ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดส้มแขกและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ล้างมือ

Antibacterial Efficacy of Garcinia Extract and Its Application in Hand Cleaning Product

ปิยุกฤษฎ์ ทองบุญ

Piyukrid Thongboon

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Environmental Management
Prince of Songkla University
2556

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดส้มแขกและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ล้างมือ
ผู้เขียน ปิยุกฤษฎ์ ทองบุญ
สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

……..……..
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิทย์ สุวรรณโณ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

……
(ดร.สุธีรา เสาวภาคย์)

คณะกรรมการสอบ

……ประธานกรรมการ
(ดร.อรมาศ สุทธินุ่น)

…… กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เบญจมาส เชียรศิลป์)

……กรรมการ
(ดร.ชีระวิทย์ รัตนพันธ์)

……...……...…กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิทย์ สุวรรณโณ)

……...…….…… กรรมการ
(ดร.สุธีรา เสาวภาคย์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม

……..……..……..
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้เป็นผลมาจาการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และขอขอบคุณผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านไว้ ณ ที่นี้

ลงชื่อ_____
(ผศ.ดร.สุวิทย์ สุวรรณโณ)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ_____
(นางสาวปิยุกฤษฎ์ ทองบุญ)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ_____

(นางสาวปิยุกฤษฎ์ ทองบุญ)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดส้มแขกและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ล้างมือ
ผู้เขียน ปิยุกฤษฎ์ ทองบุญ
สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม
ปีการศึกษา 2555

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาวิธีการสกัดส้มแขกด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ น้ำ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 เพื่อนำสารสกัดหยาบจากส้มแขกมาทำผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือ ผลการทดลองพบว่า ตัวทำละลายที่สกัดเนื้อผลส้มแขกแล้วให้ปริมาณสารสกัดสูงสุด คือ น้ำ (ร้อยละ 49.29) ส่วนตัวทำละลายที่สกัดรกหุ้มเมล็ดที่ให้ปริมาณสารสกัดสูงสุด คือ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95(ร้อยละ 36.80) เมื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ คือ *Escherchia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus,* และ *Salmonella typhimurium* ด้วยวิธี Broth Microdilution Method พบว่า สารสกัดหยาบจากส้มแขก มีประสิทธิภาพในการ ยับยั้งแบคทีเรียได้ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 8 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทดลอง ทำเป็นส่วนผสมเพื่อทำเจลทำความสะอาดมือ โดยใช้คาโบพอล 940 เป็นสารก่อเจล พบว่าเจลจะไม่ก่อตัว เมื่อนำสารสกัดหยาบส้มแขกมาเป็นส่วนผสมในการทำสเปรย์ทำความสะอาดมือ พบว่าสเปรย์ที่มีส่วนผสมของเอทานอลความเข้มข้น ร้อยละ 20 และสารสกัดส้มแขกความเข้มข้น 64 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดเชื้อจุลินทรีย์บนมือ ได้ร้อย ละ 99.60 สเปรย์มีค่าความเป็นกรดด่าง 2.13 ค่าสี L* a* และb* เป็น 76.45, 10.75 และ 54.18 ตามลำดับ การทดสอบความพึงพอใจของผู้บริ โภคต่อผลิภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก จำนวน 60 คน ด้วยวิธี Central location test ปรากฏว่าผู้บริโภคพึงพอใจผลิตภัณฑ์ร้อยละ 83.3 โดยมีความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ด้านความรู้สึกสะอาดของมือหลังใช้ และด้านสีเท่ากับร้อยละ 78.3 และ 73.3 ตามลำดับ

Thesis Title Antibacterial Efficacy of Garcinia Extract and Its Application in Hand Cleaning Product

Author Miss Piyukrid Thongboon

Major Program Environmental management

Academic Year 2012

ABSTRACT

The aim of this research was to study the extraction of *Garcinia atroviridis* by using 3 types of solvent namely water, 95% ethanol and 70% ethanol in order to make Garcinia hand cleaning products. The results showed that the solvent which produced highest amount of extract from mesocarp's was water (49.29%) and the solvent which produced highest amount of extract from aril's was 95 % ethanol (36.80 %). We found that when the efficiency of antibacterial activity was tested by Broth Microdilution Method against *Escherchia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus,* and *Salmonella typhimurium* the antibacterial activity of the crude extracts were effective and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) value was at 8 mg/ml. While the crude extracts were used to produce hand sanitizing gel by using Cabopol 940 as gelling agent, the gel was not formed. When we used the crude extracts to produce spray hand cleaner, the spray with a mixture of 20% ethanol concentration and Garcinia extract concentration of 64 mg/ml could reduce bacteria on the hands at 99.60 %. The spray's color L * a * and b * values were 76.45, 10.75 and 54.18 respectively. The spray's pH was 2.13. In order to find the satisfaction, the Garcinia extract spray hand cleaner was tested by 60 testers using the central location test. The results found that 83.3 % of the testers were satisfied. The satisfaction toward the product including the feeling of cleanliness after using spray and color were 78.3 % and 73.3 % respectively.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีด้วยความกรุณายิ่งจาก อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผศ .ดร.สุวิทย์ สุวรรณโณ และอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ดร .สุธีรา เสาวภาคย์ และท่านคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่าน ซึ่งให้คำแนะนำ ตรวจสอบและแ ก้ไขข้อบกพร่อง ตลอดจนเสนอข้อคิดเห็น แก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณอาจารย์คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงาน

ขอขอบพระคุณ คุณอุไร เพ็ชรนิล โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบ ล บ้านกูบู และเจ้าหน้าที่ โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล ตำบลศาลาใหม่ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บข้อมูล ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆคณะการจัดการสิ่งแวดล้อมทุกคน ที่ให้กำลังใจ และให้ความเอื้อเฟื้อตลอดระยะเวลาการศึกษา

ขอขอบพระคุณคณะการแพทย์แผนไทย คณะอุตสาหกรรมการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ซึ่งอนุเคราะห์ให้ใช้เครื่องมือ

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ให้ทุน อุดหนุนงานวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ปี 2553 และ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชา ติ (วช) ซึ่งให้ทุนอุดหนุนงานวิจัย ประเภทบัณฑิตศึกษา ปี 2554 ตามสัญญาเลขที่ ภค/2554-ยท.01

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ผู้ให้ชีวิตและสนับสนุนทุกอย่าง ตลอดทั้งครอบครัวและญาติสนิททุกๆคน ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจด้วยดีตลอดมา ความดีและคุณประโยชน์จากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขออุทิศแก่ผู้มีพระคุณทุกท่านโดยทั่วกัน

ปิยุกฤษฎ์ ทองบุญ

มกราคม 2556

สารบัญ

สารบัญ	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(10)
รายการภาพประกอบ	(12)
สัญลักษณ์คำย่อ และตัวย่อ	(14)
บทที่	
1 บทนำ	
1. บทนำต้นเรื่อง	1
2. การตรวจเอกสาร	2
3. วัตถุประสงค์	34
4. ประโยชน์คาดว่าจะได้รับ	34
2 วิธีการวิจัย	32
1. วัสดุและอุปกรณ์	35
2. วิธีการดำเนินการวิจัย	37
2.1 การเตรียมวัตถุดิบ	37
2.2 การศึกษาระยะเวลาการบดผงส้มแขก	37
2.3 การศึกษาชนิดของตัวทำละลายในการสกัดสารสกัดหยาบจากส้มแขก	37
2.4 การศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายและระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารสกัดหยาบจากส้มแขก	40
2.5 การศึกษาการทำผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของจากสารสกัดส้มแขก	41
2.6 การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียบนมือของผลิตภัณฑ์ สเปรย์ทำความสะอาดจากสารสกัดส้มแขก	43
2.7 การศึกษาค่าคุณภาพของผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือจากสารสกัดส้มแขก	44

สารบัญ (ต่อ)

สารบัญ	หน้า
2.8 การศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคผลิตภัณฑ์	44
3 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	46
3.1 ผลการเตรียมวัตถุดิบ	46
3.2 ผลการศึกษาระยะเวลาบดผงส้มแขก	44
3.3 ผลการศึกษาชนิดของตัวทำละลายในการสกัดสารสกัดหยาบจากส้มแขก	48
3.4 ผลการศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายและระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด	62
3.5 ผลการทำผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก	67
3.6 ผลการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนมือ หลังการใช้ผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก	69
3.7 ผลการศึกษาค่าคุณภาพของผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือจากสารสกัดส้มแขก	71
3.8 ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์สเปรย์ล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก	77
4 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	79
4.1 สรุปผลการทดลอง	79
4.2 ข้อเสนอแนะ	80
เอกสารอ้างอิง	81
ภาคผนวก	95
ประวัติผู้เขียน	103

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1-1	10 อันดับแรกโรคติดต่อที่ต้องเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาของประเทศไทย ปี 2550-2553	3
1-2	กลุ่มสารประกอบสำคัญที่พบในพืชสกุลการ์ซีเนียที่พบในประเทศไทย	6
1-3	ปริมาณสารสกัดหยาบของส้มแขก ที่สกัดเย็นด้วยน้ำและเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95	9
1-4	ผลการสกัดสารสกัดหยาบจากส้มแขก *(G. atroviridis)* ที่สกัดเย็นด้วยเมทานอล	10
1-5	วิธีการสกัดสารจากพืชในสกุลการ์ซีเนีย	11
1-6	กลุ่มสาร และสารประกอบสำคัญ ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปในส้มแขกชนิด *G. atroviridis*	17
1-7	ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดส้มแขก (*G. atroviridis)*	19
1-8	ส่วนประกอบของสูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์เจลทำความสะอาดมือ	29
1-9	คุณภาพตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ล้างมือ	33
2-1	ส่วนประกอบของสูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์เจลทำความสะอาดมือ	41
2-2	ส่วนประกอบของสูตรเจลทำความสะอาดมือจากสารสกัดส้มแขก	42
3-1	ปริมาณความชื้นในเนื้อผลและรกหุ้มเมล็ดส้มแขก	47
3-2	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารสกัดหยาบจากเนื้อผลส้มแขกที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำ	51
3-3	ค่า MICและ MBC ของสารสกัดหยาบจากเนื้อผลและรกหุ้มเมล็ดส้มแขกที่สกัดด้วยน้ำ	52
3-4	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารสกัดหยาบจากเนื้อผลส้มแขก ที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70	54
3-5	ค่า MICและ MBC ของสารสกัดหยาบจากเนื้อส้มแขกที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70	54
3-6	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารสกัดหยาบจากรกหุ้มเมล็ดส้มแขกที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 95	56

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3-7	ค่า MICและ MBC ของสารสกัดหยาบจากเนื้อส้มแขก ที่สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 95	57
3-8	ร้อยละของปริมาณสารสกัดจากเนื้อผลส้มแขกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย	60
3-9	ร้อยละของปริมาณสารสกัดจากรกหุ้มเมล็ดส้มแขกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย	60
3-10	ค่า MIC และ MBC (mg/ml) ของสารสกัดหยาบจากเนื้อผลส้มแขกที่สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วน1:15 ระยะเวลา ต่างๆ	66
3-11	ลักษณะทางกายภาพ จากการสังเกต และควาามเป็นกรด- ด่างของเจลทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมสารสกัดส้มแขก	68
3-12	ค่าความเป็นกรด-ด่างของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดส้มแขก เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 12 สัปดาห์	72
3-13	ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางชีวภาพสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดส้มแขก	73
3–14	ลักษณะของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดส้มแขก ระหว่างการเก็บรักษา 12วัน	73
3-16	ร้อยละความพึงพอใจของผู้บริโภค 60 คน ต่อผลิตภัณฑ์สเปรย์ล้างมือสเปรย์ล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก	77

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1-1	ส้มแขกชนิดที่พบมากใน จ.สงขลา ยะลา ปัตตานี นราธิวาส (ก) ส้มแขก(ส้มควาย)ชนิดที่พบใน จ.ตรัง กระบี่ พังงา นครศรีธรรมราช (ข)	14
1-2	โครงสร้างทางเคมีของกรดเอชซีเอ	16
1-3	ขั้นตอนวิธีการผลิตผลิตภัณฑ์เจลทำความสะอาดมือ	29
1-4	ขั้นตอนวิธีการเตรียมผลิตภัณฑ์เจลทำความสะอาดมือ	30
2-1	การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากส้มแขกด้วยน้ำ	38
2-2	การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากส้มแขกด้วยเอทานอล	39
3-1	ลักษณะของ ผล เนื้อผล และรกหุ้มเมล็ดส้มแขกที่ใช้ในการทดลอง	46
3-2	ลักษณะของเนื้อส้มแขกและรกหุ้มเมล็ดตากแห้งก่อนและหลังบด	47
3-3	ขนาดอนุภาคของเนื้อส้มแขกบดที่เวลาต่างๆ	48
3-4	ลักษณะปรากฏของสารสกัดส้มแขก ที่สกัดด้วยน้ำ โดยสกัดซ้ำ 3 ครั้ง	49
3-5	ลักษณะของสารสกัดหยาบจากส้มแขกที่ผ่านการระเหยตัวทำละลายออกหมดแล้ว	49
3-6	ร้อยละของปริมาณสารสกัดจากเนื้อผลส้มแขกที่สกัดด้วยน้ำแยกตามขนาดอนุภาคและครั้งที่สกัด	50
3-7	ร้อยละของปริมาณสารสกัดจากเนื้อผลส้มแขกที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70 แยกตามขนาดอนุภาค และครั้งที่สกัด	53
3-8	ร้อยละของปริมาณสารสกัดเนื้อผลส้มแขกที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ตามขนาดอนุภาคและครั้งที่สกัด	56
3-9	ค่าความเป็นกรด-ด่างของสารสกัดหยาบจากเนื้อผลส้มแขกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย	61
3-10	ปริมาณสารสกัดส้มแขกที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำในอัตราส่วนต่างๆ	63
3-11	ปริมาณสารสกัดหยาบจากส้มแขกที่สกัด ในระยะเวลาต่างๆของ	64
3-12	ค่าเฉลี่ย clear zone ต่อเชื้อ *s.aureus* ของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมสารสกัดส้มแขก	68

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
3- 13	ค่าเฉลี่ย Inhibition zone ต่อเชื้อ *E.coli* ของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมสารสกัดส้มแขก	69
3-14	ค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนมือก่อนและหลังใช้สเปรย์ทำความสะอาดมือจากการทดสอบในอาสาสมัคร	70
3-15	ค่าสีของ สเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดส้มแขกเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์	71
3-16	ค่าความสว่างของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขกเก็บรักษาเป็นระยะเวลา12 สัปดาห์ 6รอบ (12 วัน)	73
3-17	ค่าความสว่างของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขกเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์	74
3-18	ค่าสีแดงของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขกเก็บรักษาเป็นระยะเวลา12 สัปดาห์	75
3-19	ค่าสีเหลืองของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขกเก็บรักษาเป็นระยะเวลา12 สัปดาห์	76
3-20	ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของสเปรย์ทำความสะอาดมือในระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา12 สัปดาห์	76

สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

HCA	=	Hydroxycitric acid คือ กรดชนิดหนึ่งที่อยู่ในส้มแขก
HCAL	=	Hydroxycitric acid lactone คือ กรดชนิดหนึ่งที่อยู่ในส้มแขก
G. atroviridis	=	*Garcinia atroviridis* Griff ex T. Anders คือ ชื่อวิทยาศาสตร์ของส้มแขก
GAE	=	Gallic acid equivalents
$C_6H_8O_7$	=	Citric acid
NMR	=	Nuclear Magnetic Resonance
NA	=	Nutrient Agar คือ อาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้น
NB	=	Nutrient broths คือ อาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว
MHB	=	Mueller-Hinton broth คือ อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดหนึ่ง
MIC	=	Minimum Inhibitory Concentration คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย
MBC	=	Minimun Bactericidal Concentration คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย
MID	=	Minimum inhibitory dose คือ ปริมาณสารต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย
B. cereus	=	*Bacillus cereus*
E. coli	=	*Escherichia coli*
S. aureus	=	*Staphylococcus aureus*
C. herbarum	=	*Cladosporium herbarum*
MRSA	=	Methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus*
DMSO	=	Dimethyl sulfoxide
CIE	=	Commission Internationnal de I' Eclairage คือระบบการวัดสีแบบหนึ่ง

บทที่ 1
บทนำ

1.บทนำต้นเรื่อง

จากรายงานการเฝ้าระวังโรคติดต่อ ของสำนักระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุข ปี พุทธศักราช 2553 พบว่า 10 อันดับแรกของโรคติดต่อที่ประชาชนไทยป่วยมากที่สุด คือ โรคอุจจาระร่วง ไข้ไม่ทราบสาเหตุ ปอดบวม ตาแดง ไข้เลือดออก ไข้หวัดใหญ่ อาหารเป็นพิษ สุกใส วัณโรค และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ (Bureau of Epidemiology, 2010) นอกจากโรคอุจจาระร่วงจะเป็นโรคติดต่อที่คนไทยป่วยมากที่สุดแล้ว ยังเป็น โรคที่เป็นสาเหตุการตายอันดับ 5 ของโลก แต่เป็นสาเหตุการตายอันดับ 2 ของประชากรในประเทศยากจน เช่น ประเทศในทวีปอัฟริกา (World Health Organization, 2011) สำหรับประเทศไทย 10 อันดับโรคติดต่อนี้ครึ่งหนึ่ง เป็นโรคที่สามารถติดต่อได้จากน้ำ อาหาร และการสัมผัส เช่น โรคอุจจาระร่วง อาหารเป็นพิษ ตาแดง สุกใส ไข้หวัดใหญ่ ซึ่งโรคเหล่านี้มีวิธีการป้องกันการติดเชื้อที่ได้ผลดีวิธีหนึ่ง คือ การล้างมือ เนื่องจากมนุษย์ใช้มือในการทำกิจกรรมต่างๆ ในการดำรงชีวิต รวมทั้งสัมผัสสิ่งต่างๆ ทั้งหยิบจับอาหาร แคะจมูก ป้ายตา มือจึงอาจนำเชื้อโรคเข้าสู่ร่างกายได้ ทั้งจากการสัมผัสกันโดยตรง หรือการสัมผัสผ่านตัวกลาง

การล้างมือ เป็นวิธีการป้องกันการติดเชื้อ ที่มีประสิทธิภาพ รวดเร็ว ประหยัดและได้ผลดีที่สุด ในการป้องกันการแพร่กระจายเชื้อ (Guilhermetti *et al*., 2001) โดย วิธีการล้างมือที่ดี คือการล้างด้วยน้ำและสบู่ (กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, ม.ป.ป) แต่ในบางสถานการณ์ เช่น ระหว่างการเดินทาง การอยู่ในสถานที่ที่ไม่คุ้นเคย หรือในช่วงที่มีการระบาดของโรคติดต่อ การล้างมือด้วยน้ำและสบู่อาจไม่สะดวกและทำได้ยาก การล้างมือด้วยเจลหรือสเปรย์ล้างมือ จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถลดการติดเชื้อโรคได้ แต่เจล และสเปรย์ล้างมือส่วนใหญ่ใช้สารเคมีเป็นตัวออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เมื่อนำไปใช้ก็จะเกิดการปนเปื้อนของสารเคมีเข้าสู่สิ่งแวดล้อม และการผลิตสารเคมีก็ต้องใช้ทรัพยากรและพลังงานจำนวนมาก เพื่อลดและทดแทนการใช้สารเคมี จึงมีการวิจัยต่างๆเพื่อหาสารจากธรรมชาติมาเป็นสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ส้มแขกเป็นพืชท้องถิ่นที่พบมากในจังหวัดชายแด นภาคใต้ เช่น สงขลา ยะลา และนราธิวาส โดยเฉพาะ ในจังหวัดนราธิวาส นั้นแต่ละปี มีผลผลิตส้มแขกสดปีละประมาณ 300,000 กิโลกรัม สามารถทำเป็น ผลิตภัณฑ์ ส้มแขกแห้งได้ มากกว่า 30,000 กิโลกรัม (ธนิต หนูยิ้ม และคณะ, 2543) ซึ่งผลิตภัณฑ์ส้มแขกแห้งนั้น มีมูลค่าเพิ่มเพียงเล็ก น้อย นอกจากนี้ในกระบวนการแปรรูปส้มแขกเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆนั้น ยังมีรกหุ้มเมล็ดส้มแขกซึ่งเป็นส่วนที่ยังไม่มีการนำมาใช้ประโยชน์ จึงคิดหาวิธีการเพิ่มมูลค่าของ ผลิตภัณฑ์และส่วนเหลือทิ้ง ผลส้มแขกนอกจากจะใช้เป็น

อาหารและยาแล้ว ยังมีสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ด้วย ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษา วิธีการสกัดสารจากส้มแขก ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัด และการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือ เพื่อลดการใช้สารเคมี ลดการปนเปื้อนของสารเคมี สู่สิ่งแวดล้อม เพิ่มมูลค่าของผลผลิต และยังเป็นการอนุรักษ์พืชประจำถิ่นอีกด้วย

2. การตรวจเอกสาร

2.1 โรคติดเชื้อที่ติดต่อทางการสัมผัส

จากสรุปรายงานการเฝ้าระวังโรคติดต่อของสำนักระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุข ปี พุทธศักราช 2550-2553 พบว่า โรคติดต่ออันดับ 1, 2 และ 3 คือ โรคอุจาระร่วง ไข้ไม่ทราบสาเหตุ ปอดบวม (Bureau of Epidemiology, 2007, 2008, 2009, 2010) ตามลำดับ โดยส่วนใหญ่เป็นโรคที่สามารถติดต่อได้ทางอาหาร น้ำ และการสัมผัส เช่น โรคอุจจาระร่วง อาหารเป็นพิษ ตาแดง สุกใส ไข้หวัดใหญ่ วัณโรค (ตารางที่ 1-1) ซึ่งโรคเหล่านี้ สามารถป้องกันได้ด้วย การรับประทานอาหารปรุงสุก การล้างมือก่อนรับประทานอาหาร และก่อนสัมผัสอวัยวะบนใบหน้า หรือหลังจากที่สัมผัสกับผู้ป่วยหรือเครื่องใช้ของผู้ป่วย

โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่อาศัยบนมือแบ่งได้ 2 ประเภท คือ

1) เชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นบนมือ (Resident flora) เป็นเชื้อที่อยู่ถาวรบนผิวหนัง ขจัดออกยาก มักไม่ก่อให้เกิดโรค เว้นเสียแต่มีการเหนี่ยวนำเชื้อโรคเหล่านี้เข้าสู่กระแสเลือด หรืออวัยวะภายใน เช่น การใส่สายให้น้ำเกลือเข้าไปในหลอดเลือดโดยตรง อาจมีเชื้อที่ผิวหนังปนเปื้อนเข้าไปและก่อให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดตามมาได้ เชื้อจุลินทรีย์ ในกลุ่มนี้ เช่น เชื้อใน Genus Corynebacterium , Coagulasenagative Staphylococci (สริตา ภาคพิเศษ, 2551)

2) เชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่บนมือเพียงชั่วคราว (Transient flora) เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มักมีการเจริญบนผิวหนัง และขจัดออกง่าย ด้วยการล้างด้วยน้ำ เป็นจุลินทรีย์ที่พบได้ทุกกลุ่ม ทั้ง แบคทีเรีย ยีสต์ รา ปรสิต และไวรัส สามารถพบบนร่างกายได้ทุกแหล่งที่สัมผัส บางครั้ง อาจเป็นเชื้อก่อโรคที่ทำให้เกิดโรคติดต่อ โรคบางอย่างอาจรุนแรงถึงชีวิต การติดเชื้อจากจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้มาจาก 3 วิธี คือ

- จากสิ่งขับถ่ายที่ติดมาบนมือ หลังการขับถ่าย การใช้ห้องสุขา
- การสัมผัสจากผัก ผลไม้ และเนื้อสัตว์

ตารางที่ 1-1 10 อันดับแรกโรคติดต่อที่ต้องเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาของประเทศไทย ปี 2550-2553

อันดับที่	2550		2551		2552		2553	
	โรค	อัตราป่วย*	โรค	อัตราป่วย*	โรค	อัตราป่วย*	โรค	อัตราป่วย*
1	อุจจาระร่วง	2,050.78	อุจจาระร่วง	1,988.03	อุจจาระร่วง	2,023.64	อุจจาระร่วง	2,168.89
2	ไข้ไม่ทราบสาเหตุ	365.80	ไข้ไม่ทราบสาเหตุ	379.45	ไข้ไม่ทราบสาเหตุ	483.24	ไข้ไม่ทราบสาเหตุ	616.04
3	ปอดบวม	226.03	ปอดบวม	221.90	ตาแดง	342.57	ปอดบวม	267.63
4	อาหารเป็นพิษ	196.36	อาหารเป็นพิษ	177.59	ปอดบวม	230.18	ตาแดง	187.31
5	ตาแดง	165.83	ตาแดง	144.56	ไข้หวัดใหญ่	189.73	ไข้เลือดออก รวม	183.59
6	ไข้เลือดออก รวม	104.38	ไข้เลือดออก รวม	141.78	อาหารเป็นพิษ	162.98	ไข้หวัดใหญ่	180.82
7	สุกใส	100.26	สุกใส	121.41	สุกใส	140.64	อาหารเป็นพิษ	171.22
8	วัณโรค รวม	53.88	วัณโรค รวม	54.3	ไข้เลือดออก รวม	89.27	สุกใส	77.22
9	มาลาเรีย	49.08	มาลาเรีย	45.72	ชิคุณกุนยา	82.03	วัณโรค รวม	63.72
10	บิด	30.28	ไข้หวัดใหญ่	33.03	วัณโรค รวม	63.11	โรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์	40.87

*อัตราป่วยต่อประชากร 1 แสนคน

ที่มา : Bureau of Epidemiology (2007, 2008, 2009, 2010)

- การสัมผัสจากบาดแผล ที่มีการติดเชื้อ

ซึ่งโอกาสของการแพร่เชื้อประเภทนี้จะขึ้นกับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์และความชื้นของผิวหนัง (สถาบันบำราศนราดูร, 2551)

การติดเชื้อ อาจแบ่งเป็นกลุ่มตามการก่อโรคในระบบต่างๆของ ร่างกายได้ดังนี้ (สุรเกียรติ อาชานานุภาพ , 2551)

(1) โรคติดเชื้อระบบทางเดินหายใจ จะพบมากในฤดูฝน และฤดูหนาว จะติดต่อผ่านการหายใจเอาเชื้อเข้าไป หรือโดยการสัมผัสถูกมือ หรือกับสิ่งของเครื่องใช้ที่ ผู้ป่วยสัมผัสและใช้ร่วมกับบุคคลอื่น หรือเครื่องใช้ในที่สาธารณะ เช่น ลูกบิดประตู ราวโหนรถเมล์ หรือราวบันได แล้วมาแคะจมูก เชื้อโรคก็จะเข้าสู่โพรงจมูกส่วนหน้า เมื่อหายใจเข้าไปก็ทำให้เกิดโรคได้ เช่น

-ไข้หวัด เกิดจากเชื้อไวรัส เมื่อเป็นแล้วร่างกายจะสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อตัวนั้นขึ้น จะไม่เป็นซ้ำอีก แต่ เชื้อที่ทำให้เกิดอา การของไข้หวัดมีมากกว่า 200 ชนิด คนๆหนึ่งจึงเป็นหวัดได้หลายครั้ง

-ไข้หวัดใหญ่ เกิดจากเชื้อไวรัส อินฟลูเอนซา (*Influenza*) ซึ่งมีอยู่ 3 ชนิด คือ เอ บี และซี ซึ่งแต่ละชนิดก็จะ มีสายพันธ์ย่อยๆอีกมาก จะมีอาการ ที่สำคัญคือ ไข้สูง และปวดเมื่อยตามร่างกายมากกว่าไข้หวัดธรรมดา

-สุกใส เกิดจากเชื้อไวรัสวาริเซลลา (*Varicella*) ทำให้เกิดตุ่มน้ำใส มีอาการคันตามผิวหนัง

-วัณโรค เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ไมโคแบคทีเรียมทูเบอร์คูโลซิส (*Mycobacterium tuberculosis*) ทำให้อ่อนเพลีย ไอเรื้อรัง อาจไอเป็นเลือด ร่างกายซูบผอม หากไม่รักษาอย่างถูกวิ ธี จะทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้

-ปอดบวม เกิดจาก เชื้อจุลินทรีย์ หลายชนิด เช่น แบคทีเรียที่ชื่อ นิวโมค็อกคัส (*Pneumococcus*) สแตฟฟีโลค็อกคัส (*Staphylococcus*) หรือจากเชื้อไวรัส ไข้หวัด และไข้หวัดใหญ่ เป็นต้น

(2) โรคติดเชื้อระบบทางเดินอาหาร จะติดต่อได้จากการ รับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อน หรือการใช้มือที่ปนเปื้อนเชื้อเหล่านี้ แล้วหยิบจับอาหารรับประทานเข้าไป เช่น

-อุจจาระร่วง เกิดจากเชื้อหลายชนิด เช่น แบคทีเรีย ไวรัส พิษของแบคทีเรีย สารเคมีจะทำให้ผู้ป่วยมีอาการถ่ายเหลวมากกว่า 3 ครั้ง ต่อวัน

-โรคอาหารเป็นพิษ เกิดจ ากการกินอาหารที่มีสารพิษปนเปื้อน อาจเป็นสารเคมี หรือสารพิษจากเชื้อโรค ที่พบบ่อย คือ อาหารเป็นพิษจากเชื้อ สแตฟฟีโลค็อกคัส (*Staphylococcus*) เชื้อ ซัลโมเนลลา (*Salmonalla*) มักจะมีอาการท้องเสีย และมีไข้ร่วมด้วย

-โรคบิด เกิดจากเชื้อ ชิเกลลา (*Shigella*) มีอาการถ่ายเป็นมูก หรือมูกปนเลือดและจะปวดเบ่งที่ทวารหนัก

(3) โรคติดต่อระบบอื่นๆ เช่น โรคตาแดง โรคเชื้อรา แผลอักเสบที่ผิวหนัง หิด เหา และโรคเริม ซึ่งจะติดต่อทางการสัมผัสโดยตรง

2.2 สารสำคัญจากพืชในสกุลการ์ซีเนีย

พืชในสกุล การ์ซีเนีย (*Garcinia*) เป็นพืชชนิดพืชยืนต้น มีทั้ งที่เป็นไม้พุ่ม ไม้ขนาดกลาง และขนาดใหญ่ ลักษณะสำคัญคือ มีน้ำยางสีเหลือง ใบแตกเป็นคู่ๆ ปลายใบแหลม เส้นในขนานกัน ดอกเป็นดอกไม่สมบูรณ์เพศ พบได้ในทวี ปเอเชีย และแอฟริกา มีผู้ศึกษาสารสำคัญ มาแล้ว 58 ชนิด (วรรณฤดี แก้วนก , 2543)ในประเทศไทยพบพืชสกุลนี้ 25 ชนิด (เต็ม สมิตินันทน์, 2544) ซึ่งพืชสกุล การ์ซีเนีย ที่พบในประเทศไทยนั้น มีผู้ศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสาระสำคัญที่เป็นองค์ประกอบแล้วจำนวน 9 ชนิด (ตารางที่ 1-2) มีสาระสำคัญที่พบในพืชสกุลนี้ของประเทศไทย จำนวน 4 กลุ่ม คือ

1) แซนโทน (Xanthone) เป็นสารสำคัญที่มีฤทธิ์ ต้านการอักแสบ รักษาแผล ต้านการเจริญของแบคทีเรีย (รัตนา อินทรานุปกรณ์ , 2547) ควบคุมระดับคอเรสเตอรอล เสริมภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกาย บรรเทาอาการแพ้ การอักเสบ (ประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ และคณะ, 2552) มีสารต้านอนุมูลอิสระ (El-Seedi *et al.,* 2010) ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง (Khonkarn *et al.*, 2012)

2) ไตรเทอร์พีน (Triterpene) เป็นสารประกอบประเภทหนึ่งของสารประกอบ เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) ซึ่งเป็นกลุ่มสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง เช่น ยับยั้งเชื้อรา รักษาโรคมาลาเรีย รักษาแผลในกระเพาะอาหาร(รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547; Krishnamurthy and Sapna, 2008) ยับยั้งเซลล์มะเร็ง (Yang *et al.*, 2006) รักษาอาการอาหารไม่ย่อย รักษาฝี (Li, 2007)

3) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid), ไบฟลาโวนอยด์(Biflavonoid), ฟลาโวน (Flavone) เป็นสารประกอบในกลุ่มสาร Flavonoid มีฤทธิ์ลดการเกร็งของกล้ามเนื้ อ ต้านอนุมูลอิสระ (Oluyemi *et al.*, 2006) ต้านการอักเสบ และยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Dos Reis *et al.*, 2009)

4) แอลคาลอยด์ (Alkaloids) เป็นสารประกอบกลุ่มใหญ่ที่พบมากในพืชชั้นสูง เป็นสารที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ คุณสมบัติ ของแอลคาลอยด์ คือ มีฤทธิ์เป็นด่าง มักมีรสขม ไม่ละลายน้ำ ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ของแอลคาลอยด์ในพืชแต่ละชนิด จะแตกต่าง (รัตนา อินทรานุปกรณ์ , 2547) เช่น แอลคาลอยด์ใน *G. mangostana* Linn. (มังคุด) มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ รักษาสิว ต้านแบคทีเรีย (Azimi *et al.*, 2012) ลดอาการปวดศรีษะเนื่องจา กโรคความดันโลหิตสูง (Ajayi *et al*., 2011)

ตารางที่ 1-2 กลุ่มสารประกอบสำคัญที่พบในพืชสกุลการ์ซีเนียที่พบ ในประเทศไทย

ชื่อ	ส่วนที่ศึกษา	กลุ่มสาร	อ้างอิง
G. atroviridis Griff	เปลือกผล	Miscellaneous	Jena, *et al*., (2002)
(ส้มแขก)	เปลือกต้น	Xanthone	Kosin, *et al*., (1998);
		benzoquinone	Tisdale, *et al*., (2003)
		depsidone	Tisdale, *et al*., (2003)
		Xanthone	Tisdale, *et al*., (2003)
		Flavonoid	Tisdale, *et al*., (2003)
		Xanthone	Likhitwitayawuid, *et al*., (1998)
		Flavonoid	Ghamba, *et al*., (2012)
		Saponin	Ghamba, *et al*., (2012)
		Sterols	Ghamba, *et al*., (2012)
		Terpene s	Ghamba, *et al*., (2012)
		Alkaloid	Ghamba, *et al*., (2012)
		Biflavonoid	Ansari and Rahmann, (1976)
		Chromone	Ansari and Rahmann, (1976)
		Xanthone	Likhitwitayawuid, *et al*., (1998);
			Ito, *et al*.,(1997)
G.hombroniana (วา)	กิ่ง	Triterpene	Klaiklay, (2009)
		Biflavonoe	Klaiklay, (2009)
		Xanthoneและ	Klaiklay, (2009)
		Benzophenone	Ulyana Mun˜oz Acun˜a *et al*. ,
			(2011)
G. nervosa Miq	ใบ	Flavone	Ilyas, *et al*., (1997)
(มะพูดป่า)	เปลือกต้น	Steroid และ	Ampofo and Waterman, *et al*.,
		Xanthone	(1986)
G. schomeburgkiana	ราก	Xanthone	จิรภา คงเขียว, (2541)
(มะดัน)			

ตารางที่ 1-2 กลุ่มสารประกอบสำคัญที่พบในพืชสกุลการ์ซีเนียที่พบ ในประเทศไทย(ต่อ)

ชื่อ	ส่วนที่ศึกษา	กลุ่มสาร	อ้างอิง
G. scortechinii	ผล	Steroid	วรรณฤดี แก้วนก, (2543)
		Triterpene	Rukachaisirikul, *et al*., (2003)
		Biflavonoe	Rukachaisirikul, *et al*., (2003)
		Xanthone	Sukpondma, (2005)
		Alkaloid	Sukphonma, *et al*., (2006)
G. mangostana	เปลือกผล	Flavane	Krajewski, *et al*., (1996)
Linn. (มังคุด)		Xanthone	Chairungsrilerd, *et al*., (1996)
			Sen, *et al*., (1981);
			Suvarnakuta, *et al*., (2011)
	ใบ	Flavonoid	Chairungsrilerd, *et al*., (1996);
			Ajayi, *et al*., (2011)
G. hanburyi Hook.f.	ยาง	Xanthone	Asano, *et al*., (1996)
(รง)			

2.3 วิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในสกุลการ์ซีเนีย

การสกัดสาร คือ กระบวนการทำสารผสมให้บริสุทธิ์ โดยอาศัยความแตกต่างของสมบัติทั้งทางกายภาพและเคมีมาใช้เป็นเกณฑ์ในการแยกสารผสม โดยต้องคำนึงถึง ประสิทธิภาพและความประหยัด ซึ่งโดยทั่วไปการแยกสารมักใช้หลายวิธีการ เช่น การกรอง การกลั่น การระเหย การตกตะกอน การตกผลึก และการสกัดด้วยตัวทำละลาย เป็นต้ น (พีระ พนาสุภ น, 2552) แต่ก่อนที่จะนำส่วนต่างๆ ของพืชไปสกัดนั้น จำเป็นต้องเตรียมวัตถุดิบเริ่มต้นก่อน ซึ่งสามารถทำได้ดังนี้

1) การหั่น เป็นการเตรียมส่วนของพืชให้ได้ขนาดที่เหมาะสมกับ วิธีการ สกัดที่เลือก เช่น ดอก ใบ ผล ที่มีลักษณะอ่อนนุ่ม การเตรียม วัตถุดิบเพื่อสกัด อาจใช้วิธีหั่นก็เพียงพอ แต่ในส่วนของพืชที่มีความแข็ง เช่น กิ่ง ราก หรือ เนื้อไม้อาจต้องใช้วิธีการบดร่วมด้วย

2) การอบแห้ง คือการกำจัดน้ำออก อาจใช้วิธีตากแดด หรือการอบด้วยเครื่อง อบลมร้อน หรือการแช่แข็งแห้ง ซึ่งทำให้สามารถเก็บส่วนของพืชได้นานขึ้น การอบแห้งต้องไม่ใช้ อุณหภูมิสูงเกินไป เพราะจะทำให้สาร สำคัญลดลง โดยอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 45-80 องศาเซลเซียส ซึ่งจะใช้อุณหภูมิเท่าไรนั้น ขึ้นอยู่กับชนิดและส่วนของพืช (กองส่งเสริมพืชสวน, 2549)

3) การบด จะได้ วัตถุดิบ ที่มีความละเอียดมากขึ้น แต่ไม่ควร บดให้ละเอียดเกินไป เพราะอาจมีปัญหาในการกรองเอากากออก และหากหยาบเกินไป ก็ทำให้ตัวทำละลายซึมเข้าไปละลายสารที่ต้อง การออกมา ได้ไม่หมด เนื่องจาก พื้นที่ผิวสัมผัสน้อย ขนาดที่เหมาะส ม คือ ขนาดที่ผ่านตะแกรงร่อนเบอร์ 20-80 (สริตา ภาคพิเศษ, 2551)

เมื่อเตรียมสารสกัดเสร็จแล้ว จึงทำการสกัด เพื่อแยกองค์ประกอบของสารสำคัญที่ต้องการต่อไป ซึ่งการสกัดสารจากพืชทำได้หลายวิธี ดังนี้

2.3.1 วิธีสกัดเย็น

การสกัดเย็น (Maceration) เป็นวิธีสกัดสารสำคัญจากพืช โดยเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมกับสารในพืช แต่ละชนิด แล้วนำไปแช่ (หมัก) ในภาชนะที่ปิด สนิท แช่ไว้อย่างน้อย 2-7 วัน หรือแช่ไว้จนกระทั่งเนื้อเยื่อของ พืชอ่อนนุ่ม เขย่าเป็นครั้งคราว ตัวทำละลายจะสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในเนื้อเยื่อพืชออกมาได้ จากนั้นกรองเอา กากของพืชออกจาก สารสกัดให้ได้มากที่สุด นำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออก ด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศ แล้วจึงนำสารที่ได้ไปใช้ประโยชน์ต่อ ข้อดีของวิธีนี้ คือ สารสกัดจะไม่ถูกความร้อน ทำให้โอกาสในการสลายตัวของสารสกัดลดลง เหมาะกับพืชที่มีโครงสร้างหรือเนื้อเยื่อที่ไม่แข็งแรงมากนัก เช่น ใบ และดอก (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547) ส่วนข้อเสียของวิธีนี้ คือจะสิ้นเปลืองตัว ทำละลายมาก ใช้เวลาในการสกัด นาน และไม่เหมาะที่จะใช้สกัดในกรณีที่ต้องการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรจนสมบูรณ์

2.3.2 วิธีสกัดด้วยการต้ม

วิธีการสกัดสารสำคัญโดยการต้ม (Decoction) โดยนำตัวอย่างพืช มาต้มในน้ำเดือดประมาณ 20 นาที และทำสารสกัดโดยให้อุณภูมิลดลงอยู่ ในระหว่าง 44 – 45 องศาเซลเซียส แล้วกรองเอาของเหลวที่ได้ (จารุวรรณ มณีศรี และคณะ, 2550)

2.3.3 เพอร์โคเลชัน

เพอร์โคเลชัน (Percolation) เป็นวิธีการสกัดสาร สำคัญจากพืช โดยการปล่อยให้ตัวทำละลาย ไหลผ่านผงของพืชอย่างช้า ๆ พร้อมกับละลายเอา สารประกอบออกจาก พืช โดยใช้เครื่อง percolater

2.3.4 วิธีการสกัดร้อนด้วยเครื่องสกัดซอกห์เลต

การสกัดร้อนด้วยเครื่องสกัดซอกห์เลต (Soxhlet Extraction) เป็นวิธี การใช้ความร้อนในการสกัด จะใช้ทำละลายในปริมาณน้อย เนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารจะถูกทำให้ระเหยและควบแน่นกลับมา ใช้ได้อีก เป็นลักษณะ การสกัดแบบ หมุนเวียน และต้องอาศัยการควบแน่นเข้าช่วย เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง จึงใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน โดยตัวทำละลาย

จะต้องมีจุดเดือดต่ำ และการใช้ความร้อนอาจทำให้สารที่ระเหยง่ายระเหยออกไป จึงไม่เหมาะกับการสกัดสารจากพืชสมุนไพรที่มีสารที่ระเหยง่ายเป็นองค์ประ กอบ วิธีการสกัดแบบต่อเนื่องนี้เหมาะสำหรับการสกัดสารองค์ประกอบที่ทนต่อความร้อน (ศักดิ์ชัยบดี สังข์แก้ว, 2554; Jensen, 2007)

วิธีการสกัดสารจากพืชแต่ละวิธีมีข้อจำกัด การสกัดสารจากพืชในสกุล การ์ซีเนีย จึงมักเลือกใช้หลายวิธีผสมกัน เช่น งานวิจัยของอรุณพร อิฐรัตน์และคณะ (2543) ซึ่งสกัดผลส้มแขกแห้งด้วยน้ำ เอทานอล และสารในชั้นน้ำของกากที่เหลือจากสารสกัดด้วยเอทานอล การสกัดด้วยน้ำทำโดยนำผงส้มแขกจำนวน 4 กิโลกรัม เติมน้ำให้พอท่วม ต้มด้วยไฟอ่อนๆนาน 1 ชั่วโมง กรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ครั้ง เก็บของเหลวที่ผ่านการกรอง (filtrate) เพื่อนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายอื่นๆ การสกัดด้วยเอทานอลและน้ำ ทำโดยนำผงส้มแขกแห้ง 0.5 กิโลกรัม มาสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 โดยแช่ไว้ 3 วัน กรองแล้วนำของเหลวที่ผ่านการกรอง ที่ได้ทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน แล้วนำไประเหยให้แห้งที่อุณหภูมิ ประมาณ 50 องศาเซลเซียส ส่วนกากที่เหลือนำมาสกัดด้วยน้ำ โดยเติมน้ำพอท่วม ต้มด้วยไฟอ่อนๆ นาน 1 ชั่วโมง กรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ครั้ง เก็บของเหลวที่ได้ ไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เข็ง แห้ง ชั่งน้ำหนักของสารสกัดแห้ง ได้ 28.60 กรัม (ตารางที่ 1-3)

ตารางที่ 1-3 ปริมาณสารสกัดหยาบของส้มแขก ที่สกัดเย็นด้วยน้ำ และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95

วิธีสกัด	น้ำหนักผงส้มแขกแห้ง (กรัม)	น้ำหนักสารสกัดแห้งที่ได้ (กรัม)	ผลได้(Yield) (ร้อยละ)*
น้ำ	500	112.00	22.40
เอทานอล 95 %	500	116.78	33.36
เอทานอล 95 % +น้ำ	500	28.60	5.72

*ร้อยละ Yield คิดเทียบกับน้ำหนักหลังอบแห้ง

ที่มา: อรุณพร อิฐรัตน์และคณะ (2543)

Mackeen และคณะ (2000)ได้สกัดสารจากส่วนต่างๆของต้น *G. atroviridis* คือ ใบ ผล ราก ลำต้น และเปลือกลำต้น โดยนำผล ใบ ราก ลำต้นและเปลือกลำต้น หั่นละเอียด อย่างละ 5 กรัม มาแช่ในเมทานอล 25 มิลลิลิตร โดยแช่แยกส่วนกัน เป็นเวลา 2 – 3 วัน นำสารละลายที่ได้มาระเหยให้แห้งภายใต้ความดัน บันทึกน้ำหนักผลผลิตของสารสกัดเมทานอลเป็นกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด (ตารางที่ 1-4) แล้วเก็บสารละลายที่ได้ไปใช้ในการทดสอบ ต่อไป ซึ่ง Amran และคณะ

(2009)ได้เลือกวิธีการสกัดผลของ *G. atroviridis* จำนวน 600 กรัม โดยใช้เมทานอลเข้มข้นร้อยละ 99.80 เป็นตัวทำละลาย และสกัดด้วยเครื่องซอกห์เลต นำสารละลายมากรอง และระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน ควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส เพื่อนำสารสกัดที่ได้ใช้สำหรับผสมอาหาร และใช้ในหนูทดลองต่อไป และยังมีวิธีการสกัด สารจากพืชในสกุลการ์ซีเนียอีกหลายชนิดที่ใช้วิธีการสกัดคลายกันดังตารางที่ 1-5

ตารางที่ 1-4 ผลการสกัดสารสกัดหยาบจากส้มแขก *(G. atroviridis)* ที่สกัดเย็นด้วยเมทานอล

สารสกัดหยาบ	ผลได้(Yield[ก])น้ำหนัก/น้ำหนัก
ผล	5.8
ใบ	4.5
เปลือกจากกิ่ง	6.4
เปลือกจากลำต้น	4.2
ราก	8.4

ก = น้ำหนัก(กรัม)ของสารสกัดหยาบเมทานอลต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด

ที่มา: Mackeen และคณะ (2000)

ตารางที่ 1-5 วิธีการสกัดสารจากพืชในสกุลการ์ซีเนีย

ชนิดพืช	ส่วนที่ใช้	ตัวทำละลาย	วิธีสกัด	อ้างอิง
G. atroviridis	เปลือกต้น	คลอโรฟอร์ม	แช่	Kosin *et al*, (1998)
G. schomeburgkiana	ราก	เมทานอล	แช่	จิรภา คงเขียว (2541)
G. scortechinii	กิ่ง	เมทานอล	แช่	วรรณฤดี แก้วนก (2543)
	ผล			Sukpondma (2005)
				Sukpondma *et al*, (2006)
G. hanburyi	ผล	เมทานอล	แช่	Sukpondma *et al*, (2006)
G. indica	เปลือกผล	คลอโรฟอร์ม	เครื่องซอกห์เลต	Tamil Selvi *et al*, (2003)
G. cowa	เปลือกผล	คลอโรฟอร์ม	เครื่องซอกห์เลต	Joseph *et al*, (2005)
G.Pedunculata		เฮกเซน		Negi *et al*, (2008)
G. mangostana Linn.	เปลือกผล	เอทานอล	แช่	อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ และคณะ (2548)
		เฮกเซน	เครื่องซอกห์เลต	
		อะซิโตน		
		เมทานอล		

ตารางที่ 1-5 วิธีการสกัดสารจากพืชในสกุลการ์ซีเนีย (ต่อ)

ชนิดพืช	ส่วนที่ใช้	ตัวทำละลาย	วิธีสกัด	อ้างอิง
G. mangostana Linn.	เปลือกผล	น้ำกลั่น เอทานอล เมทานอล	ต้มและแช่	ประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ และคณะ (2552)
G. kola	เมล็ด	เมทานอล น้ำกลั่น	เครื่องซอกห์เลต ต้มและแช่	Nwaokorie *et al*, (2010)

2.3.5 การสกัดสารด้วยตัวทำละลาย

การสกัดด้วยตัวทำละลาย คือ การแยกสารโดยอาศัยสมบัติการละลายของสารในตัวทำละลาย โดยการเติมตัวทำละลายที่เหมาะสมลงใน สารที่ต้องการสกัด จากนั้นเขย่าแรงๆหรือนำไปต้ม เพื่อให้สารที่ต้องการจะสกัด ละลายในตัวทำละลายที่เลือกไว้ สารที่สกัดได้จะยังเป็นสารละลายอยู่ หากต้องการทำให้บริสุทธิ์ ควรจะนำสารที่ได้ไปแยกตัวทำละลายออกมาก่อน โดยการนำไประเหยหรือนำไปกลั่นต่อ ตัวอย่างเช่น การสกัดน้ำขิงจากขิง การสกัดคลอโรฟิลล์ของใบไม้

การสกัดด้วยตัวทำละลายต้องเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อให้ได้สารที่ต้องการในปริมาณมาก มีหลักการดังนี้

- เลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อสกัดให้ได้สารที่ต้องการออกมามากและต้องมีสิ่งเจือปนติดน้อยที่สุด และไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด
- กรณีที่ต้องแยกสารผสมที่มีองค์ประกอบปนกันหลายชนิด ต้องเลือกตัวทำละลายที่ละลายสารใดสารหนึ่งได้มากและอีกสารได้น้อยมาก เพื่อให้เจือปนกันน้อยที่สุด
- แยกสารที่ไม่ต้องการออกไป โดยกระบวนการแยกสารต่างๆ เช่น การกรอง เป็นต้น
- แยกสารที่ต้องการออกจากตัวทำละลาย

2.4 ส้มแขก

2.4.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของส้มแขก

ส้มแขกมีสามัญคือ Garcinia ชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia atroviridis* Griff ex T. Anders เป็นไม้ยืนต้น จัดอยู่ในวงศ์ Guttiferae มีชื่อเรียกหลายอย่าง เช่น ส้มโฆร์(นราธิวาส) ส้มมะวน ส้มพะงุน (ปัตตานี) ส้มมะอ้น (ใต้) ส้มควาย (ตรัง) (ชยันต์ พิเชียรสุนทร, 2539) แต่ไม้ส้มแขกที่ชาวบ้านเรียกว่า “ส้มควาย” ที่พบในจังหวัดตรัง พังงา กระบี่ และนครศรีธรรมราชนั้นมีลักษณะของผล ดอก และใบ ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน เมื่อเทียบกับส้มแขกที่พบในพื้นที่จังหวัดสงขลา ยะลา ปัตตานีและนราธิวาส ซึ่งเชื่อว่าน่าจะเป็นคนละชนิดกัน (ธนิต หนูยิ้ม และคณะ, 2543) ไม้ในวงศ์นี้มีอยู่ประมาณ 320 ชนิด พบในเขตร้อนเอเชีย อเมริกา และอัฟริกา เช่น พะวา หรือกะวา *(G. cornia)* ชะมวง *(G. cowa)* มังคุด *(G. mangostana)* ชะมวงน้ำหรือมะพูดป่า *(G. mervosa)* มะดัน *(G. schomburgkiana)* มะพูด *(G .vilersiana)* ตังหนใบเล็ก ตังหนใบใหญ่ โงงังว ต้าว และบุนนาคน้ำ (เต็ม สมิตินันทน์, 2544)

ลักษณะลำต้น เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง สูงประมาณ 5-27 เมตร เปลือกสีน้ำตาลอมดำ แตกเป็นสะเก็ด เมื่อลำต้นเป็นแผลจะมียางสีเหลืองออกม า เนื้อไม้แข็ง มีพูพอนต่ำ ความกว้างเรือนยอด 4 -10 เมตร

ลักษณะใบ เป็นใบเดี่ยวออกตรงข้ามเป็นคู่ แผ่นใบเรียง ใบแคบค่อนข้างยาว ขอบใบเรียบ ปลายใบแหลมมากมองเห็นได้ชัดเจน เนื้อใบหนา ใบยาวประมาณ 26-29 เซนติเมตร กว้างประมาณ 7-9 เซนติเมตร ก้านใบยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร ตัวใบรูปขอบขนาน โคนใบสอบเรียว ปลายมนแหลม เส้นในละเอียดมองเห็นชัดทางด้านบน ใบอ่อนสีน้ำตาลอมแดง ใบแก่สีเขียว ใบแห้งมีสีน้ำตาล (ธนิต หนูยิ้ม และคณะ, 2543)

ลักษณะดอก ดอกเพศผู้มีกลีบเลี้ยง 4 กลีบ ด้านนอกสีเขียว ด้านในสีแดง ก้านดอกยาวประมาณ 0.5-1.7 เซนติเมตร มีเกสรเพศผู้เรียงอยู่บนฐานรองดอก ดอกเพศเมีย เป็นดอกเดี่ยว แทงออกมาจากปลายกิ่ง มีขนาดเล็กกว่าดอกตัวผู้ รังไข่รูปทรงกระบอก (Te-chato, 2007)

ลักษณะผล เป็นผลเดี่ยว ผล อ่อนมีสีเขียว ผลสุกมีสีเหลือง ผลกว้างประมาณ 6-7 เซนติเมตร ยาวประมาณ 4-5 เซนติเมตร ขั้วผลยาวประมาณ 2 เซนติเมตร เนื้อผลหนา 1.7 – 1.8 เซนติเมตร มีรกอยู่ตรงกลาง มีเมล็ด 11-12 เมล็ด เปลือกผลเป็นร่องตามแนวขั้วไปยังปลายผล มี 8-10 ร่อง (ภาพที่ 1-1) ที่ขั้วผลมีกลีบเลี้ยงติดอยู่ 2 ชั้นๆ ละ 4 กลีบ ทั้งสองชั้นเรียงสลับกัน เมล็ดแข็ง สมบูรณ์ 2-3 เมล็ดต่อผล ภายในเมล็ดมีใบเลี้ยงอวบหนา เนื่องจากมีอาหารสะสมอยู่มาก (ธนิต หนูยิ้ม และคณะ, 2543)

ส้มแขก (ก)

ส้มแขก (ข)

ภาพที่ 1-1 ส้มแขกชนิดที่พบมากใน จ.สงขลา ยะลา ปัตตานี นราธิวาส (ก) (ถ่ายจากผลจริงในพื้นที่)
ส้มแขก(ส้มควาย)ชนิดที่พบใน จ.ตรัง กระบี่ พังงา นครศรีธรรมราช (ข)
ที่มา : องค์กรสวนพฤษศาสตร์, (2554)

อายุเก็บเกี่ยว ประมาณ 7-8 ปี โดยผลจะออกในช่วงเดือนมิถุนายน ถึงเดือนสิงหาคม เก็บผลที่โตเต็มที่ ส้มแขกเป็นไม้ที่มีอายุยืน พบมีอายุถึง 180 ปี (ธนิต หนูยิ้ม และคณะ, 2543) และจะให้ผลผลิตเพิ่มมากขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น สูงสุดพบให้ผลผลิต 600 -700 กิโลกรัมต่อต้นต่อปี

2.4.2 ประโยชน์ของส้มแขก

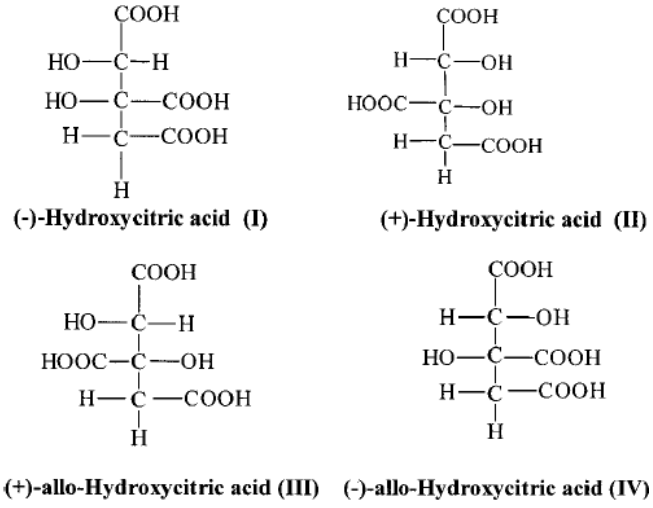
ส้มแขกสามารถใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน มีการนำผลและใบมาประกอบอาหาร ใบใช้ผสมในน้ำยาง พารา ช่วยการเร่งปฏิกิริยาการแข็งตัวของ น้ำยาง ด้านยาใช้ทุกส่วนต้มเป็นยาขับฟอกโลหิต และขับเสมหะ ผลใช้ระบายท้อง แก้พรรดึก ลดไขมัน และต้านการเกิดมะเร็ง (วุฒิ วุฒธรรมเวช, 2548; Yapwattanaphun, 2000) ใบ และราก ใช้ต้มกับน้ำ ใช้หยอดหู เพื่อแก้อาการปวดหู (อรุณพร อิฐรัตน์และคณะ , 2543) นอกจากนี้ ยังมีสรรพคุณตามตำราพื้นบ้าน คือ บรรเทาอาการปวด ท้องในสตรีมีครรภ์ เป็นยาระบายอ่อนๆ ทางด้านชีวภาพและเภสัชวิทยา มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย มีสารต้านอนุมูลอิสระสารต้านเนื้องอกในระยะส่งเสริม ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาส้มแขกเป็นผลิตภัณฑ์อาหารและผลิตภัณฑ์อื่นๆ หลากหลายอย่างเช่น ส้มแขกบดผง เครื่องดื่มน้ำส้มแขก ส้มแขกกวน ส้มแขกแก้ว แยมส้มแขก ชาชงส้มแขก ส้มแขกแช่อิ่มอบแห้ง ส้มแขกแช่อิ่มอบน้ำผึ้ง สบู่ส้มแขก ครีมส้มแขก น้ำยาล้างจานส้มแขก (สำนักวิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ, 2547)

2.4.3 สารสำคัญที่พบในส้มแขก และคุณสมบัติทางชีวภาพ

1) สารสำคัญที่พบในส้มแขก

สารสำคัญที่พบในส้มแขก *G.atroviridis* คือ กรดเอชซีเอ (HCA, Hydroxycitric acid) (ภาพที่ 1-2) มีสูตรโครงสร้างคล้าย citric acid ($C_6H_8O_7$) มีคุณสมบัติเป็นกรด (Normah and Benjamin, 2003; Muensritharam *et al*., 2008) สามารถพบกรดเอชซีเอได้ในส้มแขกชนิดอื่นเช่นกัน เช่น ส้มแขกชนิด *G. cambogia* และ*G. indica* (Muensritharam *et al*., 2008) เป็นชนิดที่พบได้ในประเทศอินเดียและมาเลเซีย หรือในพืชอื่นเช่น กระเจี๊ยบเปรี้ยว Hibiscus sabdariffa แต่พบว่า กรดเอชซีเอ มีมากที่สุดในส้มแขกชนิด *G. cambogia* โดยพบสูงถึงร้อยละ 10-30 ของน้ำหนักเปลือกผลแห้ง (Lewis และ Neelakantan, 1965) ซึ่งเมื่อศึกษาในประเทศไทยก็พบว่า *G. cambogia* มีปริมาณกรดเอชซีเอ ร้อยละ 22.02 มากกว่า *G. atroviridis* ที่มี กรดเอชซีเอ ร้อยละ 19.82 เมื่อแยกด้วยวิธีโครมาโทกราฟีและสเปกโตรสโกปี ซึ่งนุชนภางค์ มณีวงศ์ (2538) ศึกษาหาปริมาณ กรดเอชซีเอใน *G. atroviridis* พบว่า มีปริมาณ ร้อยละ 10.05 ของเปลือกผลแห้ง และสารสกัดในชั้นน้ำให้ปริมาณกรดมากที่สุด 34.25 กรัมเปอร์เซนต์ มีค่า pH = 1.66 (อรุณพร อิฐรัตน์และคณะ , 2543) Muensritharam และคณะ (2008) ได้ศึกษาวิธีหาปริมาณกรด กรดเอชซีเอ และ

HCAL ด้วยวิธี คะพิลลารีอิเล็กโทรฟอรีซิส (Capillary zone electrophoresis (CZE)) พบว่า ผลแก่ของส้มแขกมีกรดเอชซีเอ ร้อยละ 24



ภาพที่1-2 โครงสร้างทางเคมีของกรดเอชซีเอ

ที่มา : Jena และคณะ (2002); Muensritharam และคณะ (2008)

Kosin และคณะ (1998) ค้นพบสาร xanthone ชนิดใหม่คือ atroviridin ได้จากเปลือกต้น ของ *G. atroviridis* โดยใช้เทคนิค NMR

Permana และคณะ (2003) แยกสารประกอบ 4-methylhydroatrovirinone, morelloflavone, morelloflavone 7-O-β-D-glucopyranoside, 14-*cis*-docosenoic Acid, fukugiside ซึ่งเชื่อว่าเป็นสารตัวกลางระหว่าง atrovirinone และ atrovirisidone โดยใช้รากส้มแขกตากแห้งบดละเอียด 1 กิโลกรัมแช่ใน เมทานอล 1 คืน นำมาระเหยสารละลายออกได้สารสีน้ำตาล 115 กรัม นำสารที่ได้ละลายในเมทานอลและน้ำ โดยใช้อัตราส่วน เมทานอลต่อน้ำ 1 ต่อ 2 จำนวน 750 มิลลิลิตร และนำไปสกัดซ้ำด้วยเอทานอลจะได้สารเหนียวสีน้ำตาล 31 กรัมนำไประเหยตัวทำละลายออก นำสารสกัดที่ได้ 30 กรัม ไปแยกด้วยคอลัมโครมาโทกราฟฟีต่อไป

Kruawan และKangsadalampai (2006) ศึกษา สารประกอบฟีนอลิกของพืชสมุนไพร 10 ชนิด คือ ส้มแขก ฟ้าทะลายโจร ขิง ตะไคร้ หนุม านประสานกาย ดอกคำฝอย กระเจี๊ยบ เก็กฮวย มะตูม และจับเลี้ยง พบว่าพืชทั้ง 10 ชนิดมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นส่วนประกอบ และทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้พืช 1 กรัมเติมน้ำ 150 มิลลิลิตร นำไปต้ม

ให้เดือด 10 นาที ให้สารฟีนอลิก 36.76 มิลลิกรัมต่อกรัมจีเออี (gallic acid equivalents,GAE) ซึ่งสามารถสรุปสารสำคัญที่พบในส้มแขกได้ดังแสดงในตารางที่ 1-6

ตารางที่ 1-6 กลุ่มสาร และสารประกอบสำคัญ ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไป ในส้มแขกชนิด *G. atroviridis*

ส่วนที่ศึกษา	สารประกอบที่พบ	กลุ่มสาร	เอกสารอ้างอิง
เปลือกต้น เปลือกผล	Atroviridin (-)-Hydroxycitric acid	Xanthone Miscellaneous	Kosin *et al*., (1998) นุชนภางค์ มณีวงศ์ (2538); Jena *et al*., (2002); Muensritharam *et al*., (2008)
ผล	ฟีนอลิก	Phenolic	Kruawan และ Kangsadalampai (2006)
	Hydroxycitric acid Hydroxycitric acid lactone	Miscellaneous	Muensritharam *et al.,* (2008)
ราก	atrovirinone	Benzoquinone	Permana *et al*., (2001)
	atrovirisidone	Depsidone	Permana *et al*., (2003)
	4-methylhydroatrovirinone,	Xanthone	Permana *et al*., (2003)
	morelloflavone,	Flavonoid	Permana *et al*., (2003)
	morelloflavone7-O-β-D-glucopyranoside,		
	14-cis-docosenoic Acid,		
	Fukugiside		

2) คุณสมบัติทางชีวภาพของสารสกัดจากส้มแขก

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชเป็นสารสกัดจากธรรมชาติซึ่งในอดีตจำเป็นต้องใช้เพื่อให้เหมาะสมกับสภาวะแวดล้อมทางธรรมชาติของท้องถิ่นนั้น ๆ เช่น ชาวอียิปต์โบราณ นิยมใช้น้ำมันระหุ่งทาตัว เพื่อป้องกันผิวหนังจากแสงแดด มิให้ไหม้เกรียม จากอากาศร้อนกลางทะเลทราย (พิมพร ลีลาพรพิสิฐ , 2552) แม้ว่าในปัจจุบันจะได้มีการใช้วัตถุดิบจากการ

สังเคราะห์ในการทำผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆอย่างแพร่หลาย แต่ก็มีแนวโน้มที่จะก ลับมาใช้สารและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมากขึ้น เนื่องจากได้มีการค้นพบความเป็นพิษและการก่อให้เกิดอาการแพ้ระคายเคืองจากสารสังเคราะห์นั้นเอง แต่ การที่จะเอาสารจากธรรมชาติมาใช้โดยตรง ก็ต้องใช้เวลาในการเตรียม เก็บรักษาไว้ได้ไม่นาน ทำให้ไม่ส ะดวก และ ต้องใช้วัถุดิบจำนวน มาก สารที่ได้สลายตัวง่าย และบางชนิดมีสารสำคัญน้อย (ทิวาพร พรหมรัตน์, 2549) จึงต้องมีการสกัดสารเพื่อคัดแยกเฉพาะสารที่ต้องการเท่านั้น เช่น การสกัดน้ำมันหอมระเหยจาก พลู (อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ และคณะ, 2547; ณิชากร เจริญกุล, 2548) การสกัดสารจากขมิ้นชัน (ทิวาพร พรหมรัตน์, 2549) การสกัดน้ำมันหอมระเหยจาก อบเชย กานพลู ข่า โหระพาและขมิ้นชัน (สริตา ภาคพิเศษ และคณะ, 2551) สำหรับส้มแขกมีผู้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งสามารถสืบค้นและรวบรวมได้ดังนี้

Mackeen และคณะ (2000) ได้ทำการศึกษา สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นส้มแขก (*G. atroviridis*) ได้แก่ ใบ ผล ราก ลำต้น และเปลือกลำต้น โดยสกัดด้วยเมทานอลทดสอบกับจุลินทรีย์ จำนวน 10 ชนิดคือ *Bacillus subtilis* B28 , *Bacillus subtilis* B29, (methicillin-resistant) *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* UI 60690, *Candida albicans*, *Aspergillus ochraceous* ATCC 398, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium moniliforme* และ *Alternaria* sp.พบว่าสารสกัดหยาบ ของ *G. atroviridis* มีฤทธิ์เป็นสารต้านจุลชีพ อย่างเด่นชัด โดยเฉพาะ สารสกัดจากราก ซึ่งมีค่าปริมาณการยับยั้งขั้น ต่ำ (Minimum inhibitory dose, MID) ในการ ยับยั้งแบคทีเรีย ที่ทดสอบเพียง 15.6 ไมโครกรัมต่อเปเปอร์ดิสต์ (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) ในขณะที่สารสกัดจากส่วนอื่นต้องใช้ปริมาณ มากกว่า 125 ไมโครกรัมต่อแผ่น ในการทดสอบการต้านเชื้อรา พบว่า สารสกัดจาก ผล (MID : 100 mg) และใบ (MID : 400 mg) มีค่าการยับยั้งเชื้อราอย่างมีนัย สำคัญ ต่อเชื้อ *C. herbarum* (ตารางที่ 1-6) ซึ่งทำให้เกิดอาการภูมิแพ้ แต่สารสกัดทั้งหมดไม่สามารถ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา ชนิดอื่นได้ที่ MID น้อยกว่า 1000 ไมโครกรัมต่อเปเปอร์ดิสต์

Permana และคณะ (2001) ได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของ atrovirinone และ atrovirisidone ที่สกัดด้วยเมทานอลจากรากของส้มแขก พบว่าสารทั้งสองมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* และ *S. aureus* อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *E. coli*, *Aspergillus ochraceus*, *Candida albicans* และพบว่าสารสกัดจากราก ใบ ลำต้น และเปลือกลำต้น ยกเว้นผลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าค่ามาตรฐานของสารต้านอนุมูล α-tocopherol มากกว่าร้อยละ 95 พบสารต้านเนื้องอก ในระยะส่งเสริม ใน ผล ใบ ลำต้น และเปลือกลำต้น และณฐนนท์ ตราชู (2545) พบว่าสารสกัดของผลส้มแขกตากแห้ง สามารถเกิ ดกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ เมื่อความเข็มข้นมากขึ้น การเกิดสารต้านอนุมูลอิสระก็จะมากตามไปด้วย แต่อรุณพร อิฐรัตน์ และคณะ (2543) ได้ศึกษา

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากผลส้มแขก ในชั้นน้ำ pectin, sodium salt, calcium salt สารสกัดในชั้น ethanol และสารสกัดในชั้นน้ำของกากที่เหลือจากการสกัดด้วย ethanol พบว่าสารสกัดทุกรูปแบบไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ระดับ ความเข้มข้นสูงสุด 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 1-7) เมื่อทดสอบด้วยวิธี ดีพีพีเอช (1,1-diphenyl -2- picrylhydrazyl ; DPPH) Radical Scavenging Assay, ไม่มีฤทธิ์ Antimicrobial ต่อเชื้อ *S.arueus* สายพันธุ์ดื้อยา Methicillin และเชื้อ *Shigella sonnei* ที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (1,000 ไมโครกรัมต่อแผ่น) เมื่อทดสอบด้วยวิธี Agar Diffusion Method แต่มีฤทธิ์ Cytotoxic เมื่อทดสอบด้วยวิธี Brine Shrimp Lethality Bioassay (LC_{50} < 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยเฉพาะสารสกัดในชั้น เอทานอล มีฤทธิ์ Cytotoxic มากที่สุด โดยมีค่า LC_{50} = 8.36 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 1-7 ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดส้มแขก (*G. atroviridis)*

สารสกัดจากส่วนของพืช	ฤทธิ์ทางชีวภาพ	อ้างอิง
ผล	-ไม่มีฤทธ์ Antioxidant ที่ความเข้มข้น ต่ำกว่า 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร -ไม่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร -มีฤทธิ์ cytotoxic	อรุณพร อิฐรัตน์ และคณะ (2543)
ใบ ผล ราก ลำต้นและเปลือกลำต้น	-ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* B28, *Bacillus subtilis* B29, MRSA, *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa* UI 60690 -ต้านอนุมูลอิสระ -มีสารต้านเนื้องอกในระยะส่งเสริม	Mackeen *et al*., (2000); Permana *et al*., (2001)
ใบและผล	-ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C.herbarum*	
ผลแห้ง	-ต้านอนุมูลอิสระ	ณฐนน ตราชู (2545) Krishnaiah *et al*., (2011)

2.5 การทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากพืช

วิธีทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพร มีทั้งวิธีการทดสอบในเชิงคุณภาพและวิธีการทดสอบในเชิงปริมาณ ดังนี้ (ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชรและคณะ, 2551)

2.5.1 วิธีการแพร่ (Diffusion method)

วิธีการแพร่นี้อาจแบ่งออกได้เป็น 2 วิธีคือ disc diffusion test และ hole–plate diffusion

1) วิธี disc diffusion method วิธีที่ใช้แพร่หลายมากที่สุด เนื่องจากสะดวกประหยัดและใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่นๆ วิธีนี้เป็นการทดสอบในเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลได้ว่า เชื้อมีความไวต่อสารทดสอบหรือไม่ แต่ไม่อาจบอกค่า MIC (Minimum Inhibitory Concentration) หรือ MBC (Minimun Bactericidal Concentration) ได้ ไม่เหมาะในการทดสอบเชื้อที่เจริญ ช้า และเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้อากาศในการดำรงชีพ หลักการทั่วไป คือ วางแผ่นเปเปอร์ดิส (paper disc) ที่มีสารทดสอบลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (อาหารเลี้ยงเชื้อ นี้จะต้อง กระจายเชื้อ (spread)ในปริมาณที่เหมาะสมไว้แล้ว) สารทดสอบบน paper disc จะแพร่จากแผ่น paper disc ไปสู่อาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งการแพร่นี้จะนำสารเคมีไปสู่บริเวณอาหารเลี้ยงเชื้อรอบแผ่น paper disc ความสามารถในการละลายของสารทดสอบและขนาดของโมเลกุลของสารทดสอบจะมีผลต่อการแทรกซึมของสารทดสอบรอบแผ่น paper disc เชื้อจุลินทรีย์ไม่ สามารถเจริญรอบแผ่น paper disc จะเรียกว่า zone of inhibition หรือ clear zone สามารถทดสอบได้โดยการกระจายเชื้อทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ วาง paper disc ซึ่งมีสารทดสอบที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อที่กระจายเชื้อไว้แล้ว นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อแบคทีเรียและ 48 ชั่วโมงสำหรับเชื้อรา

2) วิธี hole–plate diffusion หรือการเจาะหลุม ใช้วิธีเดียวกับ disc diffusion test (Brantner *et al*., 1994) แต่ทำโดยการเจาะหลุมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร แล้วหยดสารละลายสมุนไพรลงไปในแต่ละหลุมแล้วนำไป บ่มเพาะเชื้อเช่นเดียวกัน วัดผลโดยการวัดวงใส (clear zone หรือ zone of inhibition) ที่เกิดขึ้น ความกว้างของ clear zone ที่เกิดขึ้นจะแสดงถึงความสัมพันธ์ของความไวของเชื้อทดสอบ ต่อสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งการรายงานผลจะรายงานผลการทดสอบดังนี้ (Davidson and Branen, 1993)

- Susceptibility เชื้อมีความไวต่อการทดสอบ (เส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone มากกว่า 30 มิลลิเมตร)

- Intermediate เชื้อมีความไวต่อสารทดสอบปานกลาง (เส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone15- 30 มิลลิเมตร)

- Resistant เชื้อต้านทานสารทดสอบ (เส้นผ่านศูนย์กลางข อง clear zone น้อยกว่า 15 มิลลิเมตร)

อรุณพร อิฐรัตน์ และคณะ (2543) ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดส้มแขกที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรทดสอบเชื้อ *S. arueus* สายพันธุ์ดื้อยา methicillin และเชื้อ *Shigella sonnei* พบว่าไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญขอ งเชื้อได้ โดยด้วยวิธี Agar Diffusion Method (Disc Diffusion Method)

Permana และคณะ (2001) ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบ benzoquinone atrovirinone และ depsidone atrovirisidone ที่สกัดได้จากรากของส้มแขกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. arueus*, *B. cereus, E.coli* ด้วยวิธี disk diffusion method โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 10 ไมโครกรัมต่อแผ่น ขนาดเส้นผ่า นศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร พบว่าสามารถต้านการเจริญของเชื้อ *S. arueus* และ *B. cereus* ได้

2.5.2 วิธีการเจือจาง (Dilution method)

วิธีนี้เป็นการทดสอบในเชิงปริมาณ สามารถบอกค่าความเข้มข้นของสารที่ต้านและทำลายเชื้อได้ นิยมใช้ทดสอบเชื้อที่เจริญได้ช้า ใช้ทดสอบยืนยันผล วิธี diffusion method ที่ให้ความไวปานกลางหรือดื้อยา เพื่อว่าจะสามารถใช้สารสกัดสมุนไพรนั้นในจำนวนสูงๆ ได้ และใช้ทดสอบความไวของเชื้อจุลินทรีย์ ที่ไม่ใช้อากาศในการดำรงชีพ การทดสอบนี้แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือแบบที่ใช้อาหารเหลว และแบบที่ใช้อาหารวุ้น (Baron and Finegold, 1990) หลักการโดยทั่วไปของวิธีทดสอบแบบ ใช้อาหารเหลว และแบบ ที่ใช้อาหารวุ้น จะคล้ายคลึงกัน คือ จะเจือจางสารสกัดสมุนไพรใน อาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ได้ความเข้มข้น ต่างๆ จากนั้นจึงใส่เชื้อลงใน หรือ บน อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสมุนไพร ภายหลังการบ่มเพาะ ให้ดูค่า MIC ทั้งนี้โดยสังเกตความขุ่นหรือใสของ อาหารเหลว และมีหรือไม่มีเชื้อเจริญขึ้นบนอาหารวุ้น

1)วิธีการเจือจางในอาหารวุ้น (Agar dilution method)

วิธีการเจือจางในอาหารวุ้ น เป็นวิธีมาตรฐานในการทดสอบความไวของเชื้อแบบปริมาณวิเคราะห์โดยการ เจือจางสารทดสอบในอาหารวุ้น และถ่ายเชื้อลงบนผิวของอาหารวุ้น เป็นจุด เป็นวิธีที่เหมาะสมกับการทดสอบเชื้อจำนวนมาก ข้อดีของวิธีนี้คือสามารถทำการทดสอบเชื้อหลายชนิดบนอาหารจานเดียวกันได้ ตรวจผลโดยดู การเจริญของเชื้อ ความเข้มข้นของสารทดสอบที่ทำให้เชื้อไม่เจริญถือว่าเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารนั้นในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ MIC และความเข้มข้นต่ำสุดของสารนั้นในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์คือค่า MBC

เอกรินทร์ ภัทรธนวดี (2550) ได้ศึกษาการสกัดเครื่องเท ศของไทย คือ กระชาย ขิง ข่า และขมิ้นชัน เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหารทดสอบด้วยวิธี agar dilution พบว่าสารสกัดจาก

กระชายและขิงสามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus flavus*, *Aspergillus paraciticus*, *Aspergillus niger,* และ *Fusarium oxysporum* ให้ค่า MIC ในช่วงมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 10 ปริมาตรต่อปริมาตร

2) วิธีการเจือจางในอาหารเหลว (Broth dilution method)

การเจือจางในอาหารเหลว วิธีการนี้สามารถแบ่งเป็น macrodilution (tube test) และ microdilution (dilution test)

Broth Macrodilution test จะทำในหลอดทดลอง โดยทำการเจือจ างสารสกัดสมุนไพร stock solution ด้วยตัวเจือจาง หรือด้วย อาหารเหลว ในลักษณะลดลงทุก 2 เท่า (2-fold serial dilution) ไปเรื่อยๆ ปริมาตรสุดท้ายที่อยู่ในหลอด เท่ากับ 0.5 มิลลิลิตร และต้องมีหลอดควบคุมที่ไม่มีสารสกัดสมุนไพรด้วย การเตรียมเชื้อที่ทดสอบให้ได้ ปริมาณเชื้อตามต้องการ โดยอาจใช้วิธีเทียบความขุ่นกับ สารละลายแบเรียมซัลเฟต (McFarland) เบอร์ 0.5 หรืออาจใช้การวัดความขุ่นด้วย spectrophotometer แล้วเจือจางลงเพื่อให้ได้ขนาดเชื้อที่ ต้องการ Broth Microdilution test ทำใน microtiter plate 96-well โดยเจือจาง stock solution ด้วยอาหารเหลว แบบลดลงทุก 2 เท่า มีหลุมควบคุมเป็น อาหารเหลว ที่ไม่มีสารสกัดสมุนไพร ด้วย จากนั้นใส่เชื้อที่ปรับ ปริมาณเชื้อแล้ว (ประมาณ 10^6 ซีเอ็ฟยู/มิลลิลิตร) ลงในแต่ละหลุมแล้วปิดฝาก่อนนำไปบ่มเพาะ อ่านค่า MIC ด้วยการสังเกตด้วยสายตา ดูความขุ่น หรือ อาจใช้สาร บางอย่างที่สามารถบ่งชี้การเจริญของเชื้อได้ เพื่อให้อ่านค่า ได้ง่ายขึ้น เพื่อลดการรบกวนการอ่านผลเนื่องจากสีและความขุ่นของสมุนไพรบางชนิด ในการดูความขุ่นด้วยตาเปล่า

การทดสอบ ค่า MBC จะทำต่อเนื่องจากการหาค่า MIC ซึ่งนิยมทำจาก broth dilution test โดยการ subculture เชื้อจาก broth ที่ไม่มีเชื้อขึ้นตั้งแต่ช่วงค่า MIC ขึ้นไป streak บน agar plate เพื่อให้เปรียบเทียบได้ชัดขึ้น ควรเพาะจากหลอด ควบคุม ที่ไม่มีสมุนไพรด้วย จากนั้น นำ plate ไปบ่มแล้วดูการเจริญของเชื้อเพื่ออ่าน MBC โดยที่ความเข้มข้น ดังกล่าวจะต้องไม่มีเชื้อขึ้น หรือเกือบไม่มีเชื้อขึ้น (ร้อยละ 99.9 ของเชื้อถูกฆ่า)

ทิวาพร พรหมรัตน์ (2549) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดขมิ้นชันต่อเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 10 ชนิดคือ *Staphylococcus simulans, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus capitis, Staphylococcus auricularis, Staphylococcus lugdunensis*, *E. coli* TISTR 780, *E. coli* O157:H7, *E. coli* TISTR 073, *E. coli* TISTR 074 และ *Salmonella* spp. ด้วยวิธี Broth dilution method พบว่าปริมาณสารสกัดของขมิ้นชั้นที่ ความเข้มข้น 0.064 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้ง 10 ชนิดได้

2.6 ลักษณะของเชื้อที่ใช้ทดสอบ

2.6.1 *Staphylococcus aureus*

เชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียรูปร่างทรงกลม ติดสีกรัมบวก มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 ไมโครเมตร โคโลนีมีสีเหลืองทอง เรียงตัวเป็นกลุ่มๆทำให้ดูเหมือนพวงองุ่น แต่พบเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ และเป็นสายสั้นๆ (โดยมากไม่เกิน 4 เซลล์) ปะปนอยู่ด้วยเสมอ เชื้อ ชนิดนี้ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนไหว ส่วนใหญ่ไม่มีแค ปซูล เจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 35-40 องศาเซลเซียส พบได้ทั่วไปบนร่างกายโดยจะพบมากที่เยื่อบุจมูก อวัยวะเพศ และผิวหนังที่เปิดเป็นแผล (Chambers, 2001) ประมาณร้อยละ 30-50 ของเชื้อนี้จะ สารพิษ enterotoxin เป็นสาเหตุ ของ โรคอาหารพิษ ซึ่งติดต่อโดย การรับประทานอาหารที่ปนเปื้อน สารพิษ enterotoxin เข้าไป สารพิษนี้มีคุณสมบัติพิเศษ คือ ทนต่อความร้อนได้ดีมาก แม้จะต้มให้เดือดนาน 30 นาที สารพิษก็ยังไม่ถูกทำลาย อาหารที่มีเชื้อและสารพิษปนเปื้อนอยู่จะไม่มีกลิ่น สี หรือ รสผิดปกติไป ผู้ป่วยจะเกิดอาการของอาหารเป็นพิษขึ้น หลังจากรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไปประมาณ 1-6 ชั่วโมง โดยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และ ท้องเดิน ส่วนมากไม่มีไข้ ในรายรุนแรงอาจช็อคได้ แต่ส่วนใหญ่อาการจะดีขึ้นใน 8-24 ชั่วโมง อาการและความรุนแรงของโรคขึ้นกับจำนวนสารพิษที่รับประทานเข้าไป (ประภาวดี ติษยาธิคม, 2550)

2.6.2 *Escherichia coli*

เชื้อ *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง เป็นแบคทีเรีย ที่พบได้ทั่วไปในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น เจริญได้ดีทั้งสภาพที่มีและไม่มีอ ากาศ ส่วนใหญ่ ไม่เป็นอันตรายมีบางสายพันธุ์เท่านั้น ที่ทำให้เกิดโรครุนแรง การติดเชื้อ *E.coli* มักจะมาจากการบริโภคน้ำหรืออาหาร ที่ปนเปื้อนเชื้อ เช่นเนื้อสัตว์ น้ำนมดิบ (World Health Organization, 2012a) ผู้ติดเชื้อจะมีอาการท้องเสีย ถ่ายอุจจาระเป็นน้ำ หรืออาการลำไส้ใหญ่อักเสบมีเลือดออก ถ่ายเป็นเลือดสด ไม่มีไข้หรือมีไข้ต่ำ แต่ผู้ติดเชื้อบางรายอาจไม่แสดงอาการของโรคแต่สามารถถ่ายทอดเชื้อให้ผู้อื่นได้ (อรอนงค์ รัชตราเชนชัย, 2549)

2.6.3 *Salmonella*

Salmonella เป็นแบคทีเรีย แกรมลบรูปท่อน ไม่สร้างสปอร์ มีขนาด 0.7 - 1.5 ไมโครเมตร ยาว 2.0 - 5.0 ไมโครเมตรเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน และไร้ออกซิเจน ไม่สร้างแคปซูล เคลื่อนที่ด้วย แฟลกเจลล่า (flagella) ที่ยาว โดยมีอยู่รอบเซลล์ยกเว้นสายพันธุ์ *S. pullorum* และ *S. gallinarum* เจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิในระหว่าง 8-45 องศาเซลเซียส ในอาหารที่มีความเป็นกรดด่างระหว่าง 4-9 เป็นเชื้อที่ไม่ทนทานต่อความร้อน จะถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หรือ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 - 20 นาที อุณหภูมิที่ต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส ไม่

สามารถทำลายเชื้อนี้ได้ เพียงแต่ไปยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่านั้น เชื้อนี้เป็นสาเหตุของ โรคอาหารเป็นพิษที่พบได้บ่อยที่สุด อาหารที่ปนเปื้อนแบคทีเรียชนิดนี้ จำนวนเพียงเล็กน้อย สามารถทำให้เกิดการเจ็บป่วยได้ อาหารที่มักจะมีเชื้อ *Salmonella* ปนเปื้อนมักมาจากสัตว์ เช่นเนื้อสัตว์ดิบ/ปรุงไม่สุก หรือซากเป็ดไก่ ไข่ดิบ ผลิตภัณฑ์ที่มีไข่ดิบ นมดิบหรือนมที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อ ผักบางชนิด (World Health Organization, 2012b) และการใช้น้ำที่สกปรกในการทำการเกษตรหรือใช้ล้างอาหารสดสามารถ ทำให้เกิดการปนเปื้อน เชื้อชนิดนี้ ได้เช่นกัน (Silva, 2012) การติดเชื้อ *Salmonella* สามารถส่งผ่านระหว่างคน และระหว่างคนกับสัตว์ได้ เชื้อ *Salmonella* ทุกสายพันธุ์ล้วนก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วง (*Salmonellosis*) ได้ทั้งสิ้น ยกเว้น *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi A, B และ C ทำให้เกิดโรค ไข้ไทฟอยด์ (อรุณ บ่างตระกูลนนท์, 2550) การติดเชื้อ *Salmonella* ในคนสามารถแบ่งได้ 2 กลุ่มคือ

1)การติดเชื้อในทางเดินอาหาร

การติดเชื้อในทางเดินอาหาร จะแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีอาการและกลุ่มที่เป็นพาหะ กลุ่มที่มีอาการ ผู้ป่วยส่วนใหญ่จะมีอาการถ่ายอุจจาระน้อยกว่า 10 ครั้ง/วัน และอาจจะมีไข้ร่วมด้วย ลักษณะอุจจาระส่วนใหญ่จะเหลวมีน้ำและมูกปน ออกครั้งละมากๆ กลุ่มที่เป็นพาหะของเชื้อ ผู้ป่วยจะเป็นพาหะของเชื้อในลำไส้อยู่ได้เป็นเวลานาน และสามารถแพร่เชื้อให้ผู้อื่นหรือสิ่งแวดล้อมได้ เช่น เชื้อ *Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium*

2)การติดเชื้อนอกทางเดินอาหาร เกือบทั้งหมดเป็นการติดเชื้อใน ลำไส้ มักเกิดกับผู้ที่มีภูมิต้าน ทานบกพร่อง ทารก และคนแก่ เป็นการติดเชื้อเฉพาะที่ที่อวัยวะต่าง ๆ ซึ่งเกือบทั้งหมดมาจากทางเดินอาหารเข้าสู่กระแสเลือดไปยังตำแหน่งนั้น ๆ ได้แก่ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ การติดเชื้อของกระดูกและข้อ การติดเชื้อของทางเดินปัสสาวะ ปอดอักเสบ เป็นต้น (อรุณ บ่างตระกูลนนท์, 2550)

2.6.4 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก รูปแท่งตรง สามารถเคลื่อนที่และสร้างเอนโดสปอร์ เจริญได้ดีทั้งสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน เป็นแบคทีเรียที่พบในธรรมชาติเช่น ดิน น้ำ อากาศ และพืช (Schoeni and Lee Wong, 2005) ทำให้สามารถปนเปื้อนในอาหารได้ง่าย เป็นเชื้อที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ (Helgason *et al*., 2000) การเกิดโรคอาหารเป็นพิษจะ เกิดจากการที่เซลล์แบคทีเรียเข้าสู่ร่างกายแล้วสร้างสารพิษขึ้น หรืออาจเกิดจากสารพิษที่แบคทีเรียสร้างขึ้นในอาหารที่รับประทานเข้าไป (Stenfors Arnesen *et al*., 2008) ผู้ป่วยจะมีอาการอาเจียน หรืออุจจาระร่วง หรือทั้ง 2 อาการร่วมกัน ซึ่งมักจะพบการปนเปื้อน เชื้อ *Bacillus cereus* ในอาหารประเภทแป้ง ข้าว ขนมหวาน เนื้อสัตว์ ผัก และนม (Todar, 2006)

2.7 ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือ (Hand cleanser)

ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด มือ มักมีการใช้สารถนอมผิว เช่น สารทำความสะอาด (Toners) หรือ สารให้ความชุ่มชื้น (Moisturizers) และสารทำความสะอาด เพื่อขจัดเอาสิ่งสกปรกที่ต้องสัมผัสประจำวันออกไป อาจผลิตขึ้นในรูปของเพสท์ ครีม เจล โลชั่นหรือสบู่เหลว โดยมีส่วนประกอบคือ สารทำความสะอาด สารเพิ่มความหนืด ตัวทำอีมัลชันและน้ำ อาจมีการเติมสาร เพื่อหล่อลื่นผิว (Emollient) เช่น Lanolin, Ethoxylated Lanolin, Myristyl Myristate และ Propylene Glycol ซึ่งเป็นสารที่สามารถขจัดคราบน้ำมันและสารละลายอินทรีย์ต่างๆ ได้ดี โดยไม่ทำให้ระคายเคืองเมื่อใช้บ่อยๆ ในขณะที่การใช้สบู่อาจก่อให้เกิดการระคายเคืองได้ (สถาบันบำราศนราดูร, 255) นอกจากนี้อาจมีการเติมสารฆ่าเชื้อ สารสมานแผล สารดูดซับสิ่งสกปรก (Keratolytic) ลงไปเพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีคุณสมบัติพิเศษออกไป ให้ตรงกับความต้องการในการใช้ เช่น กรณีที่มีบาดแผล และมีสิ่งสกปรก เช่น ดิน เข้าไปในบาดแผลนั้น หรือกรณีที่มีการอักเสบ หรือการแพ้เกิดขึ้น (พิมพร ลีลาพรพิสิฐ, 2552)

2.7.1 สารที่มีฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ล้างมือ

ผลิตภัณฑ์ ที่ใช้ทำความสะอาด ในภาษาอังกฤษมีหลายคำ เช่น Antiseptic, Antibacterial และ Antimicrobial ในผลิตภัณฑ์ล้างมือคำเหล่านี้ให้ความหมายเดียวกันคือ สารที่มีฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ที่ผสมอยู่ในผลิตภัณฑ์ล้างมือ ซึ่งสารที่นิยมใช้กันมีดังนี้คือ

1) แอลกอฮอล์ ช่วยในการฆ่าเชื้อโรคได้หลากหลายชนิด มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโรคได้กว้าง ทั้งเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และเชื้อไวรัส สามารถป้องกันได้ทันทีหลังการใช้และป้องกันได้ในระยะเวลานาน (เข้มข้นร้อยละ 70) แอลกอฮอล์สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เชื้อวัณโรค เชื้อราและไวรัสบางชนิดได้ แต่ไม่สามารถ ทำลาย สปอร์ของเชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส และเชื้อราบางตัวได้ (สถาบันบำราศนราดูร, 2551) แอลกอฮอล์ที่นิยมใช้กันคือ เอทานอล และ Iso-propanol ในระดับความเข้มข้นร้อยละ 62- 72 ซึ่งเป็นที่นิยมใช้ทางศัลยศาสตร์ มีข้อเสียคือ ทำให้ผิวแห้งจากการสูญเสียชั้นน้ำมัน อาจเกิดการแพ้ได้ง่าย เมื่อผสมทำเจลล้างมือ มีข้อเสียคือการเป็นสารระเหยง่าย (Volatile material) และติดไฟได้ง่าย (Highly flammable) มีจุดวาบไฟประมาณ 20 องศาเซลเซียส จุดวาบไฟคืออุณหภูมิที่ทำให้ของเหลวระเหยเป็นไอในปริมาณมากพอที่จะทำให้เกิดการลุกไหม้ได้เมื่อมีสะเก็ดไฟ จะเห็นว่าจุดวาบไฟของเจลล้างมือมีค่าค่อนข้างต่ำ คือมีค่าน้อยกว่าอุณหภูมิทั่วไปของอากาศในประเทศไทยเสียอีก ดังนั้นเจลล้างมือจึงมีความเสี่ยงในการติดไฟสูง (Gerberding, 2002)

2) ไอโอดีน และไอโอโดฟอร์ (Iodine และ iodophors) สารไอโอโดฟอร์ เป็นส่วนผสมระหว่าง ไอโอดีน และ Solubilizing agent ใช้เป็น Aantiseptic และ Disinfectant ที่นิยมใช้มากที่สุดในปัจจุบันคือ โพวีโดนไอโดดีน (Povidone-iodine) หรือเบต้าดีน (Betadine) ซึ่งเป็นส่วนผสมของ Polyvinylpyrolidone (PVP) และ ไอโอดีน-ไอโอโดฟอร์ มีส่วนผสมของไอโอดีนแต่ไม่รุนแรงต่อผิวหนังเท่ากับทิงเจอร์ไอโอดีน ไอโอโดฟอร์ เมื่อผสมกับสารฟอกล้าง จะใช้เป็นน้ำยาสำหรับล้างมือ ซึ่งไม่สามารถทำลายเชื้อบนผิวหนังทั่วไปได้ (ธนพร กาวีวน, 2553) มักใช้ในผลิตภัณฑ์ดูแลความสะอาดส่วนบุคคล และ ผลิตภัณฑ์ล้างมือก่อนการผ่าตัด ในการผสมไอโอดีนเพื่อใช้เป็นน้ำยาทำลายเชื้อระดับกลางหรือระดับสูง ความเข้มข้นของปริมาณไอโอดีนอิสระจะต้องเป็นอย่างน้อย 450 ส่วนใน 1 ล้านส่วน สารกลุ่มนี้ถึงแม้ประสิทธิภาพสูงในการทำลายจุลินทรีย์ แต่มีผลก่อการระคายเคืองและการแพ้ได้ (Boyce and Pittet, 2002)

3) ไทรโคลซาน (Triclosan)ไทรโคซานเป็นสารต้านจุลินทรีย์ มีฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ได้ในวงกว้างทั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบ ใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ดูแลผิวหนังและช่องปาก เป็นสารกันบูดในยาที่ใ ช้น้ำเป็นตัวทำละลาย และใช้ในงานสิ่งทอ และพลาสติดบางชนิด ในเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ดูแลส่วนบุคคล ไทรโคลซานสามารถใช้เป็นสารกันบูดในน้ำตามสูตรของโลชั่น โลชั่นหลังโกนหนวด ผลิตภัณฑ์อาบน้ำ ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด สเปรย์เท้า ผลิตภัณฑ์ปรับแต่งทรงผม เครื่องสาอาง แป้ง แชมพู ผลิตภัณฑ์โกนหนวด ครีมบำรุงผิว และครีมกันแดด ไทรโคลซานสามารถพบได้ในผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกาย เช่น ในสเปรย์ระงับกลิ่นกาย สเปรย์เท้าและผลิตภัณฑ์รักษาความสะอาดส่วนบุคคล ในยาสีฟัน ผลิตภัณฑ์ซักล้าง ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดร่างกายน้ำยาทำความสะอาดบาดแผล (Boyce and Pittet, 2002)

องค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (Food and Drug Administration, FDA) อนุญาตให้ใช้ไทรโคลซานในสบู่ที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และน้ำยาฆ่าเชื้อแบคทีเรียใน การเย็บแผลผ่าตัด และน้ำยาทำความสะอาดช่องปากก่ อนผ่าตัดทางทันตกรรม ในยุโรปอนุญาตให้ใช้ไทรโคลซานเป็นสารกันบูด สำหรับ ในเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ดูแล ความสะอาด ส่วนบุคคลที่มีความเข้มข้นสูงสุดไม่เกินร้อยละ 0.3 (Cosmeticsinfo n.d.):online)

4) สารสกัดจากพืช สารสกัดจากพืชหลายชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆได้ โดย Mackeen และคณะ (2000) ได้สกัดสารจาก ส่วนต่างๆ ของต้นส้มแขก (*G. atroviridis*) ได้แก่ ใบ ผล ราก ลำต้นและเปลือกลำต้น มาทดสอบกับจุลินทรีย์ จำนวน 10 ชนิดคือ *Bacillus subtilis* B28 , *Bacillus subtilis* B29, MRSA, *E. coli*, Pseudomonas *aeruginosa* UI 60690, *Candida albicans*, *Aspergillus ochraceous* ATCC 398, *C. herbarum*, *Fusarium moniliforme* และ *Alternaria* sp. พบว่าสารสกัดหยาบ ของส้มแขกมีฤทธิ์เป็นสารต้านจุลชีพ อย่างเด่นชัด โดยเฉพาะ

สารสกัดจากราก ซึ่งมีค่า MIDในการยับยั้งแบคทีเรียที่ทดสอบเพียง 15.6 ไมโครกรัมต่อแผ่น (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) การต้านเชื้อรา พบว่า สารสกัดจากผลไม้และใบ มีค่าการยับยั้งเชื้อราอย่างมีนัยสำคัญ ต่อเชื้อ *C. herbarum*

อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ และคณะ (2548) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมังคุดใน การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 5 ชนิด คือ เชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Propionibacterium acnes* เชื้อยีสต์ *Candida albicans* และเชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes* พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดสด ที่สกัดเย็นด้วยเอทานอล ให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. acnes*. และ *T. mentagrophytes* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุด 128 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาได้แก่ *P.acnes* ค่าความเข้มข้นต่ำสุด 256 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร *S. epidermidis* ค่าความเข้มข้นต่ำสุด 4,096 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ *T. mentagrophytes* ค่าความเข้มข้นต่ำสุด 8,192 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร

สริตา ภาคพิเศษ (2551) ศึกษาประสิทธิภาพของ น้ำมันหอมระเหยอบเชย กานพลู ข่า โหระพา และ ขมิ้นชัน ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชย มีค่าต่ำที่สุดในการ ยับยั้งเชื้อ *S. aureus, S. epidermidis, Salmonella* spp. และ *E. coli* 0157:H7 เท่ากับ 0.9, 1.4, 1.6 และ 1.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งจะเห็นได้ว่าพืชหลายชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆได้ดี ที่ปริมาณขนาดการใช้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น

Nwaokorie และคณะ (2010) ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Fusobacterium nucleatum* และไบโอฟิล์มในช่องปากโดยใช้สารสกัดจากเปลือกและเมล็ดของ *Garcinia Kola* ที่สกัดด้วยเมทานอลและน้ำ พบว่าสารสกัดจากเมล็ด สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ 1.25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.7.2 ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากพืช

การศึกษาและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากพืช จากรายงานของ ณิชากร เจริญกุล และคณะ (2548) ได้สกัดสารจากพลูมาทำเจลทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของ สารสกัดพลู ไตรโคลซาน น้ำหอม และแอลกอฮอล์ (ร้อยละ 45) พบว่าผลิตภัณฑ์เจลทำความสะอาดมือ สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสูตรพื้นฐานในท้องตลาด ทิวาพร พรหมรัตน์ (2549) ได้ทดลอง นำขมิ้นชัน มาทำผลิตภัณฑ์ทำ ความสะอาดมือแบบไม่ใช้น้ำ โดยใช้สารสกัดจากขมิ้นชันร้อยละ 0.0064 ร่วมกับสารอื่นๆ ในเจลล้างมือ พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียบนมือได้ ร้อยละ 99 ในการล้างครั้งแรก และลดแบคทีเรียได้ ร้อยละ 100 เมื่อล้างซ้ำเป็นครั้งที่ 2 มีการใช้น้ำมันหอมระเหย จากต้น ทีทรี ในปริม าณร้อยละ 5 ทำสบู่เหลวล้างมือ พบว่า

สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ (มันธนา ศรีสวัสดิ์ , 2550) และมีการนำน้ำมันหอมระเหยของอบเชย มาใช้ในการทำผลิตภัณฑ์โฟมล้า งมือ โดยใช้น้ำมันหอมระเหยอบเชย ปริมาณร้อยละ 0.16 พบว่า สามารถลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียบนมือได้ร้ อยละ 100 ในการล้างมือตั้งแต่ครั้งที่ 2 (สริตา ภาคพิเศษ , 2551) ในปี พ.ศ. 2552 มีรายงานการทำเจลล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกมังคุด และใบฝรั่ง ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย ซึ่งเป็นผลงานของสำนักวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง (เอเอสทีวีผู้จัดการออนไลน์, 2552:ออนไลน์) ซึ่งจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากพืชสามารถลด และยับยั้งจุลินทรีย์ได้

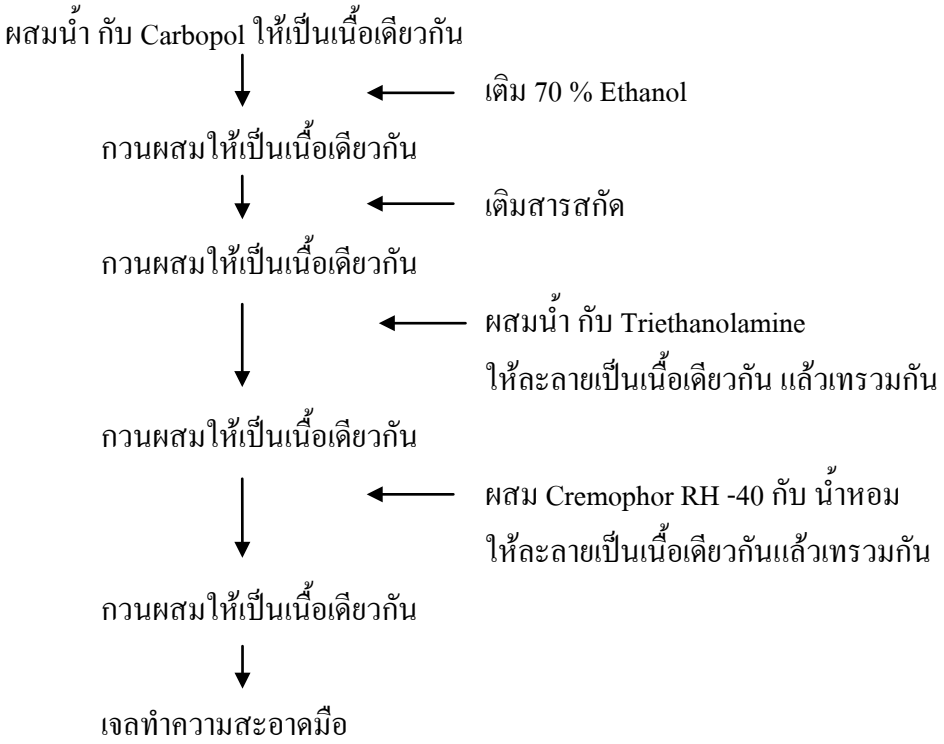
2.7.3 เจลล้างมือ

เจลล้างมือเป็นผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือแบบหนึ่ง ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย ใช้ง่ายและสะดวกในการพกพา มีส่วนประกอบที่สำ คัญ 2 ส่วนคือ ส่วนของสารออกฤทธิ์ (Active Ingredient) เป็นสารที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ เช่น เอธานอล ไตรโคซาน หรือสารสกัดจากพืช ซึ่งออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อต่าง ๆ ได้ทั้งแบคทีเรียและอนุภาคไวรัส ส่วนที่สอง คือส่วนที่ทำให้เกิดเจล (Gelling agent) (ศักดิ์ชัย ฟู่สกุล , 2552) สารที่ทำให้เกิดเจลมีหลายชนิด เช่น Sodiun alginate, Tragacanth, Pectin, Gelatin, Carbomer การเลือกใช้สารก่อเจลจะเลือกตามวัตถุประสงค์ของการใช้ เช่นใช้เป็นยารักษา ใช้เป็นยาชาเฉพาะที่ และใช้เป็นสารหล่อลื่น เป็นต้น เจลล้างมือที่ใช้ในปัจจุบันนิยมใช้ Carbomer เป็นสารก่อเจล (ทิวาพร พรหมรัตน์, 2549) เนื่องจากเจลที่เตรียมได้จะใส ไม่เป็นอันตราย ไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ เข้ากันได้กับ สารเคมีหลากชนิด เมื่อทาบนผิวหนังจะให้แผ่นฟิล์มบาง สังเกตไม่เห็น และไม่แตกเป็นเกล็ด (ศักดิ์ชัย ฟู่สกุล , 2552) นอกจากส่วนประกอบ 2 ส่วนนี้แล้ว เจลล้างมือยังมีสารอื่นที่เติมลงไปเ พื่อให้น่าใช้ยิ่งขึ้น (ตารางที่ 1-8) เช่นสารแต่งกลิ่น (น้ำหอม น้ำมันหอมระเหยจากพืช) สารให้ความชุ่มชื้ น (Triethanolamine, Propylene glycol, Glycerin) สี ใช้สีผสมอาหาร หรือสีธรรมชาติจากสารสกัด (พิมพร ลีลาพรพิสิฐ , 2552) ซึ่งในการผลิตเจลล้างมือที่ผสมสารสกัดจากธรรมชาติ มีรายงานของทิวาพร พรหมรัตน์ (2549) ได้แสดงส่วนประกอบ และขั้นตอนในการผลิต รายละเอียดในตารางที่ 1-8 และภาพที่ 1-3

ตารางที่ 1-8 ส่วนประกอบของสูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์เจลทำความสะอาดมือ

Phase	สารเคมี	หน้าที่	ร้อยละ (w/w)
A	น้ำ	ตัวทำละลาย	40.43
	Carbopol	สารก่อเจล	0.45
B	70% Ethanol	ฆ่าเชื้อและเป็นตัวทำละลาย	46.40
	สารสกัดขมิ้นชัน	ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย	0.0064
C	น้ำ	ตัวทำละลาย	10.77
	Triethanolamine	ปรับ pH ให้เป็นกลาง	0.45
D	Cremophor RH -40	ตัวทำละลายน้ำหอม	1
	น้ำหอม	สารแต่งกลิ่น	0.50

ที่มา : ทิวาพร พรหมรัตน์ (2549)

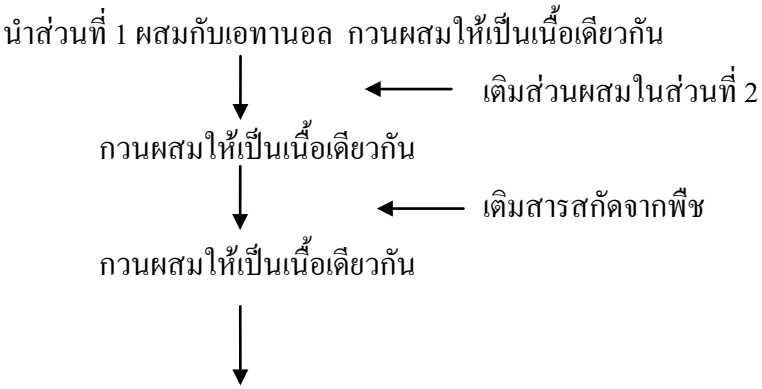


ภาพที่ 1-3 ขั้นตอนวิธีการผลิตผลิตภัณฑ์เจลทำความสะอาดมือ

ที่มา : ทิวาพร พรหมรัตน์ (2549)

ขั้นตอน ในการผลิตเจลล้างมืออาจจะเตรี ยมแตกต่างไปจากนี้ ก็ได้ เช่น งา นวิจัย ของ วรรธกร ช่วยเพ็ญ และคณะ (2551) ซึ่งมีวิธีเตรียมเจลล้างมือดังภาพที่ 1-4

ส่วนที่ 1	ส่วนที่ 2
เตรียม gel base โรย Carbopol ลงในน้ำอุ่นอย่างช้าๆ พร้อมกับคนตลอดเวลาจน Carbopol ละลายหมด พักไว้ หลังจากนั้น ผสม Triethanolamine กับน้ำ กวนให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปผสมกับส่วนที่พักไว้ กวนให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน	ผสมสารแต่งสี กลิ่น สารให้ความชุ่มชื้น และน้ำให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน



ภาพที่ 1-4 ขั้นตอนวิธีการเตรียมผลิตภัณฑ์เจลทำความสะอาดมือ
ที่มา : ดัดแปลงจาก วรรธกร ช่วยเพ็ญ และคณะ (2551)

2.7.4 สเปรย์ทำความสะอาดมือ

สเปรย์ทำความสะอาดมือ เป็นผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือแบบหนึ่งที่นิยมใช้เพื่อฆ่าเชื้อโรคที่ติดอยู่บนมือ ซึ่งมักจะใช้สารละลายแอลกอฮอล์เป็นสารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ แต่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์เป็นส่วนใหญ่ซึ่งมีข้อเสีย คือ ทำให้ผิวหนังแห้ง (Thompson, 2004; สถาบันบำราศนราดูร, 2551) จึงมีการผสมสารเพิ่มความชุ่มชื้น เช่น กลีเซอร์รีน หรือ Triethanolamine เพื่อช่วยให้ผิวชุ่มชื้น และลดการลอกหลุดของเซลล์ผิวหนัง แต่งกลิ่น แต่งสี และนำมาบรรจุในขวดสเปรย์

เพื่อให้สะดวกในการใช้งาน ซึ่งส่วนประกอบหลักของ สเปรย์ทำความสะอาดมือ มีดังนี้ (Thompson, 2004)

1. เอธิลแอลกอฮอล์ (ความเข้มข้นมากกว่า ร้อยละ 70)

2. สารให้ความชุ่มชื้น (กลีเซอรีน Triethanolamine)

3. สารแต่งกลิ่น แต่งสี (กลิ่นสมุนไพร สารสกัดจากพืช)

4. น้ำ

2.8 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือ

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์ ทำความสะอาดมือ ที่ผลิตขึ้น เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการใช้งานจริงสามารถทำได้หลายวิธี

1) Swab test เป็นการตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์บนวัสดุอุปกรณ์และบุคลากร เป็นการตรวจเพื่อยืนยันว่าวัสดุอุปกรณ์มีการดูแลที่สะอาดถูกสุขลักษณะ และบุคลากรไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อน (รวิพรรณ จาวรรณา, 2551)

ชุติมา วิไลพันธ์ (2546) ทำการพัฒนาน้ำยาฆ่าเชื้อที่ปนเปื้อนบนมือแบบสำเร็จรูปสำหรับผู้ประกอบการด้านอาหารจำนวน 110 สูตร พบว่าผลิตภัณฑ์พัฒนาซึ่งมี Triclosan ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพสูง เมื่อศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ ที่พัฒนากับกลุ่มผู้ประกอบการด้านอาหารจำนวน 100 คน จากโรงงานผลิตไก่แช่แข็ง โดยวิธี Swab test พบว่าสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนที่ทำการศึกษาได้ส่วนใหญ่ถึงร้อยละ 100

2) Glove juice method (American Society of Testing Materials, 1997) เป็นวิธีการทดสอบโดยให้ผู้ทดสอบสวมถุงมือยาง ใส่เชื้อที่ใช้ทดสอบและสารสำหรับทดสอบลงในถุงมือ นวดมือตามระยะเวลาที่กำหนด แล้วนำสารละลายที่อยู่ในถุงมือมาทดสอบดูการเจรญิของเชื้อ ก่อนและหลังการใช้ผลิตภัณฑ์

ชุติมา วิไลพันธ์ (2546) ทำการพัฒนาน้ำยาฆ่าเชื้อที่ปนเปื้อนบนมือแบบสำเร็จรูปสำหรับผู้ประกอบการด้านอาหารจำนวน 110 สูตร พบว่าผลิตภัณฑ์พัฒนารหัส 131 ซึ่งมี Triclosan ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพสูง จึงนำไปทดสอบเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ทางการค้าด้วยวิธี Glove juice method พบว่าผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับข้อยอมรับของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (USFDA)

สริตา ภาคพิเศษ (2551)ได้ทดสอบประสิทธิภาพของโฟมล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดสมุนไพร วิธี Glove juice method พบว่าการล้างมือด้วยโฟมที่ผลิตขึ้น 2 ครั้ง สามารถลดจำนวนเชื้อเชื้อแบคทีเรียบนมือได้ ร้อยละ 100

2.9 คุณภาพของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือ

คุณภาพ คือการตอบสนองต่อความต้องการ (needs) และความคาดหวัง (Expectation) ของลูกค้า (Crosby, 1995) เป็นคุณสมบัติทุกประการของผลิตภัณฑ์ และบริการที่ตรงกับความต้องการและความปลอดภัยในการใช้งาน สามารถตอบสนองความต้องการและสร้างควา มพึงพอใจให้กับผู้บริโภค

สำหรับผลิตภัณฑ์ล้างมือมีการควบคุมคุณภาพตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องคือ มอก.152-2539 เครื่องสำอาง (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2539) มอก. 1403-2551 สบู่เหลว (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2551) ซึ่งควบคุมคุณภาพ 3 ด้าน ตามข้อมูลซึ่งแสดงในตารางที่ 1-9

ตารางที่ 1-9 คุณภาพตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ล้างมือ

คุณภาพ	มอก.152-2539	มอก.1403-2551	มผช. 907-2548
ทางกายภาพ	-ต้องมีความคงสภาพ ตลอดอายุการใช้งาน -ไม่ระคายเคือง	-ต้องเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีตะกอนปราศจากสิ่งแปลกปลอมใดๆ	-ต้องเป็นของเหลวหรือของเหลวข้น เป็นเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้นหรือตกตะกอน ปราศจากสิ่งแปลกปลอม -สี และกลิ่น ธรรมชาติ
ทางเคมี	-ไม่มีสารหรือวัตถุต้องห้าม -สารที่อนุญาตให้ใช้ต้องไม่เกินมาตรฐานที่กำหนด	-ส่วนประกอบสารเคมีที่ใช้ต้องไม่เกินมาตรฐานที่กำหนด	- ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.0-8.0
ทางชีวภาพ			
1) จำนวนแบคทีเรีย ยีสต์ และราทั้งหมด (Total colony count)	-น้อยกว่า 1000 โคโลนี/กรัม	-น้อยกว่า 1000 โคโลนี/กรัม	-น้อยกว่า 1000 โคโลนี/กรัม
2) *Coliform bacteria*	-<10/กรัม	-ต้องไม่พบ	
3) *E. coli*	-ต้องไม่พบ	-	
4) *S. aureus*	-ต้องไม่พบ	-ต้องไม่พบ	
5) *Salmonella* spp	-ต้องไม่พบ	-	
6) *Streptococcus* spp.	-ต้องไม่พบ	-	
7) *Clostridium* spp.	-ต้องไม่พบ	-ต้องไม่พบ	
8) *Candida albicans*	-ต้องไม่พบ	-ต้องไม่พบ	
9) *Pseudomonas aeruginosa*	-ต้องไม่พบ	-ต้องไม่พบ	

มผช. : มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มอก.: มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

ที่มา : สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, (2539, 2551); สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, (2553)

3.วัตถุประสงค์การวิจัย

3.1 เพื่อศึกษาชนิดของตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำ และเอ ทานอล ในการสกัดสารที่ให้ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ จากรกหุ้มเมล็ดและเนื้อของผลส้มแขก

3.2 เพื่อศึกษาระยะเวลาในการสกัด และอัตราส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย ที่เหมาะในการสกัด สารที่ให้ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ จากรกหุ้มเมล็ดและเนื้อของผลส้มแขก ที่ใช้ตัวทำละลายที่เลือกได้จากข้อ 3.1

3.3 เพื่อศึกษาการทำผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสม ของสารสกัดหยาบจากส้มแขก

3.4 ศึกษาประสิทธิภาพการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสม ของสารสกัดหยาบจากส้มแขก

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

4.1 ทราบระยะเวลาการบดส้มแขก ที่ให้ผงส้มแขกในขนาดต่างๆตามต้องการ

4.2 ทราบถึงวิธีการและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสาร ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง จุลินทรีย์ จากรกหุ้มเมล็ดและเนื้อของส้มแขก

4.3 ทราบปริมาณในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จากสารสกัดจากส้มแขก

4.4 ได้ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก ที่สามารถลดเชื้อโรคที่มือได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อส่งเสริมสุขภาพและการป้องกันโรคของประชาชน

4.5 เพื่อเป็นการอนุรักษ์พืชท้องถิ่น เพิ่มมูลค่าของส้มแขก และเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อื่นๆ จากส้มแขกต่อไป

บทที่ 2
วิธีการวิจัย

1. วัสดุและอุปกรณ์

วัสดุที่ใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ประกอบด้วย ส้มแขก เชื้อที่ใช้ทดสอบ อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย รวมทั้งสารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ มีรายละเอียดดังนี้

1.1 วัตถุดิบ

ส้มแขกสด ได้จากพื้นที่ ตำบลบางขุนทอง อำเ ภอตากใบ จังหวัดนราธิวาส (เก็บในเดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2553)

1.2 เชื้อที่ใช้ทดสอบ

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ประสิทธิภาพ ของสารสกัดส้มแขก ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จำนวน 4 ชนิด คือ

- *Staphylococcus aureus* แทนแบคทีเรียแกรมบวก
- *Escherichia coli* แทนแบคทีเรียแกรมลบ
- *Salmonella typhimurium* แทนแบคทีเรียแกรมลบ
- *Bacillus cereus* แทนแบคทีเรีย ที่สร้างสปอร์

1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นอาหารสำเร็จรูปสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย เพื่อเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย และ สำหรับทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดส้มแขก มี 4 ชนิดคือ

-Eosine methylene blue agar (EMB) (Himedia, India)

-Mannitol salt agar (MSA) (Difco, France)

-Mueller hinton broth (MHB) (Difco, France)

-Nutrient broth (NB) (Himedia, India)

-Agar technical solidifying agent (Difco, France)

1.4 สารเคมี

สารเคมีที่สำคัญที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ ได้แก่

- Nacl (Sigma)

-Ethanol เข้มข้นร้อยละ 95 (Lab-scan)

-Triethanolamine (Loba chemie)

-Dimethyl sulfoxide (DMSO) (Sigma)

-Citric acid (Ensign)

-Gentamycin (องค์การเภสัชกรรม)

-Barium chloride (Lab-scan)

-Sulfuric acid (Lab-scan)

1.5 อุปกรณ์

อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ประกอบด้วยอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง วัตถุดิบ การสกัดสารสกัดหยาบจากส้มแขก การทดสอบ ประสิทธิภาพ ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย การเตรียมผลิตภัณฑ์ และการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ ดังนี้

-ตู้อบลมร้อนแบบถาด (Memmert)

-เครื่องแก้ว

- อ่างควบคุมอุณภูมิ (water bath) (Julabo)
- เครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary evaporator) (Buchi, B-169)

-เครื่องทำแห้งแบบแช่แข็งแห้ง (Freeze dryer) (Dura Freeze Dryer)

-กระดาษกรอง (Whatman No. 1)

-Micropipette Tip (ขนาด 200, 1000 ไมโครลิตรและ 5 มิลลิลิตร)

-Micropipette (ขนาด 2-20, 20-200, 100-1000 ไมโครลิตและ 5 มิลลิลิตร)

-ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop)

-Paper disk (ขนาด 6 มิลลิเมตร)

-Microtiter plete 96 well

-Microplete Reader (Biotek, Power Waxe X)

-เครื่องเขย่า (Vortex) (Fisher Scientific, 231)

-ตู้บ่มเชื้อ (Incubater) (Memmert)

-ตู้เขี่ยเชื้อแบบ Lamina flow (Microflow)

-เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo-AB204)

- เครื่องวัดความยาวคลื่นแสง (Spectrophotometer) (Shimadzu, UV-1602)

-หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง (Autoclave) (Tomy, SS-325)

-เครื่องนับจำนวนโคโลนี (Colony counter) (Funke Gerber)

-เครื่องกวนสารละลายด้วยแท่งแม่เหล็ก (Magnetic Stirrer)(LMS)

-แท่งแม่เหล็ก (Magnetic bar)

-ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Contherm)

-เครื่องวัดสี (Hunter lab, Coler Quset XT)

-เครื่องบดยา แบบรางกลม

- เครื่องวัดความเป็นกรด ด่าง (pH Meter) (Russell RL 150)

-ชุดเครื่องกรองสูญญากาศ

- ตะแกรงร่อน (ขนาด 500 ไมโครเมตร และ 1 มิลลิเมตร)

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 การเตรียมวัตถุดิบ

ใช้ส้มแขกสดที่เก็บจากพื้นที่ ตำบลบางขุนทอง อำเภอตากใบ จังหวัดนราธิวา ส เก็บในเดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2553 นำผลสดมาชั่งน้ำหนัก ล้างให้สะอาด ผ่าครึ่งเอา รกหุ้มเมล็ด และขั้วผลออก บันทึกน้ำหนักเนื้อผล และรกหุ้มเมล็ด นำเนื้อผลมาหั่นเป็นแผ่นบางๆ โดยไม่ต้องปอกเปลือก รกหุ้มเมล็ดแกะเอาเมล็ดออก และตากแดด เป็นเวลา 3 วัน บันทึกน้ำหนักแห้ง และร้อยละของความชื้น

2.2 การศึกษาระยะเวลาการบดผงส้มแขก

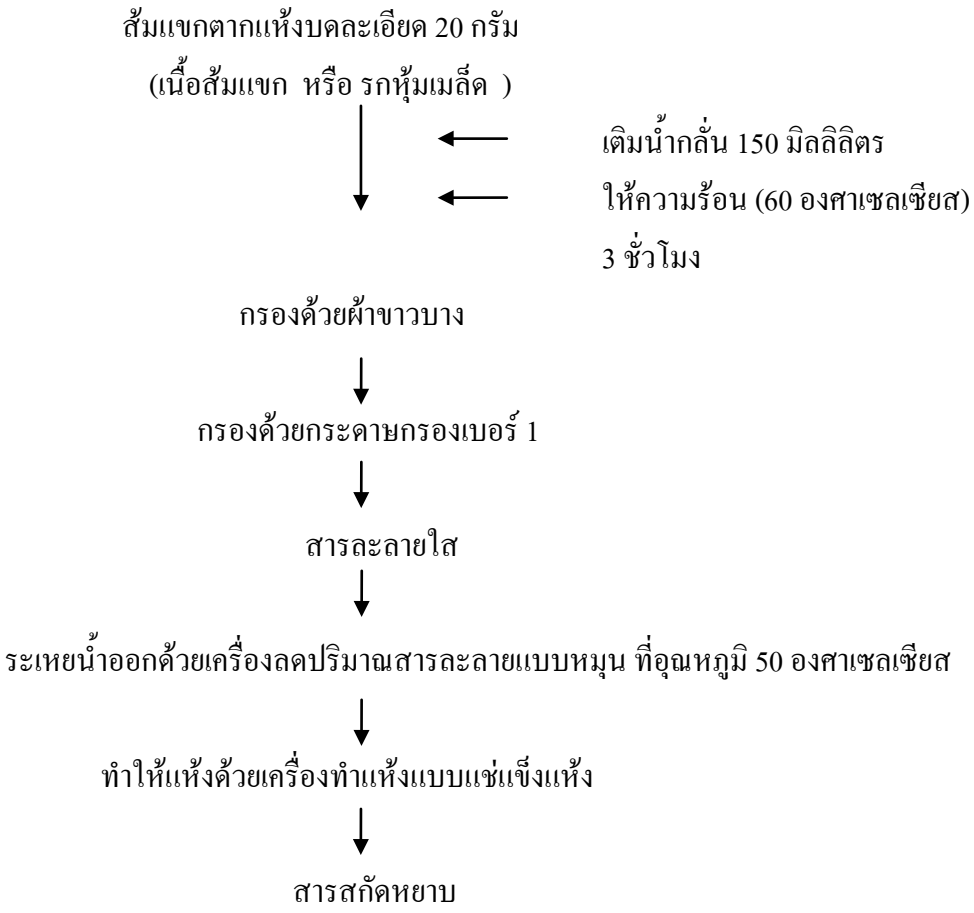
นำส้มแขกที่ผ่านการหั่น เป็นแผ่นและตากแดด มาหั่นให้มีขนาดประมาณ 1×1 เซนติเมตร แล้วนำไปอบด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาด ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง (Rittirut and Siripatana, 2006) ชั่งน้ำหนักก่อนและหลังอบ หลังจากนั้นนำส้มแขกไป บดให้ละเอียด ด้วยเครื่องบดยาแบบรางกลม (คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์) นำผงส้มแขกมาแยกขนาดอนุภาคด้วยการร่อนผ่านตะแกรงร่อน ขนาด 1 มิลลิเมตร และ 500 ไมโครเมตร จะได้ผงส้มแขกที่มีขนาดอนุภาค ใหญ่กว่า 1 มิลลิเมตร ขนาด 500-1000 ไมโครเมตร และขนาดเล็กกว่า 500 ไมโครเมตร เก็บอนุภาคส้มแขกแยกตามขนาด ใส่ถุงพลาสติก ส่วนรกหุ้มเมล็ดเมื่อแกะเอาเมล็ดออกแล้ว นำไปตากแดด อบแห้ง และบด เช่นเดียวกับเนื้อผลส้มแขก ชั่งน้ำหนัก และบันทึกผล เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายต่อไป

2.3 การศึกษาชนิดของตัวทำละลายในการสกัดสารสกัดหยาบจากส้มแขก

2. 3.1 การศึกษาการสกัดสารสกัดหยาบจากส้มแขกด้วยน้ำ

การสกัดด้วยน้ำ แยกสกัด แต่ละขนาดอนุภาคผงส้มแขก (ดัดแปลงจากวิธีของประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ และคณะ , 2552) โดยใช้เนื้อส้มแขกแห้ง หรือรกหุ้มเมล็ดแห้ง ที่บดละเอียด 20 กรัม ใส่ในฟลาสก์ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 150 มิลลิลิตร ปิดปาก ฟลาสก์ด้วยอลูมิเนียมฟรอยด์ โดยแยกสกัดแต่ละขนาดอนุภาค และนำไป ให้ความร้อน ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง กรองด้วยผ้าขาวบาง และกระดาษกรองเบอร์ 1 โดยใช้ชุดเครื่องกรองสูญญากาศกรอง เอาเฉพาะส่วนของสารละลายใส ไประเหยเอาน้ำออก

ด้วยเครื่องลดปริ มาณสารละลายแบบหมุน จนได้สารสกัดที่มีลักษณะ ข้น หนืด นำสารที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง จะได้สารสกัดหยาบ (ภาพที่ 2-1)

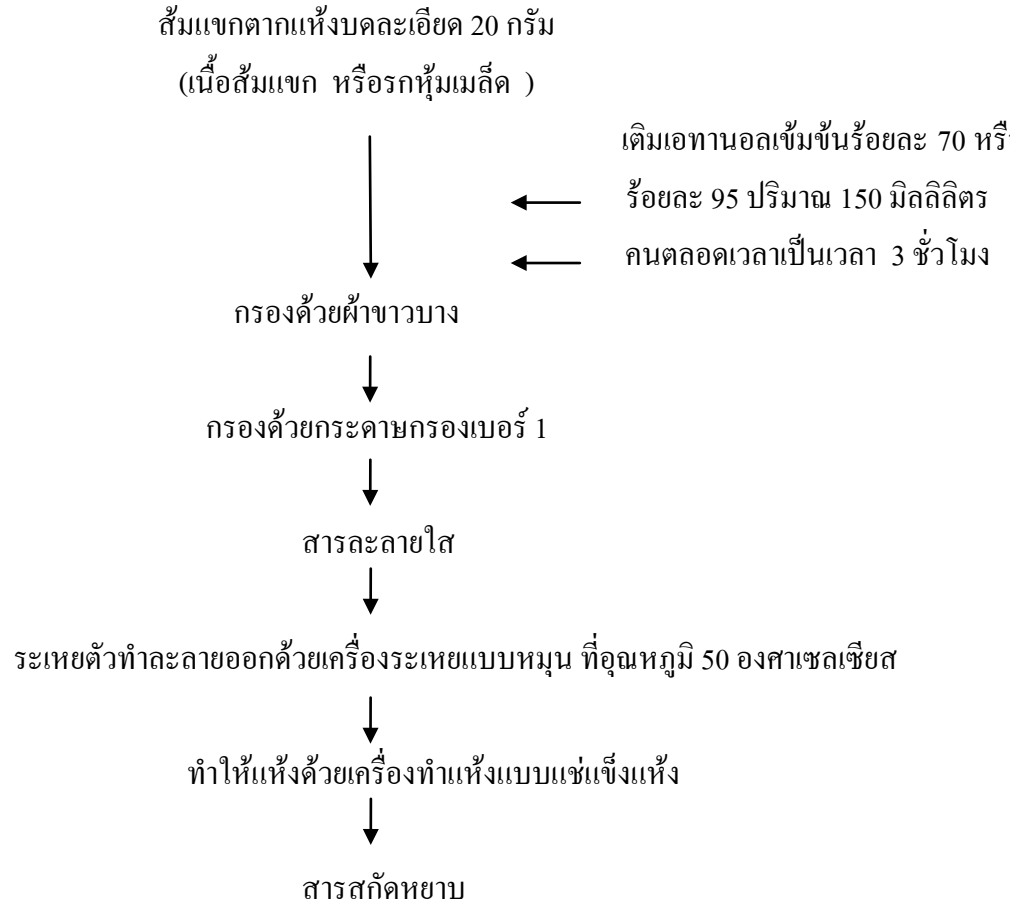


ภาพที่ 2-1 ขั้นตอนการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากส้มแขกด้วยน้ำ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ บันทึกน้ำหนักผลผลิตที่สกัดได้ ลักษะทางกายภาพ ได้แก่ สี โดยการสังเกต วัด ค่าความเป็นกรด-ด่าง คำนวณร้อยละของสารสกัดหยาบ หาค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน นำข้อมูลมาทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย One Way ANOVA และนำสารสกัดหยาบที่ได้ไปทดสอบ ประสิทธิภาพ การยับยั้งการเจริญของ แบคทีเรีย ด้วยวิธี Broth dilution method (CLSI, 2006; Forbes *et al*., 2007) (ภาคผนวก ก)

2.3.2 การศึกษาการสกัดสารจากส้มแขกแห้งด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95

การสกัดด้วยเอทานอล เข้มข้นร้อยละ 70 และ เอทานอล เข้มข้นร้อยละ 95 (ดัดแปลงจากวิธีของประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ และคณะ, 2552) แยกสกัดแต่ละขนาดอนุภาคผงส้มแขก โดยใช้เนื้อส้มแขกแห้ง หรือรกหุ้มเมล็ดแห้ง บดละเอียด จำนวน 20 กรัม ใส่ในฟลาสก์ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 ปริมาณ 150 มิลลิลิตร ปิดปากฟลาสก์ด้วยอลูมิเนียมฟรอยด์ วางบนเครื่องกวนสารละลายด้วย แม่เหล็ก คนตลอดเวลา ด้วยแท่งแม่เหล็ก เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นกรองสารสกัดด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรองเบอร์ 1 ด้วยชุดเครื่องกรองแบบสูญญากาศ เอาเฉพาะสารละลายใสไประเหยเอาเอทานอลออก ด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ, 2551) จะได้สารที่มีลักษณะข้นหนืด นำสารที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็งแห้ง จะได้สารสกัดหยาบ (ภาพที่ 2-2) การบันทึกผลเช่นเดียวกับข้อ 2.3.1



ภาพที่ 2-2 ขั้นตอนการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก ส้มแขกด้วยเอทานอล เข้มข้นร้อยละ 70 และ ร้อยละ 95

2.4 การศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายและระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด สารสกัดหยาบจากส้มแขก

2.4.1 ศึกษาอัตราส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย

นำสารสกัดหยาบจาก ผลการทดลอง ข้อ 2.3 มาศึกษาอัตราส่วนของวัตถุดิบ (ส้มแขกแห้งบดละเอียด) ต่อตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 1:3, 1:6, 1:9 และ 1:12 โดยควบคุมระยะเวลาในการสกัด 3 ชั่วโมง ทุกชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ บันทึกน้ำหนักผลผลิตที่ได้ หาร้อยละค่าเฉลี่ย นำวิธีการสกัดที่ดีสุด มาสกัดสารจากส้มแขก และทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากส้มแขก โดยวิธี Broth dilution method (CLSI, 2006; Forbes *et al*., 2007) (ภาคผนวก ก)

2.4.2 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการสกัด

ใช้ผลของอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อตัวทำละลายที่เหมาะสมจาก ข้อ 2.4.1 มาศึกษาระยะเวลาการสกัดที่ 1, 4, 8, 12 และ 16 ชั่วโมง ทุกชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ บันทึกน้ำหนักผลผลิตที่ได้ หาร้อยละ ค่าเฉลี่ย นำวิธีการสกัดที่ดีสุดมาสกัดสารจากส้มแขกเพื่อทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากส้มแขก ตามขั้นตอนดังนี้

1)การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด ส้มแขกต่ อเชื้อ แบคทีเรีย ในขั้นตอนนี้ใช้เชื้อแบคทีเรียสำหรับทดสอบ 4 ชนิดคือ

- *Staphylococcus aureus*. แทนแบคทีเรียแกรมบวก
- *Escherichia coli* แทนแบคทีเรียแกรมลบ
- *Salmonella typhimurium* แทนแบคทีเรียแกรมลบ
- *Bacillus cereus* แทนแบคทีเรีย ที่สร้างสปอร์

2) วิธีการเตรียมเชื้อแบคทีเรียสำหรับทดสอบ

นำเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบมาเขี่ยเชื้อโดยวิธี สตรีกเพลท (Streak plate) ลงบนจานอาหารแข็ง NA ที่มีผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้งสนิท จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซสเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีเดี่ยวของเชื้อ 3 – 5 โคโลนี เขี่ยเชื้อลงในอาหารเหลว Mueller-Hinton broth (MHB) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซสเซียสเป็นเวลา 16-24 ชั่วโมง ปรับความขุ่นของเชื้อให้ได้เท่ากับสารละลายแบเรียมซัลเฟต Mcfarland No. 0.5 ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.85 แล้วเจือจางต่อเพื่อให้มีเชื้อประมาณ $1.0x10^6$ ซีเอฟยู/มิลลิลิตร ด้วยอาหารเหลว MHB (ขั้นตอนนี้เป็นขั้นสุดท้ายของ การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด ส้มแขกต่อเชื้อแบคทีเรีย จึงเปลี่ยน อาหาร NB เป็น อาหาร MHB เนื่องจากมีรายงานรับรองว่า อาหาร MHB จะไม่มีผลข้างเคียงต่อการเจริญของแบคทีเรีย (Forbes *et al*., 2007)

3) การเตรียมสารสกัดสำหรับทดสอบ

นำสารสกัดที่ได้สกัดตาม อัตราส่วน ระยะเวลา และวิธีที่เหมาะสมที่สุด มาเตรียมให้ความเข้มข้น ตามวิธีการเตรียมใน ภาคผนวก ก

4) การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ของสารสกัดส้มแขก โดยวิธี Broth dilution method (CLSI, 2006; Forbes *et al*., 2007) (ภาคผนวก ก) แต่เปลี่ยนอาหาร NB เป็น อาหาร MHB

2.5 การศึกษาการทำผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของจากสารสกัดส้มแขก

2.5.1 การศึกษาการทำผลิตภัณฑ์เจลทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก

การเตรียมผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดส้มแขก ใช้สูตรพื้นฐานในการเตรียมเจลทำความสะอาดมือ ซึ่งมีส่วนประกอบดังตารางที่ 2-1

ตารางที่ 2-1 ส่วนประกอบของสูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์เจลทำความสะอาดมือ

เฟส(Phase)	สารเคมี	ปริมาณ
A	น้ำกลั่น	375 มิลลิลิตร
Gel base	Carbopol	2.35 กรัม
B	น้ำกลั่น	125 มิลลิลิตร
	Triethanolamine	3.75 มิลลิลิตร
C	70% Ethanol	40-50 มิลลิลิตร

ที่มา : ทิวาพร พรหมรัตน์ (2549) และ วรรธกร ช่วยเพ็ญ และคณะ (2551)

1) การตั้งสูตรเจลทำความสะอาดมือจากสารสกัดส้มแขก

ตั้งสูตรเจลทำความสะอาดมือจากสารสกัดส้มแขก โดยใช้สัดส่วนเอทานอลที่น้อยที่สุดในสูตรแต่ให้ความรู้สึกสัมผัสดีที่สุด คือปริมาณ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 40-50 (วรรธกร ช่วยเพ็ญ และคณะ , 2551) เตรียมสูตร โดยเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของปริมาณสารสกัดส้มแขกในสูตร เพื่อหาปริมาณสารสกัดที่เหมาะสม ส่วนประกอบในสูตรเจล แสดงในตารางที่ 2-2

2) วิธีการเตรียม Gel base

1.เตรียม Carbopol 2.35 กรัมและน้ำอุ่น (ใช้น้ำกลั่น อุ่น อุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส) ปริมาตร 375 มิลลิลิตร ตัก Carbopol โรยลงในน้ำอุ่น ช้าๆ กวนส่วนผสมตลอดเวลาด้วย Magnatic sterer จนกระทั้ง Carbopol ละลายหมด

2.นำ Triethanolamine 3.75 มิลลิลิตร ผสมกับ น้ำกลั่น ปริมาตร 125 มิลลิลิตร กวนส่วนผสม ตลอดเวลาด้วย Magnatic sterer จนละลายเข้ากันดี นำสารผสมเทรวมกับสารในข้อ 1 กวนส่วนผสมตลอดเวลาด้วย Magnatic sterer จนละลายเข้ากันดี และจะได้ Gel base สำหรับทำเจลทำความสะอาดมือ

3.นำ Gel base ผสมกับเอทานอล เข้มข้นร้อยละ 70 และสารสกัดส้มแขกตามปริมาตรในแต่ละสูตรที่ตั้งไว้

4.บันทึก ลักษณะทางกายภาพที่ปรากฏ จากการสังเกตด้วยสายตา (สี ความขุ่น) และบันทึกค่าความเป็นกรด-ด่าง

ตารางที่ 2-2 ส่วนประกอบในสูตรเจลทำความสะอาดมือจากสารสกัดส้มแขก

สาร	ชุดควบคุม(มล.)	สูตรที่ 1(มล.)	สูตรที่ 2(มล.)	สูตรที่ 3(มล.)
สารละลาย Gel base	40	40	40	40
เอทานอล 70	45	45	45	45
สารสกัดส้มแขก	-	5	3	1

เติมน้ำกลั่น จนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

จากผลการศึกษาในข้อ 2.4 พบว่าตำรับเจลทำความสะอาดมือ ที่ทดลองทำ เมื่อเติมสารสกัดส้มแขกลงไป เจลจะอ่อนตัวลง ความหนืดจะลดลงอย่างรวดเร็ว และเปลี่ยนลักษณะทางกายภาพของเจล คือ ทำให้ สีเจลขุ่น ไม่ใสเหมือนเดิม และเหลว จึงปรับเปลี่ยนมาพัฒนาเป็นสูตรสเปรย์แทน

2.5.2 การศึกษาการทำผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก

การทำผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือจากสารสกัดส้มแขก ซึ่งมีขั้นตอนการดำเนินการดังนี้

ศึกษาปริมาณสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ แบคทีเรีย โดยใช้เอทานอล 6 ระดับความเข้มข้น คือ ร้อยละ 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 ตามลำดับ และสารสกัดส้มแขก 5 ระดับ

ความเข้มข้น คือ 16, 32, 64, 128, 256 มิลลิกรัม /มิลลิลิตร จะได้ชุดทดลอง 30 ชุด โดยใช้ยาปฏิชีวนะ Gentamycin เป็นชุดควบคุม เลือกสิ่งทดลองจากประสิทธิภาพในการยับยั้ง แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค (Inhibition zone) 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *E. coli*, *S. aureus* ด้วยวิธี Disk diffusion (CLSI, 2006; Forbes *et al*., 2007)

2.6 การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียบนมือของผลิตภัณฑ์ สเปรย์ทำความสะอาดจากสารสกัดส้มแขก

เตรียมผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือ ที่มีส่วนผสม สารสกัดจากส้มแขก จากผลการทดลองที่ได้ในข้อ 2.5.2 ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนมือหลังการใช้ผลิตภัณฑ์ สเปรย์ ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจาก ส้มแขก เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือสูตรพื้นฐานที่ไม่มีสารสกัดจาก ส้มแขก ในอาสาสมัคร โดยแบ่งเป็นการทดสอบผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือสูตรที่มีส่วนผสมสารสกัดจากส้มแขก และผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือสูตรพื้นฐานที่ไม่ได้เติมสารสกัด ส้มแขก ชนิดละ 3 ซ้ำ โดยอาสาสมัครทุกคนต้องหยุดการใช้ผลิตภัณฑ์ล้างมือที่มีสารที่มีฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ก่อนการทดลองอย่างน้อย 1 สัปดาห์ เพื่อเป็นการคงสภาพของจุลินทรีย์ที่อยู่บนมือตามปกติ

1) การหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้น

การหาปริมาณ เชื้อแบคทีเรีย เริ่มต้น โดยการหยด สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น ร้อยละ 0.85 จำนวน 3 มิลลิลิตร ลงบนมืออาสาสมัคร ให้อาสาสมัครถูมือให้ สารละลายกระจายทั่วมือ ทั้ง 2 ข้างเป็นเวลา 30 วินาที ทิ้งให้แห้ง 2 นาที ทำการเก็บตัวอย่าง และเพาะเชื้อด้วยวิธี Swab test ตามวิธีของ FDA/BAM (1995) (ภาคผนวก ค)

2) การหาปริมาณจุลินทรีย์หลังการใช้ผลิตภัณฑ์ สเปรย์ทำความสะอาดมือสูตรที่ มีส่วนผสมสารสกัดจากส้มแขก เปรียบเทียบกับสูตรพื้นฐาน

หาปริมาณจุลินทรีย์หลังการใช้ผลิตภัณฑ์ สเปรย์ ทำความสะอาดมือสูตรที่ มีส่วนผสมสารสกัดจากส้มแขก เปรียบเทียบกับสูตรพื้นฐาน ด้วยวิธี Swab test โดยให้อาสาสมัครทำความสะอาดมือ ด้วยการหยดสเปรย์ทำความสะอาดมือลงบนมืออาสาสมัคร 3 มิลลิลิตร ถูมือให้สเปรย์ทำความสะอาดมือกระจายทั่วมือทั้ง 2 ข้างเป็นเวลา 30 วินาที ทิ้งให้แห้ง 2 นาที ทำการเก็บตัวอย่างและเพาะเชื้อ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง โดยแต่ละครั้งของการเก็บตัวอย่างจากมือ ให้เวลาห่างกัน 5 นาที เปรียบเทียบจำนวนเชื้อที่ลดลง (นับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด) ในแต่ละครั้งของการทำความสะอาดมือระหว่าง สเปรย์ทำความสะอาด มือสูตรพื้นฐานกับ สเปรย์ทำความสะอาด มือที่มีส่วนผสมของสารสกัดส้มแขก

2.7 การศึกษาค่าคุณภาพของผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือจากสารสกัดส้มแขก

เตรียมผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจาก ส้มแขก จากผลการทดลองในข้อที่ 2.6 นำมาวัดค่าคุณภาพทางกายภาพ คุณภาพทางเคมี คุณภาพทางชีวภาพ และทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ ดังนี้

2.7.1 คุณภาพทางกายภาพ โดยวัดค่าสีด้วยเครื่อง วัดสี (Hunter lab รุ่น Color Quest XT) ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

2.7.2 คุณภาพทางเคมี โดยวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่อง pH Meter (มผช. 907-2548)

2.7.3 คุณภาพทาง ชีวภาพ วิเคราะห์ปริมาณ จุลินทรีย์ ตามรายละเอียดของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่ประกาศใน มอก. 1403 - 2551 ดังต่อไปนี้

1) จำนวนแบคทีเรีย ยีสต์ และราทั้งหมด (Total colony count)

2) *Clostridium* spp.

3) *Candida albicans*

4) *Staphylococcus aureus*

5) *Pseudomonas aeruginosa*

ผลิตภัณฑ์ สเปรย์ ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจาก ส้มแขก ส่งวิเคราะห์ที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

2.7.4 ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์

การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ด้วย วิธี Cooling - Thaw cycle โดยดัดแปลงจากวิธีของ พิมพร ลีลาพรพิสิฐ (2540) ด้วยการนำผลิตภัณฑ์มาเก็บ รักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบของการทดสอบ ทำซ้ำด้วยวิธีเดียวกันจำนวน 6 รอบ บันทึกลักษณะปรากฏและการแยกชั้น เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ ก่อนและหลังการทดสอบ

2.8 การศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคผลิตภัณฑ์

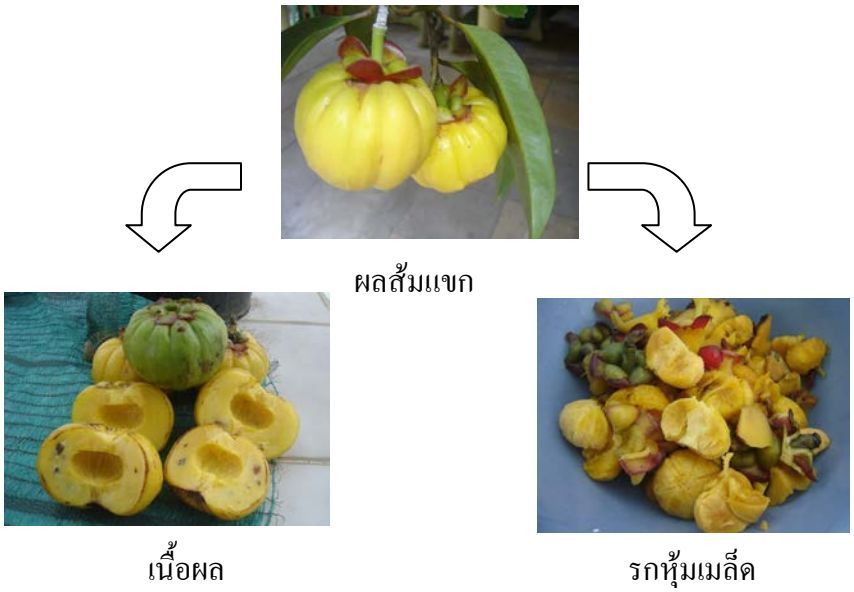
การศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคผลิตภัณฑ์ ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค ภายหลังการใช้ผลิตภัณฑ์ ด้วยแบบสอบถามที่สร้างขึ้นโดยดัดแปลงจาก ทิวาพร พรหมรัตน์ (2549) (ภาคผนวก ง) ซึ่งแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ ข้อมูลส่วนตัว และ ข้อมูล ที่เกี่ยวกับความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ ทำการทดสอบ ในสถานที่สาธารณะ (Central Location Test, CLT) กับผู้บริโภค จำนวน 60 คน ที่โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลศาลาใหม่ และโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล บ้านกูบู อำเภอ

ตากใบ จังหวัดนราธิวาส เก็บรวบรวมข้อมูลและทำการวิเคราะห์ ข้อมูล ด้วยค่าร้อยละ (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2551)

บทที่ 3
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

3.1 ผลการเตรียมวัตถุดิบ

การเตรียมวัตถุดิบโดยนำผลส้มแขกสด ที่มีสีเหลืองส้ม มาแยกเนื้อผล และรกหุ้มเมล็ดออกจากกัน (ภาพที่ 3-1) นำไปตากแดด 3 วัน และอบแห้งในตู้อบ ลมร้อน ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง ก่อนนำไปบดให้เป็นผง พบว่า การตากแดดทำให้ความชื้นในเนื้อผลลดลงแต่ยังคงมีความชื้นเหลืออยู่ร้อยละ 28.41 ส่วนรกหุ้มเมล็ดยังมีความชื้นเหลืออยู่ร้อยละ 13.65 การอบ ลดความชื้นในเนื้อผลเหลือร้อยละ 27.46 ลดความชื้นในรกหุ้มเมล็ดเหลือร้อยละ 10.89 (ตารางที่ 3-1) และยังพบว่าการทำแห้งด้วยการอบ แห้งในตู้อบลมร้อน จะได้ส้มแขกแห้ง ที่มีผิว เนื้อสีน้ำตาลเข้ม และคล้ำกว่าการตากแดด จากการศึกษาของ Rittirut และ Siripatana (2006) รายงานไว้ว่าส้มแขก สด มีค่าความชื้นร้อยละ 86.47 ซึ่งต่ำกว่าการศึกษาในครั้งนี้ เพราะใช้ผลส้มแขกแก่ที่ยังมีผิวสีเขียว แต่การทดลองครั้งนี้ใช้ผลส้มแขกสุก ที่มีผิวสีเหลืองส้ม ซึ่งเป็นสาเหตุให้ค่าความชื้นสูงกว่า เพราะส้มแขกสุกที่มีผิวสีเหลืองส้มจะมีน้ำในเนื้อผลมากกว่า (ธนิต หนูยิ้มและคณะ , 2543) เมื่ออบแห้งที่สภาวะอุณหภูมิและเวลาเดียวกันจึงทำให้มีความชื้นเหลืออยู่มากกว่า จึงเลือกวิธีทำส้มแขกแห้งด้วยการตากแดดและอบแห้ง ก่อนนำส้มแขกไปบด ให้ละเอียด



ภาพที่ 3-1 ลักษณะของ ผล เนื้อผล และรกหุ้มเมล็ดส้มแขกที่ใช้ในการทดลอง

ตารางที่ 3-1 ปริมาณความชื้นในเนื้อผลและรกหุ้มเมล็ดส้มแขก

ส้มแขก	ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)*	
	เนื้อผล	รกหุ้มเมล็ด
ผลสด	90.89±1.60	80.84±4.24
ตากแดด	28.41±0.47	13.65±1.27
อบแห้ง	27.46±0.64	10.89±0.11

*ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการตรวจวัด 3 ซ้ำ

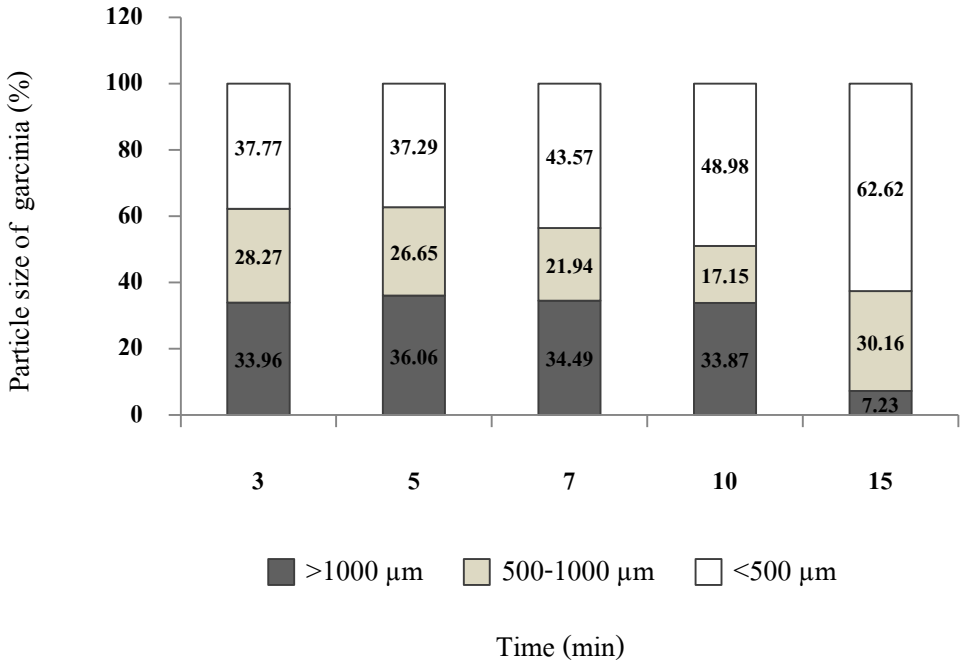
3.2 ผลการศึกษาระยะเวลาบดผงส้มแขก

เมื่อนำเนื้อผลส้มแขกแห้ง ไปบดเพื่อลดขนาดอนุภาค ด้วยเครื่องบดยาแบบรางกลม พบว่าเนื้อผลบดจะมีลักษณะเป็นผงร่วน ส่วนรกหุ้มเมล็ดส้มแขกที่อบแห้งและนำไปบดพบว่าจะได้เป็นชิ้นหยาบๆ มีลักษณะเหนียวและเกาะตัวเป็นก้อน (ภาพที่ 3-2)

ภาพที่ 3-2 ลักษณะของเนื้อส้มแขกและรกหุ้มเมล็ดตากแห้งก่อนและหลังบด

เมื่อนำผงส้มแขกที่บดในระยะเวลาต่างๆ มาแยกขนาดด้วยการร่อนผ่านตะแกรงขนาด 1000 ไมโครเมตร และ 500 ไมโครเมตร พบว่าเมื่อใช้เวลาบดนาน 3-7 นาที จะได้ปริมาณขนาดอนุภาคส้มแขกที่ใกล้เคียงกันโดยขนาดใหญ่กว่า 1000 ไมโครเมตร มีปริมาณร้อยละ 33.87- 36.06

ขนาด 500-1000 ไมโครเมตร ร้อยละ 21.94 – 28.27 และขนาดเล็กกว่า 500 ไมโครเมตร ร้อยละ 37.29 - 43.57 สำหรับการบดที่ใช้เวลา 10 และ 15 นาทีจะได้ขนาดอนุภาคเล็กกว่า 500 ไมโครเมตร มากกว่าขนาดอื่นๆ (ภาพที่ 3-3) ส่วนการเตรียมรกหุ้มเมล็ดส้มแขกแห้งนั้น พบว่า รกหุ้มเมล็ดส้มแขกที่อบแห้ง และบดจะได้เป็นชิ้นหยาบๆมีลักษณะเหนียวและเกาะตัวเป็นก้อน ไม่สามารถแยกขนาดได้ (ภาพที่ 3-2) ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากในรกหุ้มเมล็ดส้มแขกมียางสีเหลืองอยู่มาก เมื่อนำไปอบทำให้น้ำระเหยออกไป ทำให้ยางดังกล่าวเพิ่มความเหนียวมากขึ้น จึงเลือกวิธีการเตรียมเนื้อผลส้มแขกและรกหุ้มเมล็ดเพื่อใช้ในการสกัด ด้วยการตากแดด อบแห้งและบด 5 นาที



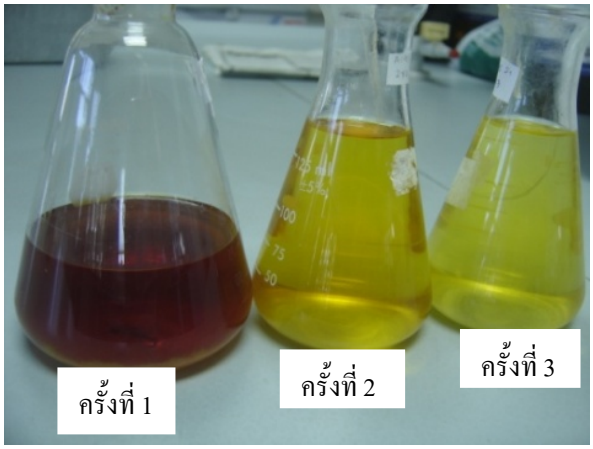
ภาพที่ 3-3 ขนาดอนุภาคของเนื้อส้มแขกบดที่เวลาต่างๆ

3.3 ผลการศึกษาชนิดของตัวทำละลายในการสกัดสารสกัดหยาบจากส้มแขก

3.3.1 ผลการสกัดสารสกัดหยาบจากส้มแขกโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

ลักษณะทางกายภาพของสารสกัด จากเนื้อผลและ รกหุ้มเมล็ดส้มแขก ที่สกัดด้วย น้ำ หลังจากผ่านการกรองด้วยกระดาษกรองแล้ว ได้สารละลาย ลักษณะ ใส สี น้ำตาลเข้ม โดยสีของสารละลายจะเข้มในการสกัดครั้งแรก เมื่อสกัดซ้ำสีจะอ่อนลงเป็นสีเหลือง (ภาพที่ 3–4) ทั้งนี้เพราะปริมาณสารสำคัญในพืชมีจำนวนจำกัด เมื่อมีสกัดครั้งแรกได้ปริมาณสารสกัดมาก การสกัดซ้ำครั้งต่อๆไปปริมาณสารสกัดจะเหลือน้อยลงเรื่อยๆ ทำให้การสกัดซ้ำครั้งที่ 2 ครั้งที่ 3 มีปริมาณสารสกัดละลายออกมาน้อยลง จึงทำให้สีของสารละลายจางลง สารสกัดส้มแขกที่สกัดด้วยน้ำจะมีความเป็น

กรด โดยค่าความเป็นกรด- ด่างอยู่ระหว่าง 1.78-2.20 ซึ่ง อรุณพร อิฐรัตน์ และคณะ (2543) ได้รายงานไว้ว่าการสกัดส้มแขกด้วยน้ำจะให้ปริมาณกรดมากที่สุด เมื่อนำสารสกัดหยาบทั้งสองไประเหยน้ำออกจนหมด พบว่าทั้งสารสกัดหยาบจากเนื้อผล (Mesocarp) และจากรกหุ้มเมเล็ด (Aril) ให้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะเหนียว สีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 3–5)



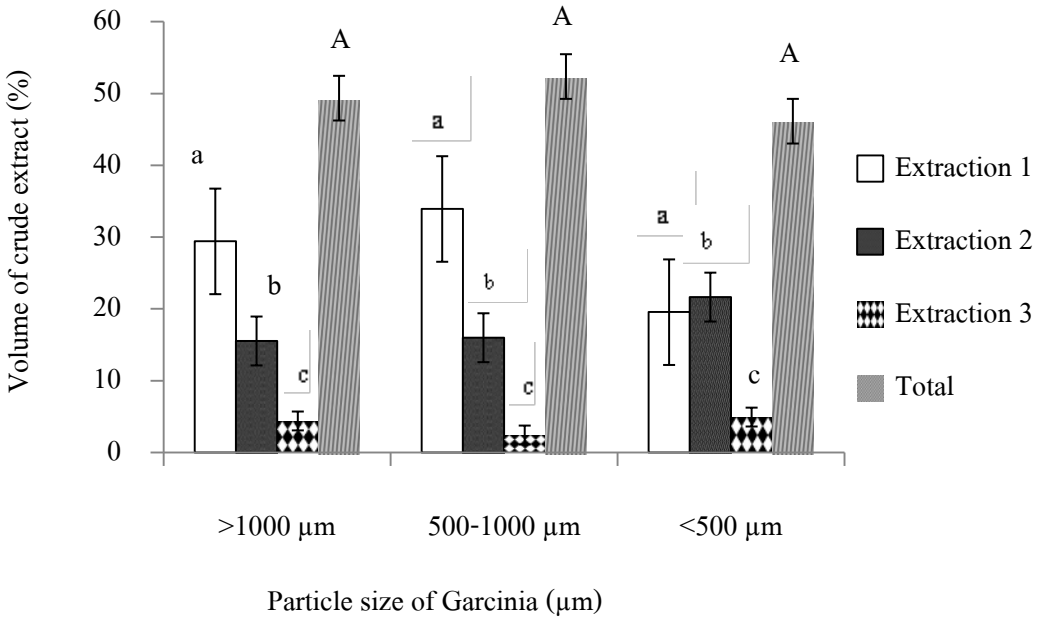
ภาพที่ 3-4 ลักษณะปรากฏของสารสกัดจากเนื้อผลและรกหุ้มเมล็ดส้มแขกที่สกัดด้วยน้ำ โดยสกัดซ้ำ 3 ครั้ง

(ก) (ข)

ภาพที่ 3-5 ลักษณะของสารสกัดหยาบจากส้มแขก ที่ผ่านการระเหยตัวทำละลายออกหมดแล้ว
ลักษณะสารสกัดหยาบจากส้มแขกในภาชนะ (ก)
ลักษณะสารสกัดหยาบจากส้มแขกนอกภาชนะ (ข)

3.3.1.1 ปริมาณ สารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดเนื้อผล และรกหุ้มเมล็ด ส้มแขก ด้วยน้ำ

ใช้ผงส้มแขก 20 กรัม สกัดด้วยน้ำกลั่น 150 มิลลิลิตร แยกสกัดตามขนาดอนุภาค พบว่า สารสกัดหยาบจากเนื้อผลที่มีขนาดอนุภาค 500- 1000 ไมโครเมตร ให้ปริมาณสารสกัดหยาบร้อยละ 52.37 ซึ่งมากที่สุด อาจเป็นเพราะขนาดอนุภาคนี้มีขนาดและพื้นที่ผิวสัมผัสใกล้เคียงกัน มาก ทำให้ตัวทำละลายสามารถสัมผัสกับพื้นผิววัตถุดิบได้มาก ทำให้สามารถละลายสารออกมาได้มากกว่า (ภาพที่ 3-6) ส่วนรกหุ้มเมล็ดเนื่องจากไม่สามารถแยกขนาดได้ มีขนาดเดียว ให้ปริมาณสารสกัดร้อยละ 5.76 เมื่อนำค่าเฉลี่ยปริมาณสารสกัดหยาบจากส้มแขก มาวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติ พบว่าขนาดอนุภาคทั้ง 3 ขนาดให้ปริมาณสารสกัดหยาบ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ภาพที่ 3-6)



ภาพที่ 3-6 ร้อยละของปริมาณสารสกัดจากเนื้อผลส้มแขกที่สกัดด้วยน้ำ แยกตามขนาดอนุภาค และครั้งที่สกัด

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตัวอักษร a,b,c ที่ต่างกันในกราฟ หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตัวอักษร A ที่เหมือนกันในกราฟ หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อนำค่าเฉลี่ยปริมาณสารสกัดหยาบจากเนื้อผลส้มแขก มาวิเคราะห์ตามครั้งที่สกัด พบว่า การสกัดในครั้งที่ 1 จะให้ปริมาณสารสกัดมาก ที่สุด และเมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติ พบว่าทุกครั้งที่สกัดซ้ำปริมาณสารสกัดจะน้อยลง และแตกต่าง กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($P < 0.05$) (ภาพที่ 3-6) ส่วนการสกัดสารจากรกหุ้มเมล็ดส้มแขก นั้น การสกัดในครั้งที่ 1 ให้ปริมาณสารสกัดมาก ที่สุดเช่นกัน แต่เมื่อ วิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติ พบว่าการสกัดครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ให้ปริมาณสารสกัดไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากการสกัดครั้งที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 3-2) ซึ่งอาจจะเป็นเพราะว่าในรกหุ้มเมล็ดส้มแขก มียางเหนียวอยู่มาก การสกัดครั้งแรก จึงสกัดสารออกมาได้ไม่ มากนัก เมื่อสกัดซ้ำเป็น ครั้งที่ 2 จึงได้ปริมาณสารสกัดใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 3-2 ค่าเฉลี่ยปริมาณสารสกัดหยาบจากรกหุ้มเมล็ดส้มแขกที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำ

ครั้งที่สกัด	ปริมาณสารสกัดหยาบ (ร้อยละ)
1	12.58 ± 4.60^{ก}
2	6.82 ± 2.40^{กข}
3	4.67 ± 2.68^{ข}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตัวอักษร ก ข ที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกัน หมายถึง ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การสกัด สารสกัดหยาบจาก เนื้อผล ส้มแขก โดยใช้ น้ำเป็นตัวทำละลาย ขนาดอนุภาคที่ให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด คือ ขนาด 500- 1000 ไมโครเมตร รองลงคือ ขนาดใหญ่กว่า 1000 ไมโครเมตรและเล็กกว่ า 500 ไมโครเมตร ที่เป็นเช่นนี้เพราะ ขนาดอนุภาคของสารมีผลต่อปริมาณสารสกัด (วิชชุลดา ชัยพร และสมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม, 2550) แต่เมื่อนำค่าเฉลี่ยปริมาณผลผลิตที่ได้ในแต่ละขนาดมาทดสอบ ค่าความแตกต่าง ทางสถิติ พบว่าค่าเฉลี่ยปริมาณผลผลิตที่ได้ ในแต่ละขนาดอนุภาค ไม่แตกต่างกัน ทางสถิติ เมื่อนำค่าเฉลี่ยปริมาณผลผลิตที่ได้ในแต่ละครั้งที่สกัดซ้ำมาทดสอบความแตกต่าง ทางสถิติ พบว่า การสกัดซ้ำหลายๆ ครั้ง ปริมาณผลผลิตที่ได้จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ส่วนรกหุ้มเมล็ด เนื่องจากไม่สามาร ถแยกขนาดได้ จึงทดสอบความแตกต่างเฉพาะครั้งที่สกัดซ้ำ ซึ่งพบว่า ค่าเฉลี่ยปริมาณผลผลิตที่ได้ในการสกัดครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 ให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อสกัดซ้ำเป็นครั้งที่ 3 พบว่า ปริมาณผลผลิตที่ได้จากการสกัดครั้งที่ 3 จะ

ลดลงจากการสกัดครั้งที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่เป็นเช่นนี้ เพราะพืชแต่ละชนิดมีปริมาณสารสำคัญในจำนวนจำกัด (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547) เมื่อสกัดสารออกมาในครั้งแรกได้มาก การสกัดซ้ำในครั้งต่อๆไปก็ จะได้สาร สกัดน้อยลดน้อยลง และการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายนั้น เนื่องจาก เมื่อเทียบกับตัวทำละลายอื่น น้ำเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด น้ำบริสุทธิ์จะไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และไม่มีรส (Zhao, *et al*., 2004) หาได้ง่าย ราคาถูก เหมาะสมกับการสกัดสารที่มีขั้วที่ละลายน้ำได้ (นุศวดี พจนานุกิจและสมใจ ขจรชีพพันธ์งาม, 2553) เนื่องจากเมื่อโมเลกุลของน้ำอยู่รวมตัวกัน ยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะไฮโดรเจน นอกจากโมเลกุลของน้ำจะเชื่อมต่อกันเองแล้ว โมเลกุลของน้ำยังสามารถยึดเหนี่ยวกับโมเลกุลอื่นได้ด้วย

3.3.1.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากส้มแขกที่สกัดด้วยน้ำ

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากส้มแขกที่สกัดด้วยน้ำ ไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย พบว่าทั้งเนื้อผลและ รกหุ้มเมล็ดส้มแขก ให้ค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบเป็นค่าเดียวกัน (ตารางที่ 3-3)

ตารางที่ 3-3 ค่า MICและ MBC ของสารสกัดหยาบจากเนื้อผลและรกหุ้มเมล็ดส้มแขกที่สกัดด้วยน้ำ

แบคทีเรีย	เนื้อผล		รกหุ้มเมล็ด	
	MIC(mg/ml)	MBC(mg/ml)	MIC(mg/ml)	MBC(mg/ml)
E. coli	2	2	4	4
S. aureus	1	1	2	2

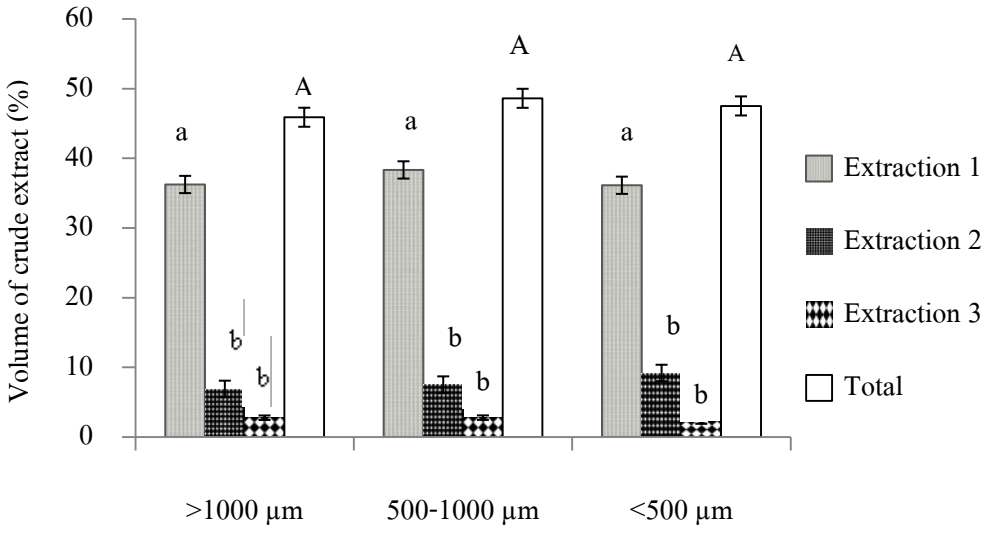
3.3.2 ผลการสกัดสารสกัดหยาบจากส้มแขกโดยใช้ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 เป็นตัวทำละลาย

ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากเนื้อผลและรกหุ้มเมล็ดส้มแขก ที่สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 หลังจากผ่านการกรองด้วยกระดาษกรองแล้ว ได้สารละลายลักษณะใส สีน้ำตาลเข้มเช่นเดียวกับสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำ (จากการสังเกตด้วยสายตา) มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ระหว่าง 2.33-3.36

3.3.2.1 ปริมาณ สารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดเนื้อผล และรกหุ้มเมล็ดส้มแขกด้วยเอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 70

เมื่อแยกขนาดอนุภาคในการสกัด สารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดเนื้อผลส้ มแขก พบว่า ขนาดอนุภาคที่ให้ปริมาณสารสกัดน้อยที่สุด คือ ขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1000 ไมโครเมตร ได้

สารสกัดหยาบร้อยละ 45.88 (ภาพที่ 3-7) ซึ่งอาจจะเป็นเพราะขนาดอนุภาคใหญ่ ทำให้สารละลายซึมเข้าไปภายในวัต ดุดิบได้น้อยกว่า จึงสกัดสาร ได้น้อยกว่าขนาดอนุภาคที่เล็กกว่า เมื่อนำค่าเฉลี่ยปริมาณสารสกัดหยาบจากส้มแขก มา วิเคราะห์ค่าคว ามแตกต่างทางสถิติ พบว่าขนาดอนุภาคทั้ง 3 ขนาดให้ปริมาณสารสกัดหยาบ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P >0.05) (ภาพที่ 3-7)



ภาพที่ 3-7 ร้อยละของปริมาณสารสกัดจากเนื้อผลส้มแขกที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70 แยกตามขนาดอนุภาค และครั้งที่สกัด

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตัวอักษร A, a, b,c เหนือกราฟ เหมือนกัน หมายถึง ค่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดหยาบที่สกัดได้ ตามครั้งที่สกัด พบว่า การสกัดในครั้งที่ 1 ให้ปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด ทั้งการสกัดจากเนื้อผลและรกหุ้มเมล็ด (ภาพที่ 3-7และตารางที่ 3-4) แต่เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติ ก็พบว่า ปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดเนื้อผลส้มแขก ปริมาณสารสกัดที่ได้จากสกัดครั้งที่ 1 แตกต่าง จากปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัดในครั้งที่ 2 และครั้งที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P < 0.05) (ภาพที่ 3-7) ส่วนการสกัดสารจาก รกหุ้มเมล็ดส้มแขก นั้น ทุกครั้งที่สกัดซ้ำปริมาณสารสกัดจะ

น้อยลง และ แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) (ตารางที่ 3-4)

ตารางที่ 3-4 ค่าเฉลี่ยปริมาณสารสกัดหยาบจากรกหุ้มเมล็ดส้มแขกที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70

ครั้งที่สกัด	ปริมาณสารสกัดหยาบ (ร้อยละ)
1	17.07±3.18ก
2	10.32±0.38ข
3	5.67±0.40ค

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตัวอักษร ก ข ค ที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกัน หมายถึง ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3.3.2.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากส้มแขกที่สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70

นำสารสกัดหยาบที่สกัดได้ มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์พบว่าสารสกัดจากรกหุ้มเมล็ดส้มแขกไม่สามารถทดสอบกับวิธีนี้ได้ เนื่องจากเมื่อเตรียมสารละลาย ด้วย DMSO แล้วนำไปทดสอบสารละลายจะทำปฏิกิริยากับอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้สารละลายขุ่นทันที ส่วนสารสกัดจากเนื้อผลส้มแขก จะให้ ค่า MBC ต่อเชื้อทั้ง 2 ชนิดมากกว่าค่า MIC 2 เท่า (ตารางที่ 3-5)

ตารางที่ 3-5 ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดหยาบจากเนื้อส้มแขกที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70

แบคทีเรีย	เนื้อผล	
	MIC(mg/ml)	MBC(mg/ml)
E. coli	1	2
S. aureus	0.5	1

การสกัดเนื้อผลส้มแขกด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 ในแต่ละขนาดอนุภาค พบว่า ขนาดอนุภาคที่ให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด คือ ขนาด 500 – 1000 ไมโครเมตร โดยขนาดที่แตกต่างกันให้ปริมาณสารสกัดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนจำนวนครั้งที่สกัดพบว่าการสกัดครั้งที่ 1 ให้ปริมาณสารสกัดมากกว่าการสกัดครั้งที่ 2 และ ครั้งที่ 3 แตก

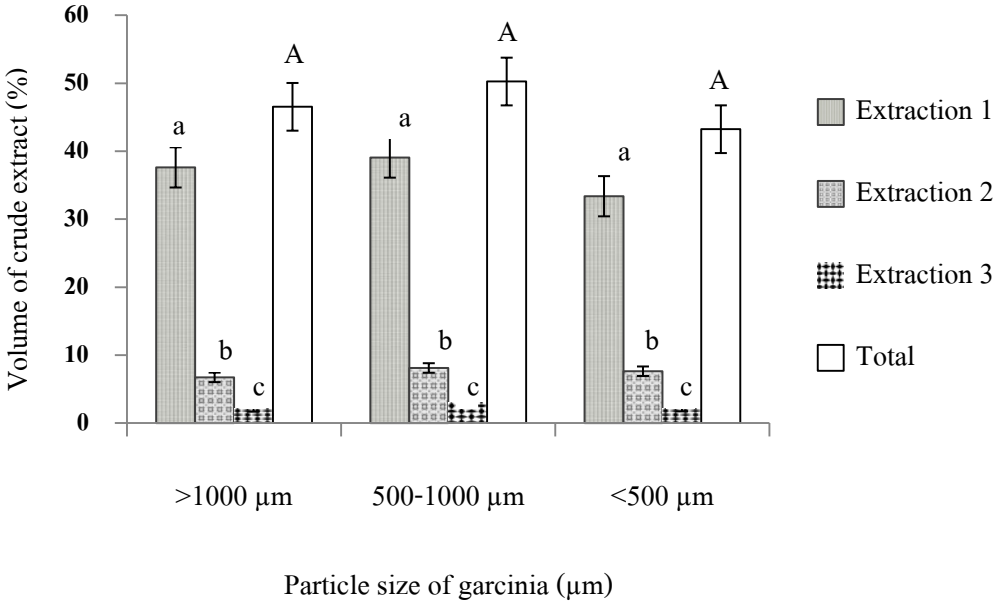
ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *(P*< 0.05) (ภาพที่ 3 -7) แต่การสกัดครั้งที่ 2 และครั้งที่ 3 ให้ปริมาณสารสกัดไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 3-7) ส่วนการสกัดรกหุ้มเมล็ดนั้น เมื่อสกัดด้วยเอทานอล 70 จะได้ปริมาณสารสกัดที่แตกต่างกันทางสถิติทุกครั้งที่สกัด (ตารางที่ 3-4) และเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ พบว่า สารสกัดจากเนื้อผลส้มแขก จะให้ค่า MIC ต่อเชื้อ *E. coli* เท่ากับ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เชื้อ *S. aureus* เท่ากับ 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร(ตารางที่ 3- 5)

3.3.3 ผลการสกัดสารสกัดหยาบจากส้มแขกโดยใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย

ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากเนื้อผลและรกหุ้มเมล็ดส้มแขก ที่สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ได้สารละลายลักษณะใส สีน้ำตาลเข้มเช่นเดียวกับ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอล เข้มข้น ร้อยละ 70 และมีค่าความเป็นกรด- ด่างใกล้เคียงกัน (ค่าความเป็นกรด- ด่าง อยู่ในช่วง 2.26-3.19)

3.3.3.1 ปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดเนื้อผลส้มแขกด้วย เอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 95

ขนาดที่ให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุดคือ ขนาด 500 – 100 ไมโครเมตร ร้อยละ 50.26 รองลงมาคือขนาดเล็กกว่า 500 ไมโครเมตร (ภาพที่ 3-8) เมื่อนำน้ำหนักรวมในแต่ละขนาดมาวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติ พบว่าขนาดอนุภาคทั้ง 3 ขนาดให้ปริมาณสารสกัดหยาบ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ภาพที่ 3-8) และเมื่อนำค่าเฉลี่ยปริมาณสารสกัดหยาบจากเนื้อผลส้มแขก มาวิเคราะห์ปริมาณตามจำนวนครั้งที่สกัด พบว่า การสกัดครั้งที่ 1 ให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด ร้อยละ 36.68 เช่นเดียวกับการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 และเมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติ พบว่าทุกครั้งที่สกัดซ้ำ ให้ปริมาณสารสกัดแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ภาพที่ 3-8) แต่ปริมาณสารสกัดหยาบจาก รกหุ้มเมล็ดส้มแขก ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเดียวกัน การสกัดครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ให้ปริมาณสารสกัดไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกับการสกัดในครั้งที่ 3 อย่างมีมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 3-6)



ภาพที่ 3-8 ร้อยละของปริมาณสารสกัดเนื้อผลส้มแขกที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ตามขนาดอนุภาคและครั้งที่สกัด

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตัวอักษร a,b,c ที่ต่างกันในกราฟเดียวกัน หมายถึง ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตัวอักษร A ที่ต่างกันในกราฟเดียวกัน หมายถึง ค่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 3-6 ค่าเฉลี่ยปริมาณสารสกัดหยาบจากรกหุ้มเมล็ดส้มแขกที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95

ครั้งที่สกัด	ปริมาณสารสกัดหยาบ (ร้อยละ)
1	12.58 ± 4.60^{ก}
2	6.82 ± 2.41^{กข}
3	4.67 ± 0.68^{ข}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตัวอักษร ก ข ที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกัน หมายถึง ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อใช้เอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลายเนื้อผลและรกหุ้มเมล็ดส้มแขก พบว่าในการสกัดเนื้อผลส้มแขกในขนาดอนุภาคต่างๆ ขนาดที่ให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุดคือ ขนาด 500 – 1000 ไมโครเมตร รองลงมาคือ ขนาดอนุภาค ใหญ่กว่า 1000 ไมโครเมตรโดยขนาดที่แตกต่างกันให้ปริมาณสารสกัดไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่จำนวนครั้งที่สกัด พบว่าทุกครั้งที่สกัดซ้ำจะให้ปริมาณสารสกัดแตกต่างกันกันทางสถิติ ส่วนการสกัดรกหุ้มเมล็ดนั้น การสกัดครั้งแรก และครั้งที่ 2 ให้ปริมาณสารสกัดไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การสกัดครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ให้ปริมาณสารสกัดแตกต่างจากครั้งที่ 3 เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลายชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ในการสกัดสารสำคัญจากพืช เนื่องจากเมื่อสกัดเสร็จแล้วสามารถแยกตัวทำละลายออกได้ง่าย แล ะยังสามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้ในสารสกัดได้ด้วย (นุศวดี พจนานุกิจ และ สมใจ ขจรชีพพันธ์งาม, 2553)

3.3.3.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากส้มแขกที่สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95

เมื่อนำสารสกัดหยาบที่สกัดได้ ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์พบว่า สารสกัดจากเนื้อผลส้มแขก จะให้ค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อ *S. aureus* เป็นค่าเดียวกันให้ค่า MIC ต่อเชื้อ *E. coli* เท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 3-8) ส่วนสารสกัดจากรกหุ้มเมล็ดส้มแขกไม่สามารถทดสอบกับวิธีนี้ได้ เนื่องจากเมื่อเตรียมสารละลายด้วย DMSO แล้วนำไปทดสอบสารละลายจะทำปฏิกิริยากับอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้สารละลายขุ่นทันที

ตารางที่ 3-7 ค่า MICและ MBC ของสารสกัดหยาบจากเนื้อส้มแขก ที่สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95

แบคทีเรีย	เนื้อผล	
	MIC(mg/ml)	MBC(mg/ml)
E. coli	1	2
S. aureus	1	1

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ของสารสกัดหยาบจากเนื้อ ผลและรกหุ้มเมล็ดส้มแขกที่สกัดด้วย ตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด พบว่าเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย เนื้อผลส้มแขกให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* เท่ากับ 2 และ 1 มิลลิกรัม

ต่อมิลลิลิตร และรกหุ้มเมล็ดให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อ แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด เท่ากับ 4 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3-3) ส่วนสารสกัดหยาบจากเนื้อผล ที่สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 และสกัดด้วยเอทานอล เข้มข้นร้อยละ 95 ให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* เท่ากับ 1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 3-5 และ 3-7) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Mackeen และคณะ (2000) และ Permana และคณะ (2001) ซึ่งรายงานว่า ผล ใบ เปลือกลำต้น เปลือกกิ่ง และราก ที่ใช้เมทานอลสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *S. aureus* สายพันธุ์ดื้อยา methicillin (MRSA) และแบคทีเรียชนิดอื่น เช่น *Pseudomonas aeruginosa* และ *Bacillus cereus* สายพันธุ์ Wild type และ Mutant โดย พบว่าสารสกัดจากราก สามารถ ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ผล เปลือกลำต้นและเปลือกกิ่ง แต่อรุณพร อิฐรัตน์และคณะ (2543) ได้ศึกษาและรายงานว่า สารสกัดในชั้นน้ำ และสารสกัดในชั้นน้ำของกากที่เหลือจากการสกัดด้วยเอทานอลไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA และ *Shigella sonnei* ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และคณะ (2553) ศึกษาและ รายงานว่า สารสกัดจากผงส้มแขกที่สกัดด้วยเมทานอล สามารถยับยั้งกา รเจริญของ MRSAได้ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตร แตกต่างจากการศึกษาในครั้งนี้เพราะมิได้ใช้ *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อยา การที่สารสกัดน้ำของส้มแขกสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้นั้น อาจเพร าะส้มแขกมีสารประกอบที่เป็นสารฟีน อลิก ซึ่งสารนี้มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ (ศรัญญา พรศักดา และคณะ, 2553) โดย Kruawan และ Kangsadalampai (2006) รายงานว่า ผลส้มแขก 1 กรัมที่สกัดด้วยน้ำร้อน ให้สารฟีนอลิก 36.76 มิลลิกรัม/กรัม จีเออี (gallic acid equivalents,GAE) และเมื่อมีสารฟี นอลิกสูง ก็จะมีปริมาณสารแซนโธนสูงด้วย ซึ่ง นุชรี ชาติวังศากุล (2552) รายงานว่าเครื่องต้มยำส้มแขกจะมีปริมาณสารฟีนอลิกลดลง เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ส้มแขกยังมีสาร 2-(butoxycarbonylmethyl)-3-butoxycarbonyl-2-hydroxy-3-propanolide และ 1-,1-dibutyl methyl hydroxycitrate ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Cladosporium herbarum* (Mackeen *et.al*, 2002) และยังมีสาร atroviridin (1) ซึ่งเป็นสารกลุ่มแซนโ ธน(Xanthones) (Kosin *et.al*, 1998) ซึ่งสารนี้มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Iinuma *et.al*, 1996; รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547; ประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ และคณะ, 2552) โดยการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอาจเป็นผลมาจากสารสกัดส้มแขกยับยั้งการสังเคราะห์ Acetyl-CoA และ Oxaloacetate ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์ กรดไขมัน และไขมันในกระบวนการเม ทาบอลิซึมของเซลล์แบคทีเรีย (Jena *et.al,* 2002; Amran *et.al* 2009) นอกจากนี้ก็มี รายงานว่าในเปลือกมังคุดซึ่งเป็นพืชในสกุลเดียวกันกับส้มแขกมี ปริมาณสาร แซนโธน 69.78 ไมโครกรัมต่อกรัม

ของแข็งของสารสกัด และยังพบว่าปริมาณสารแซนโธนนี้ มีในเปลือกมังคุดอบแห้งมากกว่าเปลือกมังคุดสด (ประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ และคณะ, 2552)

3.3.4 เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดหยาบของเนื้อผลส้มแขก และรกหุ้มเมล็ด

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดหยาบของเนื้อผลส้มแขกที่ได้จากการสกัดด้วย ตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ น้ำ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 พบว่าการสกัดด้วยน้ำ ให้ร้อยละปริมาณสารสกัดมากที่สุด ร้อยละ 49.26 รองลงมาคือ การสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 ตามลำดับ (ตารางที่ 3-9) ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ ประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ และคณะ, (2552) ที่สกัดเปลือกมังคุดด้วย เมทานอล เอทานอล และน้ำ พบว่าการสกัดด้วยเมทานอลจะให้ปริมาณสารสกัดและสารแซนโทนมากที่สุด และการสกัดด้วยน้ำจะให้ปริมาณสารสกัดและสารแซนโทนน้อยที่สุด ซึ่ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ที่เป็นเช่นนี้อาจจะเนื่องมาจากการมีสารสำคัญที่แตกต่างกัน ส้มแขกมีสารสำคัญเป็นกรดที่ให้รสเปรี้ยว แต่มังคุดมีสารสำคัญเป็นสารกลุ่มแทนนินที่ให้รสฝาด (สำนักงานข้อมูลสมุนไพร, 2543) และมีรายงานของ ปาริชาติ เทพทอง และวรรณฤดี หิรัญรัตน์, (2553) รายงานว่าการสกัดน้ำยางชะมวงด้วยตัวทำละลายอะซิโตน ได้ปริมาณสารสกัด ร้อยละ 89.03 และยังพบว่าในน้ำยางชะมวงนี้มีสารประเภทแซนโธน จำนวน 5 สาร ปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำแตกต่างกับปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 และ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ อรุณพร อิฐรัตน์ และคณะ (2543) ที่สกัดส้มแขกด้วยน้ำ มีผลได้ร้อยละ 22.40 โดยใช้เวลาสกัด 1 ชม แต่การสกัดครั้งนี้ใช้เวลาสกัดนานกว่า (3 ชม.) และการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ได้สารสกัดร้อยละ 33.36 ซึ่งน้อยกว่าการสกัดในครั้งนี้เช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจากการสกัดในงานวิจัยนี้ ได้ออกแบบงานวิจัยให้มีการกวนผสมสารตลอดระยะเวลาที่สกัด ทำให้ตัวทำละลายสัมผัสกับผิวของสารมากขึ้น เกิดการละลายของสารตลอดเวลา จึงได้ สารสกัดมากกว่า นอกจากนี้ความเข้มข้นของตัวทำละลายก็มีผลต่อปริมาณผลได้ของสารสกัดเช่นกัน (Spigno *et al.*, 2007) ส่วนการสกัดส้มแขกด้วยตัวทำละลายอื่น มีรายงานของ Mackeen และคณะ (2000) ใช้เมทานอลสกัดผลของส้มแขกได้ปริมาณสารสกัด ร้อยละ 5.8 จะเห็นว่าการสกัดด้วยน้ำให้ปริมาณสารสกัดมากกว่า จึง เลือกวิธีการสกัดด้วยน้ำไปศึกษาในขั้นต่อไป

ตารางที่ 3-8 ร้อยละของปริมาณสารสกัดจากเนื้อผลส้มแขกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย

ตัวทำละลาย	ปริมาณสารสกัดที่ได้ (ร้อยละ)
น้ำ	49.29 ±3.11ก
เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70	47.33 ±1.37ข
เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95	46.68 ±3.51ข

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตัวอักษร ก ข ค ที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกัน หมายถึง ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ส่วนการสกัดสารสกัดหยาบจากรกหุ้มเมล็ดนั้น พบว่าการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ให้ร้อยละปริมาณสารสกัดมากที่สุด รองลงมาคือ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 และการสกัดด้วยน้ำ ให้ปริมาณสารสกัดน้อยที่สุด (ตารางที่ 3-9) โดยปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำแตกต่างกับปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) เมื่อสกัดด้วยน้ำแล้วได้สารสกัดน้อยนั้น เนื่องมาจากรกหุ้มเมล็ดที่มียางสีเหลืองอยู่ในปริมาณมาก ซึ่งยางสีเหลืองนี้ประกอบด้วยสารกลุ่มแซนโธนร้อยละ 75 สารแซนโธนนี้ละลายได้ดีในสารระเหยชนิดที่มีพิษ เช่น เมทานอล และอะซีโตน (พัชรี พลิมพิสา ลิมปียเฐียร, 2008; Han and Xu, 2009) ส่วนเอทานอล เป็นของเหลว ใส ไม่มีสี มีกลิ่นหอม มีคุณสมบัติคือ ติดไฟให้ความร้อนสูง ไม่มีเขม่า ละลายน้ำได้ดี เป็นตัวทำละลายที่มีขั้วน้อยกว่าน้ำ มีอำนาจในการทำละลายกว้างมาก (อมรรัตน์ สีสุกอง และคณะ, 2550) จึงละลายสารสำคัญในส้มแขกที่ไม่ละลายน้ำออกมาได้มากกว่าน้ำ แต่เป็นสารที่มีราคาแพงและมีความเป็นพิษสูงกว่าน้ำ (นุศวดี พจนานุกิจ และ สมใจ ขจรชีพพันธ์งาม, 2553)

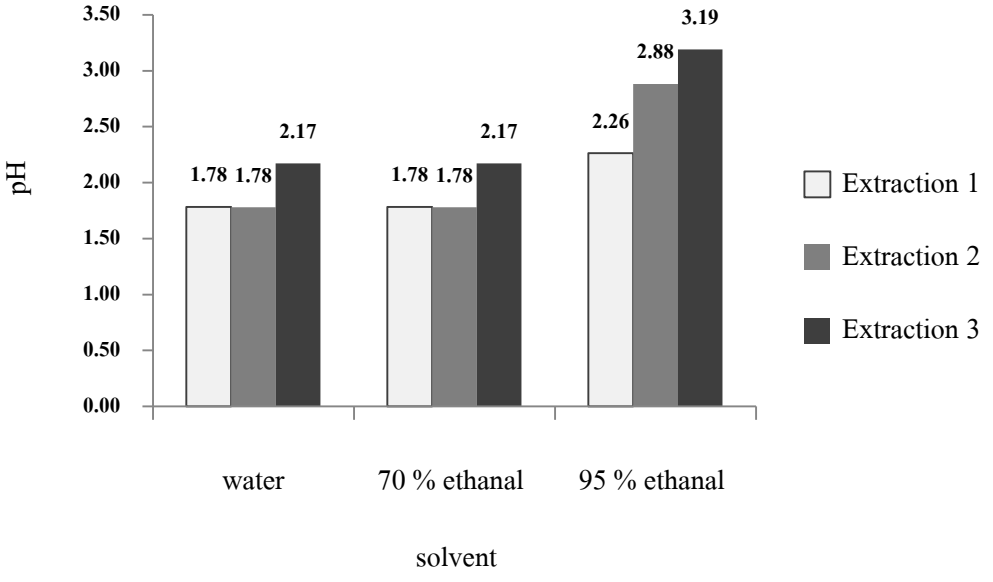
ตารางที่ 3-9 ร้อยละของปริมาณสารสกัดจากรกหุ้มเมล็ดส้มแขกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย

ตัวทำละลาย	ปริมาณสารสกัดที่ได้ (ร้อยละ)
น้ำ	8.03 ±0.63ก
เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70	33.06 ±3.38ข
เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95	36.80 ±0.96ข

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตัวอักษร ก ข ที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกัน หมายถึง ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่าความเป็นกรด-ด่างของสารสกัดหยาบจากส้มแขก พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดจากเนื้อผลส้มแขก ด้วยตัวทำละลายทั้ง ชนิด 3 มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 1.78–3.19 (ภาพที่ 3-9)ส่วน สารสกัดหยาบที่สกัดจากรกหุ้มเมล็ดจะมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 2.64-3.72 ซึ่งรกหุ้มเมล็ดจะมีค่าความเป็นกรด-ด่างมากกว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อผลทุกครั้งที่สกัด และเมื่อสกัดซ้ำค่าความเป็นกรด-ด่างจะเพิ่มขึ้น (ความเป็นกรดจะน้อยลง) (ภาพที่ 3-9) ส้มแขกมีสภาวะเป็นกรดสูง เพราะส้มแขกมีกรดผลไม้หลายชนิดเป็นองค์ประกอบ เช่น กรดซิตริก กรดทาร์ทาริก กรดแอสคอบิก (Amran *et al*., 2009) กรดไฮดร็อกซีซิตริกแลคโตน (Muensritharam *et al*., 2008) และสารที่เป็นองค์ประกอบสำคัญ คือ กรดไฮดร็อกซีซิตริก (Hydroxycitric acid) (Normah and Benjamin, 2003; Muensritharam *et al*.,2008) ซึ่งมักเรียกย่อว่า กรดเอชซีเอ ซึ่ง Lewis and Neelakantan (1965) รายงานว่ามีอยู่ในปริมาณร้อยละ19.82 (แยกด้วยวิธีโครมาโตกราฟีและสเปกโตรสโกปี) แต่นุชนภางค์ มณีวงศ์ (2538) รายงานว่ามีอยู่ในปริมาณร้อยละ10.05 ของน้ำหนักเปลือกผลแห้ง และ Muensritharam และคณะ (2008) รายงานว่าผลแก่ของส้มแขกมีปริมาณกรดเอชซีเอ ร้อยละ 24 ของน้ำหนัก ซึ่งสอดคล้องกับอรุณพร อิฐรัตน์ และคณะ (2543)ได้รายงานไว้ว่าส้มแขกมีปริมาณกรดทั้งหมด 34.25 กรัมเปอร์เซ็น(g%) และการสกัดด้วยน้ำให้ปริมาณกรดมากที่สุด โดย Muensritharam และคณะ (2008) รายงานว่าอุณหภูมิการสกัดที่ต่ำจะได้ปริมาณกรดไฮดร็อกซีซิตริกมากกว่าอุณหภูมิการสกัดสูง



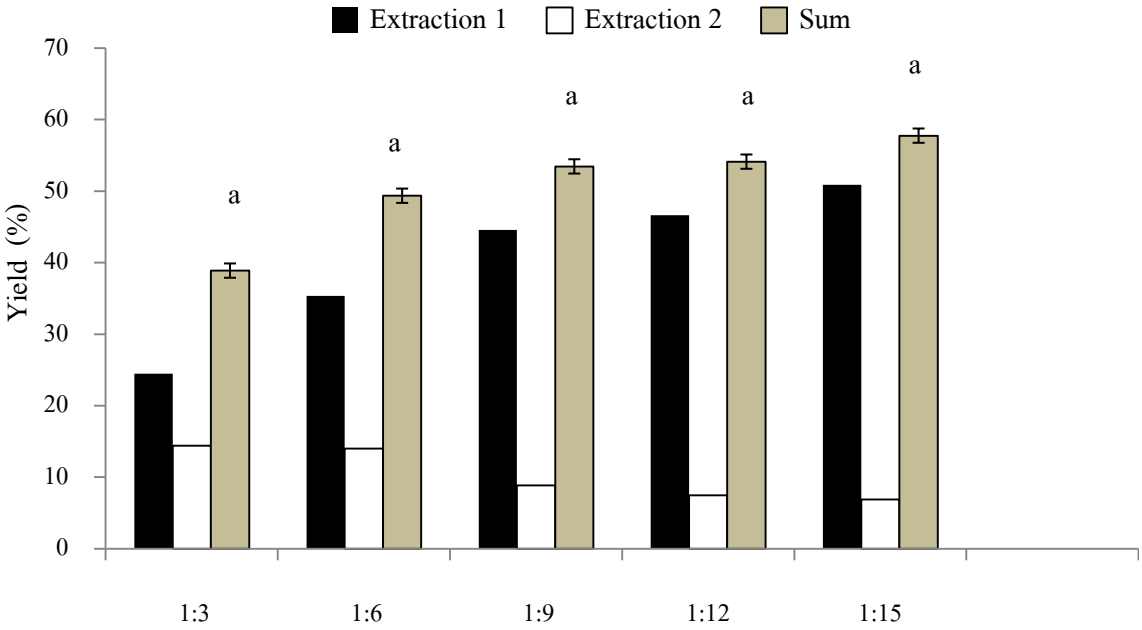
ภาพที่ 3-9 ค่าความเป็นกรด-ด่างของสารสกัดหยาบจากเนื้อผลส้มแขกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย

ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า การสกัดส้มแขกด้วยตัวทำละลาย ทั้ง 3 ชนิด การสกัดด้วยน้ำให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด ถึงแม้ว่าเมื่อทดสอบประสิทธิภาพ การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจะมีประสิทธิภาพด้อยกว่าการสกัดด้วยเอทานอลก็ตาม แต่น้ำเป็นสารละลายที่หาง่าย ราคาถูก ปลอดภัยกว่าเอทานอล และไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม จึงเลือกวิธีการสกัดด้วยน้ำ เพื่อศึกษาอัตราส่วนและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อไป โดยเลือกสกัดเพียง 2 ครั้งเท่านั้น เนื่องจากการสกัดในครั้งที่ 3 ให้ปริมาณสารสกัดน้อยมาก และไม่แยกขนาดอนุภาคในการสกัด เนื่องจากผลการทดลองพบว่าขนาดอนุภาคของส้มแขกบดที่แตกต่างกันให้ปริมาณสารสกัดไม่แตกต่างกัน ส่วนรกหุ้มเมล็ดนั้น เนื่องจากมีประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียด้อยกว่าสารสกัดจากเนื้อผลส้มแขก จึง ไม่ไปศึกษาในขั้นตอนไป

3.4 ผลการศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายและระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด

3.4.1 ผลของอัตราส่วนตัวทำละลายในการสกัดสารจากส้มแขก

ศึกษาอัตราส่วนของผงส้มแขกต่อน้ำ ในอัตราที่แตกต่างกัน 4 ระดับคือ 1:3, 1:6, 1:9, 1:12 และ 1:15 โดยใช้ระยะเวลาสกัด 3 ชั่วโมง จากภาพที่ 3-10 จะเห็นได้ว่า เมื่ออัตราส่วนของน้ำเพิ่มขึ้นจะได้ปริมาณสารสกัดมากขึ้นเรื่อยๆ และเริ่มมีแนวโน้มปริมาณ สาร สกัดคงที่ เมื่อใช้น้ำในอัตราส่วน 1:15 อัตราส่วนที่ให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด เมื่อวิเคราะห์ครั้งที่สกัด พบว่า เมื่อสกัดซ้ำปริมาณสารสกัดที่ได้จะลดลง และยังพบว่า ถ้าในการสกัดครั้งที่ 1 ให้ปริมาณสารสกัดน้อย การสกัดในครั้งที่ 2 จะให้ปริมาณสารสกัดมากขึ้น ซึ่งเป็นลักษณะที่บ่งบอกว่า ส้มแขกมีปริมาณสารจำนวนจำกัด เช่นเดียวกับการทดลองก่อนหน้านี้ เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติ พบว่าทุกอัตราส่วน ให้ปริมาณสารสกัดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ภาพที่ 3-10)



ภาพที่ 3-10 ปริมาณสารสกัดส้มแขกที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำในอัตราส่วนต่างๆ

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตัวอักษร a ที่เหมือนกันในรูป หมายถึง ค่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

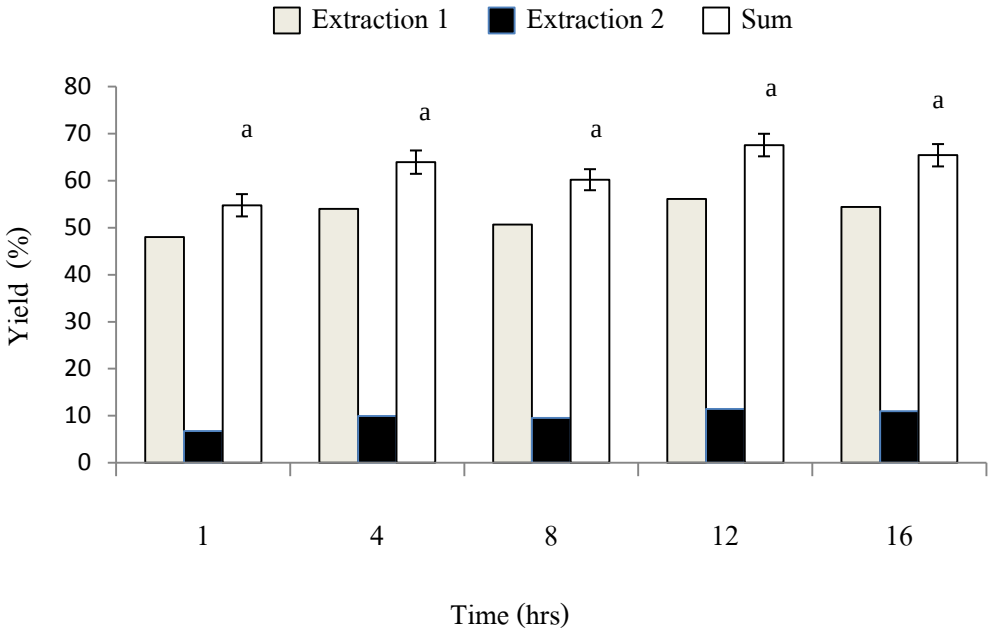
ตารางที่ 3-10 ค่า MICและMBC (mg/ml) ของสารสกัดหยาบจากเนื้อผลส้มแขกที่สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วนต่างๆ

แบคทีเรีย	1:3		1:6		1:9		1:12		1:15	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
E. coli	2	4	2	2	2	2	2	2	2	2
S.aureus	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2

จากตารางที่ 3-10 เมื่อนำสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วนต่างๆ มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย พบว่าค่า MBC ต่อเชื้อ *S. aureus* เท่ากับ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมากกว่าค่า MIC 2 เท่า ส่วนเชื้อ *E. coli* ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน จึงเลือกอัตราส่วนในการสกัด 1: 15 เนื่องจากให้ปริมาณสารสกัดเฉลี่ยมากที่สุดมาศึกษาระยะเวลาในการสกัดต่อไป

3.4.2 ผลของระยะเวลาในการสกัดส้มแขก

เลือกอัตราส่วนผงส้มแขกต่อน้ำ อัตรา 1:15 มาศึกษาระยะเวลาในการสกัดที่ 1, 4, 8, 12 และ 16 ชั่วโมง พบว่าระยะเวลาสกัด 12ชั่วโมงให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด (ภาพที่ 3-11) แต่เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าระยะเวลาสกัด 1 – 16 ชั่วโมงให้ปริมาณสารสกัดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (ภาพที่ 3-11)



ภาพที่ 3-11 ปริมาณสารสกัดหยาบจากส้มแขกที่สกัด ในระยะเวลาต่างๆ

หมายเหตุ ตัวอักษร a ที่เหมือนกันในรูป หมายถึง ค่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากผลการศึกษาพบว่า ค่า MIC ของสารสกัดหยาบจากส้มแขก ต่อเชื้อ *E. coli* เท่ากับ 8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทุกระยะเวลาที่สกัด แต่ค่า MBC จะสูงขึ้นเมื่อใช้เวลาในการสกัด 12 และ 16 ชั่วโมง โดยให้ค่า MBC เท่ากับ 16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เชื้อ *S. aureus* ให้ค่า MIC และ MBC เป็นค่าเดียวกัน เท่ากับ 8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเชื้อ *B. cereus* และ *S. thyphimurium* สารสกัดหยาบจากส้มแขก แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญได้เช่นกัน โดยมีค่า MIC เท่ากับ 8 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตร และค่า MBC เท่ากับ 16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ใช้อาหาร MHB) และยังพบว่าระยะเวลาในการสกัด ที่ 1, 4, 8, 12 และ 16 ชั่วโมง สารสกัดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียคงเดิม (ตารางที่ 3-12) เมื่อเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ Gentamycin พบว่า Gentamycin ให้ค่า MIC และ

MBC ต่อเชื้อแบคทีเรีย ทั้ง 4 ชนิด อยู่ในช่วง 0.49-3.91 ซึ่งน้อยกว่าค่า MIC และ MBC สารสกัดจากส้มแขก

ประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียนี้แตกต่างจาก รายงานของ Mackeen และคณะ, (2000) ซึ่งได้ทดสอบ ค่า MID ของสารสกัดจากผลส้มแขก ที่สกัดด้วยเมทานอล ต่อเชื้อ *B. subtilis, MRSA, E. coli* มีค่า MID เท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ Sukphonma และคณะ (2006) ยังพบว่า เชื้อ *MRSA* สามารถยับยั้งได้ด้วยสาร Caged-Polyprenylated Xanthones ซึ่งสกัดได้จากผล *Garcinia scortechinii* มีค่า MIC เท่ากับ 4 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร Permana และคณะ (2001) ได้สกัดสาร Atrovirinone Atroviridone จากส้มแขก มาทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อดิสก์ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *B. cereus,* แต่ยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ไม่ได้ เนื่องจาก *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบมีชั้นของผนังเซลล์ที่แข็งแรง มีเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกและผนังเซลล์ ในขณะที่แบคทีเรียแกรมบวกจะมีแต่ชั้นของผนังเซลล์เท่านั้น ทำให้แบคทีเรียแกรมลบทนต่อสารสกัดได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Burt, 2004 ; สุมลรัตน์ จันทะผล, 2550)

ตารางที่ 3-11 ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดหยาบจากเนื้อผลส้มแขกที่สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:15 ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลาสกัด(ชม.)	แบคทีเรีย	NB		MHB	
		MIC(mg/ml)	MBC(mg/ml)	MIC(mg/ml)	MBC(mg/ml)
1	*E. coli*	2	2	8	8
4		2	2	8	8
8		2	2	8	8
12		2	2	8	16
16		2	2	8	16
Gentamycin		0.49-1.95	3.91	0.98	1.95
1	*S. aureus*	1	2	8	8
4		1	2	8	8
8		1	2	8	8
12		1	2	8	8
16		1	2	8	8
Gentamycin		0.24-0.49	0.49	0.49	0.49
1	*S. thyphimurium*	8	8	8	16
4		8	8	8	16
8		4	8	8	16
12		4	8	8	16
16		4	8	8	16
Gentamycin		0.49-0.98	1.95	0.98	3.91
1	*B.cereus*	4	4	8	16
4		4	4	8	16
8		4	4	8	16
12		4	4	8	16
16		4	4	8	16
Gentamycin		1.95-3.91	3.91	0.49-1.95	3.91

การทดลองครั้งนี้ สารสกัดจากส้มแขกสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบได้ แต่ต้องใช้ปริมาณมากกว่า ซึ่งมีสารสกัดจากพืชหลายชนิด ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบได้ เช่น สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง ที่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถต้านการเจริญของ *S. aureus* ได้ ถ้ามากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้านการเจริญของ *E.coli* ได้ (ศุภร อังศุจินดา, 2549) สารสกัดจากใบชาสด และใบชาแห้งที่ปลูกในจังหวัดเชียงราย สามารถต้านการเจริญของ *S. aureus*, *E. coli, S. typhimurium*, *B. cereus,* ได้ (เดือนเต็ม ทองเผือก, 2548) สารสกัดจากเมล็ด *Garcinia Kola* ที่สกัดด้วยไดเอททิลอีเทอร์ และน้ำก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*, *E. coli,* และ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรขึ้นไป (Ghamba *et.al.*, 2011) ส่วนนี้ ใช้อาหาร MHB ในการเลี้ยงเชื้อ อาหาร MHB เป็นอาหารที่แนะนำในการทดสอบค่า MIC และ MBC เนื่องจากเป็นอาหารที่ไม่เฉพาะเจาะจงต่อจุลินทรีย์ ชนิดใด การทดสอบด้วย อาหาร MHB พบว่าค่า MIC และค่า MBC เพิ่มขึ้นจากการใช้อาหาร NB ทั้งนี้เพราะอาหาร NB อาจมีปริมาณสารอาหารที่ไม่เหมาะกับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

จากการทดลองในข้อ 3.4 นี้ จึงเลือกใช้อัตราส่วนในการสกัด 1:15 ระยะเวลาในการสกัด 1 ชั่วโมง เพื่อสกัดสารสกัดหยาบจากส้มแขกในการทำเจลทำความสะอาดมือต่อไป

3.5 ผลการทำผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก

3.5.1 ผลการทำผลิตภัณฑ์เจลทำความสะอาดมือ ที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก

เจลทำความสะอาดมือ ชุดควบคุม และชุดทดลอง ที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก มีลักษณะทางกายภาพ และความเป็นกรด-ด่าง ดังแสดงใน ตารางที่ 3-13 ซึ่งพบว่าสูตรเจลทำความสะอาดมือที่ทดลองทำ เมื่อเติมสารสกัดส้มแขกลงไป แม้เพียงเล็กน้อย เจลจะอ่อนตัวลง ความหนืดจะลดลงอย่างรวดเร็ว และเปลี่ยนลักษณะทางกายภาพของเจล คือ ทำให้สีเจลขุ่น ไม่ใสเหมือนเดิม และเหลวไม่จับตัวเป็นเจลอีก (ตารางที่ 3-13) ทั้งนี้เนื่องจาก Carbopolซึ่งใช้เป็นตัวก่อเจลทำปฏิกิริยากับสารสกัดส้มแขกทำให้เจลเปลี่ยนสภาพ Carbopol ที่เลือกใช้ในครั้งนี้เป็น Carbopol 940 จะมีความหนืดมากที่สุด มีสถานะเป็นกรด มีลักษณะเป็นผงสีขาว เบา และฟุ้งกระจายได้ง่าย แต่ดูดความชื้นอย่างรวดเร็ว ละลายได้ในแอลกอฮอล์ ไกลเซอรีน และน้ำ (กุลกานต์ จั่วแจ่มใส และโชติกานต์ เลิศอนันตกร, 2553) ซึ่งสิริพร บูรพาเดชะ, (2534) รายงานไว้ว่า Carbopol ไม่ทนกรด แต่สารสกัดส้มแขกมีความเป็นกรดสูง เมื่อเติมลงไปเพียงเล็กน้อย จึงทำให้ความหนืดของเจลลดลง และเกิดความขุ่น ในการเตรียมเจลได้เติม Triethanolamine ซึ่งเป็นด่างแก่เพื่อสะเทิน Carbopol ให้มีความหนืดเพิ่มขึ้น (กุลกานต์ จั่วแจ่มใส และโชติกานต์ เลิศอนันตกร, 2553) แต่ไม่ได้ผล แม้จะใช้

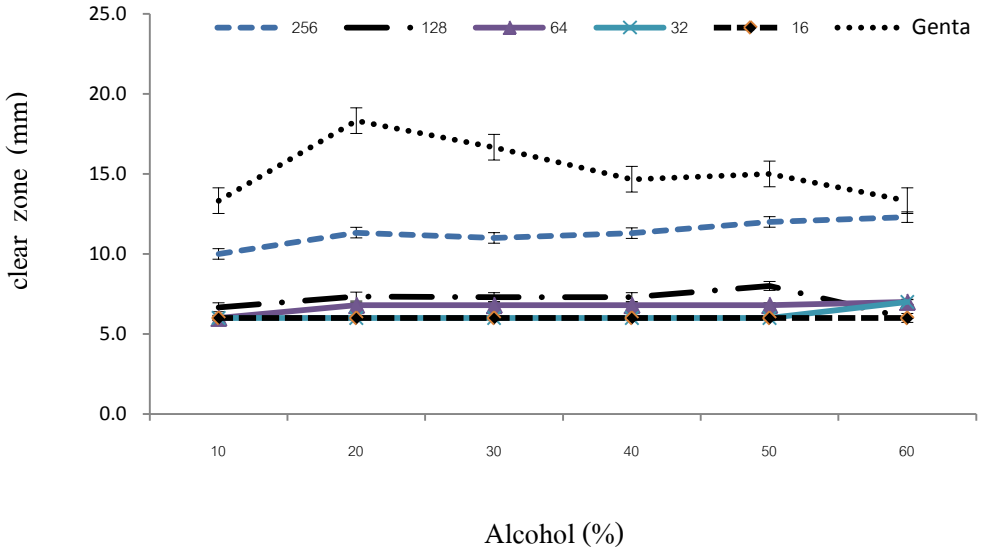
Carbopol มากถึง ร้อยละ 8 ก็ตาม (พิมพร ลีลาพรพิสิฐ , 2552) จึงปรับเปลี่ยนมาเป็นสูตรสเปรย์ ล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดส้มแขกแทน

ตารางที่ 3-11 ลักษณะทางกายภาพ จากการสังเกต และความเป็นกรด- ด่างของเจลทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมสารสกัดส้มแขก

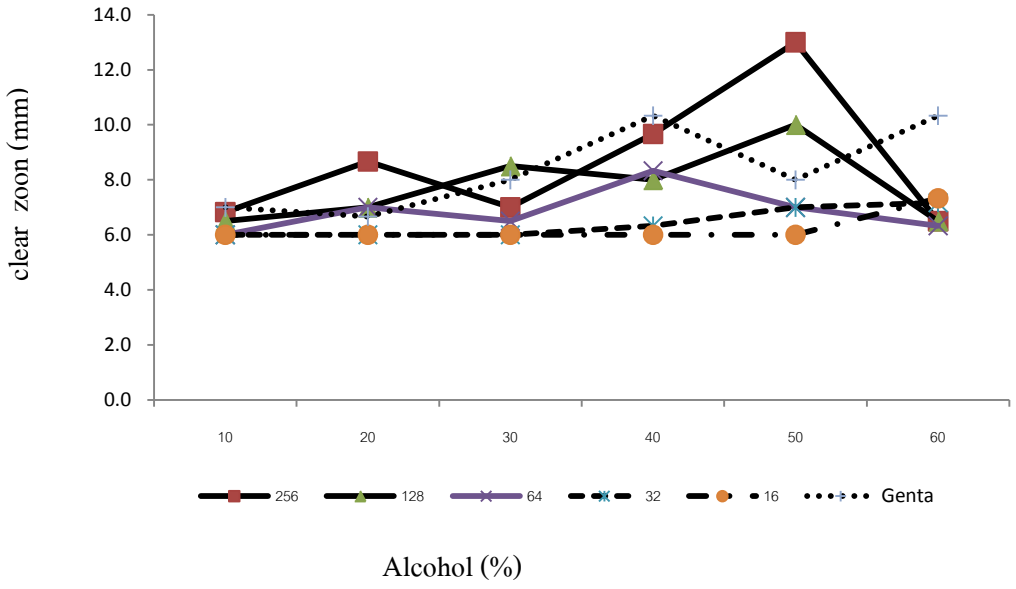
ลักษณะทางกายภาพ	ชุดควบคุม	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3
สี ความใส	ใส	ขุ่น	ขุ่น	ขุ่น
ฟองอากาศ	มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี
ความหนืด	ข้นหนืด	เหลว	เหลว	เหลว
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	7.4	3.0	3.4	3.6

3.5.2 ผลการทำผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือ ที่มีส่วนผสมของจากสารสกัดส้มแขก

ผลการศึกษาปริมาณสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย แสดงค่า Inhibition zone ต่อเชื้อ *s. aureus* และเชื้อ *E. coli* ดังแสดงในภาพที่ 3-12 และ 3-13



ภาพที่ 3-12 ค่าเฉลี่ย clear zone ต่อเชื้อ *s. aureus* ของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมสารสกัดส้มแขก



ภาพที่ 3- 13 ค่าเฉลี่ย clear zone ต่อเชื้อ *E. coli* ของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมสารสกัดส้มแขก

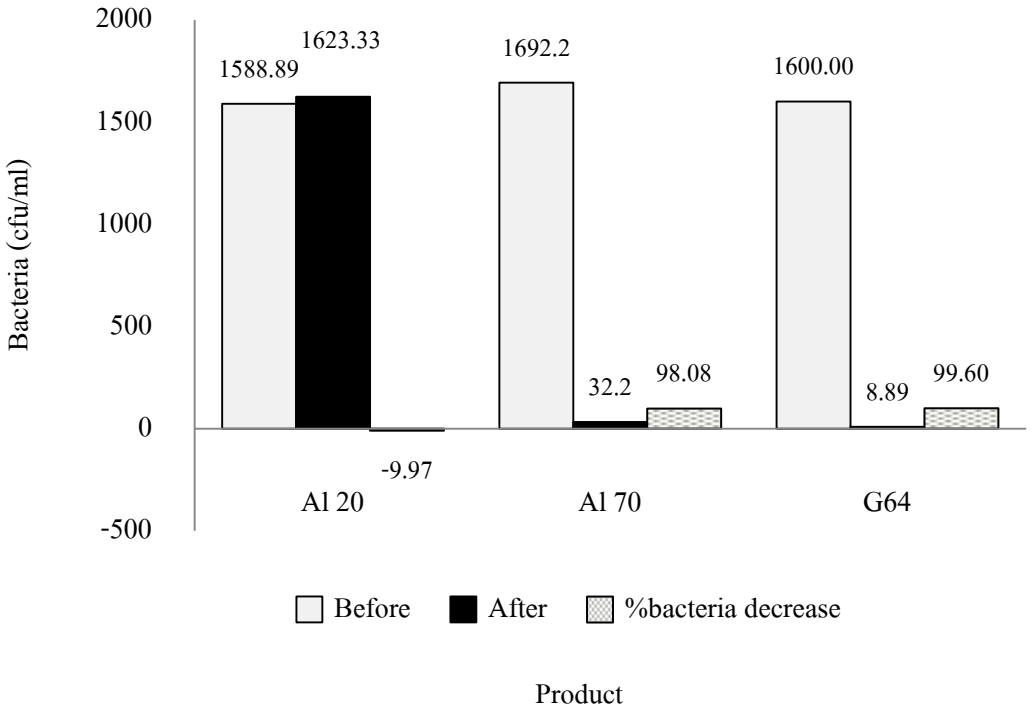
จากการทดสอบปริมาณสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เพื่อหาระดับเอทานอลและสารสกัดส้มแขกที่เหมาะสม ในการเตรียมสเปรย์ทำความสะอาดมือ พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ ร้อยละ 20 และสารสกัดเข้มข้น 64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดได้ จึงเลือกความเข้มข้นดังกล่าวมา เตรียมผลิตภัณฑ์สเปรย์ตัวอย่างและทดสอบประสิทธิภาพกับอาสาสมัคร

3.6 ผลการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนมือ หลังการใช้ผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก

การเตรียมตัวอย่างสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก และสเปรย์แอลกอฮอล์สูตรพื้นฐานที่ไม่มีสารสกัดจากส้มแขก ซึ่งมีส่วนประกอบหลักเพียง 2 อย่างคือ แอลกอฮอล์และน้ำกลั่น และทดสอบในอาสาสมัครจำนวน 6 คน ด้วยการสวอปมือของอาสาสมัครก่อนและหลังใช้สเปรย์ แต่ละชนิด แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนมือ ก่อนและหลังการทำความสะอาดมือ ดังภาพที่ 3-14

จากการศึกษาพบว่าก่อนการทดสอบการล้างมือด้วยสเปรย์ตามชุดทดลอง (G64) และสเปรย์สูตรมาตรฐาน (Al20 และ Al70) อาสาสมัครมีจำนวนจุลินทรีย์บนมือทั้งหมดอยู่ในช่วง 1.5-1.6 x 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร เมื่อทดสอบสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้ม

แขก กับ สเปรย์แอลกอฮอล์สูตรพื้นฐานที่ไม่มีสารสกัดจากส้มแขกพบว่ามีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับสเปรย์แอลกอฮอล์สูตรมาตรฐาน โดยสามารถลดเชื้อจุลินทรีย์บนมือได้ ร้อยละ 99.60 ซึ่งในสเปรย์มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 20 และสารสกัดส้มแขก 64 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ ชุติมา วิไลพันธ์ และคณะ, (2546) ที่ตรวจมือผู้ประกอบการจากโรงงานผลิตไก่แช่แข็ง พบว่ามือผู้ประกอบการมีจุลินทรีย์อยู่ในช่วง $10^3 - 10^4$ โคโลนี/มิลลิลิตร ก่อนการทดสอบผลิตภัณฑ์ล้างมือที่พัฒนาขึ้น โดยมีส่วนผสมเป็น triclosan ร้อยละ 0.25 ซึ่งพบว่าสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนได้ถึงร้อยละ 100 และ Larson และคณะ (2005) ได้นับจำนวนจุลินทรีย์บนมือของพยาบาลในแผนกเด็กแรกเกิดภายหลังการทำความสะอาดมือด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ และแอลกอฮอล์ มีจำนวน 3.21 และ 3.11 $\log^{10}$



**Al20 : สารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 20, Al70 : สารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70
G64: สเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดส้มแขก

ภาพที่ 3-14 ค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนมือก่อน และหลังใช้สเปรย์ทำความสะอาดมือ จากการทดสอบในอาสาสมัคร

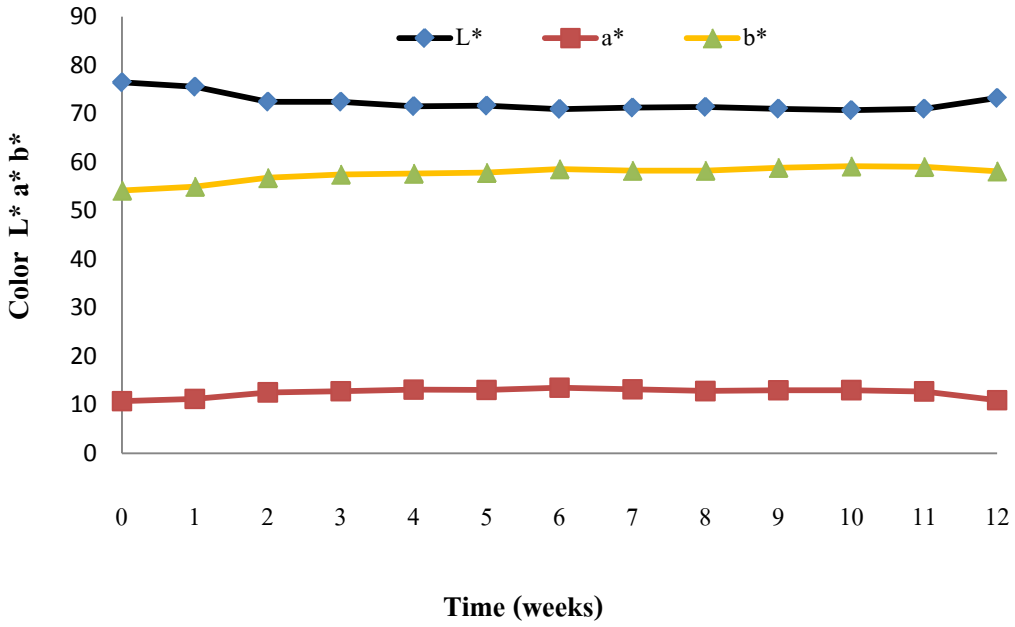
3.7 ผลการศึกษาค่าคุณภาพของผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือจากสารสกัดส้มแขก

3.7.1 คุณภาพทางกายภาพ

-ค่าสี

ศึกษาค่าสี ในระบบ CIE (Commission Internationnal de I' Eclairage) L* a* b* โดย L* หมายถึง ค่าความสว่าง มีค่าตั้งแต่ 0 จนถึง 100 (0 = ดำ) (100 = ขาว) a* หมายถึง ค่าสีแดงและสีเขียว +a* หมายถึง ค่าความเป็นสีแดง และ -a* หมายถึง ค่าความเป็น สีเขียว b* หมายถึง ค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน +b* หมายถึง ค่าความเป็นสีเหลือง และ -b* หมายถึง ค่าความเป็นสีน้ำเงิน (Thongsombat *et.al*., 2007)

ผลการศึกษาพบว่า ผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือ ที่ผลิตขึ้น มีค่า L* เท่ากับ 76.45 ค่า a* เท่ากับ 10.75 และค่า b* เท่ากับ 54.18 (ภาพที่ 3-15)ซึ่งบอกได้ว่า สเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก มี ความสว่าง(L*) ค่อนข้างมาก มีสีค่อนไปทางสีแดงและสีเหลือง และตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาค่าสีมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย โดยค่าความสว่าง(L*) ลดลง แต่ค่า a* และค่า b* เพิ่มขึ้น



ภาพที่ 3-15 ค่าสีของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดส้มแขกเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์

3.7.2 คุณภาพทางเคมี

- ค่าความเป็นกรด-ด่าง

วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง พบว่า สเปรย์ที่ผลิตได้มีคุณสมบัติเป็นกรด ค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วง 2.13 - 2.27 (ตารางที่ 3-12) การที่ผลิตภัณฑ์นี้มีฤทธิ์เป็นกรดเพราะเติมสารสกัดส้มแขกซึ่งมีความเป็นกรดสูง และผลิตภัณฑ์ไม่ได้ใช้สารเคมีอื่นๆในการปรับค่าความเป็นกรดด่างของผลิตภัณฑ์ ค่าที่ได้จึงเป็นค่าที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติของผลิตภัณฑ์นั้นเอง ในชีวิตประจำวันเราจะต้องสัมผัสกับกรดในธรรมชาติอยู่เป็นประจำเช่น น้ำมะนาว ซึ่งค่าความเป็นกรด- ด่าง เฉลี่ยเท่ากับ 2.06

ตารางที่ 3-12 ค่าความเป็นกรด-ด่างของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดส้มแขก เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 12 สัปดาห์

สัปดาห์ที่	ความเป็นกรดด่าง
0	2.13
1	2.18
2	2.19
3	2.21
4	2.19
5	2.22
6	2.27
8	2.22
10	2.19
12	2.28

3.7.3 คุณภาพทางชีวภาพ

การวัดค่าคุณภาพทางชีวภาพ วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก.1403-2551 ซึ่งมีผลการวิเคราะห์ ดังแสดงในตารางที่ 3-15 ซึ่งพบว่าผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดส้มแขก ผ่านมาตรฐานทุกข้อ

ตารางที่ 3-13 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางชีวภาพสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดส้มแขก

จุลินทรีย์ที่ตรวจ	ผล	ค่ามาตรฐาน
1.แบคทีเรีย ยีสต์ และราทั้งหมด (Total colony count)	<10	< 1000 โคโลนี /กรัม
2.*Clostridium* spp.	ไม่พบ	ต้องไม่พบ
3.*Candida albicans*	ไม่พบ	ต้องไม่พบ
4.*Staphylococcus aureus*	ไม่พบ	ต้องไม่พบ
5.Pseudomonas aeruginosa	ไม่พบ	ต้องไม่พบ

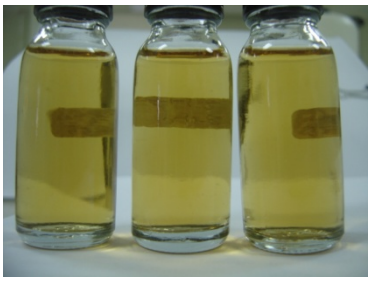
* มอก.1403-2551

3.7.4 ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์

จากการศึกษาการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือที่มี ส่วนผสมของสารสกัดส้มแขก ด้วยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำสลับสูง (5 และ 45 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 6 รอบ พบว่า ลักษณะทางกายภาพที่สังเกตได้ คือสเปรย์เกิดการ แยกชั้น มีสีเข้มขึ้น และมีตะกอนเกิดขึ้น หลังเก็บรักษาไว้เพียง 12 วัน (ตารางที่ 3-14 และภาพที่ 3-16) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดส้มแขกไม่ได้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับเอทานอล

ตารางที่ 3 – 14 ลักษณะของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดส้มแขกระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน

ลักษะทางกายภาพ	ก่อนการทดสอบ	หลังการทดสอบ
สี	เหลืองอ่อน	น้ำตาลอ่อน
การแยกชั้น	ไม่แยกชั้น	แยกชั้น



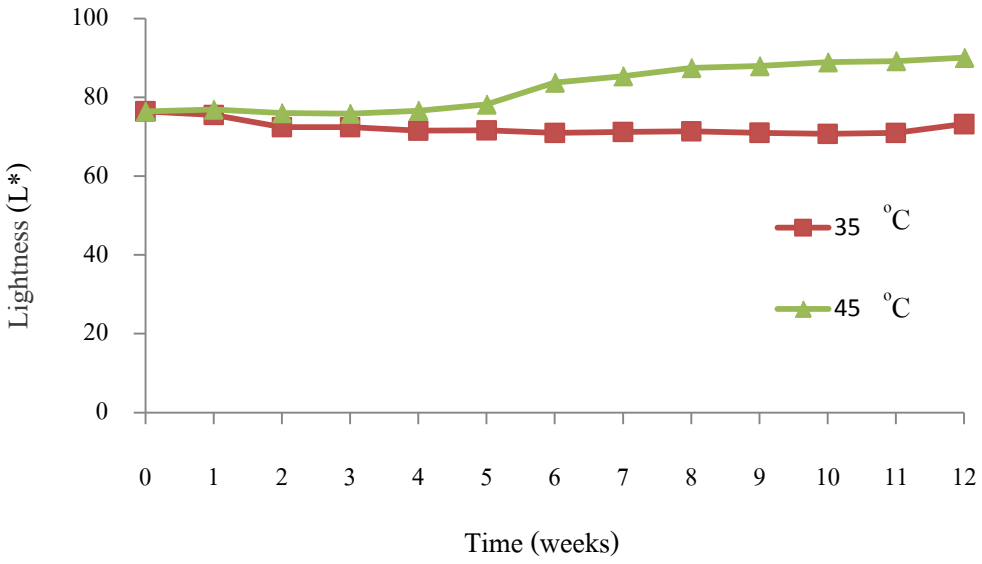
ก่อนการทดลอง

หลังการทดลอง

ภาพที่ 3-16 ลักษณะทางกายภาพของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดส้มแขกที่ผ่านการทดสอบความคงตัว 6 รอบ (12 วัน)

3.7.5 ผลการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มี ส่วนผสมของสารสกัดส้มแขก

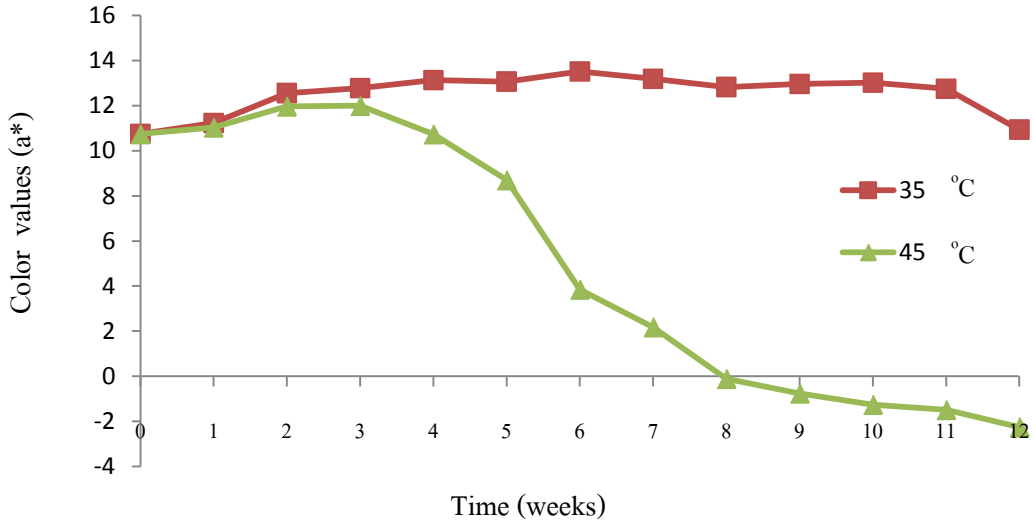
การเก็บรักษาในสภาวะเร่งด้วยอุณหภูมิสูง (35 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เมื่อนำมาวัดค่าความสว่าง L* (ภาพที่ 3-17) พบว่าตลอดระยะเวลาของการทดลองสเปรย์ทำความสะอาดมือที่เก็บในอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จะมีค่าความสว่าง ลดลงเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับ นุชรี ชาติวังศากุล (2552) เก็บเครื่องต้มยำส้มแขกไว้ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วันพบว่าเมื่อระยะการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ค่า L* จะมีค่าลดลง ส่วนสเปรย์ทำความสะอาดมือที่เก็บในอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะมีค่าความสว่างมากขึ้น (สีจางลง) ค่าสีที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากส่วนประกอบที่ทำให้เกิดสีในสเปรย์ เป็นสารสกัดส้มแขกซึ่งเป็นสารจากธรรมชาติ อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ด้วยความร้อน และจากการตกตะกอน ดังนั้นผลิตภัณฑ์นี้ควรเก็บไว้ในที่อุณหภูมิ ไม่สูงกว่า 35 องศาเซลเซียส ตลอดอายุการใช้งาน



ภาพที่ 3-17 ค่าความสว่างของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

เมื่อนำไปวัดค่า สีแดง (a*) พบว่า สเปรย์ทำความสะอาดมือ ที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก ที่เก็บในอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ค่าสีแดงจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อผ่านไป 11สัปดาห์ ค่าสีแดงมีแนวโน้มลดลง ส่วนสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก ที่เก็บในอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ค่าสีแดงจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในสัปดา ห์ที่ 1-3 หลังจากนั้นจะลดลง เมื่อถึงสัปดาห์ที่ 8 จะไม่ค่าสีแดงเลย และเริ่มมีสีเขียว (ภาพที่ 3-18) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ

นุชรี ชาติวังศากุล, (2552) ซึ่งศึกษาเครื่องต้มยำส้มแขก พบว่า เมื่อระยะการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ค่า a* จะมีค่าลดลง

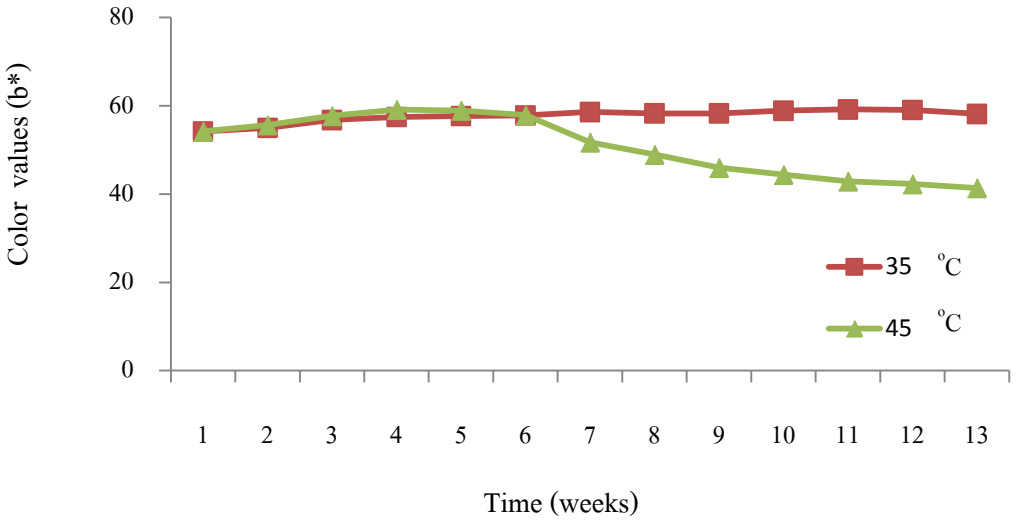


ภาพที่ 3-18 ค่าสีแดงของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

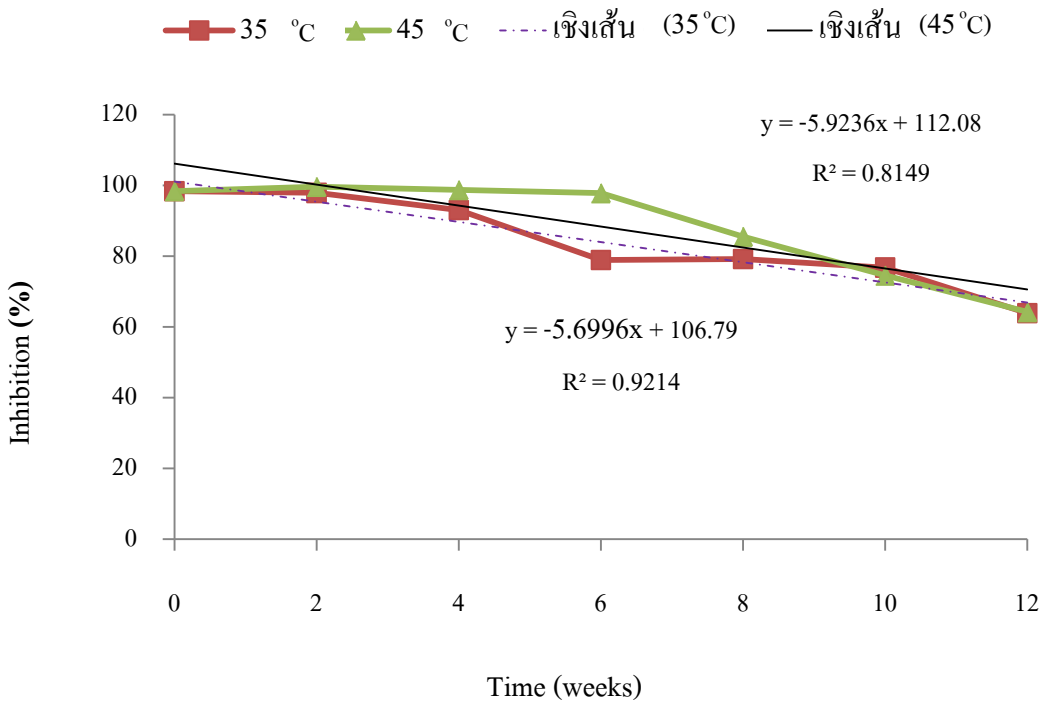
เมื่อนำไปวัดค่าสีเหลือง พบว่า สเปรย์ทำความสะอาดมือ ที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก ที่เก็บ ในอุณหภูมิ 35 องศาเซสเซียส ค่าสีเหลืองค่อนข้างคงที่ สเปรย์ ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขกที่เก็บในอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสจะมีค่าสีเหลืองน้อยลง (ภาพที่ 3-19) ทั้งนี้เพราะสเปรย์ ทำความสะอาดมือ ที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขกเป็นสารธรรมชาติ เมื่อเร่งด้วยความร้อน ทำให้สเปรย์เกิดการเปลี่ยนแปลง เปลี่ยนเป็นสีเหลือง (45องศาเซลเซียส) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ นุชรี ชาติวังศากุล, (2552) ที่ศึกษาเครื่องต้มยำส้มแขก พบว่า เมื่อระยะการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ค่า b* จะมีค่าลดลง

การเก็บรักษาในสภาวะเร่งด้วยอุณหภูมิสูง (35 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 สัปดาห์ มีแนวโน้ม ของประ สิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ลดลง (ภาพที่ 3-20)

($y = -5.6996x+106.79$, $R^2 = 0.9214$; $y = -5.9236x+112.08$, $R^2 = 0.8149$ ตามลำดับ)



ภาพที่ 3-19 ค่าสีเหลืองของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์



ภาพที่ 3-20 ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของสเปรย์ทำความสะอาดมือในระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

3.8 ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์สเปรย์ล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก

การสำรวจความพึงพอใจของผู้บริโภคต่อการใช้ผลิตภัณฑ์สเปรย์ล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก โดยให้ผู้บริโภคจำนวน 60 คน ทดลองใช้ผลิตภัณฑ์สเปรย์ตัวอย่าง และตอบแบบสอบ (ภาคผนวก ง) ผลการสำรวจดังแสดงในตารางที่ 3-16

ตารางที่ 3-16 ร้อยละความพึงพอใจของผู้บริโภค 60 คน ต่อผลิตภัณฑ์สเปรย์ล้างมือสเปรย์ล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก

คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์	ร้อยละ				
	ไม่ชอบมาก	ไม่ชอบ	เฉยๆ	ชอบ	ชอบมาก
สี	-	1.7	16.7	73.3	8.3
กลิ่น	1.7	18.3	16.7	55.0	8.3
ความรู้สึกสะอาดของมือหลังใช้	-	1.7	3.3	78.3	16.7
ความรู้สึกชุ่มชื้นของมือหลังใช้	-	8.3	13.3	58.3	20
ความชอบต่อผลิตภัณฑ์	-	1.7	15	70	13.3

จากข้อมูลที่ได้ พบว่ากลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีความพึงพอใจใน ผลิตภัณฑ์สเปรย์ล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขกโดยมีความ ชอบต่อผลิตภัณฑ์ ร้อยละ 70 รองลงมาคือ เฉยๆ ร้อยละ 15 และชอบมาก ร้อยละ 13.3 ในการศึกษาครั้งนี้ กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์สเปรย์ล้างมือสเปรย์ล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก ในด้านความรู้สึกสะอาดของมือหลังใช้มากที่สุด นอกจากนี้กลุ่มตัวอย่างยังมีความพึงพอใจด้าน สี กลิ่น ความรู้สึกชุ่มชื้นของมือหลังใช้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ มันธนา ศรีสวัสดิ์ (2550) ที่ศึกษาความพึงพอใจของอาสาสมัครต่อสบู่เหลวที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยทีทรี พบว่า อาสาสมัครพึงพอใจสบู่เหลวในด้านความรู้สึกสะอาดลื่นติดมือ และมีความสดชื่นมากที่สุด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะกลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง (ร้อยละ 73.3) และมีสถานภาพสมรส (ร้อยละ 58.3) (ภาคผนวก ค) ซึ่งจะคุ้นเคยกับกลิ่น สี และรสของส้มแขก จากการใช้ประกอบอาหารอยู่แล้ว (สุวรรณี อาจหาญณรงค์, 2539; ธนิต หนูยิ้ม, 2543) ส่วนที่ตอบว่าไม่ชอบกลิ่นของผลิตภัณฑ์นั้น จากการสัมภาษณ์กลุ่มตัวอย่างบอกว่า ได้กลิ่นเหมือนเหล้า อาจเป็นเพราะประชากรในตำบลไพรวัน และตำบลศาลาใหม่ ซึ่งเป็นพื้นที่ในการทด สอบนั้น ส่วนใหญ่นับถือศาสนาอิสลาม มีบทบัญญัติทางศาสนาห้ามมุสลิมดื่มสุราและสิ่งมึนเมาที่ทำให้ขาดสติทุกชนิด และห้ามนำมาประกอบอาหารด้วย (สถาบันมาตรฐานฮาลาลแห่งประเทศไทย, 2555) จึงไม่ชอบผลิตภัณฑ์ที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบ

ด้านความชอบต่อผลิตภัณฑ์นั้น กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่ ชอบผลิตภัณฑ์ที่ทดลองใช้ ซึ่งสอดคล้อง กับการศึกษาของ สริตา ภาคพิเศษ (2551) ที่ศึกษาความชอบของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์โฟมล้างมือที่มีส่วนผสมจากสารสกัดสมุนไพร และพบว่าผู้บริโภค ชอบผลิตภัณฑ์ โดยมี คะแนนความชอบโดยรวม 6 คะแนน (คะแนนเต็ม 10 คะแนน) แต่แตกต่างจากงานวิจัยของ ณิชากร เจริญกุล (2546) ที่ศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์เจลทาสิวที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยจีน พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับผลิตภัณฑ์ ร้อยละ 58.93 และมีความชอบรวม 5.4 คะแนน คือ บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่

บทที่ 4

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

4.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการสกัดสารสกัดหยาบจากส้มแขก ด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด เพื่อนำสารสกัดมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือ ซึ่งสรุปผลการทดลองได้ ดังนี้

1.) ระยะเวลาบดผงส้มแขก

ระยะเวลาที่เหมาะสมในการบด เนื้อผลส้มแขก คือ 3 – 7 นาที จากหลังอบแห้งเสร็จแล้ว จะได้ขนาดอนุภาคของผงส้มแขกในปริมาณใกล้เคียงกัน ทั้ง 3 ขนาด โดยขนาดใหญ่กว่า 1000 ไมโครเมตร มีปริมาณร้อยละ 33.87- 36.06 ขนาด 500-1000 ไมโครเมตร ร้อยละ 21.94 – 28.27 และขนาดเล็กกว่า 500 ไมโครเมตร ร้อยละ 37.29 - 43.57

2.) ชนิดของตัวทำละลายในการสกัดสารสกัดหยาบจากส้มแขก

2.1 การสกัดสารสกัดหยาบจาก เนื้อผลส้มแขกโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย จะให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด ปริมาณสารสกัดที่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 ($P < 0.05$) แต่การสกัดสารสกัดหยาบจากรกหุ้มเมล็ดส้มแขก การใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 จะให้ปริมาณสารสกัดหยาบมากกว่าการสกัดด้วยน้ำ ($P < 0.05$)

2.2 ขนาดอนุภาค ผงส้มแขก ที่ให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด คือ ขนาด 500- 1000 ไมโครเมตร รองลงคือ ขนาดใหญ่กว่า 1000 ไมโครเมตรและเล็กกว่า 500 ไมโครเมตร แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

2.3 การสกัดซ้ำ 3 ครั้ง แต่ละครั้งที่สกัดซ้ำ ปริมาณ สารสกัดที่ได้จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อสกัดซ้ำในครั้งที่ 3 จะได้ปริมาณสารสกัดน้อยมาก แต่ในการสกัดรกหุ้มเมล็ดปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัดครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 จะไม่แตกต่างกัน

3.) อัตราส่วนตัวทำละลายและระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด

3.1 อัตราส่วนของน้ำต่อปริมาณผงส้มแขก อัตราส่วนที่ให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุดคือ อัตราส่วน 1:15 แต่ไม่มีความแตกต่าง กันทางสถิติ กับปริมาณสารสกัดที่ได้จากอัตราส่วนน้อยกว่านี้

3.2 การสกัดในระยะเวลา 1, 4, 8, 12 และ 16 ชั่วโมง ระยะเวลาสกัด 12 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ กับปริมาณสารสกัดที่ได้จากระยะเวลาสกัด 1 – 16 ชั่วโมง

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากส้มแขก ต่อ เชื้อ *S. aureus,* ให้ค่า MIC และ MBC เ ท่ากับ 8 มิลลิกรัม /มิลลิลิตร และให้ ค่า MIC เท่ากับ 8 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร MBC เท่ากับ 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อ *E. coli, B. cereus, S. thyphimurium*

4.) การทำผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมจากสารสกัดจากส้มแขก

4.1 การทำเจลล้างมือไม่สามารถทำเป็นเจลได้ เนื่องจากสารก่อเจลจะเหลว เหมือนน้ำ เมื่อเติมสารสกัดส้มแขก

4.2 การทำสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมจากสารสกัดจากส้มแขก โดยใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 20 และสารสกัดจากส้มแขกเข้มข้น 64 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร สามารถลดจุลินทรีย์บนมือได้ ร้อยละ 99.60

5.) ค่าคุณภาพของผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือจากสารสกัดส้มแขก

ผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือ ที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก มี ความสว่าง (L*) ค่อนข้างมาก (L* = 76.45) มีสีค่อนไปทางสีแดง (a* = 10.75) และสีเหลือง (b* = 54.18) มีค่าความเป็นกรดด่าง 2.13 ค่าคุณภาพทางชีวภาพ ผ่านมาตรฐาน มอก.

6.) ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์

จากการศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำสลับสูง (5 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส) ลักษณะทางกายภาพที่สังเกตได้ จะเกิดการ แยกชั้นของสเปรย์ สเปรย์มีสีเข้มขึ้น และมีตะกอนเกิดขึ้นหลังการทดสอบ 12 วัน

4.2 ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากสารแซนโธน มีมากในยางสีเหลืองของพืชในสกุลการ์ซีเนีย ซึ่งในรกหุ้มเมล็ดส้มแขกมียางสีเหลืองนี้จำนวนมาก ควรจะศึกษาต่อว่าในรกหุ้มเมล็ดมีปริมาณสารแซนโธนเท่าไร และควรใช้ตัวทำละลายชนิดใดในการสกัด

2.จากการทดสอบความพึงพอใจของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์สเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขกที่ผลิตได้ ผู้บริโภคมีควา มพึงพอใจด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์ค่อนข้างน้อย จึงควรศึกษาแนวทางในการพัฒนากลิ่นของผลิตภัณฑ์เพื่อให้ผลิตภัณฑ์น่าใช้ยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข (ม.ป.ป). ล้างมือทุกครั้ง หยุดยั้งเชื้อโรค ค้นเมื่อ 09 มีนาคม 2555, จาก http://203.157.65.15/ewtadmin/ewt/anamai_web/ewt_news.php?nid=2190

กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2549). การปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว ค้นเมื่อ 15 กันยายน, 2555, จาก http://previously.doae.go.th/library/html/detail/ linn/Linn9.htm

กุลกานต์ จั่วแจ่มใส และโชติกานต์ เลิศอนันตกร (2553). *ประสิทธิภาพของแอกอฮอล์เจลและสารละลายแอลกอฮอล์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย*. มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

จารุวรรณ มณีศรี, พายัพ มาศนิยม และ ยุทธนา พงษ์พิริยะเดชะ (2550). *การต้านแบคทีเรียก่อโรคในอาหารด้วยสารสกัดจากดอกไม้ : รายงานการวิจัย*. ปัตตานี: ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

จิรภา คงเขียว (2541). *การศึกษาทางเคมีของ กระชายหลังกง มะดัน เข็ม และสารภี*. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

ชยันต์ พิเชียรสุนทร (2539). ส้มแขก. *ฉลาดบริโภค, 21*(ม.ค-ธ.ค), 52-59.

ชุติมา วิไลพันธ์, ฆรณี ตุ้ยเต็มวงศ, ชัยวัฒน์ กิตติกูล, ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ และ ปรียา วิบูลย์เศรษฐ (2546). *การพัฒนาน้ำยาฆ่าเชื้อที่ปนเปื้อนบนมือแบบสำเร็จรูปสำหรับผู้ประกอบการด้านอาหาร* กรุงเทพฯ.

ณฐนนท์ ตราชู (2545). *กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดพุงทะลาย ขิง และผลส้มแขก*: มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

ณิชากร เจริญกุล, อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ, อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, ประภัสสร รักถาวร และ สิริพร ศิริวรรณ (2548). *การพัฒนาเจลทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดพลู (Piper betle Linn.)*. กรุงเทพมหานคร: กองบริการการศึกษา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เดือนเต็ม ทองเผือก (2548). *ฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดด้วยน้ำจากใบชาสดและใบชาแห้งในจังหวัดเชียงราย*. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, เชียงราย.

เต็ม สมิตินันทน์ (2544). *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย* (พิมพ์ครั้งที่ 2 แก้ไขเพิ่มเติม): ประชาชน จำกัด.

ทิวาพร พรหมรัตน์ (2549). *การพัฒนาผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือขจัดแบคทีเรียแบบไม่ใช้น้ำโดยใช้สารสกัดจากขมิ้นชัน*. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ อุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ธนพร กาวีวน (2553). *ผลของการเรียนรู้แบบมีส่วนร่วมต่อความรู้ ความเชื่อ และการปฏิบัติ การทำความสะอาดมือด้วยแอลกอฮอล์ของพยาบาล ในโรงพยาบาลชุมชน*. วิทยานิพนธ์ปริญญาพยาบาลศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการพยาบาลด้านการควบคุมการติดเชื้อ, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ธนิต หนูยิ้ม, สุวิทย์ ไทยนุกูล, อุบล รักษาศรี และ อรดา เจราหวัง (2543). *ไม้ส้มแขก*. นราธิวาส: ศูนย์วิจัยและศึกษาธรรมชาติป่าพรุสิรินธร

นุชนภางค์ มณีวงศ์ (2538). *กรด (-)-Hydroxycitic จากพันธุ์ไม้บางชนิดในสกุล Garcinia*. วิทยานิพนธ์ปริญญา เภสัชศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเภสัชเวท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

นุชรี ชาติวังศากุล (2552). *เครื่องต้มยำส้มแขกสำเร็จรูป : ผลของชนิดของบรรจุภัณฑ์และเทคนิคการบรรจุต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษา*. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นุศวดี พจนานุกิจ และ สมใจ ขจรชีพพันธ์งาม (2553). *การทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อเกิดสิวของสารสกัดจากพืชสมุนไพร*. การประชุมวิชาการทางวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ประภาวดี ติษยาธิคม (2550). โรคอาหารเป็นพิษสาเหตุจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* ค้นเมื่อ 20 ตุลาคม 2555, จาก http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_1_001c.asp?info_id=210

ประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ, วิไลวรรณ อางนานนท์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์ (2552). โครงการ การพัฒนาสารสกัดจากเปลือกมังคุดเพื่อใช้ในการยืดอายุผลิตภัณฑ์อาหาร : รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร, พิทัย กาญบุตร และ สาธร พรตระกูลพิพัฒน์ (2551). *การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ*. Paper presented at the การประชุมวิชาการสัตว์แพทย์ มข.ครั้งที่ 9.

ปราณี อ่านเปรื่อง (2551). *หลักการวิเคราะห์อาหารด้วยประสาทสัมผัส* (ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปาริชาติ เทพทอง และ วรรณฤดี หิรัญรัตน์ (2553). *ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารประกอบแซนโทนจากน้ำยางชะมวง : รายงานการวิจัย*: ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ.

พสุดา เจี่ยปิยะสกุล (2550). *การประเมินศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านบางชนิด*. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาลอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

พัชรี พลิมพิสา ลิมปิยเฐียร (2008, 13 เมษายน 2551). งานวิจัยมังคุด. ค้นเมื่อ 16 สิงหาคม 2555, จาก http://www.researchers.in.th/blogs/posts/822

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ (2540). *อิมัลชันทางเครื่องสำอาง*. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ (2552). *เครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง*. กรุงเทพฯ: โอเอส พริ้นติ้ง เฮ้าส์.

พีระ พนาสุภน (2552). การแยกสาร ค้นเมื่อ 23 สิงหาคม 2553, จาก http://www.maceducation.com/ e-knowledge/2412212100/16.htm

มันธนา ศรีสวัสดิ์ (2550). *การพัฒนาสบู่เหลวล้างมือผสมน้ำมันหอมระเหยทีทรีและการทดสอบในอาสาสมัคร*. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ความงามและสุขภาพ, มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

รวิพรรณ จาวรรณา (2551). *แนวทางการจัดทำหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตเครื่องดื่มลำไยผงสำเร็จรูป*. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

รัตนา อินทรานุปกรณ์ (2547). *การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร*. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วรรณฤดี แก้วนก (2543). *องค์ประกอบทางเคมีจากกิ่งของ Garcinia scortechinii* วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีอินทรีย์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

วรรธกร ช่วยเพ็ญ, กนกอร ทับแจ้ง และ ชลธิชา กาญจนพิบูลย์ (2551). *การพัฒนาสูตรเจลล้างมือต้านแบคทีเรียจากสารสกัดใบชาอัสสัม*. วิทยานิพนธ์ปริญญา เภสัชศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีเภสัชกรรม, มหาวิทยาลัยนเรศวร, พิษณุโลก.

วิชชุลดา ชัยพร และ สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม (2550). ผลของอุณหภูมิ ขนาดอนุภาคและเวลาที่ใช้ในการสกัด ต่อการสกัดสารไลโคพีนจามมะเขือเทศ โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤติยวดยิ่งหรือภาวะเหนือวิกฤติ, *การประชุมวิชาการวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย* (ครั้งที่ 17).

วุฒิ วุฒิธรรมเวช (2548). *ย่อเภสัชกรรมไทยและสรรพคุณสมุนไพร* (ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: บริษัทศิลป์สยามบรรจุภัณฑ์และการพิมพ์ จำกัด.

ศรัญญา พรศักดา, มาระตรี เปลี่ยนศิริชัย, กิตติ ศรีสะอาด, มัณฑนา นครเรียบ, ประชุมพร เลาห์ประเสริฐ, ทวีรัตน์ วิจิตรสุนทรกุล, และคณะ (2553). ผลของสารสกัดจากมะเขือพวงในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhimurium*. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 41*(1), 573-576.

ศักดิ์ชัย ฟู่สกุล (2552). *การพัฒนาสูตรตำรับ Alcohol gel*. กรุงเทพฯ: โรงพยาบาลกลาง สำนักการแพทย์.

ศักดิ์ชัยบดี สังข์แก้ว (2554). เทคนิคการสกัดแบบ ซอกห์เลต (Soxhlet Extraction) ค้นเมื่อ 10 มีนาคม 2555, จาก http://share.psu.ac.th/blog/sci-discus/18284

ศุภร อังศุจินดา (2549). *สมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง เปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน*. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร, สถาบันพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพ.

สถาบันบำราศนราดูร (2551). *แนวปฏิบัติการทำความสะอาดมือสำหรับบุคลากรสุขภาพในโรงพยาบาล*: โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ.

สถาบันมาตรฐานฮาลาลแห่งประเทศไทย (2555). สาระหน้ารู้ ค้นเมื่อ 18 สิงหาคม 2555, จาก http://www.halal.or.th/th/main/content.php?page=sub&category=11&id=11

สนธยา แพ่งศรีสาร (ม.ป.ป). การบริหารการผลิตในงานอุตสาหกรรม ค้นเมื่อ 12 สิงหาคม 2555 จาก http://www.nsru.ac.th/e-learning/sonthaya/lesson%209/lesson%209.html

สมฤทัย จิตภักดีบดินทร์ (2548). *วิทยาการเครื่องสำอาง*. สงขลา: ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สริตา ภาคพิเศษ, หทัยรัตน์ ริมคีรี และวลัยรัตน์ จันทรปานนท์ (2551). *ประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยทางการค้าในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและการนำไปใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์โฟมล้างมือ*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำนักหอสมุด.

สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล (21 กันยายน 2555). มังคุด ค้นเมื่อ 23 กันยายน, 2555, จาก http://www.medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/garcinia.html

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2539). ***เครื่องสำอาง: ข้อกำหนดทั่วไป***. : มอก. 152-2539.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2551). *สบู่เหลว*: มอก.1403-2551.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2553, 18 กุมภาพันธ์ 2553). มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือ ค้นเมื่อ 5 ตุลาคม 2555, จาก http://library.tisi.go.th/T/fulltext/ CPS/P19.htm

สำนักวิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา (2547, 29 ธันวาคม 2547). *ส้มแขก. ฐานข้อมูลท้องถิ่น* ค้นเมื่อ 5 ตุลาคม, 2555, จากhttp://arit.skru.ac.th/rLocal/print.php?story= 04/12/29/2616843

สิริพร บูรพาเดชะ (2534). *รูปแบบยาทาผิวหนัง*. เชียงใหม่: ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, พีรพัฒน์ สุพรรณพันธุ์ และ วีระพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย (2553). ประสิทธิภาพของกระชายดำและส้มแขกสำเร็จรูปในการต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus*. *วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 42*(1), 71-85.

สุมลรัตน์ จันทะผล (2550). *กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชตระกูลส้ม*. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

สุรเกียรติ อาชานานุภาพ (2551). *ตำราการตรวจรักษาโรคทั่วไป* (ครั้งที่ 4.). กรุงเทพฯ: พิมพ์ดี.

สุวรรณี อาจหาญณรงค์. (2539). *การใช้ส้มแขกแห้งเป็นสารให้รสเปรี้ยวในต้มยำก้อน*. วิทยานิพนธ์ปริญญา คหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาคหกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

องค์กรสวนพฤษศาสตร์ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (16 พ.ย 2554). กระดานกระทู้. *ขอข้อมูลและต้นพันธุ์เกี่ยวกับ Garcinia pedunculata* ค้นเมื่อ 22 มิถุนายน 2555, จาก http://www.qsbg.org/Webboard/webboard_Detail-1.asp?Board_ID=1893

อมรรัตน์ สีสุกอง, กัลยากรณ์ จันตรี, ศรีสุดา หาญภาคภูมิ, นาฏลดา อ่อนวิมล และทิฐิมา นวลบุญ (2550). *การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากวัชพืชท้องถิ่นในจังหวัดนนทบุรี*. มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ (2550). อุจจาระร่วง ที่เรียกว่า Salmonellosis (Non-Typhoidal Salmonellosis: NTS) ค้นเมื่อ 3 พฤศจิกายน, 2555, จาก http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/ a_nih_1_001c.asp?info_id=37

อรุณพร อิฐรัตน์, เบญจวรรณ ขวัญแก้ว, ถนอมจิต สุภาวิตา และปราณี รัตนสุวรรณ (2543). *การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและการศึกษาทางเภสัชเวทของสารสกัดของผลส้มแขก:รายงานการวิจัย*. สงขลา.

อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ, อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, ณิชากร เจริญกุล, ประภัสสร รักถาวร และ สิริพร ศิริวรรณ (2547). *ประสิทธิภาพของสารสกัดพลูและน้ำมันพลูในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังบางชนิด*. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 42 สาขาวิทยาศาสตร์ กองบริการการศึกษา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ, อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, ประภัสสร รักถาวร, สิริพร ศิริวรรณ และ พจมาน พิศเพียงจันทร์ (2548). *การสกัดและการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด*: สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ, ศิริวรรณ องค์ไชย, ญานี พงษ์ไพบูลย์ และสายฝน คำปัน (2551). *โครงการการพัฒนาสารสกัดมาตรฐานที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งจากลำไยแห้ง : รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์*. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.).

เอกรินทร์ ภัทรธนวดี (2550). *การสกัดเครื่องเทศของไทยด้วยตัวทำละลายร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูงและประสิทธิภาพของสารสกัดเครื่องเทศร่วมกับ EDTA ในการยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหาร*. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เอเอสทีวีผู้จัดการออนไลน์ (2552). มฟล.คลอดเจลล้างมือเปลือกมังคุด-ใบฝรั่ง ต้านหวัด 2009 มอบนายกฯ ค้นเมื่อ 23 สิงหาคม 2553, จาก http://www.manager.co.th/Campus/ViewNews.aspx? NewsID=9520000082574

Ajayi, I., Ajibade, O., & Oderinde, R. (2011). Preliminary Phytochemical Analysis of some Plant Seeds. *Res. J. Chem. Sci, 1*(3), 58-62.

American Society of Testing Materials (1997). *E-1174-94 Standard test method for evaluation of health care personnel hand wash formulations. Annu. Book of ASTM Standard. 1105.* .

Ampofo, S. A., & Waterman, P. G. (1986). Xanthones from three Garcinia species. *Phytochemistry, 25*(10), 2351-2355.

Amran, A. A., Zaiton, Z., Faizah, O., & Morat, P. (2009). Effects of Garcinia atroviridis on serum profiles and atherosclerotic lesions in the aorta of guinea pigs fed a high cholesterol diet. *Singapore Medical Journal, 50*(3), 295-299.

Ansari, W., W. Rahman, D. Barraclough, MR. Maynard, & F. Scheinmann (1976). Biflavanoids and a flava- none-chromone from the leaves of **Garcinia dulcis** (Roxb.) Kurz. *J. Chem.Soc.Perkin.TransI, 13*, 1458-1463.

Asano, J., Chiba, K., Tada, M., & Yoshii, T. (1996). Cytotoxic xanthones from Garcinia hanburyi. *Phytochemistry, 41*(3), 815-820.

Azimi, H., Fallah-Tafti, M., Khakshur, A. A., & Abdollahi, M. (2012). A review of phytotherapy of acne vulgaris; Perspective of new pharmacological treatments. *Fitoterapia*.

Baron, E. J., & Finegold, S. M. (1990). *Diagnostic Microbiology* (8 th ed.). St. Louis: The C. V. Mosby company.

Boyce, J. M., & Pittet, D. (2002). Guideline for hand hygiene in health-care settings: Recommendations of the healthcare infection control practices advisory committee and the hicpac/shea/apic/idsa hand hygiene task force. *Infection Control and Hospital Epidemiology, 23*(S12), 3-40.

Brantner, A., Pfeiffer, K. P., & Brantner, H. (1994). Applicability of diffusion methods required by the pharmacopoeias for testing antibacterial activity of natural compounds. *Pharmazie, 49*(7), 512-516.

Bureau of Epidemiology (2007). Annual Epidemiological Surveillance Report 2007 Retrieved 21 September 2010, from http://epid.moph.go.th/Annual/ANNUAL2550/Part2/Table/Table1.html

Bureau of Epidemiology (2008). Annual Epidemiological Surveillance Report 2008 Retrieved 21 September 2010, from http://epid.moph.go.th/Annual/Annual%202551/Part2_51/Annual_MenuPart2_51.html

Bureau of Epidemiology (2009). Annual Epidemiological Surveillance Report 2009 Retrieved 21 September 2010, from http://epid.moph.go.th/Annual/Annual%202552/Main.html

Bureau of Epidemiology (2010). Annual Epidemiological Surveillance Report 2010 Retrieved 16 March 2012, from http://203.157.15.4/Annual/aesr2553/Open.html

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology, 94*(3), 223-253.

Chairungsrilerd, N., Takeuchi, K., Ohizumi, Y., Nozoe, S., & Ohta, T. (1996). Mangostanol, a prenyl xanthone from Garcinia mangostana. *Phytochemistry, 43*(5), 1099-1102.

Chambers, H. F. (2001). The changing epidemiology of Staphylococcus aureus? *Emerging infectious diseases, 7*(2), 178.

Clinical and Laboratory Standards Institute (2006). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically *Approved Standard* (7 ed.). Wayne PA USA: *Clinical and Laboratory Standards Institute*.

Cosmeticsinfo (n.d.). Triclosan Retrieved 19 September 2010, 2010, from http://www.cosmeticsinfo.org/ingredient_details.php?ingredient_id=1632

Crosby, P. (1995). *Quality without tears : the art of hassle-free management*. New York: McGraw-Hill.

Davidson, P. M., & Branen, A. l. (1993). *Antimicrobial in Food* (2 ed.). New York: Marcel Dekker,Inc.

dos Reis, S. B., de Oliveira, C. C., Acedo, S. C., da Conceição Miranda, D. D., Ribeiro, M. L., Pedrazzoli, J., et al. (2009). Attenuation of colitis injury in rats using Garcinia cambogia extract. *Phytotherapy Research, 23*(3), 324-329.

El-Seedi, H. R., El-Barbary, M., El-Ghorab, D., Bohlin, L., Borg-Karlson, A. K., Goransson, U., et al. (2010). Recent insights into the biosynthesis and biological activities of natural xanthones. *Current medicinal chemistry, 17*(9), 854-901.

FDA (1995). *Bacteriological Analytical Manual (BAM)* (8 ed.). USA: Gaithersburg.

Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2007). Bailey & Scott's diagnostic microbiology. In 12th (Ed.). St. Louis: Mosby Elsevier.

Gerberding, J. L. ((Ed.) 2002). *Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings* (Morbidity and Mortality Weekly Report). Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention.

Ghamba, P., Agbo, E., Umar, A., & Bukbuk, D. (2011). The effects of Diethyl ether and Aqueous Garcinia kola seeds extracts on some bacterial isolates. *Academia Arena, 3*(2), 87-94.

Ghamba, P., Agbo, E., Umar, A., Bukbuk, D., & Goje, L. (2012). In vitro antibacterial activity of crude ethanol, acetone and aqueous Garcinia kola seed extracts on selected clinical isolates. *African Journal of Biotechnology, 11*(6), 1478-1483.

Guilhermetti, M., Hernandes, S. E. D., Fukushigue, Y. M., Garcia, L. B. P., & Cardoso, C. L. P. (2001). Effectiveness of Hand-Cleansing Agents for Removing Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* From Contaminated Hands. *Infection Control and Hospital Epidemiology, 22*(2), 105-108.

Han, Q. B., & Xu, H. X. (2009). Caged Garcinia xanthones: development since 1937. *Current medicinal chemistry, 16*(28), 3775-3796.

Helgason, E., Okstad, O. A., Caugant, D. A., Johansen, H. A., Fouet, A., Mock, M., et al. (2000). Bacillus anthracis, Bacillus cereus, and Bacillus thuringiensis-one species on the basis of genetic evidence. *Applied and Environmental Microbiology, 66*(6), 2627-2630.

Iinuma, M., Tosa, H., Tanaka, T., Asai, F., Kobayashi, Y., Shimano, R., et al. (1996). Antibacterial activity of xanthones from guttiferaeous plants against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *J Pharm Pharmacol, 48*(8), 861-865.

Ilyas, M., Kamil, M., Parveen, M., & Sohrab Khan, M. (1994). Isoflavones from Garcinia nervosa. *Phytochemistry, 36*(3), 807-809.

Ito, C., Miyamoto, Y., Nakayama, M., Kawai, Y., Rao, K. S., & Furukawa, H. (1997). A novel depsidone and some new xanthones from Garcinia species. *Chemical and pharmaceutical bulletin, 45*(9), 1403-1413.

Jena, B. S., Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P., & Sakariah, K. K. (2002). Chemistry and biochemistry of (-)-hydroxycitric acid from Garcinia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50*(1), 10-22.

Jensen, W. B. (2007). The origin of the Soxhlet extractor. *Journal of Chemical Education, 84*(12), 1913.

Joseph, G. S., Jayaprakasha, G. K., Selvi, A. T., Jena, B. S., & Sakariah, K. K. (2005). Antiaflatoxigenic and antioxidant activities of Garcinia extracts. *International Journal of Food Microbiology, 101*(2), 153-160.

Jung, H.-A., Su, B.-N., Keller, W. J., Mehta, R. G., & Kinghorn, A. D. (2006). Antioxidant Xanthones from the Pericarp of Garcinia mangostana (Mangosteen). *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54*(6), 2077-2082.

Khonkarn, R., Mankhetkorn, S., Talelli, M., Hennink, W., & Okonogi, S. (2012). Cytostatic effect of xanthone-loaded mPEG-bp (HPMAm-Lac (2)) micelles towards doxorubicin sensitive and resistant cancer cells. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*.

Klaiklay, S. (2009). *Chemical constituents from the twigs of Garcinia hombroniana, the leaves of Garcinia prainiana and the roots of Clerodendrum petasites S. Moore* Unpublished Faculty of Science (Organic Chemistry), Prince of Songkla University . Songkla.

Kosin, J., Ruangrungsi, N., Ito, C., & Furukawa, H. (1998). A xanthone from Garcinia atroviridis. *Phytochemistry, 47*(6), 1167-1168.

Krajewski, D., Toth, G., & Schreier, P. (1996). 2-Ethyl-3-methylmaleimide N-β-d-glucopyranoside from the leaves of mangosteen (Garcinia mangostana). *Phytochemistry, 43*(1), 141-143.

Krishnaiah, D., Sarbatly, R., & Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing, In Press, Corrected Proof*.

Krishnamurthy, K., & Sapna, V. (2008). 19 Garcinia. *Chemistry of spices*, 342.

Kruawan, K., & Kangsadalampai, K. (2006). Antioxidant activity, phenolic compound contents and antimutagenic activity of some water extract of herbs. *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences, 30*, 28-35.

Larson, E., Cimiotti, J., Haas, J., Parides, M., Nesin, M., Della-Latta, P., et al. (2005). Effect of antiseptic handwashing vs alcohol sanitizer on health care-associated infections in neonatal intensive care units. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine, 159*(4), 377.

Lewis, Y. S., & Neelakantan, S. (1965). (-)-Hydroxycitric acid--the principal acid in the fruits of Garcinia cambogia desr. *Phytochemistry, 4*(4), 619-625.

Li, A. R. (2007). *Phytochemical study on Meiogyne Virgata Blume Miq.(annonaceae)/Abd. Rashid Li.* Universiti Teknologi MARA (UiTM).

Likhitwitayawuid, K., Phadumgcharoen, T., & Krungkrai, J. (1998). Antimalarial xanthones from Garcinia cowa. *Planta Medica-Natural Products and Medicinal Plant Research, 64*(1), 70-72.

Mackeen, M. M., Ali, A. M., Lajis, N. H., Kawazu, K., Hassan, Z., Amran, M., et al. (2000). Antimicrobial, antioxidant, antitumour-promoting and cytotoxic activities of different plant part extracts of Garcinia atroviridis Griff. ex T. Anders. *Journal of Ethnopharmacology, 72*(3), 395-402.

Mackeen, M. M., Ali, A. M., Lajis, N. H., Kawazu, K., Kikuzaki, H., & Nakatani, N. (2002). Antifungal garcinia acid esters from the fruits of Garcinia atroviridis. *Zeitschrift Fur Naturforschung C-a Journal of Biosciences, 57*(3-4), 291-295.

Muensritharam, L., Tolieng, V., Chaichantipyuth, C., Petsom, A., & Nhujak, T. (2008). Capillary zone electrophoresis for separation and analysis of hydroxycitric acid and hydroxycitric acid lactone: Application to herbal products of Garcinia atroviridis Griff. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 46*(3), 577-582.

Negi, P. S., Jayaprakasha, G. K., & Jena, B. S. (2008). Antibacterial activity of the extracts from the fruit rinds of Garcinia cowa and Garcinia pedunculata against food borne pathogens and spoilage bacteria. *LWT - Food Science and Technology, 41*(10), 1857-1861.

Normah, M. N., & Benjamin, C. (2003). Fruits of Tropical Climates *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (pp. 2816-2820). Oxford: Academic Press.

Nwaokorie, F., Coker, A., Ogunsola, F., Gaett-Jardim Jr, E., Gabriel, O., Patricia, A., et al. (2010). Antimicrobial activities of Garcinia kola on oral Fusabacterium nucleatum and biofilm. *African Journal of Microbiology Research (Afr. J. Microbiol. Res), 4*, 509-514.

Nwaokorie, F., Coker, A., Ogunsola, F., Jr., E. G.-J., Gabriel, O., Patricia, A., et al. (2010). Antimicrobial activities of *Garcinia kola* on oral *Fusobacterium nucleatum* and biofilm. *African Journal of Microbiology Research, 4*(7), 509-514.

Oluyemi, K. A., Jimoh, O. R., Adesanya, O. A., Omotuyi, I. O., Josiah, S. J., & Oyesola, T. O. (2006). Effects of crude ethanolic extract of Garcinia cambogia on the reproductive system of male wistar rats (). *African Journal of Biotechnology, 6*(10).

Permana, D., Lajis, N. H., Mackeen, M. M., Ali, A. M., Aimi, N., Kitajima, M., et al. (2001). Isolation and bioactivities of constitutents of the roots of Garcinia atroviridis. *Journal of Natural Products, 64*(7), 976-979.

Permana, D., Lajis, N. H., Shaari, K., Ali, A. M., Mackeen, M. M., Kitajima, M., et al. (2003). A new prenylated hydroquinone from the roots of Garcinia atroviridis Griff ex T. Anders (Guttiferae). *Zeitschrift Fur Naturforschung Section B-a Journal of Chemical Sciences, 58*(4), 332-335.

Rittirut, W., & Siripatana, C. (2006). Drying Characteristics of *Garcinia atroviridis*. [School of Agricultural Technology]. *Walailak Journal of Science and Technology 3*(1), 13-32.

Robertson, G. L. (2006). *Food packaging, principles and practice* (2 ed.). USA: Taylor & Francis Group.

Rukachaisirikul, V., Painuphong, P., Sukpondma, Y., Koysomboon, S., Sawangchote, P., & Taylor, W. C. (2003). Caged-Triprenylated and-Tetraprenylated Xanthones from the Latex of Garcinia s cortechinii. *Journal of Natural Products, 66*(7), 933-938.

Schoeni, J. L., & Lee Wong, A. C. (2005). Bacillus cereus food poisoning and its toxins. *Journal of Food Protection, 68*(3), 636-648.

Sen, A. K., Sarkar, K. K., Majumder, P. C., & Banerji, N. (1981). Minor xanthones of Garcinia mangostana. *Phytochemistry, 20*(1), 183-185.

Silva, F. V. M., & Gibbs, P. A. (2012). Thermal pasteurization requirements for the inactivation of Salmonella in foods. *Food Research International, 45*(2), 695-699.

Spigno, G., Tramelli, L., & De Faveri, D. M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering, 81*(1), 200-208.

Stenfors Arnesen, L. P., Fagerlund, A., & Granum, P. E. (2008). From soil to gut: Bacillus cereus and its food poisoning toxins. *FEMS microbiology reviews, 32*(4), 579-606.

Sukphonma, Y., Rukachaisirikul, V., Phongpaichit, S., & Walter C. Taylor (2006). Caged-Polyprenylated Xanthones from the Fruits of *Garcinia scortechinii*. *Biodiversity Information Service*. Retrieved from http://www.aseanbiodiversity.info/Abstract/53004964.pdf

Sukpondma, Y. (2005). *Chemical constituents from the fruits of garcinia scortechinii and garcinia hanburyi.* Unpublished Faculty of Science (Organic Chemistry), Prince of Songkla University, Songkla.

Suvarnakuta, P., Chaweerungrat, C., & Devahastin, S. (2011). Effects of drying methods on assay and antioxidant activity of xanthones in mangosteen rind. *Food Chemistry, 125*(1), 240-247.

Tamil Selvi, A., Joseph, G. S., & Jayaprakasha, G. K. (2003). Inhibition of growth and aflatoxin production in Aspergillus flavus by Garcinia indica extract and its antioxidant activity. *Food Microbiology, 20*(4), 455-460.

Te-chato, S. (2007). Floral and fruit morphology of some species in Garcinia spp. *Songklanakarin Journal of Science and Technology, 29*.

Thompson, K., Harper, R., Vella, T., & De Von, D. (2004). Comparison of waterless alcoholbased hand antiseptics on moisturization efficacy in subjects with dry skin. *American Journal of Infection Control, 32*, E88-E89.

Thongsombat, W., Sirichote, A., & Chanthachum, S. (2007). The production of guava juice fortified with dietary fiber. *Songklanakarin J Sci Technol, 29*(3), 187-196.

Tisdale, E. J., Kochman, D. A., & Theodorakis, E. A. (2003). Total synthesis of atroviridin. *Tetrahedron Letters, 44*(16), 3281-3284.

Todar, K. (2008). Todar's Online Textbook of Bacteriology. *Bacillus cereus Food Poisoning* Retrieved 01 November, 2012, from http://textbookofbacteriology.net/B.cereus.html

Ulyana Mun˜oz Acun˜a, Keyvan Dastmalchi, Margaret J. Basile, & Edward J. Kennelly (2011). Quantitative high-performance liquid chromatography photo-diode array (HPLC-PDA) analysis of benzophenones and biflavonoids in eight Garcinia species. *Journal of Food Composition and Analysis*(0).

World Health Organization (2011). The top 10 causes of death Retrieved 02 November, 2012, from http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index.html

World Health Organization (2012). Escherichia coli infections Retrieved 02 November, 2012, from http://www.who.int/topics/escherichia_coli_infections/en/

World Health Organization (2012). Salmonella Retrieved 2 November, 2012, from http://www.who.int/topics/salmonella/en/

Yang, H., Chen, D., Cui, Q. C., Yuan, X., & Dou, Q. P. (2006). Celastrol, a triterpene extracted from the Chinese "Thunder of God Vine," is a potent proteasome inhibitor and suppresses human prostate cancer growth in nude mice. *Cancer research, 66*(9), 4758.

Yapwattanaphun, C., Subhadrabandhu, S., Sugiura, A., Yonemori, K., & Utsunomiya, N. (2000). Utilization of some Garcinia species in Thailand. *International Symposium on Tropical and Subtropical Fruits, 575*, 563-570.

Zhao, X. B., Ji, X. H., Zhang, Y. H., & Lu, B. H. (2004). Effect of solvent on the microstructures of nanostructured Bi_2Te_3 prepared by solvothermal synthesis. *Journal of Alloys and Compounds, 368*(1-2), 349-352.

ภาคผนวก ก

1. การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

1.1 เชื้อแบคทีเรียสำหรับทดสอบ

- *Staphylococcus aureus*
- *Escherichia coli*

เชื้อ *S. aureus* เลี้ยงในอาหารแข็ง Mannitol salt phenol red agar (MSA) ส่วนเชื้อ *E. coli* เลี้ยงในอาหาร Eosine methylene blue agar (EMB) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

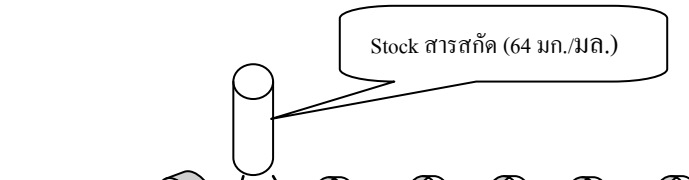
นำเชื้อแบคทีเรีย ที่ใช้ทดสอบ มา เขี่ยเชื้อโดยวิธี สตรีกเพลท (Streak plate) ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้งสนิท นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซสเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโม จากนั้นเขี่ยเชื้อ 3 – 5 โคโลนีมาเพาะเลี้ยงในอาหาร เหลว NB (Nutrient broth) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-24 ชั่วโมง นำเชื้อที่ได้มาปรับความขุ่นของเชื้อให้ได้เท่ากับสารละลายแบเรียมซัลเฟต Mcfarland No. 0.5 ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0.85 แล้วเจือจางต่อเพื่อให้มีเชื้อประมาณ $1.0x10^6$ ซีเอฟยู/มิลลิลิตร (cfu/ml) ด้วยอาหารเหลว NB

1.3 การเตรียมสารละลายสารสกัดจากส้มแขก

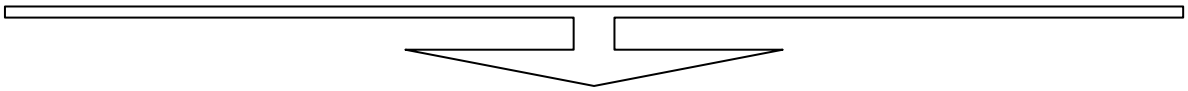
ละลายสารสกัดหยาบส้มแขกจำนวน 0.064 กรัมด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจำนวน 1 มิลลิลิตร จะได้สารละลายสกัดที่มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 64 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

1.4 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดด้วยวิธี Broth Microdilution Method (CLSI, 2006; Forbes *et al*., 2007) โดยดูดอาหาร เหลว NB ใส่ใน microtiter plate แบบ 96 หลุมปริมาตรหลุมละ 100 ไมโครลิตร ยกเว้นหลุมที่ 12 ใส่ 200 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลายสารสกัดหยาบจากส้มแขกจำนวน 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลุมที่ 1 และ 2 ผสมให้เข้ากัน ดูดสารผสมในหลุมที่ 1 ทิ้งไป 100 ไมโครลิตร หลังจากนั้นดูดสาร ผสมในหลุมที่ 2 มา 100 ไมโครลิตรใส่ลงในหลุมที่ 3 ผสมให้เข้ากัน ดูดสารมา 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลุมถัดไป ทำการเจือจางแบบลำดับสองไปเรื่อย จนถึงหลุมที่ 10 จะได้ความเข้มข้น สารสกัดคงเหลือในหลุมระหว่าง 16-0.625 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (9 ความเข้มข้น) เติมเชื้อแบคทีเรียจากข้อ 2) จำนวน 100 ไมโครลิตรลงในทุกหลุม ยกเว้นหลุมที่ 12 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำไปอ่านค่าความขุ่นด้วยเครื่อง Microplate reader ได้แก่

1) การอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) บันทึกความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดส้มแขกที่เชื้อแบคทีเรียไม่สามารถเจริญได้เป็นค่า MIC (หลุมที่ใส)



ทิ้งไป 1												
อาหารเลี้ยงเชื้อ	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2
จำนวนเชื้อ	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัด (มก./มล.)	**16**	**16**	**8**	**4**	**2**	**1**	**0.5**	**0.25**	**.125**	**. 625**	0	0
	N+ control										P+ control	P+ control



บ่มที่ 37 ซ° 24ชม.

อ่านผลด้วย Microplate reader

อ่านผล ค่า MIC โดยอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุด ที่ให้สารละลายใสเป็นค่า MIC (อ่านจากความเข้มข้นสารสกัดต่ำที่สุดก่อน)

2) การอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) นำสารละลายที่ใส่ไม่มีตะกอน ในแต่ละหลุมจากการทดสอบค่า MIC หลุมละ 10 ไมโครลิตร แตะบนอาหารแข็ง NA นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง บันทึกค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียเจริญเป็นค่า MBC

ภาคผนวก ข

2.การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก ด้วยวิธี Disk diffusion

ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียของสเปรย์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก ด้วยวิธี Disk diffusion (CLSI, 2006; Forbes *et al*., 2007)

2.1วิธีการเตรียมเชื้อแบคทีเรียสำหรับทดสอบ

1) เชื้อแบคทีเรียสำหรับทดสอบ

- *Staphylococcus aureus*

- *Escherichia coli*

เชื้อ *S. aureus* เลี้ยงในอาหารแข็ง Mannitol salt phenol red agar (MSA) ส่วนเชื้อ *E. coli* เลี้ยงในอาหาร Eosine methylene blue agar (EMB) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.2 เตรียมเชื้อสำหรับทดสอบ

นำเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบมาเขี่ยเชื้อโดยวิธี สตรีกเพลท (Streak plate) ลงบนจานอาหารแข็ง MHA ที่มีผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้งสนิท จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซสเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีเดี่ยวของเชื้อ 3 – 5 โคโลนี เขี่ยเชื้อลงในอาหาร เหลว Mueller-Hinton broth (MHB) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซสเซียสเป็นเวลา 16-24 ชั่วโมง ปรับความขุ่นของเชื้อให้ได้เท่ากับสารละลายแบเรียมซัลเฟต Mcfarland No. 0.5 ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.85 แล้วเจือจางต่อเพื่อให้มีเชื้อประมาณ $1.0x10^{6}$ ซีเอฟยู/มิลลิลิตร ด้วยอาหารเหลว MHB

2.3 การหา Inhibition zone

ใช้ไม้พันสำลี จุ่มเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ บิดไม้พันสำลีกับด้านในหลอดให้หมาดนำเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด Swab ลงบนผิวหน้าอาหาร MHA ให้ทั่ว นำ paper disk วางที่ผิวหน้าของอาหาร และหยดสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบลงไปบน paper disk แต่ละแผ่น จำนวน 10 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซสเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงอ่านค่า Inhibition zone (มิลลิเมตร)

ภาคผนวก ค

3.การทดสอบประสิทธิภาพการลดเชื้อแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัครด้วยวิธี Swab test

ทดสอบประสิทธิภาพการลดเชื้อแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัครด้วยวิธี Swab test (FDA/BAM, 1995)

3.1 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ (Buffer)

1) ชั่ง Sodium Chloride 0.85 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

2) นำสารละลาย Sodium Chloride ใส่ใน test tube จำนวน หลอดละ 5 มิลลิลิตร แล้วปิดฝาหรือปิดด้วยจุกด้วยสำลี นำไปทำให้ปลอดเชื้อ ด้วยการนึ่งใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

3) ทำไม้ swab โดยใช้ไม้พันสำลี ห่อกระดาษและใส่ในถุงพลาสติกผูกให้แน่น นำไปทำให้ปลอดเชื้อด้วยวิธีเดียวกัน

3.2 การ swab มือ

- 1.ใช้ไม้ swab 1 อันต่อ 1คน (2มือ)
- 2.เปิดฝาน้ำยา buffer แล้วลนปลายหลอดด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์ เสร็จแล้วใช้ไม้ swabจุ่มลงไปบิดให้น้ำยาแห้งพอหมาดๆกับข้างในของ tube

-3.เอาไม้ swab เช็ดที่มือของอาสาสมัครที่ละข้าง โดยเช็ดจากปลายนิ้วถึงข้อที่ 2 ของนิ้ว นิ้วหัวแม่มือเช็ดถึงข้อที่ 1 และเช็ดในง่ามนิ้วมือด้วย ทำทั้งด้านหน้ามือและด้านหลังมือ

- 4.เมื่อเสร็จ 1 ข้างแล้วให้เอาไม้ swab จุ่มลงไปในน้ำยา buffer หลอดเดิม แล้วกดไม้ swab กับผิวแก้วด้านในของ tube เพื่อให้สิ่งที่ติดมากับไม้ swab หลุดออก จากนั้นให้บิดไม้ swab พอหมาด และนำไม้อันเดิมไป swab มืออีกข้างหนึ่ง

-5.เมื่อทำเสร็จแล้ว ให้เอาไม้ swab จุ่มลงไปในหลอดบีบน้ำยา buffer หลอดเดิม แล้วหักไม้ swab ส่วนที่ผู้ swab ถือทิ้งไป แล้วปิดฝาหลอดให้แน่น

-6.ถ้าจะ swab มืออาสาสมัครคนต่อไปก็ให้ใช้ไม้ swab และหลอดน้ำยา buffer อันใหม่

3.3.การตรวจในห้องปฏิบัติการ

(1) เขย่าหลอดน้ำยา buffer แรงๆ นาน 2 นาที หรือประมาณ 25 ครั้ง หรือใช้เครื่องเขย่า

(2)ใช้ ไมโครปิเปตดูดน้ำยา buffer ขึ้นมา 100 ไมโครลิตร ใส่ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ(MHA) ที่เตรียมไว้

(3)ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยม (spreader) จุ่มลงใน beaker ที่มีแอลกอฮอล์ ยกขึ้นมารอให้แอลกอฮอล์ไหลลงไปใน beaker จนเกือบหมด แล้วเผาไฟรอจนเย็น

(4)ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมที่เย็นแล้ว เกลี่ยสารละลายให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ (spread plate) ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง จึงนำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จึงนำมานับจำนวนโคโลนี ของแบคทีเรียทั้งหมด

ภาคผนวก ง

แบบสอบถาม

เรื่อง ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์สเปรย์ล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก

คำชี้แจง แบบสอบถามนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ เรื่องการสกัดสารจากส้มแขกและการประยุกต์ใช้ในสเปรย์ล้างมือ หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ซึ่งแบบสอบถามชุดนี้จัดทำขึ้นเพื่อเก็บรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับความพึงพอใจของอาสาสมัครในการใช้ผลิตภัณฑ์สเปรย์ล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากส้มแขก ซึ่งเป็นสเปรย์ล้างมือแบบไม่ใช้น้ำ แบบสอบถามชุดนี้แบ่งเป็น 2 ตอน คือ

ตอนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม

ตอนที่ 2 ข้อมูลที่เกี่ยวกับความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์

โปรดตอบแบบสอบถามคามความเป็นจริงและตรงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด ข้อมูลของท่านจะเป็นความลับและนำเสนอในงานวิจัยในลักษณะภาพรวมเท่านั้น ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ที่ท่านกรุณาสละเวลาในการตอบแบบสอบถามครบทุกข้อ ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

คำชี้แจง โปรดเติมข้อความที่ตรงกับความเป็นจริงของท่านในช่องที่เว้นไว้ให้ หรือทำเครื่องหมาย / ลงในช่อง ( )หน้าข้อความที่ตรงตัวท่านมากที่สุด

ตอนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม

1. อายุ.....ปี
2. เพศ ( ) ชาย ( )หญิง
3. สถานะภาพ ( )โสด ( )สมรส ( )แยกกันอยู่/หย่าร้าง/หม้าย
4. ระดับการศึกษาสูงสุด
   ( )ประถมศึกษา ( )มัธยมศึกษา ( )อนุปริญญา
   ( )ปริญญาตรี ( )สูงกว่าปริญญาตรี
5. อาชีพ
   ( )นักเรียน/นักศึกษา ( )รับจ้าง ( )ประกอบธุรกิจส่วนตัว
   ( )ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ ( )แม่บ้าน ( )เกษตรกร
   ( )พนักงานบริษัทเอกชน ( )อื่นๆ(โปรดระบุ).....

6.ท่านเคยใช้ผลิตภัณฑ์เจลล้างมือหรือสเปรย์ล้างมือมาก่อนหรือไม่

( )เคย ( )ไม่เคย

7.ท่านเคยใช้ผลิตภัณฑ์เจลล้างมือ หรือสเปรย์ล้างมือที่มีส่วนผสมของสมุนไพรมาก่อนหรือไม่

( )เคย ( )ไม่เคย

ตอนที่ 2 แบบสอบถามความพึงพอใจผลิตภัณฑ์ล้างมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดส้มแขก

คำชี้แจง เมื่อท่านได้ทำการล้างมือจากผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง ให้ท่านตอบคำถามให้ตรงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุดโดยการทำเครื่องหมาย ◯ รอบตัวเลขด้านล่างนี้

1.สี

1 ไม่ชอบมาก 2 ไม่ชอบ 3 เฉยๆ 4 ชอบ 5 ชอบมาก

2.กลิ่น

1 ไม่ชอบมาก 2 ไม่ชอบ 3 เฉยๆ 4 ชอบ 5 ชอบมาก

3.ความรู้สึกสะอาดของมือหลังใช้

1 ไม่ชอบมาก 2 ไม่ชอบ 3 เฉยๆ 4 ชอบ 5 ชอบมาก

4.ความรู้สึกชุ่มชื้นของมือหลังใช้

1 ไม่ชอบมาก 2 ไม่ชอบ 3 เฉยๆ 4 ชอบ 5 ชอบมาก

5.ความชอบต่อผลิตภัณฑ์นี้

1 ไม่ชอบมาก 2 ไม่ชอบ 3 เฉยๆ 4 ชอบ 5 ชอบมาก