

อัจจิมา กำพรหม : การพัฒนาอิมัลชันที่มีฤทธิ์ด้านแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษจากสารสกัดหยาบ *Areca catechu* Linn. และน้ำมันหอมระเหยจากพืช. (DEVELOPMENT OF ANTIFOOD POISONING BACTERIA EMULSION FROM BETEL NUT *Areca catechu* Linn. EXTRACTS AND PLANT ESSENTIAL OIL)

อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ. ดร. สุเมธ ตันตระเจียร, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ. ดร. พาสวดี ประทีปะเสน และ ผศ.สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์ 70 หน้า.

งานวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษได้แก่ *Bacillus cereus* ATCC1729 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Salmonella Typhimurium* ATCC 13811 จากสารสกัดหยาบ โดยศึกษาผลของหยาบที่มีทรงผลต่างกันคือกลมและรี และที่มีอายุต่างกันคืออ่อนและแก่ และผลของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้แก่ น้ำ 95% เอทานอล อะซิโตนและเอทิลอะซิเตต ต่ % yield และฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดที่ได้ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดที่ได้จากหยาบแก่พันธุ์ผลแบบที่สกัดด้วยน้ำ และสารสกัดที่ได้จากหยาบแก่พันธุ์ผลกลมที่สกัดด้วย 95% เอทานอล เป็นสารสกัดที่ละลายน้ำได้ดี มี % yield สูง (เท่ากับ 15.01 ± 4.59 และ 27.11 ± 9.18 ตามลำดับ) และมีค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ในการยับยั้ง *B. cereus* *S. aureus* และ *E. coli* เท่ากับ 7.81×10^{-1} mg/ml และ *S. Typhimurium* เท่ากับ 1.56 mg/ml ในขณะที่สารสกัดที่ได้จากการสกัดหยาบด้วยอะซิโตนมีค่า MIC สำหรับแบคทีเรียที่ศึกษาทุกตัวเท่ากับ 7.81×10^{-1} mg/ml แต่ละลายน้ำได้น้อยกว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำและ 95% เอทานอล และไม่ละลายในน้ำมันถั่วเหลือง จึงนำสารสกัดที่ได้จากหยาบแก่พันธุ์ผลรีที่สกัดด้วยน้ำผสมกับสารสกัดที่ได้จากหยาบแก่พันธุ์ผลกลมที่สกัดด้วย 95% เอทานอล ไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ โดยทำการศึกษาเพื่อคัดเลือกรสชาติของน้ำมันหอมระเหย (จากโหระพา สะระแหน่ มะนาวและส้ม) มาผสมกับสารสกัดหยาบดังกล่าวเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย พบว่าน้ำมันสะระแหน่ให้วงใสที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางสูงสุดเท่ากับ 10.00 ± 0.00 17.00 ± 2.65 15.33 ± 4.16 และ 17.33 ± 3.06 มิลลิเมตร สำหรับ *B. cereus* *S. aureus* *E. coli* และ *S. Typhimurium* ตามลำดับ และค่า MIC ของอิมัลชันของน้ำมันสะระแหน่ในสารละลายน้ำของ 1% Tween 20 เท่ากับ 56 56 56 และ 225 mg/ml สำหรับ *B. cereus* *E. coli* *S. Typhimurium* และ *S. aureus* ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดที่ได้จากหยาบแก่ทรงรีที่สกัดด้วยน้ำร้อยละ 0.15 โดยน้ำหนัก ผสมกับสารสกัดที่ได้จากหยาบแก่ทรงกลมที่สกัดด้วย 95% เอทานอล ร้อยละ 0.15 โดยน้ำหนัก และน้ำมันสะระแหน่ร้อยละ 5.60 โดยน้ำหนัก และใช้ Tween 20 ความเข้มข้นต่างๆ เป็นตัวทำอิมัลชัน ไปผ่านคลื่นเหนือเสียงที่ 300 watt และ 20 kHz นาน 30 นาที พบว่าผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของ Tween 20 มากกว่าร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก ได้ของเหลวใสและมีความเสถียรจากการแยกชั้นสูง ส่วนผลิตภัณฑ์ที่มี Tween 20 ร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก มีการแยกชั้นหลังการเตรียม 1 วัน แต่เมื่อนำไปผ่านคลื่นเหนือเสียงซ้ำอีก 15 นาที หลังการเตรียม 7 วัน ก็ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นของเหลวใสและมีความเสถียรจากการแยกชั้นสูง โดยขนาดอนุภาคเฉลี่ยของวัฏภาคกระจายสำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีและไม่มีสารสกัดหยาบเท่ากับ 0.068 ± 0.007 และ 0.136 ± 0.074 μm ตามลำดับ และขนาดอนุภาคของวัฏภาคกระจายอยู่ในช่วง 6.503×10^{-3} ถึง 5.56×10^{-1} และ 7.531×10^{-3} ถึง 1.990 μm ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์ให้ค่า Minimum Bactericidal Concentration (MBC) เท่ากับ 60 30 และ 30 $\mu\text{l/ml}$ สำหรับ *B. cereus* *E. coli* และ *S. Typhimurium* ตามลำดับ และปริมาณที่สามารถยับยั้ง *S. aureus* เท่ากับ 500 $\mu\text{l/ml}$

4872544823 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEYWORDS : BETEL NUT EXTRACTION / PEPPER MINT OIL / ANTIBACTERIAL / MICELLAR EMULSION

AJIMA KAPROM : DEVELOPMENT OF ANTIFOOD POISONING BACTERIA EMULSION FROM

BETEL NUT *Areca catechu* Linn. EXTRACTS AND PLANT ESSENTIAL OIL.

THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SUMATE TANTRATIAN, Ph.D.,

THESIS COADVISIR : ASST. PROF. PASAWADEE PRADIPASENA, Sc.D. and ASST. PROF.

SUTTISAK SUKNAISILP, 70 pp.

The aim of this research was to develop an antibacterial product from betel nut extracts. The bacteria of interest was food poisoning bacteria including *Bacillus cereus* ATCC 1729, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Salmonella* Typhimurium ATCC 13811. The effects shape and age of betel nut as well as solvent used for extraction (water, 95% ethanol, acetone and ethyl acetate) on % yield and antibacterial activity were determined. The water extract of ripe oblong-shape nut and 95% ethanol extract of ripe round-shape nut had % yield of 15.01 ± 4.59 and 27.11 ± 9.18 , respectively. Their Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was 7.81×10^{-1} mg/ml for *B. cereus*, *S. aureus*, and *E. coli* and 1.56 mg/ml for *S. Typhimurium*. All acetone extracts had MIC of 7.81×10^{-1} mg/ml for all bacteria used in this study. However, its water solubility was low and it did not dissolve in soybean oil. Therefore, the mixture of water extract of ripe oblong-shape nut and 95% ethanol extract of ripe round-shape nut was selected to be active ingredient in the product. To enhance the antibacterial activity of the product, essential oils from basil, peppermint, lemon and orange were tested for their antibacterial activity, and then selected to be used as an active ingredient in the product. Peppermint oil was selected as it gave the largest clear zone of diameter of 10.00 ± 0.00 , 17.00 ± 2.65 , 15.33 ± 4.16 and 17.33 ± 3.06 mm. for *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* and *S. Typhimurium*, respectively. The MICs of peppermint oil in water emulsion having Tween 20 (1 %wt) as emulsifier were 56, 56, 56 and 225 mg/ml for *B. cereus*, *E. coli*, *S. Typhimurium* and *S. aureus*, respectively. Products were prepared by mixing 5.60 %wt peppermint oil into water or aqueous solution of the betel nut extract mixture (0.15 %wt of water extract of ripe oval-shape nut and 0.15 %wt of 95% ethanol extract of young round-shape nut) using Tween 20 (15-30 %wt) as emulsifier. The mixtures were ultrasonicated at 300 watt and 20 kHz for 30 min. Samples containing > 20 %wt Tween 20 were clear solution and stable against phase separation. After 1 day, phase separation was observed for samples containing 20 %wt Tween 20. However, upon remixing with ultrasonication for 15 min after 7 day storage, they became clear solution and stable against phase separation. The average diameter of oil particles in these products was 0.068 ± 0.007 and 0.136 ± 0.074 μm in the presence and in the absence of the betel nut extract mixture, respectively. The range of oil particle size was 6.503×10^{-3} - 5.56×10^{-1} and 7.531×10^{-3} - 1.990 μm , respectively. The Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of these products was 60, 30 and 30 $\mu\text{l/ml}$ for *B. cereus*, *E. coli* and *S. Typhimurium*, respectively. At 500 $\mu\text{l/ml}$, they could inhibit growth of *S. aureus*.