

บทที่ 2 การตรวจเอกสาร

2.1 ความสำคัญของกระเทียมและหอมหัวใหญ่

2.1.1 กระเทียม

กระเทียม (garlic; *Allium sativum*) (รูปที่ 2.1) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Alliaceae จัดเป็นพืชล้มลุกที่มีอายุมากกว่า 2 ปี (biennial crop) มีลำต้นใต้ดิน เรียกว่า หัว (bulb) มีกลีบย่อยหลายกลีบ เนื้อสีขาวมีกลิ่นฉุนเฉพาะ หัวกระเทียมเกิดจากการเปลี่ยนรูปของใบโดยทำหน้าที่เก็บสะสมอาหาร หัวหนึ่งประกอบด้วยหลายกลีบเรียงซ้อนกัน แต่ละกลีบมีเปลือกหุ้มอยู่โดยรอบ สามารถแยกออกจากหัวได้จำนวนกลีบต่อหัว ขนาดและน้ำหนักของกลีบ แตกต่างกันไปตามพันธุ์และสภาพแวดล้อม หัวกระเทียมมีเปลือกนอกหุ้มกลีบทั้งหมดรวมกันไว้อีกชั้นหนึ่ง เปลือกนอกมีหลายสีขึ้นกับพันธุ์ ตั้งแต่สีชมพู ม่วง

กระเทียมที่นิยมปลูกในประเทศไทยมีด้วยกันหลายพันธุ์ โดยกรมส่งเสริมการเกษตร (2542) ได้แบ่งพันธุ์กระเทียมในประเทศออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กระเทียมพันธุ์เบาที่มีอายุเก็บเกี่ยว 80-90 วัน ได้แก่ พันธุ์ศรีสะเกษ หัวมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 เซนติเมตร เปลือกของหัวมีสีขาวอมเหลืองเปลือกหุ้มกลีบหนาและแข็ง ปลายกลีบยาวเรียวแหลม กระเทียมพันธุ์กลางมีอายุการเก็บเกี่ยว 120 วัน ได้แก่ พันธุ์บางช้าง พันธุ์เขียงใหม่ หัวมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3.12 เซนติเมตร เปลือกของหัวมีสีชมพูอ่อนถึงเข้ม เปลือกหุ้มกลีบสั้น ส่วนกระเทียมพันธุ์หนักมีอายุการเก็บเกี่ยว 150 วัน ได้แก่ พันธุ์จินสี เปลือกหุ้มกลีบมีสีขาวหัวมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 4.3 เซนติเมตร การจัดเรียงตัวของกลีบไม่เป็นระเบียบขนาดกลีบไม่สม่ำเสมอ ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของต้นอยู่ในช่วงระหว่าง 12-22 องศาเซลเซียส กระเทียมที่ปลูกในที่ร้อนให้ผลผลิตเป็นกระเทียมโทน ส่วนที่ปลูกในที่เย็นให้หัวกระเทียมที่มีหลายกลีบ

โดยส่วนใหญ่ นิยมใช้กระเทียมประกอบอาหารและเป็นยารักษาโรค เช่น ใช้หัวสด ลดระดับคอเลสเตอรอลและน้ำตาลในเลือด (Oommen และคณะ, 2003) ลดระดับความดันโลหิตสูง (Harauma และ Moriguchi, 2006) ไขมันอุดตันในเส้นเลือดและเบาหวาน (Johnson และคณะ, 2013) ลดความเสี่ยงของหัวใจล้มเหลวเฉียบพลัน ป้องกันการเกิดโรคโลหิตจาง ผนังหลอดเลือดหนาและแข็งตัว (Rahman และ Lowe, 2006) โรคไซนัส โรคหอบหืด โรคเมรังและเนื้องอก (Rose และคณะ, 2005; Khanum และคณะ, 2004; Xiao และคณะ, 2006) ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และเชื้อไวรัสต่างๆ เช่น เชื้อที่ทำให้เกิดฝีหนอง คออักเสบ เชื้อปอดบวม เชื้อวัณโรค กลาก เกลิออน เป็นต้น (Bakri และ Douglas,

2005; Groppolและคณะ, 2007) และยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ (Graefeและคณะ, 2001; Okada และคณะ, 2006)



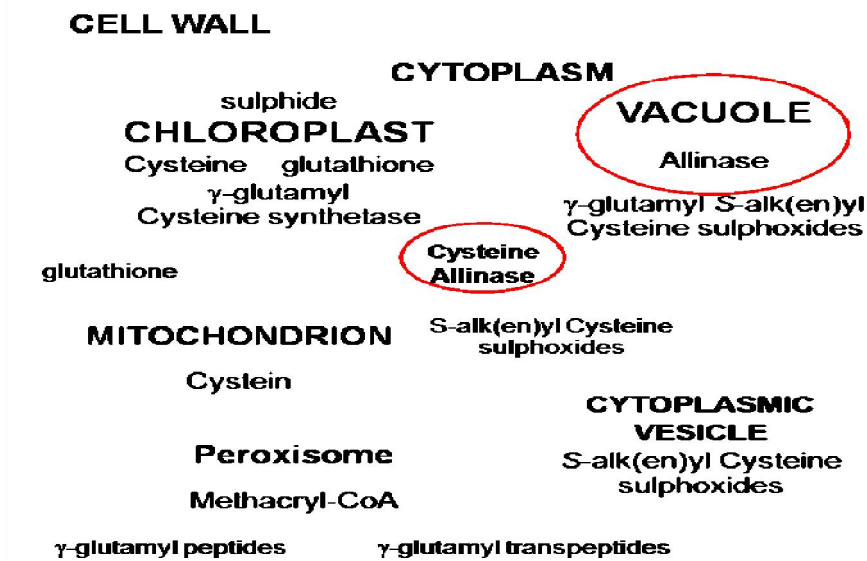
รูปที่ 2.1 กระเทียม(*Allium sativum*)

ที่มา:<http://cholesterolsupplement.com/can-garlic-help-keep-the-heart-healthy/>

2.1.2 หอมหัวใหญ่

หอมหัวใหญ่ (onion; *Allium cepa*) (รูปที่ 2.2) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Alliaceae เช่นเดียวกับกระเทียม สำหรับลักษณะทางพฤกษศาสตร์ หอมหัวใหญ่เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (monocotyledon) จัดเป็นพืชที่มีระบบรากสั้นแผ่กระจายในวงแคบและตื้น ลำต้นของหอมหัวใหญ่แบ่งออกเป็น 2 ชนิด (Rabinowitch และ Currah, 2002) คือ ลำต้นจริง (true stem) เป็นจุดเจริญเล็กๆ อยู่ในส่วนรากของหัว เป็นส่วนที่รากหรือใบเจริญขึ้นมา และลำต้นเทียม (fake stem) หรือเรียกว่ากาบใบ เจริญเป็นวงซ้อนกันรอบๆ ลำต้นจริง เป็นส่วนที่มีการขยายตัวและเก็บสะสมอาหารสำรองทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้น อีกทั้งมีรูปทรงแตกต่างกันเรียกว่า หัว (bulb) มีกลีบฉุนและรสเผ็ด ขนาดของหัวโดยทั่วไปมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10 เซนติเมตร ใบมีลักษณะแบนหรือกลม ภายในกลวง ผิวใบเป็นมัน หอมหัวใหญ่สามารถเจริญได้ดีในสภาพอากาศที่ค่อนข้างอบอุ่น มีอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 13-25 องศาเซลเซียส

หอมหัวใหญ่ที่นิยมปลูกมีด้วยกันหลายพันธุ์สามารถจำแนกได้ 2 กลุ่ม ตามระยะของวันหรือตามความต้องการช่วงแสงในเวลากลางวัน ได้แก่ พันธุ์หนัก หรือ พันธุ์ที่ต้องการแสงวันละประมาณ 12-16 ชั่วโมง มีอายุการเก็บเกี่ยว 85-125 วัน และพันธุ์เบา หรือพันธุ์ที่ต้องการแสงสว่างวันละ 9-11 ชั่วโมง ประเทศไทยมีช่วงระยะเวลาของกลางวันเพียง 11-12 ชั่วโมงเท่านั้น จึงสามารถเลือกปลูกได้เพียงพันธุ์เบา ที่ต้องการแสงไม่เกิน 12 ชั่วโมง มีอายุการเก็บเกี่ยว 165-180 วัน พันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศไทย ได้แก่ เยลโลแกรเนก (yellow granex) พันธุ์เยลโลเบอร์มิวดา (yellow bermuda) และพันธุ์เอ็กเซล



รูปที่ 2.3 สารตั้งต้นในการเกิดสารสำคัญในกระเทียมและหอมหัวใหญ่
ที่มา: Ruhlman(2011)

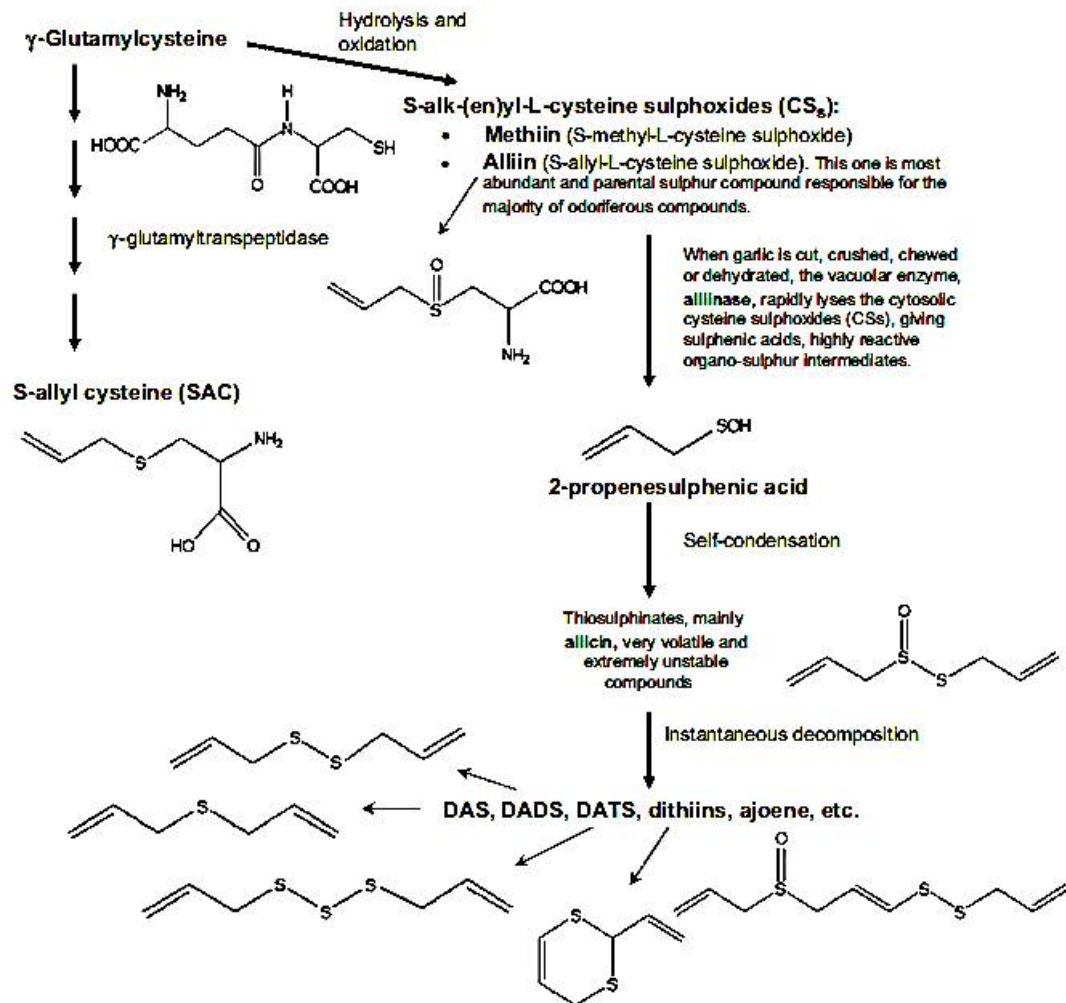
โดยมีรายงานวิจัยพบสารสำคัญในกระเทียมเช่น

ปี 2001 ของ Yang และคณะ และในปี 2006 ของ Athanasionsและคณะรายงานว่าน้ำมันหอมระเหย
กระเทียมพบสาร methyl allyl disulfide และdiallyl trisulfideAthanasions

ปี 2007 Marta และคณะพบสาร dimethyl trisulfide, 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-4-ene, 3-vinyl-1,2-
dithiacyclohex-5-ene, di-2-propenyl-trisulfide

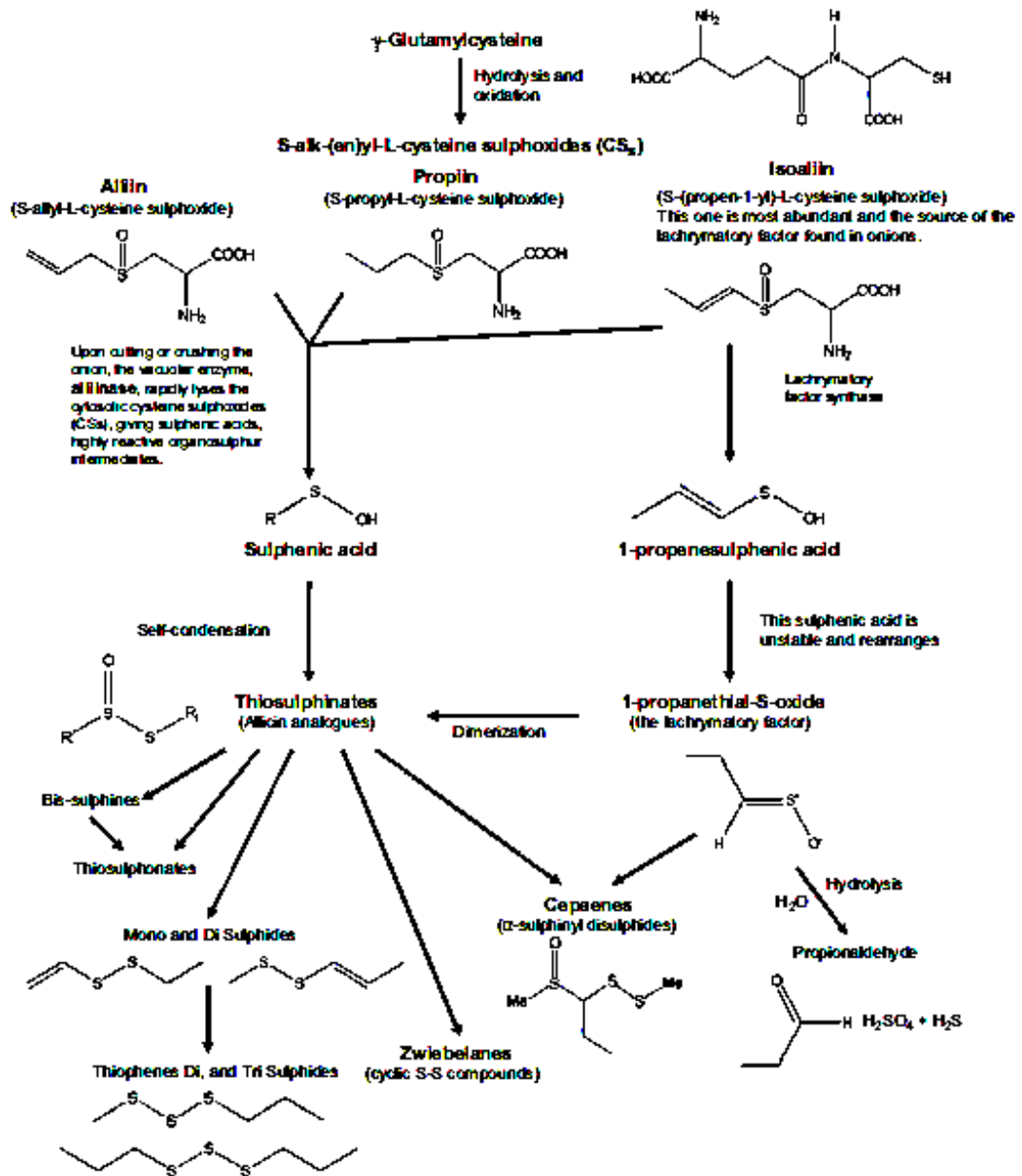
ในปี 2010 Omar และ Al-Wabelและในปี 2013Johnson และคณะพบสาร 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-
4-ene, 3-vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ene

และมีรายงานวิจัยพบสารสำคัญในหอมหัวใหญ่ เช่น Marta และคณะ(2007) พบสารdipropenyl
disulfide, dimethyl trisulfide และในปี 2013Chun-Lin และคณะ พบสารpropenyl propyl disulfide



รูปที่ 2.4 กลไกการเกิดสารสำคัญในกระเทียม

ที่มา: Marta และคณะ(2007)



รูปที่ 2.5 กลไกการเกิดสารสำคัญในหอมหัวใหญ่

ที่มา: Marta และคณะ(2007)

ซึ่งสารสำคัญที่พบในกระเทียมและหอมหัวใหญ่ประกอบด้วยสารระเหยได้ (volatile compounds) คือน้ำมันหอมระเหย (essential oils) และสารไม่ระเหย (nonvolatile compounds) คือ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) โดยสารระเหยได้หรือน้ำมันหอมระเหยสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่ม คือ อะลิฟาติก (aliphatic compounds) เทอร์ปีน (terpenes) ฟีนิลโพรเพน (phenylpropenes) และกลุ่มอื่นๆ ซึ่งสารจากกระเทียมและหอมหัวใหญ่พบอยู่ในกลุ่มอื่นๆ เนื่องจากกระเทียมและหอมหัวใหญ่มีสารกลุ่มซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ diallyl sulfide, allicin, thiosulphonates, diallyl tetrasulfide, allyl methyl disulfide เป็นต้น และสารไม่ระเหยหรือ

สารประกอบฟีนอลิกซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ ซิมเพลฟีนอลหรือกรดฟีนอลิก (simple phenols or phenolic acid) ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกที่พบในกระเทียมและหอมหัวใหญ่ อยู่ในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ เช่น quercetin, kaempferol, myricetin, apigenin เป็นต้น (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 สารฟลาโวนอยด์ในกระเทียมและหอมหัวใหญ่

Compounds	Content in garlic (mg/Kg)	Content in onion (mg/Kg)
quercetin	47	1,497
kaempferol	n.d.	832
myricetin	n.d.	693
luteolin	n.d.	391
apigenin	217	n.d.

หมายเหตุ n.d. = not detected

ที่มา: Mican และคณะ (2001)

2.2 การสกัดสารสำคัญ

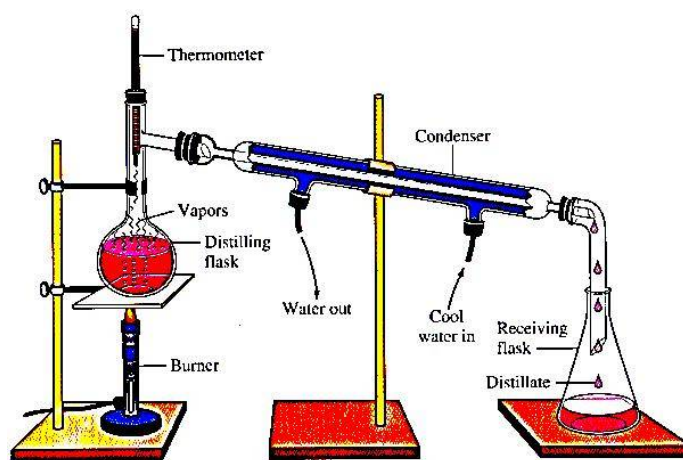
สมุนไพรและเครื่องเทศเป็นพืชพบที่สารพฤกษเคมีปริมาณมากและมีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ สารที่นิยมนำมาใช้ประโยชน์มากคือ น้ำมันหอมระเหยและโอลีโอเรซิน โดยการสกัดสารพฤกษเคมีหรือน้ำมันหอมระเหย ทำได้ 3 วิธี คือ การกลั่น การบีบคั้น และการใช้ตัวทำละลาย

2.2.1 การกลั่น (distillation)

การกลั่นเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการสกัดน้ำมันหอมระเหย โดยมีหลักการ คือ การใช้น้ำร้อนหรือไอน้ำเข้าไปแยกน้ำมันหอมระเหยออกจากพืช โดยการแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อพืช ความร้อนทำให้สารละลายออกมากลายเป็นไอปนออกมากับน้ำร้อนหรือไอน้ำ อย่างไรก็ตามการกลั่นเพื่อให้ได้น้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพดีนั้น ต้องอาศัยเทคนิคและกระบวนการทางเคมีและกายภาพหลายวิธีประกอบกัน โดยทั่วไปในการกลั่นน้ำมันหอมระเหยมีอุปกรณ์ที่สำคัญสำหรับใช้กลั่น คือ หม้อกลั่น เครื่องควบแน่น (condenser) ภาชนะรองรับ (receiver) และต้องมีหม้อต้มน้ำ (boiler) สำหรับการกลั่นด้วยไอน้ำ เทคนิคการกลั่นน้ำมันหอมระเหยที่ใช้กันอยู่มี 3 แบบ ได้แก่ การต้มกลั่น การกลั่นด้วยไอน้ำ และการกลั่นพร้อมสกัด (Parliament, 1986)

2.2.1.1 การกลั่นด้วยน้ำหรือการต้มกลั่น (hydrodistillation)

เป็นวิธีที่ง่ายที่สุดของการกลั่นน้ำมันหอมระเหย การกลั่นน้ำมันหอมระเหยนี้ใช้กับของที่ติดกันง่าย เช่น ใบไม้บาง กลีบดอกไม้อ่อนๆ แต่วิธีการนี้มีข้อด้อยคือ พืชได้รับความร้อนไม่สม่ำเสมอ โดยตรงกลางมักได้รับความร้อนมากกว่าด้านข้าง จึงมักมีปัญหาการไหม้ของตัวอย่าง จึงทำให้มีกลิ่นไหม้และสารไม่พึงประสงค์ปนมากับน้ำมันหอมระเหย และสารสำคัญเกิดการสูญเสียในระหว่างกระบวนการสกัด ดังนั้นการเลือกใช้วิธีการกลั่นจึงขึ้นกับชนิดของพืชที่นำมากลั่นด้วย (รัตน อินทรานุกุล, 2547) (รูปที่ 2.6)

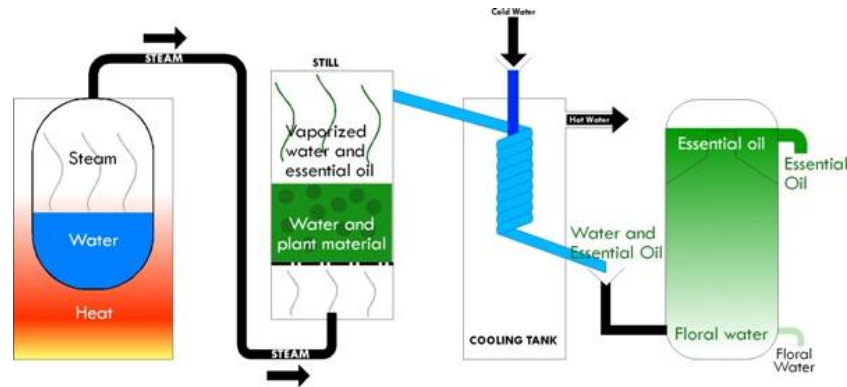


รูปที่ 2.6 ชุดการต้มกลั่น

ที่มา: <http://watertreatmentsss.com/category/distillation-diagram.html>

2.2.1.2 การกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (water and steam distillation)

การกลั่นโดยวิธีนี้ใช้ตะแกรงรองวัตถุดิบที่ต้องการกลั่นให้อยู่เหนือระดับน้ำในหม้อกลั่น ต้มให้เดือด ไอน้ำลอยตัวขึ้นไปผ่านพืชหรือตัวอย่างที่ต้องการกลั่น ส่วนน้ำไม่ถูกกับตัวอย่างเลย ไอน้ำจากน้ำเดือดเป็นไอน้ำที่อิ่มตัว หรือเรียกว่า ไอเปียก ไม่ร้อน จัดเป็นการกลั่นที่สะดวกที่สุด (รูปที่ 2.7) คุณภาพของน้ำมันที่ออกมาดีกว่าวิธีการต้มกลั่น การกลั่นแบบนี้ใช้กันอย่างแพร่หลายในการผลิตน้ำมันหอมระเหยทางการค้าเช่น rosemary เป็นต้น (Parliament, 1986)



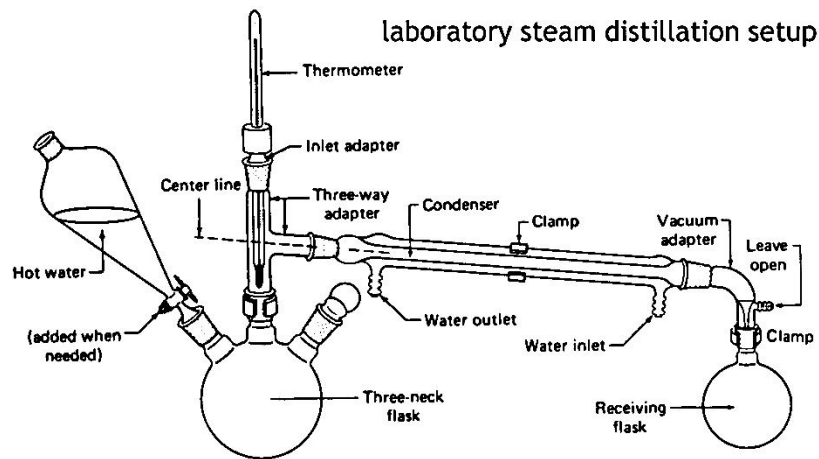
รูปที่ 2.7 ชุดการกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ

ที่มา: <http://www.everestherbs.com.np/products/oil/essentialoil.htm>

2.2.1.3 การกลั่นด้วยไอน้ำ (direct steam distillation)

เป็นวิธีการกลั่นที่วางตัวอย่างพืชอยู่บนตะแกรงในหม้อกลั่นที่ไม่มีน้ำอยู่ ไอน้ำภายนอกที่เป็นไอน้ำเย็น หรือไอน้ำร้อนจัดแต่มีค่าความดันสูงกว่าบรรยากาศ ส่งไปตามท่อได้ตะแกรง ให้ไอน้ำผ่านขึ้นไปกระทบกับตัวอย่างพืชบนตะแกรง ซึ่งไอน้ำต้องมีปริมาณเพียงพอที่จะช่วยให้น้ำมันแพร่และระเหยออกจากตัวอย่าง ตัวอย่างบางชนิดอาจใช้ไอน้ำร้อนได้ แต่บางชนิดต้องใช้ไอน้ำเย็น น้ำมันจึงถูกปล่อยออกมา ข้อดีของการกลั่นวิธีนี้ คือ สามารถกลั่นได้อย่างรวดเร็ว เมื่อเอาพืชใส่หม้อกลั่นไม่ต้องเสียเวลารอให้ร้อน ปล่อยไอน้ำเข้าไปได้ทันที ปริมาณของตัวอย่างพืชที่นำเข้ากลั่นได้มาก ทำให้ได้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมาก (Parliament, 1986) (รูปที่ 2.8)

ในการเลือกการกลั่นทั้ง 3 วิธีนั้นควรพิจารณาปัจจัยต่างๆ ได้แก่ 1) การแพร่กระจายของน้ำมันหอมระเหยและไอน้ำร้อน 2) การไฮโดรไลซ์สารองค์ประกอบต่างๆ ที่สัมผัสกับน้ำตลอดเวลา 3) การสลายตัวของสารในน้ำมันหอมระเหยอันเนื่องมาจากความร้อน ถึงแม้ว่าก่อนการนำตัวอย่างพืชมากลั่นต้องมีการหั่นหรือทำให้เซลล์แตกก่อน เพื่อให้ได้น้ำมันหอมระเหยออกจากเซลล์ได้ง่าย แต่ยังมีน้ำมันหอมระเหยบางส่วนติดอยู่ที่ผิวโดยถูกทำให้กลายเป็นไออย่างรวดเร็วด้วยไอน้ำ ซึ่งน้ำมันหอมระเหยส่วนที่เหลือภายในเซลล์ซึมผ่านออกมาสู่ผิวได้โดยผ่านผนังบางๆ ของพืชและการสกัดเพื่อให้น้ำมันหอมระเหยไปได้มักใช้อุณหภูมิสูง ซึ่งทำให้สูญเสียสารหอมระเหยไปได้ง่าย สำหรับสารประกอบพวกเอสเทอร์มักถูกไฮโดรไลซ์ให้เป็นกรดและแอลกอฮอล์ได้ง่าย ดังนั้นเพื่อให้ได้น้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพที่ดีควรกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ แต่ถ้ามีปริมาณร้อยละผลผลิตน้อยควรใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้นและใช้เวลาในการสกัดสั้นลง โดยระหว่างการกลั่นต้องพิจารณาให้รอบคอบ และมีการตรวจสอบอุณหภูมิและระยะเวลาให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม(พิมพร ลิลาพรพิสิฐ, 2545; Oyen และ Dung, 1999)

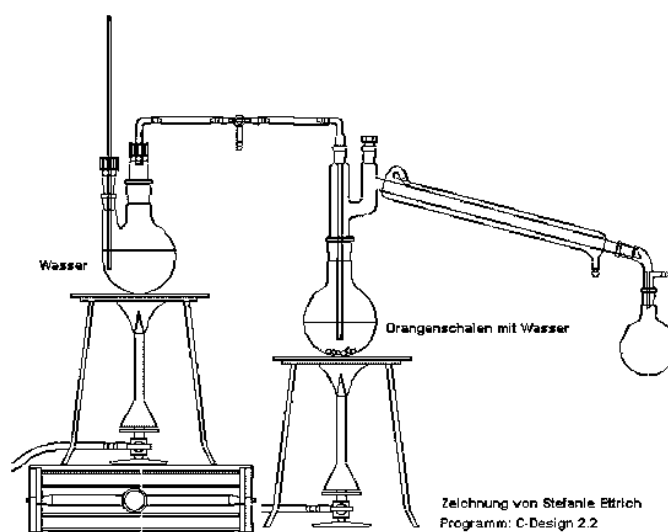


รูปที่ 2.8 ชุดการกลั่นด้วยไอน้ำ

ที่มา: <http://www.instructables.com/id/DIY-Kitty-Crack%3A--ultra-potent-catnip-extract/step1/crash-course-in-steam-distillation/>

2.2.1.4 การกลั่นพร้อมสกัด (simultaneous distillation extraction; SDE)

เป็นวิธีการที่อาศัยหลักการกลั่นด้วยไอน้ำของตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น ไดคลอโรมีเทน คลอโรฟอร์ม หรือ ไดเอทิลอีเธอร์โดยการสกัดภายใต้ความดันเพื่อป้องกันการสูญเสียองค์ประกอบทางเคมีของกลิ่นเนื่องจากความร้อน ข้อดี คือ ได้สารประกอบที่ให้กลิ่นในปริมาณสูง ใช้ตัวทำละลายปริมาณน้อย และใช้ระยะเวลาสั้น สารหอมระเหยไม่ถูกทำลายจากความร้อน แต่มีข้อเสียคือชุดเครื่องแก้วที่ใช้มีราคาสูงและต้องเป็นชุดเครื่องแก้วสกัดเฉพาะ (พิมพ์ร ลิลาพรพิสิฐ, 2545) (รูปที่ 2.9)



รูปที่ 2.9 ชุดการกลั่นพร้อมสกัด

ที่มา: <http://www.tgg-leer.de/projekte/medikamente/Wasserdampfdestillation.htm>

2.2.2 การสกัดด้วยการบีบหรือคั้น (expression)

เป็นวิธีการที่ใช้สำหรับพืชที่มีถุงน้ำมันอยู่ใต้เปลือกซึ่งมีองค์ประกอบที่สลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกความร้อน เช่น น้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม ได้แก่ น้ำมันผิวส้ม น้ำมันผิวมะนาว น้ำมันผิวมะกรูด เป็นต้น การบีบทำให้เซลล์น้ำมันพืชแตกออกและปล่อยน้ำมันออกมา ซึ่งวิธีการบีบมีหลายรูปแบบ ที่นิยมคือ วิธีแอกคิวเอล (ecuelle method) โดยเอาผลไปบีบบนรางที่มีเข็มแหลม ๆ อยู่ และเข็มยาวพอแทงผ่านผนังชั้นนอก (epidermis) เพื่อให้ต่อมน้ำมันแตกออก จากนั้นน้ำมันที่หยดลงไปในรางสามารถเก็บน้ำมันได้ (รัตนา อิทราณุปรณ์, 2547)

2.2.3 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

หลักการของการสกัดสารโดยใช้ตัวทำละลายเป็นการสกัดคือ นำตัวอย่างใส่ลงในภาชนะที่ใช้สกัดแล้วเติมตัวทำละลายที่เหมาะสมลงไปให้ทั่วทุกส่วนของตัวอย่าง และทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง วิธีนี้ได้ น้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้นสูงแต่คุณภาพไม่ดีเท่ากับการกลั่นเพราะหลังจากสกัดได้สารอื่นปนออกมาด้วย หลังจากการสกัดต้องทำการระเหยตัวทำละลายที่ใช้เป็นตัวสกัดออกให้หมดด้วยอุณหภูมิต่ำภายใต้ความดัน การสกัดแบบนี้ได้น้ำมันหอมระเหยที่เรียกว่า absolute oil ตัวทำละลายอินทรีย์ที่นิยมใช้เป็นตัวสกัด คือ แอลกอฮอล์ (รัตนา อิทราณุปรณ์, 2547)

ก) การสกัดด้วยไขมัน (enfleurage)

เป็นวิธีใช้แยกน้ำมันหอมระเหยจากพืชที่มีน้ำมันหอมระเขยน้อยและมีสารหอมไม่ทนต่อความร้อน ใช้ได้ผลดีกับดอกไม้ที่ผลิตสารที่ให้กลิ่นหอมหลายวันติดต่อกันหลังการเก็บเกี่ยว เช่น มะลิซ้อน ดอกส้ม เป็นต้น เนื่องจากหลักการที่ว่าไขมันมีคุณสมบัติในการดูดกลืนได้ดี วิธีการคือ เคลือบไขมันไว้บนกระจกหรือเฟรม หลังจากนั้นนำกลีบดอกมาโรยบนแผ่นเคลือบไขมัน ตั้งทิ้งไว้ แผ่นเคลือบไขมันจะทำหน้าที่ดูดซับสารหอมที่ระเหยออกจากดอกไม้ จนกว่าไขมันอิ่มตัวด้วยกลิ่นหอมของดอกไม้เรียกว่า pomades นำไปสกัดต่อด้วยแอลกอฮอล์ และแยกแอลกอฮอล์ออกด้วยอุณหภูมิต่ำภายใต้ความดันจนได้สารหอมที่เรียกว่า absolute de pomades หรือ absolute de enfleurage (รัตนา อิทราณุปรณ์, 2547)

ข) มาเซอเรชันและการแช่ (maceration and soaking)

เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยแช่เครื่องเทศบดละเอียด (เพื่อให้สกัดสารได้ง่ายขึ้น) กับตัวทำละลายอินทรีย์ในภาชนะปิด เพื่อให้เนื้อเยื่อของตัวอย่างเครื่องเทศอ่อนนุ่มและตัวทำละลายอินทรีย์สามารถแทรกซึมเข้าไปละลายสารประกอบสำคัญภายในเซลล์เครื่องเทศออกมา โดยเวลาในการสกัด

สารขึ้นอยู่กับชนิดของพืช เหมาะสำหรับพืชที่ไม่ทนต่อความร้อน (รัตน อิทธานุปกรณ์, 2547) ข้อดีคือ พืชไม่สัมผัสความร้อนทำให้สารสำคัญไม่สูญเสีย ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์มากแต่สามารถนำกลับมาใช้สกัดใหม่ได้ ข้อจำกัดคือตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดพืชแล้วถ้าต้องการนำกลับมาใช้ใหม่ต้องใช้พืชตัวอย่างชนิดเดียวกันเท่านั้น (อรัญญา มโนสร้อย และ จิรเดช มโนสร้อย, 2548) จากรายงานการวิจัยพบว่า สกัดพืชที่เป็นยาของไทย เช่น ใบกะเพรา กระเทียม จิง ข่า ตะไคร้ และอื่นๆ ด้วยตัวทำละลายเอทานอล(Mullikaและคณะ, 2009), สกัดสาร linalool, p-cymene, eugenolได้จาก *Lonicera japonica* Thunb (Rahman และ Kang, 2009)

ค) เพอร์โคเลชัน(percolation)

เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญแบบต่อเนื่องจากพืชสมุนไพรโดยการปล่อยให้ตัวทำละลายไหลผ่านผงสมุนไพรอย่างช้า ๆ พร้อมกับละลายองค์ประกอบออกจากผงสมุนไพรออกมาโดยนำสมุนไพรมาแช่กับตัวทำละลายพอชื้นแล้วนำไปบรรจุในอุปกรณ์ที่เรียกว่า percolator เติมตัวทำละลายลงไป แล้วนำสารสกัดออกมา วิธีการนี้มีข้อดีเช่นเดียวกับวิธีการแช่(maceration)คือ สารไม่ถูกความร้อน และเป็นวิธีที่ง่ายและสะดวก (รัตน อิทธานุปกรณ์, 2547) (รูปที่ 2.10)



รูปที่ 2.10ชุดการกลั่นพร้อมสกัดเพอร์โคเลชัน

ที่มา: <http://www.tgg-leer.de/projekte/medikamente/Wasserdampfdestillation.htm>

ง) การสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิก (ultrasonic waves)

หมายถึงพลังงานที่เกิดจากคลื่นเสียงที่มีการสั่นของคลื่นประมาณ 20,000 ครั้งต่อวินาทีหรือสูงกว่า ซึ่งคลื่นอัลตราโซนิกช่วยทำให้ตัวทำละลายแทรกซึมเข้าไปในวัสดุที่นำมาสกัดได้ดียิ่งขึ้น โดยคลื่นสามารถแพร่ผ่านผนังเซลล์ของพืชและการชะสารสำคัญออกจากเซลล์ เมื่อผนังเซลล์ถูกทำลายลงเซลล์ของพืชแตกออกทำให้เพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนั้นคลื่นอัลตราโซนิกยังไป

ทำลายพื้นผิวที่บริเวณผนังเซลล์และภายในเซลล์ทำให้สารที่ต้องการสกัดสามารถออกมาได้ง่ายขึ้น (Hoover, 2000; Vinatoru, 2001)

จากงานวิจัยที่กล่าวมาพบว่า การสกัดสมุนไพรด้วยคลื่นอัลตราโซนิกโดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ เอทานอล 70% (v/v) และน้ำเป็นตัวทำละลาย พบว่า ปริมาณสารที่สกัดได้จากเครื่องเทศเพิ่มขึ้นเมื่อนำน้ำเป็นตัวทำละลาย รองลงมาได้แก่เอทานอล และปิโตรเลียมอีเทอร์ ตามลำดับ ระยะเวลาที่สกัดสารแล้วให้ความเข้มข้นสูงสุดใช้เวลาเพียง 20 นาที ซึ่งคลื่นอัลตราโซนิกสามารถนำมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ด้านต่างๆในการสกัดสาร โดยเฉพาะการลดเวลาในการสกัดพบว่าคลื่นอัลตราโซนิกช่วยลดเวลาในการสกัดให้เร็วขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม (Wu และคณะ, 2001; Thongson และคณะ, 2004; Li และคณะ, 2004; Velickovic และคณะ, 2006) นอกจากนี้วิธีนี้ยังเหมาะสำหรับการสกัดสารที่มีสมบัติไวต่อความร้อน (Wu และคณะ, 2001) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีการนำคลื่นอัลตราโซนิกมาใช้ในการช่วยสกัดสารจากเครื่องเทศและสมุนไพร

จ) การสกัดแบบต่อเนื่อง (continuous extraction)

โดยใช้ soxhlet apparatus เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องโดยใช้ตัวทำละลายซึ่งมีจุดเดือดต่ำ การสกัดทำได้โดยให้ความร้อนจนทำให้ตัวทำละลายระเหยขึ้นไปแล้วกลั่นตัวลงใน thimble ซึ่งบรรจุตัวอย่างพืชไว้ เมื่อสารที่สกัดได้สูงถึงจุดที่กำหนด สารสกัดนั้นไหลกลับลงมาใน flask วนเวียนเช่นนี้จนการสกัดสมบูรณ์ โดยสามารถสังเกตจากสีของตัวทำละลายใน thimble ที่ใสขึ้น การสกัดด้วยวิธีนี้ใช้ความร้อนจึงอาจทำให้สารสำคัญบางชนิดสลายตัวได้จากงานวิจัยพบว่า สกัดใบโห้มด้วยตัวทำละลายเมทานอลได้สารสำคัญ คือ carvacrol, thymol, terpinene และ p-cymene (Al-Bayati, 2008), สกัดใบและเปลือกอบเชย (cinnamon) ด้วยตัวทำละลาย acetone ได้สารสำคัญ คือ eugenol, eugenylacetate (Singh และคณะ, 2007) และ สกัด *Cinnamomum tamala* ด้วยตัวทำละลายเมทานอล (methanol), เอทานอล (ethanol), isooctane และ carbontetrachloride ได้สารสำคัญ คือ eugenol, eugenylacetate (Kapoor และคณะ, 2008) (รูปที่ 2.11)



รูปที่ 2.11 Soxhlet apparatus
ที่มา: Silpa (2013)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ตัวทำละลาย

เบญจวรรณ ชื้อสัตย์(2542) รายงานการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้และใบโรสแมรี่ โดยใช้เทคนิคการกลั่นด้วยไอน้ำพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้มีสารองค์ประกอบหลัก ได้แก่ α -pinene, limonene และ geranial ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี่มีสารองค์ประกอบ ได้แก่ α -pinene, borneol, 1,8-cineole, และ 4-terpineol

แสงหล้า คำหมั่น(2543) สกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำจากพืช 4 ชนิด ได้แก่ ผักเนื้ยมหูเสือ ผักไผ่ ผักขึ้นฉ่าย และผักสันพร้าวหอม ใช้เวลาในการกลั่น 3 ชั่วโมง ได้น้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.03, 0.05, 0.01 และ 0.12 ตามลำดับ

Yin และ Cheng (2003) สกัดกระเทียมโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำนาน 24 ชั่วโมง พบสาร diallyl sulfide, diallyl disulfide, S-ethyl cysteine, N-acetyl cysteine

Singh และคณะ(2008) สกัดโอสี่โอเรจินจากขิงโดยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยเครื่องsoxhletใช้ตัวทำละลาย เอทานอล และเมทานอล พบสาร zingerone, eugenol, shogaols, gingerols

Fallehและคณะ (2012) สกัดสารสกัดจาก *Mesembryanthemum edule* ด้วยเอทานอลและเมทานอลโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกสกัดนาน 5 และ 10 นาที พบว่าสารสกัด *Mesembryanthemum edule* สกัดด้วยเอทานอลนาน 10 นาทีให้ร้อยละผลผลิต และประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด

Rahman และคณะ (2013) สกัดสารสกัดจากลูกตะบูนดำ (*Xylocarpus moluccensis*) โดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกเปรียบเทียบกับวิธีการต้มใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน 80 นาที พบว่าสารสกัดจากลูกตะบูนดำสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกให้ร้อยละผลผลิตมากกว่าการต้มเท่ากับร้อยละ 54.22

2.3 ประสิทธิภาพของสารสกัดในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

แบคทีเรีย คือ จุลินทรีย์ที่เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว เป็นเซลล์แบบโพรคาริโอต (prokaryotic cell) พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ดิน น้ำ อากาศ แบคทีเรียมีบทบาทสำคัญต่ออาหารและการผลิตอาหาร เพราะแบคทีเรียเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (microbial spoilage) และทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค (Trickett, 1978)

การจำแนกชนิดของแบคทีเรีย สามารถจำแนกได้หลายลักษณะ เช่น การจำแนกแบคทีเรียตามสมบัติในการย้อมสีแบบแกรม (gram stain) โครงสร้าง ซึ่งใช้ในการศึกษาลักษณะรูปร่างของแบคทีเรีย การจำแนกแบคทีเรียตามสมบัติในการย้อมสีแบบแกรม (gram stain) สามารถแบ่งแบคทีเรียออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก (gram-positive bacteria) เป็นแบคทีเรียที่ย้อมด้วยสีย้อมสีคริสตัล ไวโอเลต (crystal violet) แล้วติดสีม่วง และ แบคทีเรียแกรมลบ (gram-negative bacteria) เป็นแบคทีเรียที่ย้อมด้วยสีย้อมแซฟรานิน (safranin) แล้วติดสีแดง (ตารางที่ 2.2)

ตารางที่ 2.2 ความแตกต่างของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ

แบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria)	แบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria)
-ผนังเซลล์บาง	-ผนังเซลล์หนา
-ชั้นในเป็นชั้นบางของ peptidoglycan	-เป็นชั้นหนาของ peptidoglycan ชั้นเดียว
-ชั้นนอกเป็นชั้นไขมัน	-ไม่มีชั้นไขมัน
-ภายนอกเซลล์ มี lipopolysaccharide ซึ่งเป็นสารพิษ endotoxin	-ไม่มี lipopolysaccharide ไม่มี endotoxin
-ไม่ทนต่อความร้อน, ไม่ทนต่อแรงดัน, ไม่ทนต่อเกลือสูง, ไม่ทนต่อการฉายรังสี	-ทนต่อความร้อน, ทนต่อแรงดัน, ทนต่อการฉายรังสี (food irradiation)
-ตัวอย่างของแบคทีเรียแกรมลบ	-ตัวอย่างของแบคทีเรียแกรมบวก
<i>Pseudomonas, Proteus, Salmonella, Shigella, Escherichia coli</i>	<i>Clostridium, Bacillus, Listeria, Staphylococcus</i>

ที่มา: สุมณฑา วัฒนสินธุ์ (2545)

2.3.1 โครงสร้างของแบคทีเรีย

โครงสร้างของแบคทีเรียโดยทั่วไปมีส่วนประกอบดังนี้(สุมณฑา วัฒนสินธุ์,2545) (รูปที่ 2.12)

2.3.1.1 ผนังเซลล์ (cell wall)

เป็นโครงสร้างที่แข็งแรงทำให้แบคทีเรียมีรูปร่างคงที่ มีหน้าที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของน้ำและสารประกอบที่เป็นอาหารต่าง ๆ เนื่องจากมีรูพรุน ช่วยป้องกันไม่ให้เซลล์แตก เมื่ออยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มี osmotic pressure ต่างกัน ผนังเซลล์ของแบคทีเรียเป็น antigen ที่ไปกระตุ้นร่างกายคนและสัตว์ให้สร้าง antibody โครงสร้างภายในผนังเซลล์ที่แตกต่างกัน ทำให้การย้อมสีแบคทีเรีย โดยวิธีของ gram จะติดสีแตกต่างกัน ทำให้แยกชนิดของแบคทีเรียเบื้องต้นได้

2.3.1.2 เยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane)

เป็นเยื่อบาง ๆ อยู่ถัดจากผนังเซลล์เข้าไป สิ่งมีชีวิตทุกชนิดมีเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งมีส่วนประกอบที่สำคัญคือ ฟอสโฟลิพิด (phospholipid) และ โปรตีน (protein) หน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์คือ ควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่าง ๆ เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ การสร้างพลังงานของเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ส่วนที่ยื่นเข้าไปในส่วนของไซโตพลาสซึม (cytoplasm) เรียกว่า mesosome ทำหน้าที่สะสมน้ำย่อย (enzyme) และสารต่าง ๆ ที่จำเป็นของเซลล์

2.3.1.3 ไซโตพลาสซึม (cytoplasm)

เป็นส่วนที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ ประกอบด้วย น้ำ น้ำย่อย ออกซิเจน และอาหารที่จำเป็น เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และของเสีย แฟลกเจลลา (flagella) มีในแบคทีเรียบางชนิด มีลักษณะเป็นเส้นยื่นออกยาวไป ภายนอกเซลล์ยื่นออกไปจากส่วนที่อยู่ในไซโตพลาสซึมติดกับเยื่อหุ้มเซลล์ ยื่นผ่านเยื่อหุ้มเซลล์และผนังเซลล์ออกไป ส่วนประกอบที่สำคัญเป็นโปรตีนที่เรียกว่า แฟลกเจลลิน (flagellin) มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน หน้าที่สำคัญของ flagella คือทำให้แบคทีเรียเคลื่อนที่ได้ pili หรือ fimbriae ส่วนใหญ่พบในแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะเป็นท่อนสั้น ๆ ยื่นออกจากไซโตพลาสซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์และผนังเซลล์ออกไปนอกเซลล์ แต่ขนาดเล็กสั้นกว่า flagella หน้าที่ของ pili คือ ช่วยในการยึดเกาะกับสิ่งอื่นๆ

2.3.1.4 ไซโตพลาสซึม แกรนูล (cytoplasmic granules)

แบคทีเรียสะสมอาหารไว้ในรูปของแกรนูล โดยเก็บเป็นไขมัน กำมะถัน สารอนินทรีย์ ฟอสเฟต และแป้ง เป็นต้น

2.3.1.5 นิวเคลียส (nuclear material)

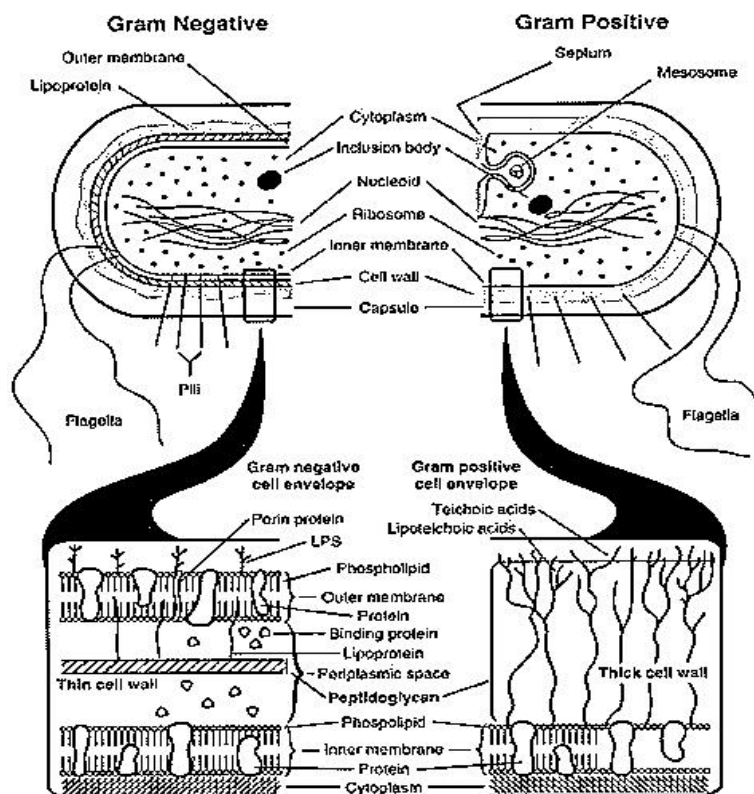
เป็นก้อนนิวเคลียสกระจายอยู่ทั่วไปใน cytoplasm มีรูปร่างไม่แน่นอนมีโมเลกุลของ DNA มีหน้าที่ควบคุมการแบ่งเซลล์ และการทำงานของเซลล์

2.3.1.6 สปอร์ หรือ endospore

แบคทีเรียบางชนิดสร้างสปอร์ภายในเซลล์ สปอร์ถูกห่อหุ้มด้วยผนังหลายชั้นซึ่งทนทานต่อ ความร้อน ความแห้งแล้ง และสารเคมีได้ หน้าที่ของสปอร์ทำให้แบคทีเรียทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้นานๆ บางที่เป็นหลายปี ต่อเมื่อสิ่งแวดล้อมเหมาะสม มีความชื้น สปอร์ (spore) จึงงอกด้วยวิธี germination ให้แบคทีเรียใหม่ 1 เซลล์

2.3.1.7 แคปซูล (capsule)

แคปซูลมีในแบคทีเรียบางชนิด ซึ่งแคปซูลอยู่นอกสุดของเซลล์ ห่อหุ้มผนังเซลล์ไว้ลักษณะเป็นเมือก ลื่นหนา มีหน้าที่ป้องกันเซลล์ของแบคทีเรียไม่ให้ถูกเม็ดเลือดขาวทำลาย (สุเมธทา วัฒนสินธุ์, 2545)



รูปที่ 2.12 โครงสร้างภายในเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ

ที่มา: <http://intranet.tdmu.edu.ua./jpg>

2.3.2 ประเภทของแบคทีเรีย

แบคทีเรียที่มีความสำคัญในอาหารนั้นมีหลายชนิด แต่บางชนิดให้ประโยชน์และบางชนิดให้โทษ โดยเชื้อแบคทีเรียที่ให้โทษแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (food spoilage) และแบคทีเรียที่ก่อโรคอาหารเป็นพิษ (food borne diseases) (สุมนทนา วัฒนสินธุ์, 2545)

2.3.2.1 เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (food spoilage)

โดยการเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์มักเริ่มจากการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์มีอยู่ตามธรรมชาติทั้งในดิน น้ำ รวมทั้งจากตัวสัตว์เอง ซึ่งทำให้เกิดการเสื่อมเสีย และนำสู่อันตรายในอาหาร (food hazard) ทำให้เกิดโรคในมนุษย์ได้ จุลินทรีย์ที่พบมากในเนื้อสัตว์คือแบคทีเรีย ซึ่งมีเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนได้ (proteolytic enzyme) เช่น protease ย่อยโปรตีน โมเลกุลใหญ่ให้เป็นโมเลกุลเล็กและกรดอะมิโน (amino acid) และย่อยสลายต่อไปเป็นสารระเหยที่มีกลิ่นเหม็นเน่า เช่น แอมโมเนีย การสลายตัวของกรดอะมิโนที่มีกำมะถัน (sulfur) เป็นส่วนประกอบ ได้แก่ ซิสทีน (cystein) ได้ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (hydrogen sulphide, H_2S) ซึ่งมีกลิ่นเหม็นเน่า ซึ่งการสลายตัวของกรดอะมิโน tryptophan ได้ indole และ skatole ซึ่งมีกลิ่นเหม็นเน่าเหมือนอุจจาระ เกิดเมือก เกิดการเปลี่ยนสี

2.3.2.2 เชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหารเป็นพิษ (food borne diseases)

โรคที่เกิดจากอาหารเป็นพิษหรือความเจ็บป่วยจากการบริโภคอาหาร (foodborne illness) คืออาการความเจ็บป่วยทางร่างกาย ซึ่งมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อโรคหรือเชื้อแบคทีเรีย จากการบริโภคหรือการสัมผัสอาหารหรือเครื่องดื่ม ซึ่งผ่านกระบวนการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะ ตั้งแต่ขั้นตอนการผลิต การจัดเตรียมและการปรุง การจำหน่ายจ่ายแจก จึงทำให้เกิดการปนเปื้อนเชื้อโรคหรือสิ่งอันตรายในอาหาร

สาเหตุของอาหารเป็นพิษได้บ่อยครั้งได้แก่สารพิษของแบคทีเรีย ที่เจริญเติบโตในอาหารก่อนการบริโภค เช่น สารพิษของเชื้อ *V. brio*, *V. parahaemolyticus*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* หรือผลิตสารพิษในลำไส้เมื่อบริโภคเข้าไป เช่น *Clostridium perfringens*

จากการติดเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส หรือ พยาธิ เช่น อุจจาระร่วงสาเหตุจาก *Escherichia coli*, *Salmonellosis*, *Shigellosis*, viral gastroenteritis, trichinosis เป็นต้น

การระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ พบได้จากการที่คนจำนวนมากรับประทานอาหารร่วมกัน และมีอาการอย่างรวดเร็วจนกว่ารับประทานอาหารแล้ว การเก็บตัวอย่างส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการโดย

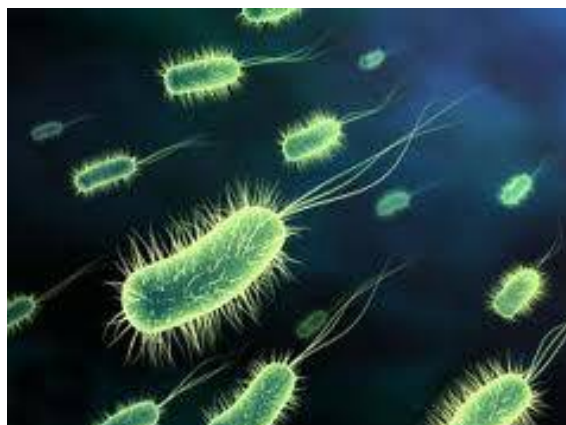
ละเอียดย่อยและพันธุกรรมที่เป็นส่วนสำคัญในการสอบสวนโรค ผู้ป่วยเพียงรายเดียว อาจจะยากในการค้นหาสาเหตุ ยกเว้น botulism ที่มีอาการทางคลินิกที่เด่นชัด โรคอาหารเป็นพิษอาจเป็นสาเหตุที่พบบ่อยมากในการป่วยเฉียบพลัน แต่การรายงานผู้ป่วยและการระบาดของโรคลดต่ำกว่าความเป็นจริงมากได้แก่ สิ่งปนเปื้อนทางด้านจุลชีววิทยา (microbiological pathogens) สารพิษที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ (naturally occurring toxins) สารเคมีทางเกษตรกรรม (agricultural chemical) สารตกค้างจากพืชและสัตว์ (residue) สารปรุงแต่งอาหาร (food additives) สารก่อภูมิแพ้ (food allergens) การเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของอาหาร และการบริโภคอาหารเสริมบางประเภท (dietary supplement) เป็นต้น

2.3.3 เชื้อแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษที่สำคัญ

2.3.3.1 *Escherichia coli* หรือ *E.coli*

เชื้อที่เป็นสาเหตุ: Enteropathogenic *E.coli* (EPEC) Enterotoxigenic *E.coli* (ETEC) สร้างสารพิษทั้งชนิดทนความร้อนและไม่ทนความร้อน Enterohaemorrhagic *E.coli* (EHEC) เป็นเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae มีรูปร่างเป็นแท่ง ไม่สร้างสปอร์ ดัดสีแกรมลบ ดำรงชีวิตแบบใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนก็ได้ (facultative anaerobic) เจริญได้ที่ อุณหภูมิตั้งแต่ 7-10 องศาเซลเซียส ไปจนถึง 50 องศาเซลเซียส เชื้อ *E. coli* ส่วนใหญ่ไม่อันตราย และสามารถถูกยับยั้งได้ในทางเดินอาหารของคน แต่ก็ยังมีบางชนิดที่สามารถทำให้เกิดโรคได้ สามารถพบได้ในลำไส้ของเด็ก ผู้ใหญ่และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเกือบทุกชนิด (สุกซัย เนื่อนวสุวรรณ, 2549) ระยะฟักตัว: EPEC 1-6 วัน อาจสั้นเพียง 12-36 ชั่วโมง ETEC 1-3 วัน อาจสั้นเพียง 10-12 ชั่วโมง EHEC 3-8 วัน ส่วนใหญ่มีอาการปวดท้อง ท้องเดิน คลื่นไส้ อาเจียน มักไม่มีไข้ (รูปที่ 2.13) โดยเชื้อ *E. coli* ใช้เป็นตัวชี้วัด (indicator) การปนเปื้อนของอุจจาระในน้ำ ซึ่งการระบาดของโรคที่เกิดจากเชื้อ *E. coli* มักเกิดจากการปนเปื้อนเชื้อในแหล่งน้ำใช้และจากผู้เตรียมอาหาร (Adam และ Moss, 2008)

E.coli ส่วนใหญ่ไม่ใช่จุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) แต่บางชนิดที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) หรือเรียกว่า Enterovirulent *Escherichia coli* group (EEC group) มี 4 ประเภทคือ Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), Enteropathogenic *E. coli* (EPEC), Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) หรือ *E. coli* 0157:H7 และ Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)



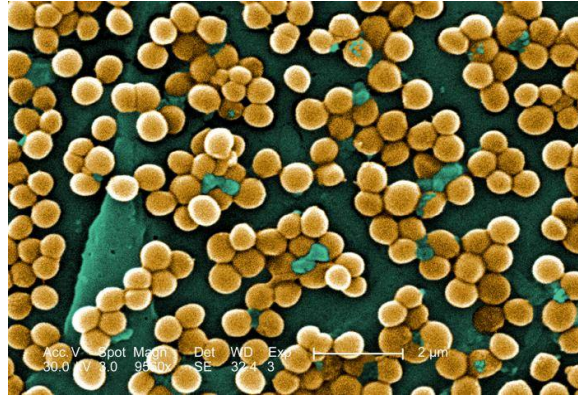
รูปที่ 2.13 *Escherichia coli*

ที่มา: [http://bai-to-ey.blogspot.com/2010/09/ Escherichia-coli.html](http://bai-to-ey.blogspot.com/2010/09/Escherichia-coli.html)

2.3.3.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus พบได้ในผิวหนังของมนุษย์ตามบาดแผลต่างๆ และสามารถแพร่พันธุ์ได้อย่างรวดเร็วในอุณหภูมิสูง และอาหารสดที่อุดมไปด้วยโปรตีน น้ำตาล และ เกลือ เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะกลม (cocci) อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงอุ้งน สามารถสร้างสารพิษออกมานอกเซลล์ได้ เรียกว่า enterotoxin มีผลทำให้เกิดอาการปวดท้อง และคลื่นไส้ (gastroenteritis) พบมากในอาหารที่ถูกสัมผัสและการเคลื่อนย้ายจากมนุษย์ และอาหารที่ไม่ได้ทำให้สุกก่อนบริโภค สามารถเจริญเติบโตและสร้างสารพิษได้ที่ช่วง 10-46 องศาเซลเซียส แต่เหมาะสมที่สุดคือ 40-45 องศาเซลเซียส (Lowy, 2003; Thamlikitkul, 2001) *S. aureus* สามารถพบในโพรงจมูกของผู้ที่มีสุขภาพปกติถึงร้อยละ 40 และสามารถปนเปื้อนจากผิวหนังที่ติดเชื้อของผู้เตรียมอาหาร (O'Brien และคณะ, 1999) จากข้อมูลการตรวจสอบสถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์พบว่าผู้จำหน่ายเนื้อสัตว์ไม่ใส่หน้ากาก หมวกคลุมผมและถุงมือยาง ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่สำคัญของการปนเปื้อนของ *S. aureus*

S. aureus (รูปที่ 2.14) หลายชนิดที่สร้างสารพิษ (enterotoxin) ซึ่งคงทนต่ออุณหภูมิที่จุดเดือด เชื้อมักแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในอาหารและสร้าง toxin ขึ้นแหล่งอาหารที่พบเชื้อ *S. aureus* คือ แสม เนื้อสัตว์ นำนมถ้าหากปล่อยให้จุลินทรีย์มีการเจริญเพิ่มจำนวนในนํ้านมและสร้างสารพิษ ทำให้เกิดอันตรายได้ถึงแม้ว่าจะนำอาหารไปผ่านความร้อนอีกครั้งหนึ่ง เกิดขึ้นภายหลังได้รับพิษ 4 ชั่วโมง มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องอย่างรุนแรง ท้องเสีย เหงื่อออก ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย มีไข้ มีอาการ 24-48 ชั่วโมง อัตราการตายต่ำมาก หากได้รับการนอนพักรักษาและรับประทานน้ำสะอาดผสมเกลือแร่ ปริมาณสารพิษอย่างต่ำ (minimum infective dose) ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ คือ 20 นาโนกรัม



รูปที่ 2.14 *Staphylococcus aureus*

ที่มา: <http://bai-to-ey.blogspot.com/2010/09/staphylococcus-aureus.html>

2.3.3.3 *Salmonella* spp.

เป็นแบคทีเรียกลุ่มไทฟอยด์ที่ทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร คือโรคไทฟอยด์ (ไข้รากสาदन้อย = Typhoid Fever) จากเชื้อ *Samonellatyphi* = โรคพาราไทฟอยด์ (โรคไข้รากสาตเทียม = Paratyphoid Fever) จากเชื้อ *Samonellaparatyphi* โรคกระเพาะอาหาร และลำไส้ เชื้อโรคนี้นักพบในอาหารจากสัตว์ และผักดิบ *Salmonella* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบ สามารถสร้างสารพิษในลักษณะสารประกอบประเภท lipopolysaccharide-peptide complex แต่เนื่องจากพิษที่เกิดอยู่ในตัวเชื้อโรค (endotoxin) ไม่ปล่อยออกมาข้างนอก ไม่เกิดสปอร์ (spore) และไม่ทนต่อความร้อนจึงสามารถกำจัดได้ง่ายโดยการหุงต้มอาหารให้สุกก่อนรับประทาน ส่วนกลไกการเกิดพิษเป็น neurotoxin ชนิดหนึ่ง ซึ่งเกิดพิษแก่เยื่อประสาท

Salmonella spp. มีรูปร่างท่อนสั้น (รูปที่ 2.15) ไม่สร้างสปอร์เป็น facultative anaerobe อยู่ในสกุล Enterobacteriaceae เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง 37-42 องศาเซลเซียสพบในลำไส้ของสัตว์ เช่น สัตว์ปีก สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์เลี้ยง มนุษย์ อุจจาระต่างๆ ดิน น้ำ ปุ๋ย และผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อดิบ เนื้อสัตว์ สัตว์ปีก ไข่สด ผักหรือผลไม้สด และน้ำผลไม้สด และการเคลื่อนย้ายของโรคมีการเคลื่อนย้ายได้เร็ว ปวดท้อง ปวดหัว หนาวสั่น ท้องเดิน ปวดเมื่อยตามกล้ามเนื้อ มีไข้ อาการทรงตัว 2-3 วัน ภายหลังการป่วยอาจเป็นพาหะในการติดต่อของโรคได้ด้วย พบการระบาดในผลิตภัณฑ์นม ไอศกรีม น้ำส้มแช่แข็งที่ไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ ในสหรัฐฯ (1985-1995) การป้องกันควรใช้ระบบ HACCP ในโรงงานแปรรูปเนื้อสัตว์ มีการใช้กรดเปอร์อะซิติกกับโอโซนรวมกันในถังแช่เพื่อลดอุณหภูมิซากไก่พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* ลงได้จากร้อยละ 22 เป็นร้อยละ 5 (Vadhanasin และคณะ, 2004) นอกจากนี้เชื้อ *S. enteritidis* ยังเป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเนื่องจากในการส่งออกสินค้าประเภทผลิตภัณฑ์

ตัวป้อนนั้นสินค้าต้องปลอดหรือปนเปื้อนเชื้อ *S. enteritidis* น้อยกว่า 102 colony forming unit (CFU) ต่อตัวอย่างเนื้อที่ใช้ทดสอบ 25 กรัม (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2546)



รูปที่ 2.15 *Salmonella enteritidis*

ที่มา: http://www.visualphotos.com/image/1x6040206/salmonella_enteritidis.jpg

2.3.4 การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของกระเทียมและหอมหัวใหญ่

สารสกัดกระเทียมและหอมหัวใหญ่พบสารสำคัญในกลุ่ม organosulfur และสารกลุ่มฟีนอลิกซึ่งมีประสิทธิภาพสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้

2.3.4.1 สารกลุ่ม organosulfur

สารกลุ่ม organosulfur สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ เนื่องจากสาร organosulfur เข้าไปทำปฏิกิริยากับบริเวณของผนังเซลล์ โดยเชื้อแบคทีเรียแบ่งโครงสร้างได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ โดยแบคทีเรียแกรมบวกในส่วนของผนังเซลล์มีชั้น peptidoglycan ส่วนแบคทีเรียแกรมลบมีชั้น outer membrane และตามด้วยชั้น peptidoglycan ซึ่งสารสำคัญทำลายในส่วนของ peptidoglycan ที่ประกอบด้วย polymer ของน้ำตาล 2 ชนิด (N-acetylmuramic acid; NAM และ N-acetylglucosamine; NAG) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ peptide ซึ่งหมู่ sulfur เข้าไปทำลายโครงสร้างของ peptidoglycan ในส่วนของพันธะ peptide โดยพันธะ disulfide ของสารสกัดกระเทียมจับกับกรดอะมิโนทำให้เกิดแรงยึดระหว่างกัน โครงสร้างของ peptidoglycan จึงฉีกขาดออก จนเกิดช่องว่างที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย มีผลให้ของเหลวที่อยู่ภายในเซลล์ของแบคทีเรียออกมา ทำให้เชื้อแบคทีเรียตาย (Ankri และ Mirelman, 2001, Lambert และคณะ, 2001)

2.3.4.2 สารกลุ่มฟีนอลิก (phenolic compound)

สารกลุ่มฟีนอลิกที่พบในสารสกัดกระเทียมและหอมหัวใหญ่มักพบสาร quercetin ซึ่งมีสารหมู่ OH (hydroxyl) อยู่จำนวนมาก โดยสารชนิดนี้สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เรียกว่าโรคได้ มีกลไกการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 2 ส่วนคือ การทำลาย peptidoglycan ของผนังเซลล์ และทำลาย phospholipids ของเยื่อหุ้มเซลล์

ก) การทำลาย peptidoglycan ของผนังเซลล์

ส่วนของ peptidoglycan ประกอบด้วย polymer ของน้ำตาล 2 ชนิด (NAM และ NAG) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ peptide ซึ่งสารฟีนอลิกเข้าไปทำลายโครงสร้างของ peptidoglycan ในส่วนของพันธะ peptide สายสั้นๆ โดยหมู่ OH จับกับกรดอะมิโนจนเกิดแรงยึดระหว่างกันทำให้โครงสร้างของ peptidoglycan ฉีกขาดออก เกิดช่องว่างที่ผนังเซลล์ มีผลให้ของเหลวที่อยู่ภายในเซลล์ของแบคทีเรียออกมาทำให้เชื้อแบคทีเรียตาย

ข) ทำลาย phospholipids ของเยื่อหุ้มเซลล์

เยื่อหุ้มเซลล์ประกอบด้วย phospholipids ทำหน้าที่หุ้มไซโตพลาสซึมไว้ สารฟีนอลิกเข้าไปทำปฏิกิริยากับหมู่ R ในส่วนของ lipid คือหมู่ OH ที่เป็นส่วนของ hydrophilic เข้าไปละลาย lipid ที่เป็นส่วนของ hydrophobic ส่งผลให้โครงสร้างของเซลล์เสียรูปร่างและทำงานไม่ได้ นอกจากนี้ยังไปกระตุ้นหมู่ phosphate ให้เกิดเป็น radical ทำให้โครงสร้างเกิดความไม่เสถียร (Lambert และคณะ, 2001)

Benkeblia (2004) สกัดน้ำมันหอมระเหยกระเทียมและหอมหัวใหญ่โดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำนาน 24 ชั่วโมงมาทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และเชื้อ *Salmonella enteritidis* ใช้เทคนิค disc diffusion ด้วยความเข้มข้น 50, 100, 200, 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าน้ำมันหอมระเหยกระเทียมที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าการยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดเท่ากับ 8.3-9.3 มิลลิเมตร ส่วนน้ำมันหอมระเหยหอมหัวใหญ่ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าการยับยั้งเชื้อเท่ากับ 7.1-8.1 มิลลิเมตร

Iwalokun และคณะ (2004) นำสารสกัดกระเทียมมาทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis* และ *Pneumoniae pyrogenes*) และแบคทีเรียแกรมลบ (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ

Salmonella enteritidis) ด้วยเทคนิค agar well diffusion โดยใช้ความเข้มข้น 500,000 พีพีเอ็ม พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เท่ากับ 20.2-22.7 มิลลิเมตร

Melvin (2009) สกัดสารสกัดจากกระเทียมด้วยวิธีการแช่ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 นาน 24 ชั่วโมง มาทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* และ *Proteus vulgaris* ด้วยเทคนิค disc diffusion โดยใช้ความเข้มข้น 1,000, 1,500 และ 2,000 พีพีเอ็ม พบว่าสารสกัดจากหอมหัวใหญ่ความเข้มข้น 1,500 และ 2,000 พีพีเอ็มสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกชนิด ส่วนสารสกัดจากหอมหัวใหญ่ความเข้มข้น 1,000 พีพีเอ็ม ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้

Hannan (2010) ศึกษาการสกัดสารจากหอมหัวใหญ่ด้วยวิธีการแช่ด้วยเอทานอลร้อยละ 97 นาน 5 วัน มาทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารยับยั้งเชื้อ *Vibrio cholerae* ด้วยเทคนิค agar well diffusion โดยใช้ความเข้มข้นร้อยละ 6.25, 12.5, 25, 50, 100 พบว่าสารสกัดจากหอมหัวใหญ่สามารถยับยั้งเชื้อ *Vibrio cholerae* ได้สูงที่สุด โดยใช้ความเข้มข้นร้อยละ 50 เท่ากับ 15.5-18.3 มิลลิเมตร

Adeshina (2011) สกัดหอมหัวใหญ่ด้วยปั่นรวมกับน้ำ ได้สารสกัดหอมหัวใหญ่ มาทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Salmonella typhi* ด้วยเทคนิค agar well diffusion พบว่าสารสกัดจากหอมหัวใหญ่สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 4 ชนิดได้ โดยใช้ความเข้มข้นร้อยละ 3.13-50.00 โดยปริมาตรเท่ากับ 15.00-35.00 มิลลิเมตร