนเบื้องต้น (บาท)
(1) ค่าดำเนินการ				
- ค่าไฟ	0.7124	หน่วย	5.16	3.67
รวมค่าดำเนินการ (1)				**3.67**
(2) ค่าวัตถุดิบ				
- เอทานอลร้อยละ 95	72.22	ลิตร	0.14	10.11
รวมค่าวัตถุดิบ (2)				**10.11**
ราคาต้นทุนรวมดังนี้ (1) + (2) = 3.67 + 10.11 = 13.78				

4.3.3 ต้นทุนการผลิตเบื้องต้นของสารสกัดสูตรผสม

การคำนวณต้นทุนการผลิตเบื้องต้นของสารสกัดสูตรผสม (1:1) ซึ่งจะคิดต้นทุนการผลิตเบื้องต้นของสารสกัด 1 กรัม โดยใช้สารสกัดสูตรเปลือกมะนาว 0.5 กรัม และสารสกัดสูตรใบพลู 0.5 กรัม มาผสมกัน คิดเป็นต้นทุนการผลิตของสารสกัดสูตรผสม 14.69 บาท หรือมีต้นทุนการผลิตเบื้องต้นสุทธิ 2.22 บาท/กรัม

เมื่อเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตเบื้องต้นของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม พบว่าสารสกัดสูตรใบพลู มีราคาต่ำสุด 1.98 บาท/กรัม รองลงมาเป็นสารสกัดสูตรผสม (1:1) และสูตรเปลือกมะนาว มีราคา 2.22 บาท/กรัม และ 2.49 บาท/กรัม ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดสูตรใบพลูมีต้นทุนต่ำสุดและมีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้ออีโคไลได้ดีที่สุด ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกสารสกัดสูตรใบพลู ที่ความเข้มข้น 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสูตรที่เหมาะสมและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีที่สุด สำหรับตัวอย่างการคำนวณต้นทุนการผลิตแสดงไว้ใน**ภาคผนวก ง**

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล สรุปผลการศึกษามีรายละเอียดดังนี้

5.1 สรุปการวิจัย

การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม ในการยับยั้งเชื้ออีโคไล เป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยเก็บเปลือกมะนาวเหลือทิ้งจากร้านพิชัยน้ำปั่น-เครื่องดื่ม ตำบลเขารูปช้าง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา และใบพลูเก็บจากบริเวณป่าชุมชน ตำบลวังใหม่ อำเภอป่าบอน จังหวัดพัทลุง ซึ่งการศึกษาจะแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวและใบพลู โดยใช้เอทานอล ร้อยละ 95 การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล และการวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตเบื้องต้น มีรายละเอียดดังนี้

5.1.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวและใบพลู

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาว และใบพลู ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของพืชแห้งต่อเอทานอลร้อยละ 95 4 อัตราส่วน ได้แก่ 1:3 1:5 1:7 และ 1:9 โดยทำการทดสอบที่ระยะเวลาในการสกัด 5 วัน และนำอัตราส่วนที่เหมาะสมมาศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด 4 ช่วง คือ 3 5 7 และ 9 วัน พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวและใบพลูต่อเอทานอลร้อยละ 95 คือ 1:7 และระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด 7 วัน ให้ร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้ง เท่ากับ 31.37 และ 34.71 ตามลำดับ

5.1.2 การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู สูตรผสม ในการยับยั้งเชื้ออีโคไล โดยทดสอบด้วยวิธีอาร์กา เวล ดิฟฟิวชั่น (Agar well diffusion) ที่ระดับ 4 ความเข้มข้น คือ 0.1 0.2 0.3 และ 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นสูงสุด 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดสูตรใบพลู มีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 16.00±0.00 มิลลิเมตร คิดเป็นร้อยละการยับยั้ง (Inhibition) เท่ากับ 100.00 รองลงมา คือสารสกัดสูตรผสมและสูตรเปลือกมะนาว

มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 12.67±0.47 และ 8.33±0.47 มิลลิเมตร ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละการยับยั้ง (Inhibition) เท่ากับ 79.17 และ 52.08 ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดสูตรใบพลูจะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไลสูงกว่าสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว และสูตรผสมในทุกความเข้มข้น โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) จึงเลือกใช้สารสกัดสูตรใบพลูเป็นสูตรที่เหมาะสม และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีกว่าสารสกัดสูตรเปลือกมะนาวและสูตรผสม

สำหรับการคำนวณต้นทุนเบื้องต้นในการผลิตสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม (1:1) โดยพิจารณาต้นทุนการผลิต 2 ส่วน คือ ค่าดำเนินการ (ค่าไฟ) และค่าสารเคมี (เอทานอลร้อยละ 95) พบว่าต้นทุนในการผลิตสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม (1:1) มีราคา 2.49 1.98 และ 2.22 บาท/กรัม ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการทำวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาทดลองในห้องปฏิบัติการ ดั้งนั้นผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะดังนี้

5.2.1 ควรศึกษาวิธีการสกัดใบพลูที่หลากหลาย เพื่อให้ได้ปริมาณสารสกัดมากยิ่งขึ้น เช่น ใช้ส่วนอื่นของพืช หรือเปลี่ยนตัวทำละลาย

5.2.2 ควรศึกษาการทดสอบหาค่า Minimum inhibitory concentration (MIC) และค่า Minimum bactericidal concentration (MBC) ของสารสกัดจากใบพลูเพิ่มเติม เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการพัฒนาหรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ เช่น เจลล้างมือ และสบู่เหลวสมุนไพร

5.2.3 ควรศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดใบพลูต่อการยับยั้งเชื้ออีโคไลที่ปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำตามธรรมชาติ

5.2.4 ควรศึกษาการใช้สารสกัดสูตรใบพลู เปลือกมะนาว และสูตรผสม กับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่เป็นดัชนีชี้วัดค่าของแหล่งน้ำเสีย เพื่อเพิ่มประโยชน์ของสารสกัด

5.2.5 ควรศึกษาสารสกัดจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นชนิดอื่น ต่อฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้ออีโคไล เพื่อใช้เป็นข้อมูลไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชุมชน

5.2.6 ควรศึกษาต้นทุนการผลิตสารสกัดเพิ่มเติมในกรณีที่มีค่าวัตถุดิบจากราคาวัตถุดิบในปัจจุบัน เพื่อการนำไปใช้ได้งานจริง

บรรณานุกรม

กัญจน์ญาดา นิลวาศ และ พัชรี ดวงจันทร์. 2547. **การศึกษาความเป็นไปได้ทางการตลาดของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม.** รายงานการวิจัยปริญญาตรี สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

กานต์ วงศาริยะ และ มัลลิกา ชมนาวัง. 2552. พลูกับคุณประโยชน์ที่ซ่อนอยู่. **จุลสารข้อมูลสมุนไพร.** 26(3): 3-10.

จันจิรา หับหยู่โส๊ะ และ สุภัตรา ทันยุภัก. 2558. **การศึกษาประสิทธิของสารสกัดจากใบสะเดาในการกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้านและลูกน้ำยุงลายสวน**. รายงานการวิจัยปริญญาตรี สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์. 2556. **โรคอุจจาระร่วงจากเชื้ออีโคไล (*E. coli*).** แหล่งที่มา: http://www.pharmacy.mahidol.ac.th, 12 มกราคม 2559.

ชนานันท์ แพงไทย. 2551 **การประยุกต์ใช้สารสกัดจากพืชชนิดน้ำและชนิดผงในการควบคุมลูกน้ำยุงลาย.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ต่วนซาวีย๊ะ ยือแร และ นูรีดา โตะหิ. 2558. **ประสิทธิของสารสกัดหยาบจากเปลือกมะนาวและเปลือกทับทิมในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis*.** รายงานการวิจัยปริญญาตรี สาขาชีววิทยาประยุกต์, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

ตีญาณี สาหัด และ รอกายะ สนิ. 2556. **ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากใบเฮนน่าต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*.** รายงานการวิจัยปริญญาตรี สาขาชีววิทยาประยุกต์, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

เต็ม สมิตินันทน์. 2544. **ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย.** พิมพ์ครั้งที่ 2. ส่วนพฤกษศาสตร์ ป่าไม้สำนักวิชาการป่าไม้กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

นงลักษณ์ พิสุทธิลาภ. 2544. ศึกษาการวิเคราะห์ *Escherichia coli* ในอาหารทะเลแช่แข็งด้วยวิธี MPN technique. **วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.** 43(2): 95-101.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2544. **จุลชีววิทยาทั่วไป.** พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

นันทนา สิทธิชัย. 2547. มาตรฐานของสมุนไพรในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย. **วารสารสมุนไพร.** 11(1): 21-31.

บรรณานุกรม (ต่อ)

กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2537. **กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งผิวดิน.** แหล่งที่มา: http://slbkb.psu.ac.th, 24 กุมภาพันธ์ 2560.

ประภัสสร รักถาวร, ลลิตา คชารัตน์, อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ และ เกสรี กลิ่นสุคนธุ์. 2553. การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากใบพลูในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในห้องน้ำสาธารณะ. **วารสารสำนักการแพทย์ทางเลือก.** 14(2): 22-32.

ปิยะวดี เจริญวัฒนะ และ สุมนา ปานสมุทร. 2550. **การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดจากสะค้านและพลูในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราบางชนิด.** พิมพ์ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, กรุงเทพฯ.

พาตีเมาะ มะแช และ ภรณ์ทิพย์ แก้วมณี. 2557. **ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรพื้นบ้านต่อการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* และ *Vibrioparahaemolyticus*.** รายงานการวิจัยปริญญาตรี สาขาชีววิทยาประยุกต์, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

ภควดี สุทธิไวยกิจ และ ทิพย์มนต์ ภัทราคร. 2539. **การวิเคราะห์สารที่ให้ความหอมในเมล็ดข้าวหอม.** พิมพ์ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนา, กรุงเทพฯ.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2540. **พืชเครื่องเทศและสมุนไพร.** พิมพ์ครั้งที่ 1. โอ.เอส. พริ้นติ้งเฮาส์, กรุงเทพฯ.

ลินจง สุขลำภู, ปวลี คงศิริสัจธรรม, ราเชฬ เรืองศิริ และ ศศิภา เดชะปรากรม. 2553. **กิจกรรมต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี.** พิมพ์ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วรรณี จันทร์ลัดดา. 2544. **การวิเคราะห์ลิโมนีนในเปลือกส้มโดยแก๊สโครมาโทรกราฟี.** รายงานการวิจัยปริญญาตรี สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม, คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

วรวุฒิ เจริญศิริ. 2557. **โรคติดเชื้อแบคทีเรียอีโคไล.** แหล่งที่มา: http://www.bangkokhealth.com, 7 มีนาคม 2560.

วฤษณี ปรีชานฤชิตกุล. 2554. แบคทีเรียอีโคไล. **หนังสือพิมพ์กสิกร**, 84(4): 77-82.

วันทนี สว่างอารมณ์ และ พาฝัน จันทร์เล็ก. 2555. **กลไกการเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*.** รายงานการวิจัยปริญญาตรี สาขาชีววิทยาประยุกต์, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา.

บรรณานุกรม (ต่อ)

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2536. **ดอกไม้ประดับในเมืองไทย.** พิมพ์ครั้งที่ 2. สุริยบรรณ, กรุงเทพฯ.

วิสาตรี คงเจริญสุนทร, นิพนธ์ ชมโอสถ, จิรัชฌา จินดามล, จิราภรณ์ อารยะศิลปะธร, ปราณี ชะรัดรัมย์, สุรีวัลย์ อุ่นอารมณ์ และ อารยา พิทยประเสริฐกุล. 2548. การสำรวจและทดสอบหาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์. **วารสารเทคนิคการแพทย์.** 33(1): 947-958.

วีณา จิรัจฉริยากูล. 2543. **คู่มือสมุนไพรฉบับย่อ.** พิมพ์ครั้งที่ 2. นิวไทยมิตรการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2557. **แบคทีเรียลำไส้.** แหล่งที่มา: http://nih.dmsc.moph.go.th, 15 มิถุนายน 2559.

สมฤทัย บูรพาศิริวัฒน์ และ สุภัชชา หมื่นแก้ว. 2547. **การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของยาต้านจุลชีพต่อเชื้อ *Escherichia coli* ในหลอดทดลอง.** รายงานการวิจัยปริญญาตรี สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

สมศักดิ์ วรรณศิริ. 2541. **สวนมะนาว.** พิมพ์ครั้งที่ 6. ฐานเกษตรกรรม, กรุงเทพฯ.

สุคนธ์ ตันติไพบูลย์วุฒิ, เทียนชัย น่วมเศรษฐี และ เพชรลดา เดชายืนยง. 2555. ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลไม้บางชนิด. **วารสารวิจัยบัณฑิตศึกษา.** 17(6): 880-894.

สุธินี แต้โสตถิกุล. 2555. **อีโคไล (*E.coli*) แบคทีเรียร้ายที่มาพร้อมอาหาร.** แหล่งที่มา: http://www.vcharkarn.com/varticle, 10 กันยายน 2559.

สุพรรณี เทพอรุณรัตน์ และ สุลาวดี เขียวชม. 2558. การพัฒนาชุดทดสอบเชื้อโคลิฟอร์มและอีโคไลในน้ำบริโภคและอุปโภค. **วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ.** 63(4): 25-26.

สุรเกียรติ อาชานุภาพ. 2551. **ตำราตรวจรักษาโรคทั่วไปการดูแลรักษาและการป้องกัน.** พิมพ์ครั้งที่ 4. โฮลิสติกพับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ.

เสงี่ยม พงษ์บุญรอด. 2519. **ยาแผนโบราณสมุนไพรและพฤกษศาสตร์.** พิมพ์ครั้งที่ 1. เกษมบรรณกิจ, กรุงเทพ.ฯ

อภัย ราษฎรวิจิตร. 2557. **ยาปฏิชีวนะ.** แหล่งที่มา: http://haamor.com, 7 มีนาคม 2561.

อังคณา พันธ์ศรี. 2541. **ผลของออกซิเจนและสารอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
แบบเสนอโครงร่างวิจัย

โครงร่างวิจัยวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

1. ชื่อโครงการ การศึกษาความเป็นไปได้ของสารสกัดจากเปลือกมะนาวและใบพลู ยับยั้งเชื้ออีโคไล

The Feasibility Study for Coarse Extraction from Lime Bark and Betel Leaves to Inhibit the Growth of *E. coli*

2. สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (การจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม)

3. ชื่อผู้วิจัย

นางสาววัลภา แก้วหนูนวล รหัส 564231035
นักศึกษาปริญญาตรี สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

นางสาวสุนิดา จินพล รหัส 564231046
นักศึกษาปริญญาตรี สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

4. คณะกรรมการที่ปรึกษาวิจัยเฉพาะทาง

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก อาจารย์หิรัญวดี สุวิบูรณ์
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์สัลวา ตอปี
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

5. ที่มาและความสำคัญ

Escherichia coli หรืออีโคไล (*E. coli*) เป็นแบคทีเรียชนิดแกรมลบ ที่มีรูปร่างเป็นแท่ง มีแฟลกเจลลา (Flagella) สามารถเคลื่อนที่ได้ ขนาดยาวประมาณ 2 ไมโครเมตร และกว้างประมาณ 0.5 ไมโครเมตร พบได้ทั่วไปในธรรมชาติและในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่น ซึ่งเชื้ออีโคไลถูกนำมาเป็นตัวบ่งชี้ในการตรวจการปนเปื้อนอุจจาระแหล่งน้ำธรรมชาติในสิ่งแวดล้อม รวมทั้งในอาหาร (สุธินี แต้โสตถิกุล, 2555 และ จันทรเพ็ญ วิวัฒน์, 2556) ถึงแม้เชื้ออีโคไลไม่ใช่แบคทีเรียที่เป็นตัวแทนความเสี่ยงต่อสุขภาพแต่การพบแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถชี้ชัดได้ว่ามีการปนเปื้อนอุจจาระและมีแนวโน้มตรวจพบจุลินทรีย์ก่อโรคอื่นในระบบทางเดินอาหาร แบคทีเรียในกลุ่มนี้จึงมีความสำคัญทั้งการควบคุมคุณภาพอาหาร น้ำเพื่อการอุปโภคบริโภค จึงมีการกำหนดไว้ในคุณภาพมาตรฐานน้ำบริโภคขึ้นตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 61 (2524) และฉบับที่ 135 (2534) กำหนดไว้ว่าแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์มต้องน้อยกว่า 2.2 เอ็มพีเอ็นต่อ100 ลูกบาศก์เซนติเมตร และต้องไม่พบแบคทีเรียชนิดอีโคไล รวมทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ซึ่งในสภาวะร่างกายปกติเชื้ออีโคไลจะไม่ก่อให้เกิดโรค แต่เมื่อร่างกายมีภูมิคุ้มกันบกพร่อง จะมีอาการถ่ายอุจจาระเหลวหรือเป็นน้ำ ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน มีไข้ต่ำร่วมด้วย และอาจรุนแรงถึงขั้นมีอาการปวดท้อง ถ่ายเป็นมูกเลือด ทั้งนี้อาการรุนแรงต่างๆขึ้นอยู่กับสภาพร่างกายของแต่ละคนที่ได้รับเชื้อและปริมาณของเชื้อที่ได้รับเข้าสู่ร่างกาย (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2557)

แนวทางป้องกันเชื้ออีโคไล สามารถทำได้หลายวิธี โดยปัจจุบันส่วนใหญ่นิยมใช้มี 2 วิธี ได้แก่ การป้องกันเชื้ออีโคไลเบื้องต้น และการใช้ยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้ออีโคไล สำหรับการป้องกันเชื้ออีโคไลเบื้องต้น เป็นการดูแลสุขอนามัยเบื้องต้น โดยเฉพาะการเลือกดื่มน้ำและอาหารที่สะอาด ตลอดจนอนามัยส่วนบุคคลที่สามารถป้องกันการติดเชื้อและการแพร่เชื้อโรคให้ผู้อื่น ส่วนการรักษาในปัจจุบันจะใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่มเพนิซิลลิน (Penicillin) ออกฤทธิ์โดยกำจัดหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียบางชนิดในร่างกาย ยากลุ่มนี้สามารถทำลายแบคทีเรียได้อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ซึ่งยาส่วนใหญ่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ เมื่อใช้เวลานานจะทำให้เกิดการสะสมสารพิษในร่างกายและมีแนวโน้มของการดื้อยาของแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น ทั้งยังมีราคาแพง บางครั้งมีอาการข้างเคียงจากการใช้ยา เช่น มีไข้ เจ็บคอ ปวดศีรษะ ผื่นผิวหนังลอก อาเจียน ผิวแดงและเป็นขุย เป็นต้น (นันทนา สิทธิชัย, 2547และ วฤษณี ปรีชานฤชิตกุล, 2554)

จากปัญหาดังกล่าวจึงมีการพยายามศึกษาพืชสมุนไพรตามธรรมชาติที่พบได้ในประเทศมาใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย อาทิเช่น การใช้สารสกัดจากสมุนไพรจำนวน 4 ชนิด คือ สบู่ดำ ชุมเห็ดเทศ ฝรั่ง และพลู โดยทดสอบด้วยวิธีอาร์กา เวล ดิฟฟิวชั่น (Agar well diffusion) มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* เท่ากับ 21.6 15.0 14.3 และ 14.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ (วันทนี สว่างอารมณ์ และ พาฝัน จันทร์เล็ก, 2555) และการใช้สารสกัดหยาบจากใบชะมวง ใบหูกวาง ใบพริกไทยและใบมะยม โดยวิธีดิส ดิฟฟิวชั่น (Disk diffusion) ให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไล เท่ากับ 19.33±2.36 11±0.82 และ 9.67±0.47 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนใบชะมวงไม่สามารถยับยั้งเชื้ออีโคไลได้ (พาตีเมาะ มะแซ และ ภรณ์ทิพย์ แก้วมณี, 2557) ซึ่งพืชสมุนไพรจากการศึกษาข้างต้น มีสารบางชนิดที่สามารถยับยั้งเชื้ออีโคไลได้ นอกจากนี้เปลือกมะนาวที่มีมากในกระบวนการเหลือใช้จากการประกอบอาหาร ยังมีสารลิโมนีน (Limonene) สูงถึงร้อยละ 44.82 (สมศักดิ์ วรรณศิริ, 2541) จากการศึกษาของวรรณี จันทร์ลัดดา (2544) พบว่า สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ รวมถึงใบพลูซึ่งเป็นพืชที่พบมากในป่าชุมชน มีสารยูจีนอล (Eugenol) สูงถึงร้อยละ 54.71 (วีณา จิรัจฉริยากูล, 2543) ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิก มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถทำลายเชื้อราและแบคทีเรีย รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด (สุคนธ์ ตันติไพบูลย์วุฒิ, 2555) ซึ่งสารสำคัญทั้ง 2 ชนิด มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะใช้สารสกัดจากเปลือกมะนาวและใบพลู มาใช้ประโยชน์ในการยับยั้งเชื้ออีโคไล ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรในท้องถิ่นให้เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และเป็นการส่งเสริมพืชสมุนไพรในท้องถิ่นให้เกิดประโยชน์สูงสุด

6. วัตถุประสงค์

6.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวและใบพลู

6.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

7. สมมติฐาน

สารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไลได้แตกต่างกัน

8. ตัวแปร

8.1 ตัวแปรต้น : สารสกัดจากเปลือกมะนาวและใบพลู

8.2 ตัวแปรตาม : ประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

8.3 ตัวแปรควบคุม : อุณหภูมิการบ่มเชื้ออีโคไล วิธีการสกัดสารสกัด และอาหารเลี้ยงเชื้อ

9. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

9.1 ทราบถึงประสิทธิภาพของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

9.2 สามารถใช้เป็นแนวทางในการส่งเสริมการใช้พืชสมุนไพรท้องถิ่นให้เกิดประโยชน์สูงสุด

9.3 สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรในท้องถิ่นและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

10. ขอบเขตการวิจัย

10.1 **พื้นที่เก็บตัวอย่าง**

1) ใบพลู

จากบริเวณป่าชุมชน หมู่ 7 ตำบลวังใหม่ อำเภอป่าบอน จังหวัดพัทลุง

2) เปลือกมะนาว

ได้รับความอนุเคราะห์จากร้านพิชัยน้ำปั่น-เครื่องดื่ม ตำบลเขารูปช้าง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา

3) เชื้ออีโคไล

ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการของโปรแกรมวิชาชีววิทยาประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

10.2 **พื้นที่ทำการทดลอง**

ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด และประสิทธิภาพของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรเปลือกมะนาวผสมใบพลู ในการยับยั้งเชื้ออีโคไล ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

11. นิยามศัพท์ที่ใช้ในการวิจัย

11.1 เปลือกมะนาว หมายถึง ส่วนเปลือกของมะนาว มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus aurantifolia* Swing. ลักษณะของเปลือกจะบางและชุ่มน้ำ ภายในมีเนื้อแบ่งออกเป็นกลีบๆและมีรสเปรี้ยว ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ใช้เปลือกมะนาวเหลือทิ้ง ขูดเอาเนื้อส่วนในออกให้เหลือแต่เปลือก

11.2 ใบพลู หมายถึง ใบของต้นพลู มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Piper betle* Linn. ลักษณะของใบแหลมคล้ายใบโพ ผิวใบมัน และมีกลิ่นฉุน ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้เด็ดเฉพาะใบในส่วนล่างถึงช่วงกลางของลำต้นที่มีสีเขียวเข้ม

11.3 การสกัดด้วยตัวทำละลาย หมายถึง การสกัดผงพืชแห้งด้วยตัวทำละลาย เป็นการนำสารบางชนิดออกจากพืช ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลายในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวแห้ง และใบพลูแห้ง แช่ทิ้งไว้ตามระยะเวลาที่กำหนด และระเหยตัวทำละลายออกโดยกลั่นด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporating) ที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส

11.4 เชื้ออีโคไล หมายถึง แบคทีเรียชนิดแกรมลบ (Gram negative bacteria) มีรูปร่างเป็นแท่ง ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae และเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น ใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะของอาหารและน้ำ (วฤษณี ปรีชานฤชิตกุล, 2554)

11.5 การยับยั้งเชื้ออีโคไล หมายถึง การควบคุมไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเจริญออกไปนอกบริเวณที่ถูกยับยั้ง

12. ตรวจเอกสาร

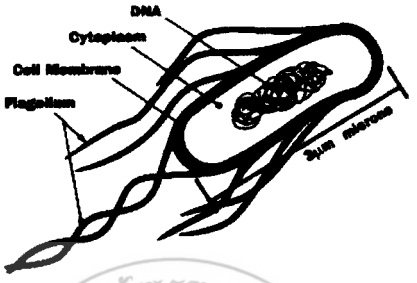
12.1 ข้อมูลเบื้องต้นเชื้อ *Escherichia coli*

Escherichia coli หรือที่นิยมเรียกกันว่าอีโคไล (*E. coli*) เป็นแบคทีเรียประจำถิ่น พบได้ทั่วไปในธรรมชาติและในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่น ซึ่งสามารถอาศัยอยู่ภายนอกร่างกายได้ จึงถูกนำมาเป็นตัวบ่งชี้ที่ดีในการตรวจการปนเปื้อนอุจจาระในสิ่งแวดล้อม รวมทั้งการตรวจในอาหารและน้ำ

12.1.1 ลักษณะรูปร่างและสรีวิทยาของเชื้ออีโคไล

เชื้ออีโคไล เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่ง มีแฟลกเจลลา (Flagella) สามารถเคลื่อนที่ได้ ยาวประมาณ 2 ไมโครเมตร และกว้างประมาณ 0.5 ไมโครเมตร อยู่ในกลุ่มเอ็นเทอโรแบคทีเรียซี (Family Enterobacteriaceae) มีชั้นเพปติโดไกลแคนบางๆอยู่รอบเยื่อหุ้มเซลล์ มีเมมเบรนห่อหุ้มรอบผนังเซลล์ และเป็นแบคทีเรียที่ย้อมแกรมติดสีแดงของ Safranin

ไม่สร้างสปอร์ เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobe) บางสายพันธุ์ที่แยกได้จากนอกลำไส้ สร้างแคปซูลได้ เป็นโคโลนีเรียบ มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร เชื้อนี้เจริญได้ในอุณหภูมิช่วงกว้าง 15-45 องศาเซลเซียส (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2544 และ พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2537) ดังแสดงใน**ภาพที่ 12.1-1**



ภาพที่ 12.1-1 ลักษณะเซลล์ของเชื้ออีโคไล

ที่มา : สุธินี แต้โสตถิกุล (2555)

12.1.2 สายพันธ์ก่อโรคของเชื้ออีโคไล

เชื้ออีโคไล เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงในคนและสัตว์ สามารถจำแนกได้เป็นกลุ่มต่างๆ ตามลักษณะการก่อโรค ซึ่งแต่ละกลุ่มประกอบด้วยเชื้ออีโคไลหลากหลายสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติในการก่อโรคที่แตกต่างกัน สามารถสร้างสารพิษและปัจจัยในการก่อโรคแตกต่างกัน (นงลักษณ์ พิสุทธิลาภ, 2544 และ จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์, 2556) ได้แก่

1) เอนเทอโรท็อกซิก อีโคไล (Enterotoxic *E. coli*) คือ อีโคไลที่ก่อให้เกิดอาการท้องเสียในกลุ่มนักท่องเที่ยวต่างชาติ โดยท็อกซิน (Toxin) ที่สร้างจากเชื้อ เป็นท็อกซินที่ทนและไม่ทนความร้อน จะรบกวนการดูดซึมแร่ธาตุของเซลล์เยื่อบุลำไส้ทำให้เกิดอาการท้องเสีย

2) เอนเทอโรเพโทเจนิก อีโคไล (Enteropathogenic *E. coli*) คือ อีโคไลที่ก่อให้เกิดอาการท้องเสียในเด็กเล็ก เมื่อเชื้อเกาะติดกับเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้แล้วจะปล่อยสารเข้าสู่เซลล์ ซึ่งจะรบกวนการดูดซึมน้ำและแร่ธาตุต่างๆ ทำให้เกิดอาการท้องเสีย

3) เอนเทอโรอินเวซีบ อีโคไล (Enteroinvasive *E. coli*) คือ อีโคไลที่มีสภาพการก่อโรคคล้ายกับเชื้อ *Shigella* คือทำให้เกิดโรคบิด และท้องเสียแบบมีเลือดปน เชื้อทั้งสองเหมือนกันตรงที่ไม่มีแฟลกเจลลา ที่จะช่วยให้เชื้อเคลื่อนที่ การติดเชื้อเกิดจากการสัมผัสส่งเชื้อจากเซลล์หนึ่งไปยังอีกเซลล์หนึ่ง ทำให้เชื้อสามารถทำลายเซลล์ในชั้นที่ลึกกว่าเยื่อบุลำไส้ได้

4) เอนเทอโรฮีโมเรจิก อีโคไล (Enterohemorrhagic *E. coli*) คือ อีโคไลที่ก่อให้เกิดอาการท้องเสียแบบมีเลือดปน พบได้ทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ เป็นเชื้อที่ปนเปื้อนมากับอาหาร

จำพวกเนื้อวัว สร้างสารพิษท็อกซิน ที่เรียกว่า ชิก้า ท็อกซิน (Shiga toxin) โดยท็อกซินนี้จะยับยั้งกระบวนการสร้างโปรตีนและทำลายเซลล์เยื่อบุลำไส้ และท็อกซินสามารถเข้าสู่หลอดเลือดและก่อพยาธิสภาพทำให้เกิดอาการท้องเสียที่มีเลือดปน

5) เอนเทอโรเอกกริเกทีฟ อีโคไล (Enteroaggregative *E. coli*) คือ อีโคไลที่ก่อให้เกิดอาการท้องเสียในกลุ่มนักท่องเที่ยวต่างชาติได้บ่อยรองจากเอนเทอโรท็อกซิก อีโคไล (Enterotoxic *E. coli*) โดยมีอาการท้องเสียเป็นน้ำ แต่ในบางรายอาจรุนแรง มีเลือดปนได้ สามารถพบเชื้อได้ทั้งในลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ เชื้อจะอยู่รวมกันเป็นลักษณะของไบโอฟิล์ม (Biofilm) ทำให้เชื้อเจริญผ่านชั้นเยื่อเมือกที่คลุมเซลล์เยื่อบุลำไส้ ทำให้เชื้อเกาะติดกับเยื่อบุลำไส้ และปล่อยสารต่างๆ ไปรบกวนกระบวนการดูดซึมของเซลล์ ทำให้เกิดอาการท้องเสียได้

12.1.3 ประโยชน์และโทษที่ได้รับจากเชื้ออีโคไล

เชื้ออีโคไล เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่นรวมถึงมนุษย์กลุ่มใหญ่ เชื้ออีโคไลเป็นสายพันธุ์ที่ไม่มีอันตรายและอาจมีประโยชน์ แต่การติดเชื้ออีโคไลบางสายพันธุ์ก็ทำให้เกิดการเจ็บป่วยและภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงได้ (จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์, 2556) มีรายละเอียดดังนี้

1) ประโยชน์ที่ได้รับจากเชื้ออีโคไล

อีโคไลเป็นเชื้อประจำถิ่น เป็นสายพันธุ์ที่ไม่มีอันตรายและอาจมีประโยชน์ เช่น เชื้ออีโคไลสามารถสร้างวิตามินเค และวิตามินบี 6 ทำหน้าที่รักษาพื้นที่ป้องกันในลำไส้สำหรับแบคทีเรียที่มีประโยชน์อื่นๆ และรักษาสมดุลระหว่างเชื้อ ไม่ก่อโรคกับเชื้อก่อโรคต่างๆในลำไส้ เมื่ออยู่ในลำไส้ใหญ่ก็จะทำงานเกี่ยวกับกระบวนการทำให้ของเสียออกจากร่างกายได้ดี (จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์, 2556) และยังเป็นตัวดัชนีชี้วัดความสะอาดของน้ำในแหล่งน้ำและอุสาหกรรมน้ำดื่มได้

2) โทษที่เกิดจากเชื้ออีโคไล

2.1) อาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ (Urinary tract infection ; UTI) เกิดจากเชื้ออีโคไลที่อาศัยอยู่ในลำไส้และอุจจาระ โดยเชื้อสามารถเคลื่อนที่ไปยังบริเวณทางเดินปัสสาวะขึ้นไปยังกระเพาะปัสสาวะ หรือไตได้ จากนั้นจะมีการแบ่งตัวของเชื้ออย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดภาวะพบแบคทีเรียในปัสสาวะ (Bacteriuria) โดยสายพันธุ์ของเชื้ออีโคไลที่ทำให้เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะจะสร้างสารเอ๊กซ์ แอดอีซินส์ (X adhesins) ช่วยในการยึดเกาะให้เชื้ออยู่บริเวณทางเดินปัสสาวะได้ และเชื้อจะสร้างสารฮีโมไลซิน (Hemolysin) เพื่อทำลายเซลล์ทำให้เซลล์เม็ดเลือดรวมถึงเซลล์ต่างๆแตก โดยผู้ที่ติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ จะมีอาการปวดแสบบริเวณถ่ายปัสสาวะ มีอาการปวดท้อง เสียดท้องขณะปัสสาวะ ปัสสาวะบ่อย และรู้สึกเหมือนปัสสาวะไม่สุด

2.2) อาการเยื่อหุ้มสมองอักเสบในทารก เกิดจากเชื้ออีโคไลสายพันธุ์ที่มีการสร้างเคว้นแคปซูล (K1 capsule) ที่ช่วยป้องกันการถูกกินจากเซลล์เม็ดเลือดขาว และการถูกทำลายด้วยระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย มักเกิดกับทารกแรกเกิด โดยการติดเชื้อจากมารดาเข้าสู่ทางเดินหายใจหรือทางเดินอาหารของทารก จากนั้นเชื้อจะผ่านผนังลำไส้เข้าสู่กระแสโลหิตไปยังเยื่อหุ้มสมองในที่สุด โดยทารกที่ติดเชื้อที่เยื่อหุ้มสมอง จะมีอาการ ไข้สูง คอแข็ง บางรายอาจจะมีอาการซึมลง คลื่นไส้อาเจียน ความดันต่ำ

2.3) อาการท้องร่วง เกิดจากรับประทานอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนของเชื้ออีโคไลเข้าสู่ร่างกาย ส่วนใหญ่เกิดกับเด็กทารก ผู้ที่เดินทางไปต่างถิ่น หรือผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยเชื้อจะเกาะติดกับผนังลำไส้ จากนั้นจะสร้างสารพิษที่ทำให้เกิดอาการท้องร่วงได้ เชื้ออีโคไลบางสายพันธุ์สามารถผลิตสารพิษท๊อกซิน ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคที่มีความรุนแรงมาก มี 2 ชนิด คือ ชิก้า ท๊อกซิน (Shiga toxin) และเอนเทอโรท๊อกซิน (Enterotoxin) สารพิษชิก้า ท๊อกซิน สามารถทำให้เกิดท้องร่วงอย่างรุนแรง มีเลือดออกและมีไข้ร่วมด้วย ในการเกิดโรคเชื้อจะเข้าสู่เซลล์และทำลายเซลล์ ส่วนสารพิษเอนเทอโรท๊อกซิน ทำให้เกิดการท้องร่วงเป็นน้ำซาวข้าวคล้ายอหิวาห์ โดยการกระตุ้นให้เกิดการหลั่งน้ำเข้าสู่ช่องท้อง

12.1.4 แนวทางการป้องกันและยับยั้งเชื้ออีโคไล

แนวทางป้องกันเชื้ออีโคไล สามารถทำได้หลายวิธี โดยปัจจุบันนิยมใช้ มี 2 วิธี ได้แก่ การป้องกันเชื้ออีโคไลเบื้องต้น และการใช้ยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้ออีโคไล (วฤษณี ปรีชานฤชิตกุล, 2554 และ วรวุฒิ เจริญศิริ, 2557) มีรายละเอียดดังนี้

1) การป้องกันเชื้ออีโคไลเบื้องต้น

สำหรับการป้องกันเชื้ออีโคไล เป็นกระบวนการดูแลสุขอนามัยเบื้องต้นจากการดื่มน้ำและอาหาร ตลอดจนอนามัยส่วนบุคคลที่สามารถป้องกันการติดเชื้อและการแพร่เชื้อโรคให้ผู้อื่นได้ ได้แก่

1.1) ปรุงอาหารให้สุกอย่างทั่วถึง ห้ามรับประทานอาหารดิบ หรือดิบๆ สุกๆ เนื่องจากเชื้อจะถูกทำลายได้โดยความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียสขึ้นไป โดยเฉพาะอาหารประเภทเนื้อสัตว์ เก็บถนอมอาหารไว้ในตู้เย็น ไม่ควรวางทิ้งไว้ข้างนอกนานเกิน 2 ชั่วโมง ความร้อนที่สูงกว่าสำหรับอาหารค้างมื้อก่อนกิน ควรอุ่นให้เดือดทั่วถึงก่อน

1.2) เก็บอาหารที่ปรุงสุกแล้วอย่างระมัดระวัง เช่น ข้าวกล่อง อาหารถุง หากจะนำมารับประทานใหม่ ต้องนำมาอุ่นให้ร้อนอย่างทั่วถึงเสียก่อน ภาชนะที่ใช้รับประทานอาหารและดื่มน้ำ ต้องทำความสะอาดและเก็บไว้ในที่มิดชิดไม่ให้แมลงวันตอม ใช้ฝาชีครอบอาหารหรือนำใส่ตู้กับข้าวป้องกันแมลงวันตอมอาหาร

1.3) เลือกอาหารที่มีขบวนการผลิตที่ปลอดภัย ใช้วัตถุดิบที่สะอาดและสด ใหม่ในการประกอบอาหาร

1.4) ล้างมือให้สะอาดทุกครั้ง ก่อนและหลังรับประทานอาหาร และภายหลังการเข้าส้วม อย่าใช้มือสัมผัสอาหารที่ปรุงสุกแล้วโดยตรง ควรใช้ช้อนกลาง ล้างมือให้สะอาดด้วยน้ำและสบู่ก่อนปรุงอาหาร ก่อนรับประทานอาหาร ก่อนใช้มือหยิบอาหารป้อนเด็ก และหลังใช้ห้องน้ำทุกครั้ง เนื่องจากแบคทีเรียสามารถติดต่อและผ่านทางอาหารและน้ำ

1.5) รักษาสิ่งแวดล้อมในครัวให้สะอาด โดยเฉพาะโต๊ะที่ใช้ปรุงอาหาร หลีกเลี่ยงการปนเปื้อนระหว่างอาหารด้วยกัน เพื่อไม่ให้อาหารที่ปรุงสุกแล้วปนเปื้อนกับอาหารดิบ เช่น การใช้มีด เขียง ต้องแยกระหว่างอาหารดิบ และอาหารสุก เป็นต้น รวมทั้งแยกประกอบอาหารระหว่างวัตถุดิบที่นำมาประกอบอาหารชนิดดิบและที่ปรุงสุกแล้ว

1.6) น้ำดื่ม และน้ำใช้ต้องสะอาด เช่น น้ำต้มสุก น้ำดื่มบรรจุขวดที่ได้มาตรฐาน และเลือกซื้อน้ำแข็งรับประทานที่ถูกหลักอนามัย

1.7) เลือกซื้อผัก ผลไม้ที่สะอาด ปลอดสารเคมี และยาฆ่าแมลง ลอกหรือปอกเปลือกชั้นนอกของผักสดหรือผลไม้ออกทิ้ง แกะเป็นกลีบหรือแกะใบออกจากต้นหรือตัดส่วนขอบรอบนอกแล้วแช่น้ำสะอาด นานประมาณ 10-15 นาที

1.8) ล้างผัก และผลไม้ให้สะอาด ก่อนนำมารับประทาน โดยการเด็ดใบคลี่ใบล้างผ่านน้ำให้สะอาดหลายๆ ครั้ง ล้างผักด้วยน้ำสะอาดหลายๆ ครั้งและคลี่ใบถู หรือล้างด้วยการเปิดน้ำไหลจากก๊อกแรงพอประมาณให้ไหลผ่านผักสด อย่างน้อย 2 นาที หรือใช้สารละลายอื่นๆ ในการล้าง เช่น น้ำส้มสายชู เกลือ เป็นต้น

1.9) ใช้ฝาปิดถังขยะ และกำจัดขยะมูลฝอยสิ่งปฏิกูลเพื่อไม่ให้เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของแมลงวัน

2) การใช้ยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

ยาปฏิชีวนะเป็นหนึ่งในยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์เฉพาะกับแบคทีเรีย ใช้รักษาการติดเชื้อ ซึ่งยาปฏิชีวนะที่ถูกนำมาใช้ในการยับยั้งเชื้ออีโคไล คือ กลุ่มยาเพนิซิลลิน (Penicillin) มีรายละเอียดดังนี้ (อภัย ราษฎรวิจิตร, 2557)

2.1) ชนิดของกลุ่มยาเพนิซิลลิน (Penicillin)

- อะมิโนเพนิซิลลิน (Aminopenicillins) คือ กลุ่มยาเพนนิซิลินที่มีโครงสร้างของเบต้าแลคแตม (Beta-lactam) มีฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย โดยมีฤทธิ์เหมือนเพนิซิลลิน แต่มีสรรพคุณครอบคลุมเชื้อได้มากกว่า อะมิโนเพนิซิลลินสามารถรักษาการติดเชื้อของแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบ เช่น เชื้ออีโคไล (*Escherichia coli*) หรือเชื้อฮีโมฟิลุสอินฟลูเอนเซ (*Haemophilus influenzae*) ใช้รักษาการติดเชื้อในระบบ

ทางเดินหายใจส่วนบนและส่วนล่าง ทางเดินปัสสาวะอักเสบ ผิวหนังอักเสบ และอื่นๆยาที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ เช่น อะม็อกซีซิลลิน (Amoxicillin) แอมพิซิลลิน (Ampicillin)

- แอนตี้ซูโด เพนิซิลลิน (Antipsudo penicillins) คือ ยาต้านจุลชีพที่มีสรรพคุณใช้รักษาการติดเชื้อซูโดโมนาส โดยยานี้มีฤทธิ์ในการรรักษาเหมือนเพนิซิลิน (Penicillin)และอะมิโนเพนิซิลลิน (Aminopenicillins) รวมทั้งต้านเชื้อซูโดโมนาส (*Pseudomanas*) เอนทีโรค็อกคัส (*Enterococcus*) ยาเพนนิซิลินชนิดนี้ เช่น ยาพิเพอราซิลลิน (Piperacillin)

- เบต้าแลคแทมเมส (Beta-lactamase inhibitors) คือ ยาที่มีเบต้าแลคแทมเป็นส่วนประกอบ ใช้ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย รวมทั้งมีส่วนผสมของสารที่ช่วยกำจัดการสร้างเอนไซม์เบต้าแลคแทมเมส เนื่องจากแบคทีเรียบางสายพันธุ์จะสร้างเอนไซม์เบต้าแลคแทมเมสขึ้นมาต้านยาฆ่าเชื้อ เกิดการดื้อยา มักใช้คู่กับสารยับยั้งเบต้าแลคแทมเมสเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เบต้าแลคแทมเมส โดยยาที่มีสารยับยั้งเบต้าแลคแทมเมส ได้แก่ คลาวูลาเนท (Clavulanate) ทาโซแบคแทม (Tazobactam) และซุลแบคแทม (Sulbactam)

- เพนิซิลลินที่ได้จากธรรมชาติ (Natural penicillins) คือ ยาปฏิชีวนะตัวแรกที่ใช้ในทางการแพทย์ ซึ่งใช้ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรียและกำจัดแบคทีเรีย ยาชนิดนี้ใช้ต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบได้ เพนิซิลลินที่ได้จากธรรมชาติประกอบด้วยเพนิซิลลิน จี (Pencillin G) เพนิซิลลิน วี (Penicillin V) โปรเคนเพนิซิลลลิน (Procaine penicillin) และเบนซาธีน เพนิซิลลิน จี (Benzathine penicillin G)

- เพนิซิลลินที่ทนการถูกทำลายของเพนนิซิลลิเนส (Penicillinase resistant penicillins) คือยาปฏิชีวนะที่ไม่ถูกเอนไซม์เพนิซิลลิเนสทำลาย แบคทีเรียบางอย่างจะผลิตเอนไซม์เพนิซิลลิเนสขึ้นมาทำลายเบต้าแลคแทมในยาปฏิชีวนะ ทำให้ตัวยาใช้ไม่ได้ผล ยานี้จะใช้รักษาการดื้อยาของเชื้อสแตฟิโลค็อกคัส (*Staphylococcus*) และการติดเชื้ออื่น ๆ ยาที่อยู่ในกลุ่มนี้ เช่น คลอกซาซิลลิน (Cloxacillin) ไดคลอกซาซิลลิน (Dicloxacillin) ออกซาซิลลิน (Oxacillin) หรือ เมธิซิลลิน (Methicillin)

2.2) ผลข้างเคียงจากการใช้ยากลุ่มเพนิซิลลิน

อาการของผลข้างเคียงที่พบได้ทั่วไปอาจจะหายไปเองขณะที่ร่างกายปรับตัวให้เข้ากับยาที่ใช้รักษา โดยผลข้างเคียงจากการใช้เพนิซิลลิน ที่พบได้ทั่วไป ได้แก่ มีไข้ เวียนศรีษะ ผิวแดงและเป็นขุย มีผื่นหรือลมพิษขึ้นบนผิวหนัง ท้องร่วงอ่อน ๆ เป็นแผลในปากและลิ้น คันช่องคลอด มีตกขาว และอาการของผลข้างเคียงที่พบได้น้อยมาก ควรปรึกษาแพทย์ทันทีหากเกิดอาการต่อไปนี้ เช่น รู้สึกปวดบีบ ๆ บริเวณท้องอย่างรุนแรง รู้สึกเจ็บเหมือนถูกกดที่ท้องถ่ายเหลวอย่างรุนแรง หรือถ่ายมีเลือดปนออกมา ตกอยู่ในภาวะซึมเศร้า ตาและผิวมีสีเหลือง

หากมีการติดเชื้ออีโคไลสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดอาการที่รุนแรง ควรพิจารณาให้ใช้ยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งเชื้ออีโคไลได้ ซึ่งชนิดของยาปฏิชีวนะมีหลายชนิดและมีกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันไป จึงควรใช้งานในปริมาณที่เหมาะสม เพราะส่วนใหญ่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ เมื่อใช้เวลานานจะทำให้เกิดการสะสมสารพิษในร่างกายและมีแนวโน้มของการดื้อยาของแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้นและบางครั้งมีผลข้างเคียงจากการใช้ยาอีกมากมาย

12.2 การปนเปื้อนของเชื้ออีโคไลสู่สิ่งแวดล้อม

เชื้ออีโคไลเป็นตัวบ่งชี้ที่ดี และเป็นดัชนีในการตรวจการปนเปื้อนอุจจาระในสิ่งแวดล้อม รวมทั้งการปนเปื้อนของเชื้อโรคจากอุจจาระ สู่อาหาร น้ำและดิน รายละเอียดดังนี้

12.2.1 การปนเปื้อนเชื้ออีโคไลในแหล่งน้ำ

เชื้ออีโคไล เป็นตัวชี้การปนเปื้อนของอุจจาระในน้ำ แบคทีเรียในกลุ่มนี้ จึงมีความสำคัญทั้งการควบคุมคุณภาพน้ำอุปโภค น้ำบริโภค และน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร ทำให้มีการกำหนดคุณภาพมาตรฐานน้ำบริโภคขึ้นเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค (สุพรรณี เทพอรุณรัตน์ และ สุลาวดี เขียวชม, 2558) มีรายละเอียดดังนี้

1) โคลิฟอร์มแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำ

โคลิฟอร์มแบคทีเรีย เป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน สามารถพบได้ในดิน พืช และทางเดินอาหารของสัตว์เลือดอุ่น โคลิฟอร์มแบคทีเรียประกอบด้วย กลุ่มของแบคทีเรียในสกุล *Escherichia, Enterobacter, Klebsiella, Citrobacter, Serratia* เป็นต้น แบคทีเรียในกลุ่มนี้สามารถบ่งชี้ถึงความสกปรกที่ปนเปื้อนมาจากสิ่งขับถ่ายของมนุษย์และสัตว์ ซึ่งถ้าตรวจพบโคลิฟอร์มแบคทีเรียในน้ำ แสดงว่าน้ำมีการปนเปื้อน และไม่ปลอดภัยต่อสุขภาพอนามัย และแหล่งน้ำเหล่านั้นมีโอกาสที่จะมีเชื้อก่อโรคบางชนิด ที่มีการแพร่กระจายปะปนอยู่ในแหล่งน้ำได้ เช่น ท้องร่วง อหิวาต์ บิด ไทฟอยด์ (สุพรรณี เทพอรุณรัตน์ และ สุลาวดี เขียวชม, 2558)

2) มาตรฐานคุณภาพน้ำทางแบคทีเรีย

กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (2537) ได้มีการออกพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2537 เรื่องกำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งผิวดิน มีการตรวจสอบการปนเปื้อนของแบคทีเรียในแหล่งน้ำผิวดิน จะตรวจวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และฟีคัลโคลิฟอร์ม ซึ่งปริมาณของโคลิฟอร์มแบคทีเรีย จะเป็นดัชนีบ่งชี้ความสะอาดของแหล่งน้ำ และฟีคัลโคลิฟอร์ม พบได้เฉพาะในอุจจาระของสัตว์เลือดอุ่น ดังนั้น ฟีคัลโคลิฟอร์มสามารถเป็นตัวชี้วัดการปนเปื้อนของสิ่งปฏิกูลจากมนุษย์ และสัตว์ในแหล่งน้ำ

สำหรับเชื้ออีโคไล ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของฟีคัลโคลิฟอร์มนั้น จึงเป็นแบคทีเรียตัวชี้วัดที่ดีของมลพิษที่เกิดจากสิ่งขับถ่ายของมนุษย์และสัตว์ และความเสี่ยงของการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารในแหล่งน้ำผิวดิน

มาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน ได้กำหนดปริมาณของเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย โดยมีการวิเคราะห์น้ำตัวอย่าง และอ่านค่าในตารางดัชนี MPN โดยค่าในตารางดัชนี MPN เป็นค่าการวิเคราะห์ทางสถิติ ซึ่งจะเป็นการประมาณทางสถิติถึงปริมาณของโคลิฟอร์มที่น่าจะตรวจพบได้ในน้ำ กำหนดไว้ว่า สำหรับแหล่งน้ำประเภทที่ 1 ให้เป็นไปตามธรรมชาติ ประเภทที่ 2 โดยกำหนดค่า MPN โคลิฟอร์มแบคทีเรีย ไม่เกินกว่า 5,000 ต่อ 100 มิลลิลิตร. และฟีคัลโคลิฟอร์ม มีค่า MPN ไม่เกินกว่า 1,000 ต่อ 100 มิลลิลิตร. แหล่งน้ำประเภทที่ 3 โดยกำหนดค่า MPN ของโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ไม่เกินกว่า 20,000 ต่อ 100 มิลลิลิตร. และฟีคัลโคลิฟอร์ม มีค่าไม่เกินกว่า 4,000 ต่อ 100 มิลลิลิตร

12.2.2 การปนเปื้อนเชื้ออีโคไลในอาหาร

โดยปกติแล้วจะพบเชื้ออีโคไลได้ในสิ่งแวดล้อมทั่วไป โดยเฉพาะในมูลสัตว์ และส่วนใหญ่แพร่สู่คนได้ทางการรับประทานอาหาร หรือเครื่องดื่มที่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่ พบเชื้อได้ในอาหารที่ได้รับการปรุงไม่ถูกสุขลักษณะ เช่น เนื้อหรือผักดิบ ปรุงไม่สุก รวมถึงน้ำที่ไม่ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อด้วยความร้อนอย่างเหมาะสม นอกจากนี้การปนเปื้อนของเชื้อโรคจากอุจจาระสู่อาหารและน้ำอาจเกิดขึ้นได้ระหว่างการเตรียมและการปรุงอาหาร การป้องกันที่ดีที่สุด คือ รับประทานอาหารที่ปรุงสุกถูกสุขลักษณะ เนื่องจากเชื้อจะถูกทำลาย ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ขึ้นไป และล้างมือให้สะอาดเป็นประจำ รวมทั้งรักษาสุขอนามัยเรื่องอาหาร เช่น ผัก ผลไม้ ต้องสะอาด ปลอดภัย ไม่มีการปนเปื้อนและมีการเก็บรักษาในอุณหภูมิที่เหมาะสม และน้ำดื่มหรือเครื่องดื่ม ควรอยู่ในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท มีคุณภาพและมาตรฐานน้ำดื่ม ตลอดจนความสะอาดของภาชนะที่ใช้ เพื่อลดการติดเชื้อหรือการแพร่กระจายสู่ผู้อื่น (สุรเกียรติ อาชานานุภาพ, 2554)

12.3 วิธีการสกัดพืชสมุนไพร

การสกัดพืชโดยใช้เทคนิคการแยกสารออกจากพืชสมุนไพร สามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้ (ชนานันท์ แพงไทย, 2551)

12.3.1 การกลั่น (distillation)

การกลั่นเป็นวิธีที่ง่ายที่สุด และนิยมใช้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นวิธีที่ประหยัดโดยการให้ความร้อน หรือไอน้ำผ่านพืชสมุนไพรที่จะสกัดน้ำมันหอมระเหยในหม้อกลั่น

น้ำมันหอมระเหยจะถูกสกัดออกมาพร้อมกับไอน้ำ ซึ่งจะผ่านไปตามท่อ และถูกทำให้เย็นตัวเป็นของเหลวเก็บไว้ในขวด โดยจะแยกตัวออกจากชั้นน้ำ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้โดยวิธีนี้ ได้แก่ น้ำมันไพล น้ำมันตะไคร้ เป็นต้น แต่มีข้อเสีย คือ ความร้อนอาจทำให้ปฏิกิริยาสลายตัวเกิดขึ้น ทำให้กลิ่นเพี้ยนไปจากธรรมชาติได้ และสารประกอบบางตัวในน้ำมันหอมระเหยที่มีจุดเดือดสูงจะไม่ถูกพามาโดยไอน้ำ

12.3.2 การสกัดโดยใช้ไขมัน (enfleurage)

การสกัดโดยใช้ไขมันเป็นวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม มักใช้กับดอกไม้กลีบบาง เช่น มะลิ ซ่อนกลิ่น โดยจะใช้ไขมันประเภทน้ำมันหมูเกลี่ยลงบนถาดไม้ แล้วนำดอกไม้มาเกลี่ยทับเป็นชั้นบางๆ จนเต็มถาด ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วเปลี่ยนดอกไม้ ชุดใหม่ ทำซ้ำประมาณ 7-10 ครั้ง ไขมันจะดูดซับสารหอมไว้ เรียกไขมันที่ดูดซับสารหอมนี้ว่า Pomade หลังจากนั้นใช้เอทานอลละลายสารหอมออกจากไขมัน นำไประเหยไล่ตัวละลายออกที่อุณหภูมิและความกดดันต่ำ จะได้หัวน้ำหอมชนิดคอนเกรต (Concrete) เมื่อแยกส่วนที่เป็นไขมันออก โดยการนำมาละลายเอทานอลแล้ว นำไปแช่เย็นเพื่อแยกส่วนที่เป็นไขออก หลังจากระเหยไล่ตัวละลายออกจะได้หัวน้ำหอมชนิดที่แน่นอน ซึ่งจัดเป็นหัวน้ำหอมชนิดดีและราคาแพงที่สุด

12.3.3 การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (Sovent extraction)

การสกัดพืชโดยใช้ตัวทำละลาย เป็นการนำสารบางชนิดออกจากพืช ซึ่งตัวทำละลายที่นิยมนำมาใช้สกัดสาร ได้แก่ น้ำ เบนซิน อีเทอร์ โทลูอีน เฮกเซน และเอทานอล เป็นต้น นำมาแช่ทิ้งไว้ตามระยะเวลาที่กำหนด และระเหยตัวทำละลายออกโดยการกลั่นด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporating) ที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส

12.3.4 การคั้นหรือการบีบ (hydraulic and screw press)

การคั้นหรือการบีบเป็นวิธีที่เหมาะกับการผลิตน้ำมันหอมที่สลายตัวหรือแปรสภาพเมื่อโดนความร้อน วิธีการนี้จะนำวัตถุดิบเข้าเครื่องบีบคั้น จากนั้นกรองน้ำมันที่ได้แล้วนำไปกลั่นใต้สุญญากาศ แต่ข้อเสียคือได้น้ำมันหอมระเหยมีปริมาณน้อยและไม่บริสุทธิ์ นิยมใช้ในการสกัดสารจากพืชตระกูลส้ม เช่น น้ำมันหอมระเหยส้ม (Orange oil) น้ำมันหอมระเหยมะกรูด (Bergamot oil) และน้ำมันหอมระเหยจากมะนาว (Lemon oil)

12.3.5 สารสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลว (Liquid carbon dioxide extraction)

การสกัดด้วยวิธีนี้เป็นวิธีที่ทันสมัยที่สุด เนื่องจากใช้เทคโนโลยีขั้นสูง โดยการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์เหลวที่ความดันสูง ผ่านพืชสมุนไพร วิธีนี้จะมีต้นทุนการผลิตที่สูงแต่จะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพดี และมีความบริสุทธิ์สูง อีกทั้งปลอดภัยต่อผู้บริโภคและไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม (กัญจน์ญาดา นิลวาศ และ พัชรี ดวงจันทร์, 2549)

12.4 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับมะนาว

มะนาวเป็นไม้ผลชนิดหนึ่งที่มีรสเปรี้ยวจัด จัดอยู่ในสกุลส้ม (Citrus) ลักษณะของผลจะมีสีเขียว เมื่อสุกจัดจะออกเป็นสีเหลือง ลักษณะของเปลือกจะบางและชุ่มน้ำ ส่วนภายในมะนาวนั้นจะมีเนื้อที่แบ่งออกเป็นกลีบๆ และชุ่มน้ำมาก เป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางโภชนาการและทางการแพทย์ (สมศักดิ์ วรรณศิริ, 2541)

12.4.1 ข้อมูลทั่วไปของมะนาว

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus aurantifolia* Swing

ชื่อวงศ์ : Rutaceae

ชื่อสามัญ : Lime, Common Lime

ชื่อท้องถิ่น : ภาคกลาง เรียกส้มมะนาว หรือมะนาว กาญจนบุรี เรียกว่าปะโหน่งกลยาน ภาคเหนือ เรียกว่าส้มมะนาว มะนาว หรือมะลิว ภาคอีสาน เรียกบักมะนาว หรือหมากนาว ภาคใต้ เรียกนาว หรือส้มนาว

ถิ่นกำเนิด : มะนาวมีถิ่นกำเนิดไม่เป็นที่แน่ชัด แต่จากข้อมูลที่มีส่วนใหญ่คาดการณ์ว่า มะนาวน่าจะมาจากทางแถบประเทศอินเดีย แล้วกระจายไปยังส่วนต่างๆของโลก และถึงประเทศไทยก่อนช่วงสมัยรัตนโกสินทร์

12.4.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มะนาวเป็นไม้พุ่ม หรือไม้ยืนต้นขนาดเล็ก แผ่กิ่งก้านสาขากว้าง กิ่งแตกออกค่อนข้างไม่เป็นระเบียบ เปลือกต้นมีสีเทาปนน้ำตาล กิ่งอ่อนมีสีเขียวอ่อน กิ่งแก่สีค่อยๆเข้มขึ้น ลำต้นมีหนามแหลมแข็งอ้วนสั้น ซึ่งหนามมักเกิดขึ้นที่บริเวณซอกใบ ใบเป็นใบเดี่ยวสีเขียวอ่อน ปลายใบแหลม ขอบใบหยัก แผ่นใบกว้าง 3-6 เซนติเมตร และยาวประมาณ 6-12 เซนติเมตร ก้านใบสั้น ใบอ่อนมีสีเขียวอมแดง ดอกเป็นดอกเดี่ยวหรือดอกช่อเกิดบริเวณซอกใบ ดอกตูมจะมีขนาดความยาวประมาณ 1-2 เซนติเมตร ดอกจะมีสีขาว กลีบเกลี้ยงจะมีสีเขียวอ่อน กลีบดอกสีขาวและด้านท้องมีสี

ม่วงปน เกสรตัวผู้มีจำนวนประมาณ 20-40 อัน เชื่อมติดกันเป็นกลุ่มๆละ 4-8 อัน เกสรตัวเมียมีรังไข่รูปร่างเกือบเป็นรูปทรงกระบอก หรือทรงถังเบียร์ ผลมีรูปร่างเหมือนลักษณะไข่ หรือรูปร่างยาว ที่ปลายผลจะมีลักษณะเป็นตุ่มเล็กๆ ผลจะมีลักษณะความยาวประมาณ 7-12 เซนติเมตร ผิวของผลเมื่อสุกจะมีสีเหลือง หรือสีทอง มีต่อมน้ำมันที่ผิวเปลือกเห็นได้ชัด ผิวเปลือกจะมีลักษณะขรุขระใน 1 ผล มี 8-10 กลีบ เนื้อสีเหลืองอ่อน เนื้อของผลประกอบด้วยถุงเล็กใสรูปไข่มากมาย ในถุงมีน้ำและกรดจำนวนมาก เมล็ดมีขนาดเล็ก ลักษณะรูปร่างคล้ายรูปไข่ ส่วนหัว และส่วนท้ายเมล็ดแหลมมีเนื้อเยื่อสะสมอาหาร ภายในเป็นสีขาว (**ภาพที่ 12.4-1**) (สมศักดิ์ วรรณศิริ, 2541)

ภาพที่ 12.4-1 ผลมะนาว

12.4.3 ประโยชน์ทางยาของมะนาว

เปลือกและน้ำในผลมะนาวที่แก่จัด สามารถช่วยรักษาโรคกระเพาะ แก้อาหารเป็นพิษ ท้องร่วง ท้องผูก ฆ่าพยาธิ และช่วยป้องกันโรคหวัด เหงือกบวม แก้ระดูขาว แก้ไข้ทับฤดู และลักปิดลักเปิด น้ำจากผลมีรสเปรี้ยว ไว้ปรุงอาหาร ช่วยบรรเทาอาการไอ เจ็บคอ เสียงแหบแห้ง บำรุงเสียง และช่วยขับเสมหะ เปลือกมะนาว คลึงให้น้ำมันออก แล้วนำไปชงดื่มแก้ปวดท้อง ท้องอืดท้องเฟ้อ ปูนแดงที่รับประทานกับหมากทาบนมะนาวที่ฝานไว้แล้วนำมาปิดที่ขมับช่วยบรรเทาอาการปวดศีรษะได้ดี น้ำมะนาวผสมกับดินสอพองพอกบริเวณที่ปวดบวม แก้ฟกช้ำหัวโน น้ำมะนาวหยอดลงคอ กรดในน้ำมะนาวจะทำให้ก้างปลาอ่อนลง และหลุดได้ แก้ก้างติดคอ น้ำมะนาวทาแก้กลากเกลื้อน แก้พุพอง น้ำกัดเท้า แก้หิดหูด กากเปลือกมะนาวบีบที่น้ำใช้แล้วสามารถใช้ถูล้างทำความสะอาดผิวหนัง โดยเฉพาะข้อศอก หัวเข่า ซอกเล็บและส้นเท้า ช่วยป้องกันข้อศอก เล็บขบ และส้นเท้าแตก หรือถูฟันช่วยให้ฟันสะอาดและดับกลิ่นปาก น้ำมะนาวยังสามารถใช้เป็นส่วนผสมน้ำยาทำความสะอาด เครื่องหอม และการบำบัดด้วยกลิ่น หรือน้ำยาล้างจาน (เต็ม สมิตินันทน์, 2544)

12.4.4 องค์ประกอบทางเคมีที่พบในมะนาว

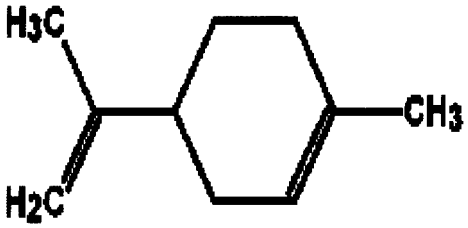
องค์ประกอบทางเคมีของมะนาว เมื่อนำมาสกัดด้วยกระบวนการต้มกลั่น พบสารลิโมนีน (Limonene) สูงถึงร้อยละ 44.82 รองลงมา เจอเรนิว อะซิเตท (Geranyl acetate) ร้อยละ 8.98 เจเรเนียล (Geranial) ร้อยละ 7.66 และอื่นๆ ร้อยละ 38.54 (สมศักดิ์ วรรณศิริ, 2541) ดังแสดงใน**ตารางที่ 12.4-1**

ตารางที่ 12.4-1 องค์ประกอบทางเคมีที่พบในมะนาว

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละปริมาณสาร
Limonene	44.82
Geranyl acetate	8.98
Geranial	7.66
Neral	4.95
6-methyl-5-hepten-2-one	3.19
Caryophyllene oxide	2.31
อื่นๆ	28.09

ที่มา : เสงี่ยม พงษ์บุญรอด (2519)

สารลิโมนีน ที่พบในมะนาวพบได้มากในพืชตระกูลส้ม สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ เช่น ส่งเสริมการหลั่งของน้ำย่อย ลบการสะสมก๊าซในลำไส้ มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (วรรณี จันทร์ลัดดา, 2544) ซึ่งจากการศึกษาของลินจง สุขลำภู และคณะ (2553) ได้ศึกษากิจกรรมต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี พบว่าสารลิโมนีนจากเปลือกส้มโอ สามารถยับยั้งเชื้ออีโคไล ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบได้เท่ากับ 53.25 เปอร์เซ็นต์ สำหรับโครงสร้างทางเคมีของสารลิโมนีน ดังแสดงใน**ภาพที่ 12.4-2**



ภาพที่ 12.4-2 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบลิโมนีน

ที่มา : วรรณี จันทร์ลัดดา (2544)

12.5 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับใบพลู

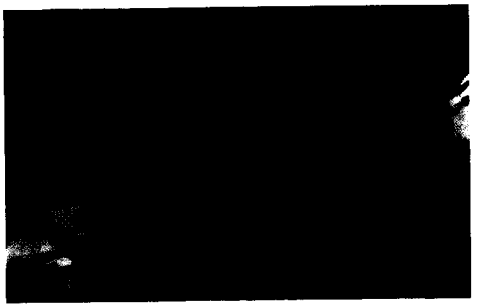
พลูเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีความเกี่ยวพันกับชีวิต ความเป็นอยู่ของคนไทยมาเป็นเวลานาน ในลักษณะของการบริโภคกับหมาก พลูเป็นพันธุ์ไม้จากต่างประเทศ มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย ต่อมาได้แพร่กระจายไปยังประเทศต่างๆ ทั่วทวีปเอเชีย (รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2540)

12.5.1 ข้อมูลทั่วไปของใบพลู

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Piper betle* Linn.
ชื่ออังกฤษ : Betle Leaf, Betle Vine และ Betle Pepper
ชื่อพ้อง : พลูจีน, ซีเก๊ะ, เปล้ายวน, ปู, ดื่อเจี่ย
ชื่อวงศ์ : Piperaceae

12.5.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้เลื้อยที่มีข้อ และปล้องเห็นชัดเจน มีรากออกรอบข้อไว้ยึดเกาะหรือเกี่ยวพันกับไม้หรือหลักด้วยรากที่อยู่ตามข้อ ใบเป็นใบเดี่ยว รูปร่างรีถึงรูปไข่ ฐานใบป้านถึงมนกลมหรือเว้าเป็นรูปหัวใจ ปลายใบแหลม ใบยาวประมาณ 5-18 เซนติเมตร ก้านใบยาวติดกับลำต้น ใบมีสีเขียวเหลืองถึงเขียวเข้ม ผิวใบด้านบนมีสีเขียวเข้มกว่าผิวใบด้านล่าง ขอบใบเรียบมีกลิ่นฉุน และมีรสเผ็ด ดอกมีสีขาวขนาดเล็กเป็นช่อบน แกนยาว ผลมีรูปกลมเล็ก เนื้อนุ่มเมื่อสุกมีสีแดง แต่ละผลมีเมล็ด 1 เมล็ด (**ภาพที่ 12.5-1**) ปลูกได้ทุกภาคของประเทศ แหล่งปลูกพลูที่สำคัญ คือ จังหวัดฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี นครนายก นครปฐม กรุงเทพมหานคร มหาสารคาม ขอนแก่น และนครราชสีมา



ภาพที่ 12.5-1 ใบพลู

12.5.3 ประโยชน์ทางยาของใบพลู

ใบพลูได้ถูกนำมาใช้ในการบำบัดรักษาโรคต่าง ๆ ในตำรายาไทย โดยใบพลูมีสรรพคุณในการรักษาอาการช้ำบวม รักษาอาการปวดท้อง รักษาอาการไอเจ็บคอ และขับเสมหะ รักษาอาการผื่นคัน เนื่องจากเกิดลมพิษ รักษาโรคผิวหนัง รักษาโรคกลากเกลื้อน แผลอักเสบ ฝี หนอง และสิว ในประเทศอินเดียมีการใช้น้ำคั้นจากใบพลูสดในการรักษาอาการเหล่านี้ คือเป็นยาถ่ายพยาธิ ยาระบายอาการท้องผูก ยาเจริญอาหาร ขับเสมหะ ลดไข้ แก้ปวดศีรษะ ขับลมในกระเพาะอาหาร ทำให้ลมหายใจหอมสดชื่น เป็นยาสมานแผล และใช้ป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ ในตำรายาไทยใช้น้ำคั้นใบสดกินเป็นยาขับลม และทาแก้ลมพิษ โดยใช้ 3-4 ใบ ขยี้หรือตำให้ละเอียด ผสมเหล้าโรงเล็กน้อย ทาบริเวณที่เป็น

ใบพลูมีน้ำมันหอมระเหย มีสีน้ำตาลปนเหลือง และมีกลิ่นฉุน เรียกว่าน้ำมันพลู สารที่พบมากในน้ำมันพลู ได้แก่ ชาวิคอล (Chavicole) และ ยูจีนอล (Eugenol) ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโรค ทำให้ปลายประสาทชา แก้อาการคันได้ น้ำมันและสารสกัดจากใบพลู มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมลบแกรมบวก และเชื้อราเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด อาทิเช่น *Bacillus subtilis* , *Salmonella sp.*และ *Escherichia coli* (สุคนธ์ ตันติไพบูลย์วุฒิ และคณะ, 2555) และจากการศึกษาของกานต์ วงศาริยะ และมัลลิกา ชมนาวัง (2552) น้ำมันพลูและสารสกัดจากใบพลูที่สกัดด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ไดเอทิลอีเทอร์ อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม และเอทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *B-hemolytic Streptococcus*

12.5.4 องค์ประกอบทางเคมีที่พบในใบพลู

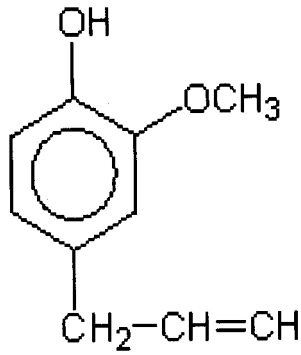
องค์ประกอบทางเคมีของใบพลู เมื่อนำมาสกัดด้วยกระบวนการต้มกลั่น พบสารยูจีนอล (Eugenol) สูงถึงร้อยละ 54.71 รองลงมา ดี คาไดนีน (D-cadinene) ร้อยละ 9.95 เจอร์เมกรีน (Germacrene) ร้อยละ 7.77 และอื่นๆ ร้อยละ 27.57 (วีณา จิรัจฉริยากูล, 2543) ดังแสดงใน**ตารางที่ 12.5-1**

ตารางที่ 12.5-1 องค์ประกอบทางเคมีที่พบในใบพลู

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละปริมาณสาร
Eugenol	54.71
Trans-b-ocimene	3.21
D-cadinene	9.95
Germacrene	7.77
Trans-caryophyllene	6.43
A-amorphene	5.34
Bicyclogermacrene	4.79
B-elemene	2.99
Humulene	2.06
A-pinene	1.30
อื่นๆ	1.45

ที่มา : วีณา จิรัจฉริยากูล (2543)

สารยูจีนอล เป็นสารประกอบฟีนอลิก ที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถทำลายเชื้อราและแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด และมีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบ (สุคนธ์ ตันติไพบูลย์วุฒิ และคณะ, 2555) สำหรับโครงสร้างทางเคมีของยูจีนอล ดังแสดงใน**ภาพที่ 12.5-2** และจากการศึกษาของอังคณา พันธ์ศรี (2541) ได้ศึกษาของใบพลูในการยับยั้งเชื้ออีโคไล พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไล ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้เท่ากับร้อยละ 70



ภาพที่ 12.5-2 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบยูจีนอล

ที่มา : ปิยะวดี เจริญวัฒนะ และ สุมนา ปานสมุทร (2550)

12.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวกับการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดธรรมชาติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ มีรายละเอียดดังแสดงใน**ตารางที่ 12.6-1**

ตารางที่ 12.6-1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพของสารสกัดจากธรรมชาติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

ชื่อเรื่อง	ผลการศึกษา	อ้างอิง
ประสิทธิของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรพื้นบ้านต่อการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *V. parahaemolyticus*	ผลการศึกษา พบว่าสารสกัดจากใบหูกวางที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายทดสอบยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ*V. parahaemolyticus* ด้วยวิธีดิส ดิฟฟิวชั่น(Disk diffusion) ที่ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* สูงสุดเท่ากับ 19.33±2.36 มิลลิเมตร รองลงมาคือ สารสกัดจากใบพริกไทยและใบมะยม เท่ากับ 11±0.82 และ 9.67±0.47 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดใบชะมวงไม่สามารถยับยั้งเชื้ออีโคไลได้ และสารสกัดจากสมุนไพร 4 ชนิดไม่สามารถยับยั้งเชื้อ*V. parahaemolyticus*	พาตีเมาะ มะแซ และ ภรณ์ทิพย์ แก้วมณี (2557)

ตารางที่ 12.6-1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพของสารสกัดจากธรรมชาติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (ต่อ)

ชื่อเรื่อง	ผลการศึกษา	อ้างอิง
ประสิทธิของสารสกัดหยาบจากเปลือกมะนาวและเปลือกทับทิมในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis*	ผลการศึกษา พบว่าสารสกัดจากเปลือกทับทิมที่สกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ด้วยวิธีอาร์กา เวล ดิฟฟิวชั่น (Agar well diffusion) ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* สูงสุด เท่ากับ 20.87±1.57 มิลลิเมตร รองลงมาเป็นสารสกัดจากเปลือกมะนาว มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 12.77±0.57 มิลลิเมตร	ต่วนซาวีย๊ะ ยือแร และ นูรีดา โตะหิ (2558)
การเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*	ผลการศึกษา พบว่าสารสกัดจากฝรั่งที่สกัดด้วยเอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย ทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ด้วยวิธีอาร์กา เวล ดิฟฟิวชั่น (Agar disc-diffusion) ที่ระดับความเข้มข้น 1:1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไลได้ดีที่สุดมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 21.6 มิลลิเมตร รองลงมาคือ สารสกัดจากใบพลู ชุมเห็ดเทศและสบูดำ เท่ากับ 15.0 14.3 และ 14.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ	วันทนี สว่างอารมณ์ และ พาฝัน จันทร์เล็ก (2555)
ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากใบเฮนน่าต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*	ผลการศึกษา พบว่า สารสกัดจากใบเฮนน่าที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล จะให้ร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้งสูงสุด คือ 35.17 เปอร์เซ็นต์ โดยทดสอบด้วยวิธีดิส ดิฟฟิวชั่น (Disc diffusion) ซึ่งสามารถยับยั้งได้ทั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ได้ดีกว่าสารสกัดที่ได้จากการหมักด้วยอะซิโตน โดยมีขนาดวงใส เท่ากับ 16±1.7 และ 12.±2.0 มิลลิเมตร	ตีญาณี สาหัด และ รอกายะ สนิ (2556)

จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องจะเห็นได้ว่าสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ ซึ่งสารสกัดสมุนไพรจากธรรมชาติสามารถช่วยลดปริมาณการใช้สารเคมีสังเคราะห์ที่หากใช้ในปริมาณมาก อาจก่อให้เกิดการดื้อยาต่อผู้ที่ได้รับยา นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อโรคที่ปนเปื้อนมากับแหล่งน้ำ อาหาร และการสัมผัส เช่น ผลิตภัณฑ์เจลทำความสะอาดมือ และสบู่เหลวจากสมุนไพร เป็นต้น

13. วิธีการดำเนินการวิจัย

13.1 การเก็บเปลือกมะนาวและใบพลูแห้ง

1) เปลือกมะนาวสดที่เหลือทิ้ง ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากร้านพิชัยน้ำปั่นเครื่องดื่ม ตำบลเขารูปช้าง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา ขูดเอาเนื้อส่วนในออกให้เหลือแต่เปลือกมะนาวสด

2) เก็บใบพลูจากบริเวณป่าชุมชน ตำบลวังใหม่ อำเภอป่าบอน จังหวัดพัทลุง โดยเด็ดเฉพาะใบในส่วนล่างถึงช่วงกลางของลำต้นที่มีสีเขียวเข้ม

13.2 การเตรียมเปลือกมะนาวและใบพลู

1) นำเปลือกมะนาวและใบพลู ไปล้างด้วยน้ำสะอาด และนำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่มเพื่อสะเด็ดน้ำ

2) นำเปลือกมะนาวและใบพลูมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 7-8 มิลลิเมตร

3) นำเปลือกของมะนาวและใบพลูอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน หรือจนได้เปลือกมะนาวแห้งและใบพลูแห้ง โดยสังเกตสีที่จางไป

4) นำเปลือกมะนาวและใบพลูที่ผ่านการอบแห้งแล้วไปบดละเอียดโดยใช้เครื่องปั่น แล้วจึงนำไปร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร

5) นำผงเปลือกมะนาวและใบพลูที่ได้ เก็บไว้ในถุงซิปล็อค และเก็บไว้ในที่แห้งไม่โดนแสง

13.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารเปลือกมะนาว และใบพลูด้วยเอทานอลร้อยละ 95

1) การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัด ทำโดยนำผงเปลือกมะนาวและใบพลูแช่ในเอทานอลร้อยละ 95 ตามอัตราส่วนระหว่างผงพืชต่อตัวทำละลาย 4 อัตราส่วน ได้แก่ 1:3 1:5 1:7 และ 1:9 (**ตารางที่ 13.-1**) ที่ระยะเวลา 5 วัน แล้วกรองเอาส่วนที่ใสด้วยผ้าขาวบางและกรอง

อีกครั้งด้วยเครื่องกรองลดความดัน แล้วนำส่วนที่ใสไประเหยเอทานอลออก โดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส เก็บส่วนที่ได้เป็นสารสกัดหยาบ (Crude extract) นำมาชั่งและบันทึกผลการทดลอง ในการศึกษานี้จะทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 13-1 อัตราส่วนของเปลือกมะนาวและใบพลูต่อเอทานอลร้อยละ 95

อัตราส่วนของพืช : เอทานอลร้อยละ 95	**น้ำหนักแห้งของพืช (กรัม)**	**ปริมาณเอทานอลร้อยละ 95 (มิลลิลิตร)**
1:3	20	60
1:5	20	100
1:7	20	140
1:9	20	180

2) การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด โดยใช้อัตราส่วนที่เหมาะสมของพืชแห้งต่อเอทานอลร้อยละ 95 (ในข้อ 1) มาทดสอบระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด 4 ช่วงเวลา ได้แก่ 3 5 7 และ 9 วัน ดังแสดงใน**ตารางที่ 13-2** กรองเอาส่วนที่ใสด้วยผ้าขาวบาง และกรองอีกครั้งด้วยเครื่องกรองลดความดัน แล้วนำส่วนที่ใสไประเหยเอทานอลออก โดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส เก็บส่วนที่ได้เป็นสารสกัดหยาบ นำมาชั่งและบันทึกผลการทดลอง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 13-2 ระยะเวลาในการสกัดเปลือกมะนาวและใบพลูต่อเอทานอลร้อยละ 95

ระยะเวลาในการสกัดพืช (วัน)	**น้ำหนักแห้งของพืช (กรัม)**	**ปริมาณเอทานอลร้อยละ 95 (มิลลิลิตร)**
3	20	140
5	20	140
7	20	140
9	20	140

3) นำสารสกัดหยาบที่มีลักษณะข้นหนืดใส่ในขวดสีชา ปิดปากขวดให้สนิท เก็บที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

13.4 การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดเปลือกมะนาว และใบพลูในการยับยั้งเชื้ออีโคไล โดยส่วนที่ 2 จะประกอบด้วยสารสกัดทั้งหมด 3 สูตร ได้แก่ สูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม

1) การเตรียมความเข้มข้นของสารสกัด

นำสารสกัดหยาบเปลือกมะนาว และใบพลูที่ได้มาปรับปริมาตรด้วย Dimethyl sulfoxide (DMSO) ตามอัตราส่วนที่กำหนดไว้ ดังแสดงใน**ตารางที่ 13-3**

ตารางที่ 13-3 การเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม

สูตร	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณสารสกัดหยาบ (มิลลิลิตร)	ปริมาณ DMSO (มิลลิลิตร)	ปริมาณสารทดสอบฤทธิ์ (มิลลิลิตร)
เปลือกมะนาว	0.1	2	8	10
	0.2	4	6	10
	0.3	6	4	10
	0.4	8	2	10
สูตรใบพลู	0.1	2	8	10
	0.2	4	6	10
	0.3	6	4	10
	0.4	8	2	10
สูตรผสม (อัตราส่วนของสารสกัดเปลือกมะนาวและใบพลู 1:1)	0.1	2	8	10
	0.2	4	6	10
	0.3	6	4	10
	0.4	8	2	10

2) การเตรียมกล้าเชื้ออีโคไล

2.1) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (Nutrient broth) ในหลอดทดลองทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2.2) นำกล้าเชื้ออีโคไล ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ครั้งแรก นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.3) ใช้ห่วงถ่ายกล้าเชื้อครั้งที่ 2 ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.4) นำเชื้อจากข้อ 2.3) ปรับความขุ่น (Optical density ; OD) ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ให้ได้ค่าความขุ่น = 0.5 ด้วย NaCl 0.85 เปอร์เซ็นต์ เพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนการทดสอบต่อไป

3) การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลูและสูตรผสม ในการยับยั้งเชื้ออีโคไล (ดัดแปลงจากวิสาตรี คงเจริญสุนทร และคณะ, 2548)

3.1) นำจานเพาะเชื้อไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อเป็นการฆ่าเชื้อ

3.2) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง (Nutrient agar) นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา15 นาที แล้วนำมาตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิเย็นลง จึงนำมาเทใส่ในจานเพาะเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว

3.3) ทำเครื่องหมายไว้ที่จานเพาะเชื้อที่ทำการทดลอง โดยแบ่งออกเป็น 5 ส่วนเท่าๆกัน เพื่อนำมาทดสอบโดยวิธีอาร์กา เวล ดิฟฟิวชั่น (Agar well diffusion) โดยแต่ละส่วนเจาะหลุมด้วย Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

3.4) นำไม้พันสำลีปราศจากเชื้อจุ่มลงในหลอดเชื้ออีโคไลที่เตรียมไว้ กดข้างๆหลอด ให้พอหมาดๆ แล้วป้ายบนผิวหน้าอาหาร NA เป็น 3 ระนาบ ให้ทั่วทั้งผิวหน้าอาหาร ทิ้งไว้ 3-5 นาที ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง

3.5) ใช้ไมโครปิเปตดูดสารสกัดจากพืชสมุนไพร 50 ไมโครลิตร ความเข้มข้น 0.1 0.2 0.3 และ 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หยดลงในหลุมที่เจาะไว้ในแต่ละหลุมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิลิตร โดยใช้แอมพิซิลลิน (Ampicillin) ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมเป็นตัวควบคุมเชิงบวก (Positive control) และใช้ DMSO ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (Negative control)

3.6 บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (Clear zone) ในหน่วยมิลลิเมตร

14. การวิเคราะห์ข้อมูล

14.1 การวิเคราะห์ร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้ง

คำนวณผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยาเคมี จะคำนวณออกมาในรูปร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้ง โดยคำนวณจากสมการที่ (1)

$$\% \text{ Yield} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่ได้}}{\text{น้ำหนักของสมุนไพรที่ใช้ในการสกัด}} \times 100 \qquad \text{สมการที่ (1)}$$

14.2 การวิเคราะห์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้ง (Inhibition zone) และการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไล ออกมาในรูปร้อยละ (% Inhibition) (**ภาพที่ 14.1**) โดยคำนวณจากสมการที่ (2) และ (3) ตามลำดับ (วันทนี สว่างอารมณ์ และ พาฝัน จันทร์เล็ก, 2555)

ภาพที่ 3.6-1 ลักษณะของเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส

$$\text{Inhibition zone (มิลลิเมตร)} = A - B \qquad \text{สมการที่ (2)}$$

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Inhibition zone}}{C} \times 100 \qquad \text{สมการที่ (3)}$$

หมายเหตุ A = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสของเชื้อ

B = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหลุมทดสอบ

C = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสของตัวควบคุมเชิงบวก

AMP = ยาแอมพิซิลลิน (Ampicillin)

DMSO = ไดเมททิล ซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide)

14.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1) สถิติแบบพรรณนา ได้แก่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เพื่อเสนอผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาว และใบพลู รวมถึงผลการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

2) สถิติแบบอ้างอิง แบบมีพารามิเตอร์ (Parametric inference) โดยวิธี T-test แบบ Paired Samples - Sample T Test เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดทั้ง 3 สูตร ได้แก่ สูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

14.4 การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตเบื้องต้น

การศึกษาต้นทุนการผลิตเบื้องต้นของสารสกัดจากสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม ซึ่งวิเคราะห์โดยการเก็บรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการผลิต คือ ค่าดำเนินการ (ค่าไฟฟ้า) และค่าสารเคมี (เอทานอลร้อยละ 95) ที่ใช้ในการวิจัย นำมาใช้ในการสรุปผลการศึกษา

15. แผนการดำเนินการวิจัย

ระยะเวลาที่ได้ดำเนินงานวิจัยเริ่มตั้งแต่ เดือนธันวาคม 2558 ถึง เดือนกรกฎาคม 2561 ดังแสดงใน**ตารางที่ 15-1**

ตารางที่ 15-1 ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนการดำเนินงาน	ระยะเวลาดำเนินงานวิจัย (เดือน/ปี)															
	2558	2560							2561							
	ธ.ค.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.
1. ศึกษาเอกสารและรวบรวมข้อมูล	—	—	—									—	--	--		
2. สอบโครงร่างวิจัย	▲															
3. ดำเนินงานวิจัย				—	—	—	—									
4. วิเคราะห์ผลการทดลอง							—	—								
5. สอบความก้าวหน้าวิจัย							▲									
6. สรุปและอภิปรายผลการศึกษา																
7. การสอบวิจัยฉบับสมบูรณ์									—	—	—			▲		
8. การจัดทำรูปเล่มวิจัย												—	—	—	—	—

หมายเหตุ : ▲ หมายถึง ช่วงดำเนินการสอบวิจัย

— หมายถึง ช่วงระยะเวลาดำเนินงานวิจัย

-- หมายถึง ช่วงเวลาขยายจากแผนดำเนินงานวิจัย

16. งบประมาณ

รายการ	งบประมาณตลอดโครงการ
ค่าใช้สอย	
ค่าบริการสืบค้นข้อมูล	500
ค่าวัสดุ	
ค่าเอกสารในการเก็บรวบรวมข้อมูล	500
ค่าอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย	1,000
ค่าจัดทำรายงาน	2,000
รวม	4,000

17. เอกสารอ้างอิง

กัญจน์ญาดา นิลวาศ และ พัชรี ดวงจันทร์. 2547. **การศึกษาความเป็นไปได้ทางการตลาดของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม.** รายงานการวิจัยปริญญาตรี สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

กานต์ วงศาริยะ และ มัลลิกา ชมนาวัง. 2552. พลูกับคุณประโยชน์ที่ซ่อนอยู่. **จุลสารข้อมูลสมุนไพร.** 26(3): 3-10.

จันจิรา หับหยู่โส๊ะ และ สุภัตรา ทันยุภัก. 2558. **การศึกษาประสิทธิของสารสกัดจากใบสะเดาในการกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้านและลูกน้ำยุงลายสวน**. รายงานการวิจัยปริญญาตรี สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์. 2556. **โรคอุจจาระร่วงจากเชื้ออีโคไล (*E. coli*).** แหล่งที่มา: http://www.pharmacy.mahidol.ac.th, 12 มกราคม 2559.

ชนานันท์ แพงไทย. 2551. **การประยุกต์ใช้สารสกัดจากพืชชนิดน้ำและชนิดผงในการควบคุมลูกน้ำยุงลาย.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ต่วนซาวีย๊ะ ยือแร และ นูรีดา โตะหิ. 2558. **ประสิทธิของสารสกัดหยาบจากเปลือกมะนาวและเปลือกทับทิมในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis*.** รายงานการวิจัยปริญญาตรี สาขาชีววิทยาประยุกต์, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

ตีญาณี สาหัด และ รอกายะ สนิ. 2556. **ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากใบเฮนน่าต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*.** รายงานการวิจัยปริญญาตรี สาขาชีววิทยาประยุกต์, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

เต็ม สมิตินันทน์. 2544. **ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย.** พิมพ์ครั้งที่ 2. ส่วนพฤกษศาสตร์ ป่าไม้สำนักวิชาการป่าไม้กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

นงลักษณ์ พิสุทธิลาภ. 2544. ศึกษาการวิเคราะห์ *Escherichia coli* ในอาหารทะเลแช่แข็งด้วยวิธี MPN technique. **วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.** 43(2): 95-101.

นันทนา สิทธิชัย. 2547. มาตรฐานของสมุนไพรในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย. **วารสารสมุนไพร.** 11(1): 21-31.

กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2537. **กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งผิวดิน.** แหล่งที่มา: http://slbkb.psu.ac.th, 24 กุมภาพันธ์ 2560.

ประภัสสร รักถาวร, ลลิตา คชารัตน์, อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ และ เกสรี กลิ่นสุคนธุ์. 2553. การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากใบพลูในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในห้องน้ำสาธารณะ. **วารสารสำนักการแพทย์ทางเลือก.** 14(2): 22-32.

ปิยะวดี เจริญวัฒนะ และ สุมนา ปานสมุทร. 2550. **การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดจากสะค้านและพลูในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราบางชนิด.** พิมพ์ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, กรุงเทพฯ.

พาตีเมาะ มะแซ และ ภรณ์ทิพย์ แก้วมณี 2557 **ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรพื้นบ้านต่อการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* และ *Vibrioparahaemolyticus*.** รายงานการวิจัยปริญญาตรี สาขาชีววิทยาประยุกต์, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

ภควดี สุทธิไวยกิจ และ ทิพย์มนต์ ภัทราคร. 2539. **การวิเคราะห์สารที่ให้ความหอมในเมล็ดข้าวหอม.** พิมพ์ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนา, กรุงเทพฯ.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2540. **พืชเครื่องเทศและสมุนไพร.** พิมพ์ครั้งที่ 1. โอ.เอส. พริ้นติ้งเฮาส์, กรุงเทพฯ.

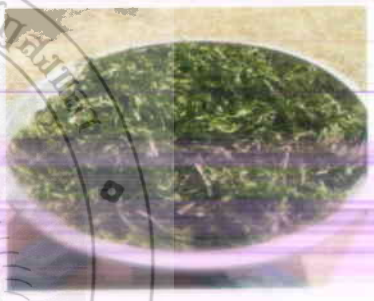
ลินจง สุขลำภู, ปวลี คงศิริสัจธรรม, ราเชฬ เรืองศิริ และ ศศิภา เดชะปรากรม. 2553. **กิจกรรมต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่และทองดี.** พิมพ์ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วรรณี จันทร์ลัดดา. 2544. **การวิเคราะห์ลิโมนีนในเปลือกส้มโดยแก๊สโครมาโทรกราฟี.** รายงานการวิจัยปริญญาตรี สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม, คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

ภาคผนวก ข
ภาพประกอบขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

ขั้นตอนการเตรียมเปลือกมะนาวและใบพลู

เก็บรวบรวมเปลือกมะนาวและใบพลู



นำเปลือกมะนาวและใบพลูมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ

อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
เป็นเวลา 2 วัน

ปั่นให้ละเอียด

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ขั้นตอนการเตรียมเปลือกมะนาวและใบพลู (ต่อ)

ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 500 ไมโครเมตร

เก็บไว้ในถุงซิปล็อค และเก็บไว้ในที่แห้ง

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ขั้นตอนการสกัดสารจากเปลือกมะนาวและใบพลู

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างละ 20 กรัม
ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ตวงเอทานอล

แช่ทิ้งไว้ คนวันละ 1 ครั้ง

กรองด้วยผ้าขาวบาง

ระเหยเอทานอลออก
โดยใช้เครื่อง Rotary evaporator

เก็บไว้ในขวดสีชา แล้วกำกับชื่อไว้

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ขั้นตอนการเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม

เตรียมสารสกัดหยาบ
(เปลือกมะนาวและใบพลู) กับ DMSO

ปิเปตสารสกัดหยาบต่อ DMSO
ในขวดวัดปริมาตร

สารสกัดหยาบทั้ง 3 สูตร (สูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม (1:1))
ที่ระดับ 4 ความเข้มข้น (0.1 0.2 0.3 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ขั้นตอนการเตรียมกล้าเชื้ออีโคไล

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (NB)

นำกล้าเชื้ออีโคไลในหลอดทดลอง

ถ่ายกล้าเชื้อครั้งแรกใส่ในอาหาร NB
บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 ^{0}C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ถ่ายกล้าเชื้อครั้งที่ 2

บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 ^{0}C
เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ปรับความขุ่นของเชื้อ
ด้วย NaCl 0.85 %

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ขั้นตอนการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

เตรียมอาหาร Nutrient agar (NA)

ทำเครื่องหมายที่จานเพาะเชื้อ
แบ่งเป็น 5 ส่วนเท่าๆกัน

เจาะหลุมด้วย Cork borer บนอาหาร NA

ป้ายกล้าเชื้ออีโคไล บนผิวหน้าอาหาร NA
เป็น 3 ระนาบ ทิ้งไว้ 3-5 นาที

ดูดสารสกัดลงในหลุม
แต่ละหลุมมีสารสกัดทั้ง 3 สูตร

บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 °C
เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ภาคผนวก ค

ผลการวิเคราะห์สถิติแบบ T-test

การวิเคราะห์สถิติการสกัดสารจากเปลือกมะนาว ที่อัตราส่วน 1:3 1:5 1:7 และ 1:9

ผลการวิเคราะห์ Independent-Sample T Test โดยใช้โปรแกรม SPSS V.11.5 เพื่อศึกษาอัตราที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Group Statistics

	อัตราส่วน	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
เปลือกมะนาว	1:5	3	3.101133	.1421113	.0820480
	1:7	3	4.957333	.0501140	.0289333
	1:7	3	4.957333	.0501140	.0289333
	1:9	3	5.011033	.0010786	.0006227
	1:5	3	3.101133	.1421113	.0820480
	1:9	3	5.011033	.0010786	.0006227

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
1:5 กับ 1:7	1.424	.299	-21.336	4	.000	-1.8562000	.0870001	-2.0977509	-1.6146491
			-21.336	2.490	.001	-1.8562000	.0870001	-2.1681047	-1.5442953
1:7 กับ 1:9	14.704	.019	-1.856	4	.137	-.0537000	.0289400	-.1340504	.0266504
			-1.856	2.002	.205	-.0537000	.0289400	-.1781085	.0707085
1:5 กับ 1:9	4.107	.113	-23.277	4	.000	-1.9099000	.0820503	-2.1377083	-1.6820917
			-23.277	2.000	.002	-1.9099000	.0820503	-2.2628952	-1.5569048

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

การวิเคราะห์สถิติการสกัดสารจากใบพลู ที่อัตราส่วน 1:3 1:5 1:7 และ 1:9

ผลการวิเคราะห์ Independent-Sample T Test โดยใช้โปรแกรม SPSS V.11.5 เพื่อศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัดสารจากใบพลูด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Group Statistics

	อัตราส่วน	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ใบพลู	1:5	3	5.109867	.1065008	.0614882
	1:7	3	6.204767	.0973518	.0562061
	1:7	3	6.204767	.0973518	.0562061
	1:9	3	6.305067	.0230578	.0133124
	1:5	3	5.109867	.1065008	.0614882
	1:9	3	6.305067	.0230578	.0133124

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
1:5 กับ 1:7	.007	.936	-13.143	4	.000	-1.0949000	.0833062	-1.3261951	-.8636049
			-13.143	3.968	.000	-1.0949000	.0833062	-1.3269290	-.8628710
1:7 กับ 1:9	2.726	.174	-1.736	4	.157	-.1003000	.0577611	-.2606705	.0600705
			-1.736	2.224	.212	-.1003000	.0577611	-.3263408	.1257408
1:5 กับ 1:9	2.319	.202	-18.998	4	.000	-1.1952000	.0629128	-1.3698740	-1.0205260
			-18.998	2.187	.002	-1.1952000	.0629128	-1.4448698	-.9455302

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

การวิเคราะห์สถิติการสกัดสารจากเปลือกมะนาว ที่ระยะเวลา 3 5 7 และ 9

ผลการวิเคราะห์ Independent-Sample T Test โดยใช้โปรแกรม SPSS V.11.5 เพื่อศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารจากเปลือกมะนาวด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Group Statistics

	ระยะเวลา	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
เปลือกมะนาว	5	3	5.183600	.1092156	.0630556
	7	3	6.273767	.0962006	.0555415
	7	3	6.273767	.0962006	.0555415
	9	3	6.370567	.0523233	.0302088
	5	3	5.183600	.1092156	.0630556
	9	3	6.370567	.0523233	.0302088

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
5 กับ 7 วัน	.004	.954	-12.974	4	.000	-1.0901667	.0840290	-1.3234685	-.8568648
			-12.974	3.937	.000	-1.0901667	.0840290	-1.3249415	-.8553919
7 กับ 9 วัน	1.742	.257	-1.531	4	.201	-.0968000	.0632252	-.2723414	.0787414
			-1.531	3.088	.221	-.0968000	.0632252	-.2948029	.1012029
5 กับ 9 วัน	.918	.392	-16.976	4	.000	-1.1869667	.0699184	-1.3810914	-.9928420
			-16.976	2.872	.001	-1.1869667	.0699184	-1.4151887	-.9587447

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

การวิเคราะห์สถิติการสกัดสารจากใบพลู ที่ระยะเวลา 3 5 7 และ 9

ผลการวิเคราะห์ Independent-Sample T Test โดยใช้โปรแกรม SPSS V.11.5 เพื่อศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารจากใบพลูด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Group Statistics

	ระยะเวลา	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ใบพลู	5	3	6.220167	.0768756	.0443842
	7	3	6.941233	.1158957	.0669124
	7	3	6.941233	.1158957	.0669124
	9	3	6.962400	.1139958	.0658155
	5	3	6.220167	.0768756	.0443842
	9	3	6.962400	.1139958	.0658155

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
5 กับ 7 วัน	.863	.405	-8.980	4	.001	-.7210667	.0802946	-.9440002	-.4981331
			-8.980	3.475	.002	-.7210667	.0802946	-.9579483	-.4841850
7 กับ 9 วัน	.004	.952	-.226	4	.833	-.0211667	.0938560	-.2817527	.2394194
			-.226	3.999	.833	-.0211667	.0938560	-.2817808	.2394474
5 กับ 9 วัน	.685	.454	-9.350	4	.001	-.7422333	.0793828	-.9626354	-.5218313
			-9.350	3.507	.001	-.7422333	.0793828	-.9753982	-.5090685

การวิเคราะห์สถิติสารสกัดจากเปลือกมะนาว และสารสกัดจากใบพลู ที่อัตราส่วน 1:3 1:5 1:7 และ 1:9

ผลการวิเคราะห์ Independent-Sample T Test โดยใช้โปรแกรม SPSS V.11.5 เพื่อเปรียบเทียบร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้งของเปลือกมะนาวและใบพลู ตามอัตราส่วนในการสกัดที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Group Statistics

grop	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
เปลือกมะนาว 1:3	3	8.325167	1.1954231	.6901778
ใบพลู 1:3	3	22.291000	1.0518883	.6073080
เปลือกมะนาว 1:5	3	15.505667	.7105564	.4102399
ใบพลู 1:5	3	25.549333	.5325038	.3074412
เปลือกมะนาว 1:7	3	24.786667	.2505700	.1446667
ใบพลู 1:7	3	31.023833	.4867588	.2810303
เปลือกมะนาว 1:9	3	25.055167	.0053929	.0031136
ใบพลู 1:9	3	31.525333	.1152891	.0665622

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
เปลือกมะนาว 1:3	.004	.955	-15.191	4	.000	-13.9658333	.9193304	-16.5183038	-11.4133629
ใบพลู 1:3			-15.191	3.936	.000	-13.9658333	.9193304	-16.5346791	-11.3969875
เปลือกมะนาว 1:5	.172	.700	-19.591	4	.000	-10.0436667	.5126567	-11.4670298	-8.6203035
ใบพลู 1:5			-19.591	3.708	.000	-10.0436667	.5126567	-11.5123747	-8.5749587
เปลือกมะนาว 1:7	.824	.415	-19.733	4	.000	-6.2371667	.3160799	-7.1147450	-5.3595883
ใบพลู 1:7			-19.733	2.990	.000	-6.2371667	.3160799	-7.2449001	-5.2294332
เปลือกมะนาว 1:9	5.736	.075	-97.099	4	.000	-6.4701667	.0666350	-6.6551751	-6.2851583
ใบพลู 1:9			-97.099	2.009	.000	-6.4701667	.0666350	-6.7556801	-6.1846532

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

การวิเคราะห์สถิติสารสกัดจากเปลือกมะนาว และสารสกัดจากใบพลู ที่ระยะเวลา 3 5 7 และ 9 วัน

ผลการวิเคราะห์ Independent-Sample T Test โดยใช้โปรแกรม SPSS V.11.5 เพื่อเปรียบเทียบร้อยละผลิตภัณฑ์โดยน้ำหนักแห้งของเปลือกมะนาวและใบพลู ตามระยะเวลาในการสกัดที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Group Statistics

Grop	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
เปลือกมะนาว 3 วัน	3	14.449500	.8365507	.4829827
ใบพลู 3 วัน	3	15.609000	.7954510	.4592538
เปลือกมะนาว 5 วัน	3	25.918000	.5460778	.3152782
ใบพลู 5 วัน	3	31.100833	.3843782	.2219208
เปลือกมะนาว 7 วัน	3	31.368833	.4810032	.2777073
ใบพลู 7 วัน	3	34.615000	.4269848	.2465198
เปลือกมะนาว 9 วัน	3	31.852833	.2616163	.1510442
ใบพลู 9 วัน	3	34.812000	.5699789	.3290775

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
เปลือกมะนาว 3 วัน	.018	.900	-1.740	4	.157	-1.1595000	.6664731	-3.0099260	.6909260
ใบพลู 3 วัน			-1.740	3.990	.157	-1.1595000	.6664731	-3.0117765	.6927765
เปลือกมะนาว 5 วัน	.202	.676	-13.443	4	.000	-5.1828333	.3855505	-6.2532932	-4.1123735
ใบพลู 5 วัน			-13.443	3.591	.000	-5.1828333	.3855505	-6.3031026	-4.0625641
เปลือกมะนาว 7 วัน	.095	.773	-8.742	4	.001	-3.2461667	.3713400	-4.2771717	-2.2151617
ใบพลู 7 วัน			-8.742	3.945	.001	-3.2461667	.3713400	-4.2829129	-2.2094205
เปลือกมะนาว 9 วัน	2.277	.206	-8.173	4	.001	-2.9591667	.3620861	-3.9644789	-1.9538544
ใบพลู 9 วัน			-8.173	2.807	.005	-2.9591667	.3620861	-4.1576612	-1.7606721

การวิเคราะห์สถิติของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล

ผลการวิเคราะห์ Paired Samples -Sample T Test โดยใช้โปรแกรม SPSS V.11.5 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสมในการยับยั้งเชื้ออีโคไล ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
สูตรเปลือกมะนาว	32.8125	4	14.56966	7.28483
สูตรใบพลู	66.6675	4	28.61567	14.30783
สูตรเปลือกมะนาว	32.8125	4	14.56966	7.28483
สูตรผสม	51.0425	4	22.40587	11.20294
สูตรใบพลู	66.6675	4	28.61567	14.30783
สูตรผสม	51.0425	4	22.40587	11.20294

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
สูตรเปลือกมะนาว & สูตรใบพลู	4	.982	.018
สูตรเปลือกมะนาว & สูตรผสม	4	.995	.005
สูตรใบพลู & สูตรผสม	4	.993	.007

Paird Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference Lower	Upper			
สูตรเปลือกมะนาว - สูตรใบพลู	-33.85500	14.57121	7.28560	-57.04104	-10.66896	-4.647	3	.019
สูตรเปลือกมะนาว - สูตรผสม	-18.23000	8.04634	4.02317	-31.03353	-5.42647	-4.531	3	.020
สูตรใบพลู – สูตรผสม	15.62500	6.91064	3.45532	4.62863	26.62137	4.522	3	.020

ภาคผนวก ง
ตัวอย่างการคำนวณต้นทุนการผลิต

การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตเบื้องต้นของสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว สูตรใบพลู และสูตรผสม

1) ต้นทุนการผลิตสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว

โดยใช้ผงเปลือกมะนาวแห้ง 20 กรัม กับเอทานอล 140 มิลลิลิตร คือที่อัตราส่วนของเปลือกมะนาวต่อเอทานอล 1:7 ระยะเวลาในการสกัด 7 วัน ปริมาณสารสกัดหยาบผลิตได้ 6.27 กรัม

1.1) ค่าดำเนินการ

โดยคำนวณจากค่าไฟ

สูตรการคำนวณ

$$\textbf{จำนวนหน่วย} = \frac{\textbf{กำลังไฟฟ้า(วัตต์)} \times \textbf{จำนวนเครื่องใช้ไฟฟ้า} \times \textbf{จำนวนชม.ที่ใช้งานใน 1 วัน}}{1{,}000}$$

(**ที่มา** : www.pea.ac.th, วันที่ 16 มิถุนายน 2561)

ก) การคำนวณค่าไฟฟ้าจากการอบเปลือกมะนาวโดยใช้ตู้อบความร้อน ยี่ห้อ Memmert รุ่น D-91126 Schwabach กำลังวัตต์ 1,600 W/hr ระยะเวลาที่ใช้ในการอบแห้ง 36 ชั่วโมง ในการอบเปลือกมะนาวแห้ง 1,000 กรัม มีรายละเอียดดังนี้ (อบจริง 1,000 กรัม หรือ 1 กิโลกรัม แต่ใช้แค่ 20 กรัม มาผลิต)

$$\text{สูตรค่าไฟฟ้าจากการอบ} = \frac{1{,}600\ (W) \times 1\ (\text{เครื่อง}) \times 36\ (\text{ชั่วโมง})}{1{,}000}$$

$$= 57.6\ \text{หน่วย}$$

ดังนั้น การอบเปลือกมะนาว 1,000 กรัม (1 กิโลกรัม) จึงมีค่าไฟฟ้า เท่ากับ 57.6 หน่วย ซึ่งได้เปลือกมะนาวแห้ง 200 กรัม ผลิตผงเปลือกมะนาวแห้งได้ 200 กรัม แสดงว่าผงเปลือกมะนาวแห้ง 1 กรัม ใช้ไฟฟ้า เท่ากับ 0.288 หน่วย หรือถ้าใช้ผงเปลือกมะนาวแห้ง 20 กรัม ใช้ไฟฟ้า เท่ากับ 5.76 หน่วย

ข) การคำนวณค่าไฟฟ้าจากการแยกสารสกัดหยาบจากเปลือกมะนาว โดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ ยี่ห้อ Heidolph รุ่น Hed-1 กำลังวัตต์ 1,300 W/hr ระยะเวลาที่ใช้ในการแยกสาร 1.5 ชั่วโมง มีรายละเอียดดังนี้

$$\text{สูตรค่าไฟฟ้าจากการแยกสาร} = \frac{1{,}300\ (W) \times 1\ (\text{เครื่อง}) \times 1.5\ (\text{ชั่วโมง})}{1{,}000}$$

$$= 1.95\ \text{หน่วย}$$

รวมต้นทุนค่าไฟฟ้าในการผลิตสารสกัดหยาบจากเปลือกมะนาว 6.27 กรัม

= การคำนวณค่าไฟฟ้าจากการอบเปลือกมะนาว + ค่าไฟฟ้าจากการแยกสารสกัดหยาบจากเปลือกมะนาว

= 5.76 หน่วย + 1.95 หน่วย

= 7.71 หน่วย

ค) จากการใช้พลังงานไฟฟ้าในการสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกมะนาว 6.27 กรัม อยู่ในประเภทที่ไม่เกิน 150 หน่วยต่อเดือน (ช่วงหน่วยที่ 6-15 หน่วย) ดังนั้นจึงคำนวณค่าไฟฟ้าที่หน่วยละ 0.7124 บาท (**ที่มา**: www.pea.ac.th, วันที่ 16 มิถุนายน 2561)

สูตรการคำนวณ

ค่าไฟฟ้า (บาท) = จำนวนหน่วยหรือยูนิต x ค่าไฟฟ้าต่อหน่วย (บาท)

(**ที่มา** : www.pea.ac.th, วันที่ 16 มิถุนายน 2561)

ดังนั้น

ค่าดำเนินการโดยคำนวณจากค่าไฟฟ้าในการสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกมะนาว 6.27 กรัม

= 7.71 x 0.7124 = 5.49 บาท _____ **(1)**

1.2) ค่าสารเคมี โดยคำนวณจากปริมาณของเอทานอลที่ใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบที่ผลิตได้ 6.27 กรัม ซึ่งในการศึกษานี้ต้องใช้เอทานอลทั้งหมด 140 มิลลิลิตร

เอทานอลร้อยละ 95 (2) = ราคา (บาท/ลิตร) x จำนวนที่ใช้ (ลิตร)

= 72.22 x 0.14 = 10.11 บาท _____ **(2)**

ราคาต้นทุนการผลิตสารสกัดสูตรเปลือกมะนาว 6.27 กรัม

รวม (1) + (2) = 5.49 + 10.11 = 15.60 บาท

หรือ = 2.49 บาท/กรัม

หมายเหตุ

1) ราคาค่าไฟ **ที่มา** : www.pea.ac.th, วันที่ 16 มิถุนายน 2561

2) ราคาค่าเอทานอลร้อยละ 95 **ที่มา** : www.chemipan.com, วันที่ 25 กันยายน 2561

2) ต้นทุนการผลิตสารสกัดสูตรใบพลู

โดยใช้ผงใบพลูแห้ง 20 กรัม กับเอทานอล 140 มิลลิลิตร คือที่อัตราส่วนของใบพลูต่อเอทานอล 1:7 ระยะเวลาในการสกัด 7 วัน ปริมาณสารสกัดหยาบที่ผลิตได้ 6.94 กรัม

2.1) ค่าดำเนินการ

โดยคำนวณจากค่าไฟ

สูตรการคำนวณ

$$\text{จำนวนหน่วย} = \frac{\text{กำลังไฟฟ้า(วัตต์)} \times \text{จำนวนเครื่องใช้ไฟฟ้า} \times \text{จำนวนชม.ที่ใช้งานใน 1 วัน}}{1{,}000}$$

(**ที่มา** : : www.pea.ac.th, วันที่ 16 มิถุนายน 2561)

ก) การคำนวณค่า**ไฟฟ้า**จากการอบใบพลู โดยใช้ตู้อบความร้อน ยี่ห้อ Memmert รุ่น D-91126 Schwabach กำลังวัตต์ 1,600 W/hr ระยะเวลาที่ใช้ในการอบแห้ง 16 ชั่วโมง ในการอบใบพลูแห้ง 1,000 กรัม มีรายละเอียดดังนี้ (อบจริง 1,000 กรัม หรือ 1 กิโลกรัม แต่ใช้แค่ 20 กรัม มาผลิต)

$$\text{สูตรค่าไฟฟ้าจากการอบ} = \frac{1{,}600\ (W) \times 1\ (\text{เครื่อง}) \times 16\ (\text{ชั่วโมง})}{1{,}000}$$

$$= 25.6\ \text{หน่วย}$$

ดังนั้น การอบใบพลู 1,000 กรัม (1 กิโลกรัม) จึงมีค่าไฟฟ้า เท่ากับ 25.6 หน่วย ซึ่งได้ใบพลูแห้ง 200 กรัม ผลิตผงใบพลูแห้งได้ 200 กรัม แสดงว่าผงใบพลูแห้ง 1 กรัม ใช้ไฟฟ้า เท่ากับ 0.128 หน่วย หรือถ้าใช้ผงใบพลูแห้ง 20 กรัม ใช้ไฟฟ้า เท่ากับ 2.56 หน่วย

ข) การคำนวณค่าไฟฟ้าจากการแยกสารสกัดหยาบจากใบพลู โดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ ยี่ห้อ Heidolphรุ่น Hed-1 กำลังวัตต์ 1,300 W/hr ระยะเวลาที่ใช้ในการแยกสาร 2 ชั่วโมง มีรายละเอียดดังนี้

$$\text{สูตรค่าไฟฟ้าจากการแยกสาร} = \frac{1{,}300\ (W) \times 1\ (\text{เครื่อง}) \times 2\ (\text{ชั่วโมง})}{1{,}000}$$

$$= 2.60\ \text{หน่วย}$$

รวมต้นทุนค่าไฟฟ้าในการผลิตสารสกัดหยาบจากใบพลู 6.94 กรัม

= การคำนวณค่าไฟฟ้าจากการอบใบพลู + ค่าไฟฟ้าจากการแยกสารสกัดหยาบจากใบพลู

= 2.56 หน่วย + 2.60 หน่วย

= 5.16 หน่วย

ค) จากการใช้พลังงานไฟฟ้าในการสกัดสารสกัดหยาบจากใบพลู 6.94 กรัม อยู่ในประเภทที่ไม่เกิน 150 หน่วยต่อเดือน (ช่วงหน่วยที่ 6-15 หน่วย) ดังนั้นจึงคำนวณค่าไฟฟ้าที่หน่วยละ 0.7124 บาท (**ที่มา**: www.pea.ac.th, วันที่ 16 มิถุนายน 2561)

สูตรการคำนวณ

ค่าไฟฟ้า (บาท) = จำนวนหน่วยหรือยูนิต x ค่าไฟฟ้าต่อหน่วย (บาท)

(**ที่มา** : www.pea.ac.th, วันที่ 16 มิถุนายน 2561)

ดังนั้น

ค่าดำเนินการโดยคำนวณจากค่าไฟฟ้าในการสกัดสารสกัดหยาบจากใบพลู 6.94 กรัม

= 5.16 x 0.7124 = 3.67 บาท _____ **(1)**

2.2) ค่าสารเคมี โดยคำนวณจากปริมาณของเอทานอลที่ใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบที่ผลิตได้ 6.94 กรัม ซึ่งในการศึกษานี้ต้องใช้เอทานอลทั้งหมด 140 มิลลิลิตร

เอทานอลร้อยละ 95 (2) = ราคา (บาท/ลิตร) x จำนวนที่ใช้ (ลิตร)

= 72.22 x 0.14 = 10.11 บาท _____ **(2)**

ราคาต้นทุนการผลิตสารสกัดสูตรใบพลู 6.94 กรัม

รวม (1) + (2) = 3.67 + 10.11 = 13.78 บาท

หรือ = 1.98 บาท/กรัม

หมายเหตุ

1) ราคาค่าไฟ **ที่มา** : www.pea.ac.th, วันที่ 16 มิถุนายน 2561

2) ราคาค่าเอทานอลร้อยละ 95 **ที่มา:** www.chemipan.com, วันที่ 25 กันยายน 2561

3) ต้นทุนการผลิตสารสกัดสูตรผสม

สำหรับการศึกษาการคำนวณต้นทุนการผลิตเบื้องต้นของสารสกัดสูตรผสมเปลือกมะนาวและใบพลู (อัตราส่วน1:1) ซึ่งจะคิดต้นทุนการผลิตเบื้องต้นของสารสกัด 1 กรัม โดยใช้สารสกัดสูตรเปลือกมะนาว 0.5 กรัม และสารสกัดสูตรใบพลู 0.5 กรัม มาผสมกัน คิดเป็นต้นทุนการผลิตของสารสกัดสูตรผสม 14.69 บาท หรือ 2.22 บาท/กรัม

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ภาคผนวก จ
ประวัติผู้ทำวิจัย

ประวัติผู้วิจัย

(1) **ชื่อ-สกุล** นางสาววัลภา แก้วหนูนวล

วัน เดือน ปีเกิด 31 มีนาคม 2538

ที่อยู่ 101 หมูที่ 7 ตำบลวังใหม่ อำเภอป่าบอน จังหวัดพัทลุง 93170

การศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

(2) **ชื่อ-สกุล** นางสาวสุนิดา จินพล

วัน เดือน ปีเกิด 11 ตุลาคม 2537

ที่อยู่ 9809 หมูที่ 8 ตำบลที่วัง อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช 80110

การศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY