บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 ข้อมูลทั่วไปของหว้า

หว้า เป็นพืชในตระกูล Myrtales วงศ์ Myrtaceae โดย "หว้า" เป็นชื่อเรียกสามัญในประเทศไทย นอกจากนี้ยังมีชื่อเรียกสามัญแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ เช่น Jambolan หรือ Jamun เป็นชื่อเรียกสามัญในประเทศอินเดียซึ่งเป็นประเทศถิ่นกำเนิด และ Jawa plum หรือ Indian blackberry เป็นชื่อเรียกสามัญในภาษาอังกฤษ หว้ามีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Syzygium cumini* (L.) Skeels ชื่อพ้องคือ *Syzygium jambolanum* DC., *Eugenia cumini* Druce, *Eugenia jambolana* Lam. และ *Myrtus cumini* L. หว้ามีถิ่นกำเนิดในแถบประเทศอินเดีย ศรีลังกา ปากีสถาน เนปาลและพม่า เมล็ดหว้าได้แพร่ขยายพันธุ์ไปในประเทศต่าง ๆ ได้แก่ อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ อเมริกาโดยเฉพาะในมลรัฐฮาวาย จาไมก้า บราซิล แอฟริกา ออสเตรเลียรวมทั้งประเทศไทย โดยการติดไปกับมูลของนกและการนำเมล็ดไปเพาะปลูก (Ayyanar and Subash-Babu, 2012; วิทยา ทรัพย์เย็น, 2551)

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

El-Shenawy (2011) กนกรส คงหอม (2547) นิตยา เขียวอ่อน (2550) และ วิทยา ทรัพย์เย็น (2551) ได้รายงานลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของหว้า ดังนี้

หว้า เป็นไม้ยืนต้น ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด สูงประมาณ 15 - 30 เมตร ทรงพุ่มครึ่งวงกลม เปลือกไม้เรียบ มีสีเหลืองหรือสีเทา ในต้นที่มีอายุมากส่วนเปลือกไม้จะแตกออกเป็นรูปเหลี่ยม

ใบ เป็นใบเดี่ยว ออกตรงข้าม แผ่นใบเป็นรูปรีหรือรูปไข่กลับ ปลายแหลมเป็นติ่ง โคนใบโค้งมน ลักษณะเป็นมันวาว มีสีค่อนข้างแดงในช่วงผลิใบและเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มเมื่อใบมีอายุมากขึ้น เส้นกลางใบมีสีเหลือง มีขนาดกว้างประมาณ 2.5 - 10 เซนติเมตร และยาวประมาณ 5 - 25 เซนติเมตร

ดอก มีสีขาว เป็นดอกสมบูรณ์เพศ มีเกสรตัวผู้จำนวนมากอยู่บนก้านเกสรที่เกาะติดอยู่กับส่วนของกลีบเลี้ยง มีรังไข่อยู่ใต้วงกลีบ ลักษณะเป็นช่อดอก ใน 1 ช่อดอกประกอบด้วยกลุ่มช่อย่อยหลายช่อ ในช่อย่อยหนึ่ง ๆ มีดอกขนาดเล็กหลายดอกอัดกันแน่นมีลักษณะเป็นช่อกระจุก

ผล เป็นผลเดี่ยว ลักษณะผลเป็นทรงรีหรือกลม มีขนาดตั้งแต่ 1 - 2 x 2 - 2.5 เซนติเมตร เปลือกผลบาง ผิวเป็นมันเงา โดยผลอ่อนมีสีเขียว พอเริ่มแก่จะมีสีชมพู และเมื่อแก่จัดจะมีสีแดงเข้มถึงม่วงดำ เนื้อผลสีขาวใสและมีเส้นสีม่วงแทรกเป็นร่างแหอยู่ในเนื้อผล ติดผลและผลสุกในช่วงเดือนพฤษภาคมของทุกปี

เมล็ด มีทรงรีขนาดใหญ่ประมาณ 1 x 1.6 เซนติเมตร มีลักษณะแข็งจากการที่เนื้อเยื่อเบียดอัดตัวกันแน่น

4138052479

2.1.2 การใช้ประโยชน์และคุณสมบัติต่าง ๆ ของหว้า

หว้าจัดเป็นพืชที่มีสรรพคุณทางยา (medicinal plant) เนื่องจากสามารถนำส่วนต่าง ๆ ของหว้าไปใช้ประโยชน์ทางยาได้ โดย Ayyanar and Subash-Babu (2012), Jadhav *et al.* (2009) และ วิทยา ทรัพย์เย็น (2551) ได้รายงานไว้ ดังนี้

เปลือก มีกลิ่นฉุน รสหวาน ช่วยย่อยอาหาร บรรเทาอาการกระหายน้ำ รักษาอาการไอ เจ็บคอ หลอดลมอักเสบ รักษาโรคหอบ ใช้เป็นยาถ่ายพยาธิ รักษาโรคลำไส้ โรคบิด และรักษาอาการอักเสบของผิวหนัง นอกจากนี้ยังมีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ เปลือกมีส่วนประกอบของสารแทนนินประมาณร้อยละ 8 - 19

ใบ ลดระดับน้ำตาลในเลือด รักษาอาการเบาหวาน ละลายนิ่ว แก้ปัญหาเกี่ยวกับโรคไต ใบประกอบด้วยเยื่อใยร้อยละ 17 เถ้าร้อยละ 16 โปรตีนร้อยละ 9.1 ไขมันร้อยละ 4.3 แคลเซียมร้อยละ 1.3 ฟอสฟอรัสร้อยละ 0.19 และน้ำมันหอมระเหย ใบหว้ามีสารแทนนินอยู่ในปริมาณสูงถึงร้อยละ 12 - 13 ของน้ำหนักแห้งและมีเอนไซม์ที่เชื่อว่ามีส่วนในการสังเคราะห์แทนนิน และยังประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดทั้งในกลุ่มของกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์

ผล นำไปใช้เป็นยาสมาน ด้านโรคลักปิดลักเปิด แก้โรคกระเพาะ ขับลม รักษาอาการท้องร่วงและขับปัสสาวะ นอกจากนี้ยังมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันอีกด้วย ผลมีส่วนประกอบของน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตส กรดซิตริกและมาลิก รวมถึงโปรตีน ไขมันและเกลือแร่ต่าง ๆ นอกจากนี้ยังมีสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ กรดแกลลิกและแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารให้สีม่วงแก่ผลหว้า

เมล็ด ลดระดับน้ำตาลในเลือด รักษาอาการเบาหวาน แก้อาการอักเสบของผิวหนัง นอกจากนี้ยังมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน และยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เมล็ดหว้ามีองค์ประกอบคือ โปรตีนร้อยละ 6.3 - 8.5 ไขมันร้อยละ 1.18 เยื่อใยร้อยละ 16.9 เถ้าร้อยละ 21.72 แคลเซียมร้อยละ 0.41 ฟอสฟอรัสร้อยละ 0.17 แป้งร้อยละ 41 และ เดกซ์ทรินร้อยละ 6.1 นอกจากนี้ยังพบสารประเภทอัลคาลอยด์ (alkaloid) คือ จัมโบซิน (Jambosine) และไกลโคไซด์ของจัมโบซินคือ จัมโบลิน (Jambolin) และสารประกอบฟีนอลิกอีก 34 ชนิด โดยเฉพาะสารกลุ่มฟลาโวนอยด์

2.2 สารประกอบฟีนอลิก

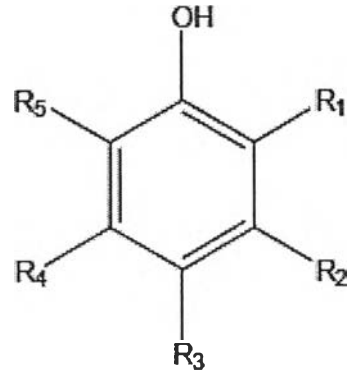
เป็นสารที่ได้จากเมตาบอลิซึมของพืช ซึ่งสารที่ได้จากพืชสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ สารกลุ่มเมแทบอไลต์ปฐมภูมิ (primary metabolites) และสารกลุ่มเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) โดยสารกลุ่มเมแทบอไลต์ปฐมภูมิเป็นสารที่มีส่วนเกี่ยวข้องโดยตรงกับการเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืช ตัวอย่างของสารเหล่านี้ประกอบด้วยกรดอะมิโน (amino acids) กรดไขมัน (fatty acids) นิวคลีโอไทด์ (nucleotides) และน้ำตาล (sugars) โดยสารเหล่านี้จะเป็นสารตั้งต้น (building blocks หรือ precursors) ในการผลิตเมแทบอไลต์ทุติยภูมิต่อไป ส่วนสารกลุ่มเมแทบอไลต์ทุติยภูมิเป็นสารที่ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องโดยตรงกับการเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืช แต่มีความสำคัญต่อพืช โดยมีบทบาทคือปกป้องพืชจากรังสียูวีและอนุมูลอิสระ ใช้ในขบวนการป้องกัน

4138052479

ตัวเอง (self - defense) จากสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น เช่น แมลง สัตว์ เชื้อไวรัส และ เชื้อจุลินทรีย์ ตัวอย่างสารกลุ่มเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ เช่น สารประกอบฟีนอลิก เป็นต้น (Lattanzio *et al.*, 2006)

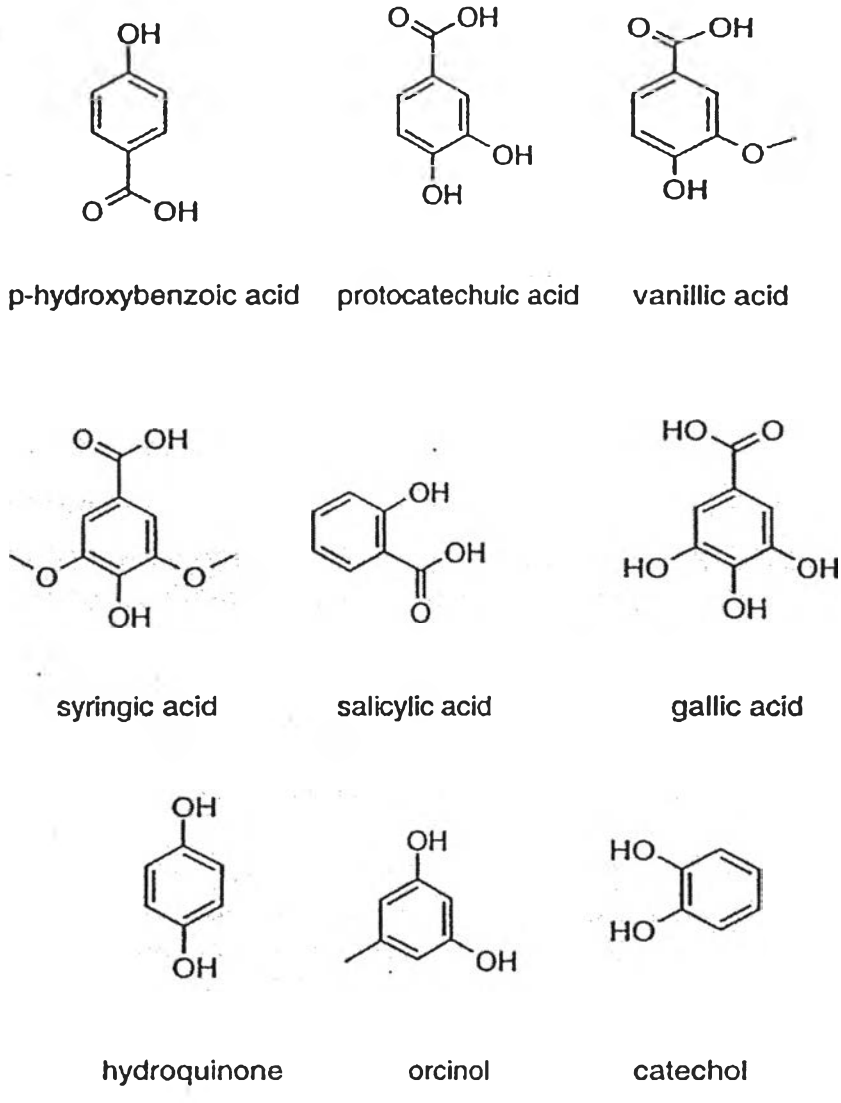
สารประกอบฟีนอลิกกระจายอยู่ทั่วไปในพืชทั้งในระดับเนื้อเยื่อ ระดับเซลล์และระดับหน่วยย่อยของเซลล์ โดยฟีนอลิกที่ละลายน้ำไม่ได้ (insoluble phenolics) เช่น คอนเดนซ์แทนนิน (condensed tannin) ลิกนิน (lignins) และกรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acids) จะอยู่ในส่วนของผนังเซลล์ ส่วนฟีนอลิกที่ละลายน้ำได้ (soluble phenolics) เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และควิโนน (quinones) จะอยู่ภายในเซลล์แวคิวโอล (Naczk and Shahidi, 2004)

โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) และมีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl, -OH) อย่างน้อย 1 หมู่ ดังภาพที่ 2.1 โดย R_1 - R_5 เป็นหมู่การแทนที่ที่ตำแหน่งต่าง ๆ ทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีโครงสร้างแตกต่างกันไปในพืชผักผลไม้ (นิตยา เขียวอ่อน, 2550) โดยกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากในพืชคือกลุ่มกรดฟีนอลิกและกลุ่มฟลาโวนอยด์ ตัวอย่างสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดแสดงดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิก (นิตยา เขียวอ่อน, 2550)

4138052479



ภาพที่ 2.2 ตัวอย่างสารประกอบฟีนอลิกบางชนิด (Cseke *et al.*, 2006)

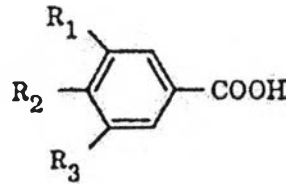
2.2.1 กรดฟีนอลิก (phenolic acids)

กรดฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำสุด กลุ่มโครงสร้างหลักที่พบคือกลุ่มที่เกิดจากกรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (hydroxybenzoic acids) และอนุพันธ์ และกลุ่มที่เกิดจากกรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxylcinnamic acids) และอนุพันธ์ โดยการแบ่งชนิดของสารในแต่ละกลุ่มเกิดจากหมู่ฟังก์ชันและตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชันที่เข้ามาทำปฏิกิริยาที่แตกต่างกันซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน (hydroxylation) และเมทิเลชัน (methylation)

2.2.1.1 กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (hydroxybenzoic acids) และอนุพันธ์

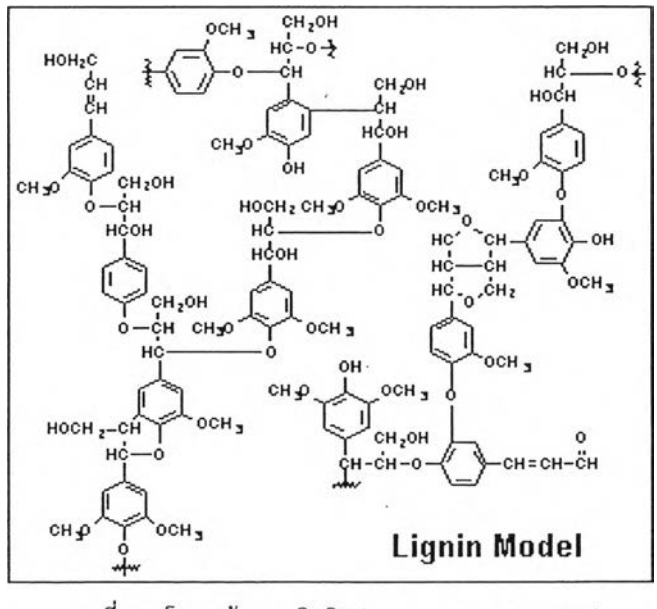
สารกลุ่มกรดไฮดรอกซีเบนโซอิกและอนุพันธ์ มีลักษณะโครงสร้าง C_6 - C_1 ประกอบด้วยคาร์บอน 6 อะตอมของฟีนอลและหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group; -COOH)

(Spanos and Wrolstad, 1992) ดังภาพที่ 2.3 มักพบทั่วไปในรูปที่ไม่อิสระโดยเป็นองค์ประกอบย่อยของโครงสร้างที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน (lignin) ดังภาพที่ 2.4 นอกจากนี้ยังอาจพบในรูปอนุพันธ์ของกรดอินทรีย์และน้ำตาล กรดไฮดรอกซีเบนโซอิกมักพบปริมาณต่ำในอาหารที่ทำมาจากพืช ยกเว้นกลุ่มแบล็คเบอร์รี่ ราสพ์เบอร์รี่ แบล็คเคอแรนท์ เรดเคอแรนท์ และ สตรอว์เบอร์รี่ อย่างไรก็ตาม อนุพันธ์ของกรดไฮดรอกซี - เบนโซอิกบางชนิดพบในพืชปริมาณสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กรดแกลลิก (gallic acid) โปรโตคาเทคูอิค (protocatechuic) และพารา - ไฮดรอกซีเบนโซอิก (p - hydroxybenzoic) (Shahidi and Naczk, 1995)



Acid	R_1	R_2	R_3
p-Hydroxybenzoic	H	OH	H
Protocatechuic	H	OH	OH
Vanillic	CH_3O	OH	H
Syringic	CH_3O	OH	CH_3O
Gallic	OH	OH	OH

ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของสารกลุ่มกรดไฮดรอกซีเบนโซอิกและอนุพันธ์ (Shahidi and Naczk, 1995)

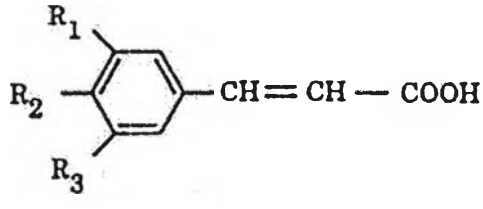


ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของลิกนิน (Buchanan *et al.*, 2009)

4136052479

2.2.1.2 กรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acids) และอนุพันธ์

สารกลุ่มกรดไฮดรอกซีซินนามิกและอนุพันธ์มีโครงสร้างประกอบด้วยคาร์บอน 9 อะตอม (C_6 - C_3) (Spanos and Wrolstad, 1992) ดังภาพที่ 2.5 มักพบในพืชที่นำมาบริโภคได้ โดยเฉพาะกรดคาเฟอิก (caffeic acid) ที่พบได้ในผลไม้หลายชนิด เช่น พลัม แอปเปิ้ล แอปริคอต บลูเบอรรี่ และ มะเขือเทศ กรดไฮดรอกซีซินนามิกมักพบในรูปที่ไม่อิสระโดยอาจพบในรูปอนุพันธ์ของกรดอินทรีย์และน้ำตาล อย่างไรก็ตาม กระบวนการผลิตผักและผลไม้ เช่น การแช่แข็ง การให้ความร้อนระดับสเตอริไลเซชัน และการหมักในขั้นตอนทำไวน์ อาจทำให้กรดไฮดรอกซี-ซินนามิกอยู่ในรูปอิสระในผลิตภัณฑ์นั้น (Shahidi and Naczk, 1995)

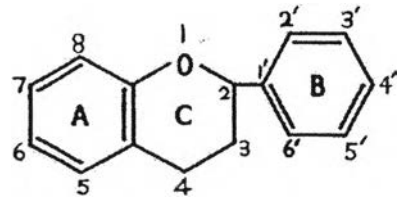


Acid	R_1	R_2	R_3
p-Coumaric	H	OH	H
Caffeic	H	OH	OH
Ferulic	CH_3O	OH	H
Sinapic	CH_3O	OH	CH_3O

ภาพที่ 2.5 โครงสร้างของสารกลุ่มกรดไฮดรอกซีซินนามิกและอนุพันธ์ (Shahidi and Naczk, 1995)

2.2.2 ฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

โครงสร้างของฟลาโวนอยด์ ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม (C_6 - C_3 - C_6) จัดเรียงตัวเป็นวงเบนซีนและมีการเชื่อมต่อด้วยออกซิเจน 1 อะตอม ดังภาพที่ 2.6 วงเบนซีนในโครงสร้างของฟลาโวนอยด์เรียกว่าวง A หรือไพแรน (pyran) B หรือไพรูเลียม (pyrulium) และ C หรือไพโรน (pyrone)



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์ (Robinson, 1963)

4138052479

ฟลาโวนอยด์จะแบ่งออกเป็นกลุ่มและในแต่ละกลุ่มยังแบ่งย่อยออกเป็นชนิดต่าง ๆ ตามหมู่ฟังก์ชันและพันธะที่เกิดขึ้นที่วงเบนซีน ดังแสดงการจัดกลุ่มในตารางที่ 2.1 นอกจากนี้ โครงสร้างของฟลาโวนอยด์ยังสามารถเกิดพันธะกับโมเลกุลน้ำตาล ทั้งน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและคู่โดยการแทนที่อะตอมไฮโดรเจนของหมู่ไฮดรอกซิล ซึ่งโดยปกติจะพบที่ออกซิเจนตำแหน่งที่ 3 บนวง B เรียกโครงสร้างที่เกิดพันธะกับโมเลกุลน้ำตาลว่าไกลโคไซด์ (glycoside) และเรียกโครงสร้างที่อยู่ในรูปอิสระ (ไม่เกิดพันธะกับโมเลกุลน้ำตาล) ว่าอะไกลโคน (aglycone) (Bhagwat *et al.*, 2013) ฟลาโวนอยด์ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของไกลโคไซด์เพื่อประโยชน์ในการเก็บรักษาและการขนส่งสารของพืช โดยน้ำตาลที่สร้างพันธะกับฟลาโวนอยด์มักเป็นน้ำตาลกลูโคสเสมอ แต่ก็สามารถสร้างพันธะกับน้ำตาลกาแลคโตส อะราบิโนส ไซโลส และ แรมโนสได้เช่นกัน (Gleason and Chollet, 2012)

ตารางที่ 2.1 การจัดกลุ่มย่อยของฟลาโวนอยด์ (วิทยา ทรัพย์เย็น, 2551)

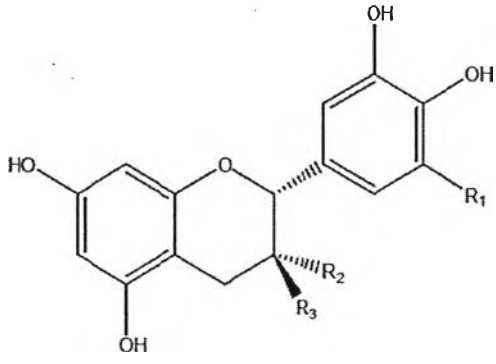
ฟลาโวนอยด์	โครงสร้าง	พันธะคู่	หมู่ฟังก์ชันที่ C_3	ตัวอย่างสารที่พบ
flavanones	pyrone	-	-	hesperetin, naringenin
flavones	pyrone	C_2 - C_3	-	apigenin, luteolin
flavanonols	pyrone	-	-OH	taxifolin
flavan - 3 - ols	pyran	-	-OH	catechin, epicatechin
flavanols				gallocatechin
flavonols	pyrone	C_2 - C_3	-OH	quercetin, kaempferol, myricetin
anthocyanidins	pyrulium	C_2 - C_3	-OH	cyanidin, delphinidin, malvidin

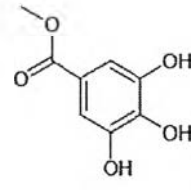
4136052479

2.2.2.1 ฟลาวานอล (flavanols)

สารกลุ่มฟลาวานอล ได้แก่ ฟลาวาน - 3, 4 - ไดออล (flavan - 3, 4 - diols) และฟลาวาน - 3 - ออล (flavan - 3 - ol) หน่วยย่อยของฟลาวาน - 3, 4 - ไดออลสัมพันธ์กับสารลิวโคแอนโทไซยานิน (leucoanthocyanins) และพบได้ยากในผลไม้ ส่วนสารฟลาวาน - 3 - ออลมักพบได้ในรูปอิสระในผลไม้โดยปริมาณที่พบขึ้นอยู่กับชนิดและพันธุ์ สารฟลาวาน - 3 - ออล เป็นหน่วยย่อยของสารโปรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidins) มักถูกนำมาสกัดแยกออกจากส่วนของพืช

อย่างไรก็ตาม มีเพียง 4 กลุ่มที่ถูกค้นพบ ได้แก่ คาเทชิน ((+) catechin) อิพิคาเทชิน ((-) epicatechin) แกลโลคาเทชิน ((+) gallocatechin) และ อิพิแกลโลคาเทชิน ((-) epigallocatechin) (Shahidi and Naczk, 1995) โดยโครงสร้างและตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาวาน - 3 - ออลแสดงดังภาพที่ 2.7





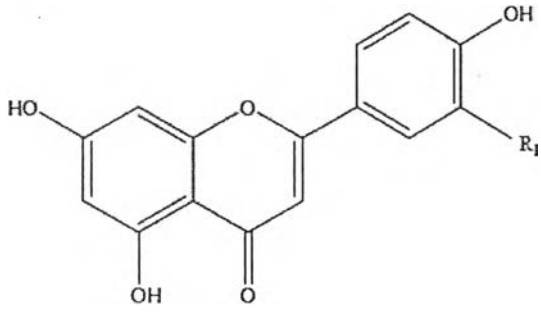
Gallate

Flavan-3-ol	R_1	R_2	R_3
(+)-Catechin (C)	H	H	OH
(+)-Catechin-3-gallate (CG)	H	H	Gallate
(-)-Epicatechin (EC)	H	OH	H
(-)-Epicatechin-3-gallate (ECG)	H	Gallate	H
(-)-Epigallocatechin (EGC)	OH	OH	H
(-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)	OH	Gallate	H
(+)-Gallocatechin (GC)	OH	H	OH
(+)-Gallocatechin-3-gallate (GCG)	OH	H	Gallate

ภาพที่ 2.7 โครงสร้างและตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาวาน - 3 - ออล (Bhagwat *et al.*, 2013)

2.2.2.2 ฟลาโวน (flavones)

สารกลุ่มฟลาโวนเกิดจากการเติมพันธะคู่ที่วง C ระหว่าง C_2 และ C_3 ของสารนารินจินินฟลาวาโนน (naringenin flavanone) โดยโครงสร้างและตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนแสดงดังภาพที่ 2.8 สารกลุ่มฟลาโวนเป็นสารประกอบที่ไม่มีสี โดยทั่วไปแล้วพืชจะเก็บในรูปของ 7 - โอ - ไกลโคไซด์ (7 - O - glycosides) ในเซลล์ สามารถพบสารกลุ่มนี้ได้ในเนื้อเยื่อพืช ยกเว้นพืชวงศ์ผักกาด (brassicaceae) ที่ไม่ผลิตสารกลุ่มฟลาโวน สมบัติของสารฟลาโวนคือช่วยปกป้องเซลล์พืชจากรังสียูวีและสารเคมีที่พืชชนิดอื่นปล่อยออกมาแล้วเป็นพิษต่อเซลล์พืชเอง (allelochemicals) (Gleason and Chollet, 2012) สารกลุ่มฟลาโวนพบได้ทั่วไปทั้งแบบอะไกลโคนและไกลโคไซด์ โดยปริมาณของสารกลุ่มฟลาโวนที่พบขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ภาวะการเจริญเติบโตของพืช ระดับความสุก - ดิบ และ ขนาดของผลไม้ เป็นต้น นอกจากนี้การสร้างสารฟลาโวนไกลโคไซด์ของพืชยังขึ้นอยู่กับปริมาณแสงแดดที่ได้รับ ดังนั้น จึงพบสารกลุ่มฟลาโวนหลัก ๆ ในส่วนของใบและเปลือกของผลไม้ และพบบ้างปริมาณน้อยในบางส่วนของพืชที่อยู่ใต้ผิวหน้าดิน (Shahidi and Naczk, 1995)

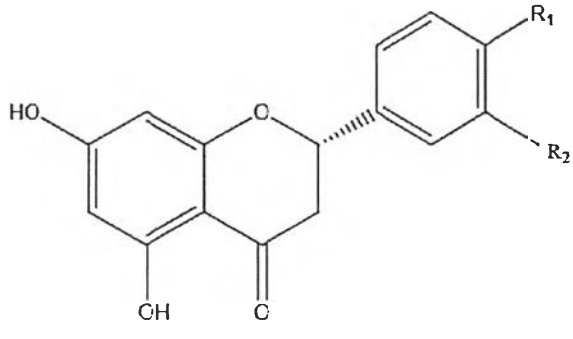


Flavone	R_1
Apigenin	H
Luteolin	OH

ภาพที่ 2.8 โครงสร้างและตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวน (Bhagwat *et al.*, 2013)

2.2.2.3 ฟลาวาโนน (flavanones)

ฟลาวาโนนมักพบในผลไม้กลุ่มไซตรัส (citrus fruit) โดยสารกลุ่มฟลาวาโนน ได้แก่ นารินจินิน (naringenin) อีริโอดิคทิออล (eriodictyol) และเฮสเพอริติน (hesperetin) มักพบอยู่ในรูปไกลโคไซด์ซึ่งจับกับน้ำตาลโมเลกุลคู่ เช่น รูติโนส (rutinose) เป็นต้น โดยสารกลุ่มฟลาวาโนนจะเป็นตัวสร้างรสขมให้กับน้ำผลไม้ (Shahidi and Naczk, 1995) โครงสร้างและตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาวาโนน แสดงดังภาพที่ 2.9



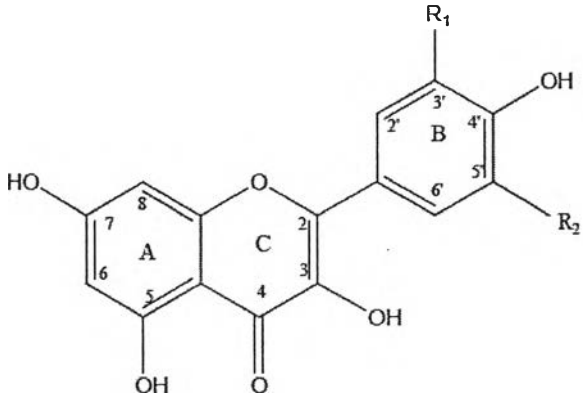
Flavanone	R_1	R_2
Eriodictyol	OH	OH
Hesperetin	OMe	OH
Naringenin	OH	H

ภาพที่ 2.9 โครงสร้างและตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาวาโนน (Bhagwat *et al.*, 2013)

2.2.2.4 ฟลาโวนอล (flavonols)

ฟลาโวนอลที่พบในธรรมชาติจะอยู่ในรูปของไกลโคไซด์ของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหรือคู่ โดยโครงสร้างที่วง C มีพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2, 3 และมีหมู่ไฮดรอกซิลต่อกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 การแบ่งชนิดของสารในกลุ่มฟลาโวนอลจะแบ่งตามหมู่ฟังก์ชันที่เกิดพันธะบนวง B ว่าเป็นไฮโดรเจนหรือหมู่ไฮดรอกซิลโดยพิจารณาจากพันธะตำแหน่งที่ 3' และ 5' บนวง B ตัวอย่างเช่น ถ้าโครงสร้างบนวง B ที่ตำแหน่ง R_1 และ R_2 มีหมู่ไฮดรอกซิลและไฮโดรเจนมาเกิดพันธะจะเรียกฟลาโวนอลนั้นว่า เควอร์เซทิน (quercetin) ดังภาพที่ 2.10 สารกลุ่มฟลาโวนอลสามารถพบได้ในผักและผลไม้หลายชนิด เช่น แอปเปิ้ล บร็อคโคลี่ แครนเบอร์รี่ และ สตรอว์เบอร์รี่ เป็นต้น (วิทยา ทรัพย์เย็น, 2551)

ฟลาโวนอลเป็นตัวสร้างกลิ่นรสเฉพาะของผลไม้และผลิตภัณฑ์ของผลไม้นั้น โดยอาจอยู่ในรูปของโคพิกเมนต์ (copigment) กับสารแอนโทไซยานิน (Shahidi and Naczk, 1995)



Flavonol	R_1	R_2
Isorhamnetin	OMe	H
Kaempferol	H	H
Myricetin	OH	OH
Quercetin	OH	H

ภาพที่ 2.10 โครงสร้างและตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอล (Bhagwat *et al.*, 2013)

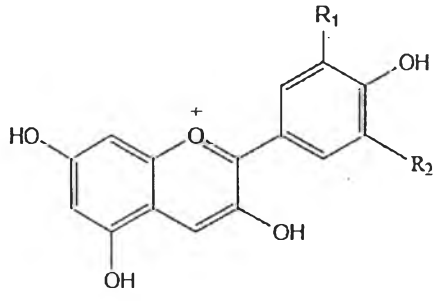
2.2.2.5 ฟลาวาโนนอล (flavanonols)

ฟลาวาโนนอลมีโครงสร้างคล้ายกับฟลาวาโนน แต่แตกต่างที่ฟลาวาโนนอลจะมีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C_3 ฟลาวาโนนอลยังมีชื่อเรียกอื่นคือ 3 - hydroxyflavanones หรือ dihydroflavonols โดยและสารฟลาวาโนนอลมักพบในผลไม้กลุ่มไซตรัส

2.2.2.6 แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)

แอนโทไซยานิดินเป็นโครงสร้างอะไกลโคนที่ไม่มีน้ำตาลเกาะ แต่ในธรรมชาติจะพบในรูปของโครงสร้างไกลโคไซด์ที่เกิดพันธะกับน้ำตาลทั้งโมเลกุลเดี่ยวและคู่ เรียกว่าแอนโทไซยานิน นอกจากนี้ยังพบในลักษณะของพอลิเมอร์ (polymer) เรียกว่าโปรแอนโทไซยานิดิน ซึ่งประกอบด้วยแอนโทไซยานิดิน 3 โมเลกุล สารกลุ่มนี้เป็นสารให้สีในผักผลไม้ที่มีสีแดง ม่วง จนถึงดำ เช่น แอปเปิ้ล องุ่นแดง และในเบอร์รี่ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ สตรอว์เบอร์รี่ ราสพ์เบอร์รี่ และ เชอร์รี่ ยกเว้นผักผลไม้บางประเภท เช่น มะเขือเทศ ที่สารให้สีแดงอยู่ในกลุ่มของไลโคปีน (lycopene) โดยโครงสร้างของแอนโทไซยานิดินแตกต่างจากฟลาโวนอยด์ชนิดอื่นคือที่วง C เป็นโครงสร้างวงแคทไอออน (cation) มีพันธะคู่ระหว่างตำแหน่งที่ 1, 2 และ 3, 4 และมีหมู่ไฮดรอกซิลเกิดพันธะกับโครงสร้างที่ตำแหน่ง 3 การแบ่งสารกลุ่มแอนโทไซยานินออกเป็นชนิดต่าง ๆ จะแบ่งตามหมู่ฟังก์ชันที่เกิดพันธะบนวง B ว่าเป็นไฮโดรเจน หมู่ไฮดรอกซิล หรือหมู่เมทอกซิล โดยตำแหน่งที่เกิดพันธะและทำให้เกิดการแบ่งชนิดคือตำแหน่งที่ 3' (R_1) และ 5' (R_2) เช่น ถ้ามีไฮโดรเจนเกิดพันธะที่ตำแหน่ง R_1 และ ไฮดรอกซิลเกิดพันธะที่ตำแหน่ง R_2 จะเรียกว่า ไซยานิดิน (cyanidin) หรือถ้ามีหมู่เมทอกซิลทั้งตำแหน่ง R_1 และ R_2 จะเรียกว่า มัลวิดิน (malvidin) เป็นต้น (วิทยา ทรัพย์เย็น, 2551) ดังภาพที่ 2.11

4136052479



Anthocyanidin	R_1	R_2
Cyanidin	H	OH
Delphinidin	OH	OH
Malvidin	OMe	OMe
Pelargonidin	H	H
Peonidin	H	OMe
Petunidin	OH	OMe

ภาพที่ 2.11 โครงสร้างและตัวอย่างของสารกลุ่มแอนโทไซยานิดิน (Bhagwat *et al.*, 2013)

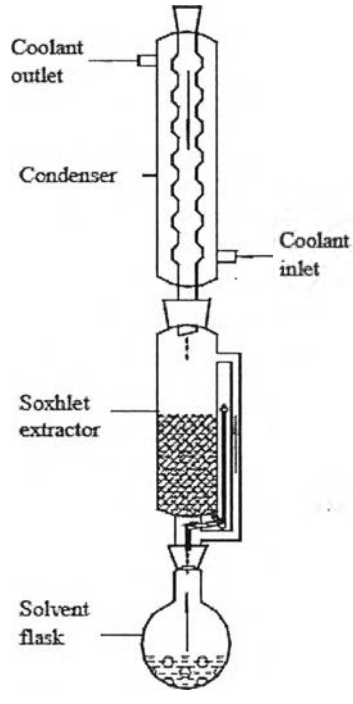
2.3 วิธีสกัดสารประกอบฟีนอลิก

การสกัดสารประกอบฟีนอลิกสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) และการสกัดโดยใช้ชุดสกัดซอกห์เล็ต (Soxhlet extractor)

การสกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีสกัดที่ได้รับความนิยมเนื่องจากทำได้ง่ายและมีประสิทธิภาพ โดยปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดมีหลายปัจจัย เช่น ตัวทำละลาย ซึ่งตัวทำละลายที่นิยมใช้ได้แก่ แอลกอฮอล์ ไม่ว่าจะเป็นเมทานอล (methanol) หรือ เอทานอล (ethanol) อะซิโตน (acetone) ไดเอทิลอิเทอร์ (diethyl ether) และ เอทิลอะซิเตต (ethyl acetate) อย่างไรก็ตาม เพื่อให้มีประสิทธิภาพการสกัดที่ดีขึ้นมักใช้ตัวทำละลายผสม โดยทั่วไปมักใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างน้ำ - แอลกอออล์ หรือ น้ำ - อะซิโตน นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผล ได้แก่ เวลาสกัด อุณหภูมิสกัด ค่าพีเอช (pH) อัตราส่วนของตัวอย่างและตัวทำละลาย และจำนวนครั้งที่ใช้สกัดต่อ 1 ตัวอย่าง (Chew *et al.*, 2011; Stalikas, 2007)

การสกัดโดยใช้ชุดสกัดซอกห์เล็ต ดังภาพที่ 2.12 เป็นอีกวิธีที่มักนำมาใช้สกัดสารจากพืช เป็นการสกัดแบบต่อเนื่อง (continuous extraction) โดยให้ความร้อนจนตัวทำละลายระเหยกลายเป็นไอแล้วกลั่นตัวเป็นของเหลวลงมาในทิมเบิล (thimble) ที่บรรจุตัวอย่างไว้ วนเวียนเช่นนี้ไปเรื่อย ๆ การสกัดด้วยวิธีนี้มีข้อดีคือตัวทำละลายมีความบริสุทธิ์ตลอดเวลาที่ทำการสกัด และอาจไม่จำเป็นต้องมีขั้นตอนการกรอง ส่วนข้อเสีย ได้แก่ ต้องใช้เวลานาน ส่วนใหญ่มากกว่า 12 ชั่วโมง (Stalikas, 2007) ต้องใช้ตัวทำละลายปริมาณมาก ไม่สามารถกวนผสมเพื่อเร่งกระบวนการสกัดได้ และอุณหภูมิสูงอาจทำลายสารที่ไม่ทนความร้อน (Wang and Weller, 2006)

4138052479

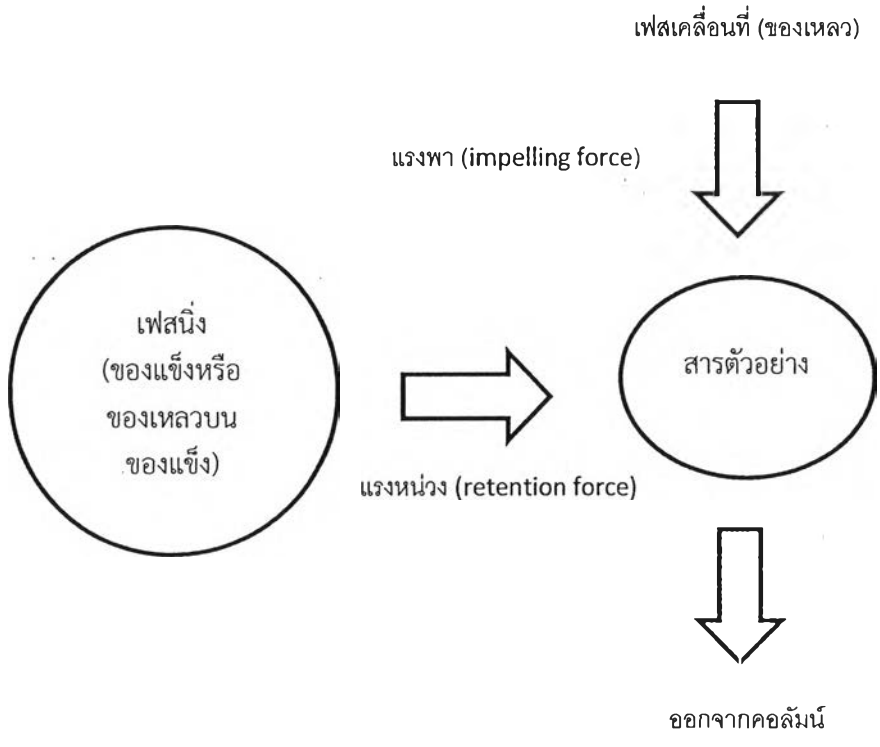


ภาพที่ 2.12 การสกัดด้วยชุดสกัดซอกห์เล็ต (Soxhlet extractor) (Wang and Weller, 2006)

4136052479

2.4 โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography) หรือ HPLC เป็นเทคนิคการแยกสารที่มีประสิทธิภาพสูง โดยของเหลวความดันสูงจะสร้างแรงพาเพื่อดันสารต่าง ๆ ในตัวอย่างให้ผ่านไปบนตัวกลางที่ไม่เคลื่อนที่หรือเคลื่อนที่ได้เล็กน้อยที่เรียกว่าเฟสนิ่ง (stationary phase) โดยเฟสนิ่งจะสร้างแรงหน่วง (retention force) ต่อสารชนิดต่าง ๆ ซึ่งแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่าง ประจุ ความจำเพาะ การดูดซับ และการละลายของสาร ดังนั้นความแตกต่างกันของแรงหน่วงจึงทำให้โมเลกุลของสารแต่ละชนิดเคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์ซึ่งบรรจุเฟสนิ่งในเวลาหน่วง (retention time) ที่แตกต่างกัน หลักการแยกสารโดย HPLC แสดงดังภาพที่ 2.13 โดยปกติเฟสนิ่งที่ใช้จะมีสภาพขั้วสูงเพื่อแยกสารที่มีสภาพขั้วสูงออกจากกันและใช้เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่มีสภาพขั้วต่ำกว่ามาไล่สารต่าง ๆ ออกจากคอลัมน์ โดยสารที่มีสภาพขั้วสูงกว่าจะออกมาทีหลัง เรียกวิธีการนี้ว่า "โครมาโทกราฟีแบบปกติ" หรือ "normal phase chromatography" แต่ในบางกรณีจะใช้เฟสนิ่งที่มีสภาพขั้วต่ำ ตัวอย่างเช่น สารอินทรีย์ประเภท n - alkyl ซึ่งมีคาร์บอน 8 (C_8) หรือ 18 (C_{18}) โมเลกุล เพื่อแยกสารที่มีสภาพขั้วต่ำออกจากกันและใช้เฟสเคลื่อนที่ที่มีสภาพขั้วสูงกว่าไล่สารที่ต้องการออกมาจากคอลัมน์ โดยสารที่มีสภาพขั้วต่ำกว่าจะออกมาช้ากว่า เรียกวิธีการนี้ว่า "โครมาโทกราฟีแบบผันกลับ" หรือ "reversed phase chromatography (ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์, 2544)



4138052479

ภาพที่ 2.13 หลักการแยกสารโดยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) (ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์, 2544)

การวิเคราะห์และจำแนกชนิดของสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ต่างนิยมใช้วิธี HPLC โดยการแยกสารมักใช้คอลัมน์ในระบบ reversed phase ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นคอลัมน์ชนิด C_{18} และใช้เฟสเคลื่อนที่แบบเกรเดียนท์ (gradient) ซึ่งสารที่นิยมใช้ส่วนใหญ่เป็นของผสมของสารที่มีขั้วแตกต่างกัน เช่น เมทานอล อะซิโตไนไตรล์ หรือน้ำ โดยส่วนใหญ่จะถูกปรับสภาพให้เป็นกรดเล็กน้อยด้วยกรดชนิดต่าง ๆ และการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณจะนิยมใช้อุลตร้าไวโอเล็ต ดีเทคเตอร์ (ultraviolet detector) หรือไดโอดแอเรย์ ดีเทคเตอร์ (diode array detector)

Rispail *et al.* (2005) วิเคราะห์ฟลาโวนอยด์ โดยใช้คอลัมน์ชนิด μ - nova - pak - reverse phase C_{18} เฟสเคลื่อนที่คือเมทานอล/กรดอะซิติก (ความเข้มข้นร้อยละ 5) เกรเดียนท์เท่ากับเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 0 ถึง 100 ใช้เวลา 50 นาที อัตราการไหล 2 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้โฟโตไดโอดแอเรย์ (photodioade array; PDA) เป็นดีเทคเตอร์ที่ 240, 340 และ 380 นาโนเมตร

2.5 สมบัติของสารประกอบฟีนอลิกด้านการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

ตำแหน่งและจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิลของสารประกอบฟีนอลิกมีผลกับความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยหากมีหมู่ไฮดรอกซิลมากก็จะยิ่งยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดียิ่งขึ้น กรดฟีนอลิกจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ของเชื้อจุลินทรีย์โดยการเข้าทำปฏิกิริยาโดยส่วนใหญ่กับหมู่ซัลฟีดิล (sulfhydryl groups) เป็นสาเหตุให้เซลล์จุลินทรีย์ถูกทำลาย (Cowan, 1999; Karaca, 2011)

นอกจากนี้สารฟลาโวนอยด์และอนุพันธุ์ซึ่งเป็นกลุ่มหนึ่งของสารประกอบฟีนอลิกที่พบได้ทั่วไปในพืช ยังสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้โดยสารฟลาโวนอยด์จะสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับกรดนิวคลีอิค (nucleic acid) ทำให้เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA) และ อาร์เอ็นเอ (RNA) ของเซลล์แบคทีเรีย และขณะที่สารฟลาโวนอยด์ซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์จะทำให้เกิดการรั่วซึม และเกิดการเกาะกลุ่มกัน ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียสูญเสียหน้าที่ในการควบคุมการผ่านเข้า - ออกของสาร ด้วยกลไกเหล่านี้ทำให้เซลล์แบคทีเรียถูกทำลายในที่สุด (Cushnie and Lamb, 2005)

2.6 แบคทีเรียก่อโรค (pathogenic bacteria)

จุลินทรีย์ในอาหารมีบทบาทและความสำคัญต่อชีวิตเป็นอย่างมาก จุลินทรีย์มีอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ บางชนิดให้ประโยชน์ บางชนิดให้โทษโดยทำให้อาหารเกิดการเน่าเสีย และยังทำให้เกิดโรคกับมนุษย์ แบคทีเรียก่อโรคบางชนิดที่มีความสำคัญโดยสามารถพบบ่อยในอาหาร เช่น ผักสดหรือผลไม้พร้อมบริโภค ได้แก่ *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium และ *Staphylococcus aureus* เป็นต้น

2.6.1 เอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*)

สุมณฑา วัฒนสินธุ์ (2545) อธิบายว่า *Escherichia coli* หรือ *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่ง เจริญได้ทั้งในภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) อยู่ในกลุ่มของโคลิฟอร์ม (coliform) ชนิดฟีคัลโคลิฟอร์ม (fecal coliform) อาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น แยกได้ครั้งแรกโดยนักจุลชีววิทยาชาวเยอรมันชื่อ Theodor Escherich และเนื่องจากเป็นแบคทีเรียในลำไส้จึงพบบ่อยในอุจจาระของคนและสัตว์ ด้วยเหตุนี้จึงใช้แบคทีเรียชนิดนี้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนของอุจจาระในน้ำและอาหาร โดยสามารถจำแนก *E. coli* ได้เป็น 5 กลุ่ม ตามความรุนแรงของการเกิดโรค ลักษณะนิสัยในการเจริญเติบโต และลักษณะทางพันธุกรรม ดังนี้

- กลุ่มที่ทำให้เกิดโรคในทางเดินอาหาร (enteropathogenic *E. coli*) เขียนย่อว่า EPEC ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ แต่มิใช่เป็นผลมาจากเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) แต่ทำให้เกิดโรคโดยกลไกการเกาะติดเฉพาะที่กับเซลล์ของเนื้อเยื่อเป็นผลให้เกิดการรวมตัวกับเยื่อเมือกในลำไส้โดยอัตโนมัติ จากนั้นแบคทีเรียจะเข้าไปเจริญและเพิ่มจำนวนขึ้นในเยื่อเมือกของลำไส้ แล้วขับโปรตีนออกมายับยั้งการทำงานของเม็ดเลือดขาว

- กลุ่มที่ทำลายเซลล์ในระบบทางเดินอาหาร (enteroinvasive *E. coli*) เขียนย่อว่า EIEC ไม่สร้างเอนเทอโรทอกซิน แต่แบคทีเรียจะทำลายเซลล์ของโฮสต์โดยการเจาะเข้าไปทางเซลล์ชั้นนอกแล้วกระจายไปยังเซลล์ใกล้เคียงคล้ายกับพฤติกรรมของเชื้อบิด

- กลุ่มที่สร้างสารพิษขึ้นในทางเดินอาหาร (enterotoxigenic *E. coli*) เขียนย่อว่า ETEC สร้างเอนเทอโรทอกซิน 2 แบบ คือ แบบที่ทนความร้อน (heat stable toxins) และไม่ทนความร้อน (heat labile toxins) แบคทีเรียสามารถเพิ่มจำนวนในลำไส้เล็กพร้อมกับขับสารพิษออกมาทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการท้องร่วง

4138052479

- กลุ่มที่ทำให้เกิดเลือดออกในทางเดินอาหาร (enterohemorrhagic *E. coli*) เขียนย่อว่า EHEC สร้างสารพิษที่มีสมบัติคล้ายกับสารพิษของ *Shigella* และเป็นสารพิษประเภทเวอโรทอกซิน (verotoxin)

- กลุ่มที่ทำให้เกิดการรวมตัวของเซลล์บุผนังลำไส้ (enteroaggregative *E. coli*) เขียนย่อว่า EAggEC เป็นสายพันธุ์ที่เพิ่งค้นพบใหม่ ยังไม่ปรากฏความรุนแรง

มีประวัติว่าเกิดเหตุระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจาก *E. coli* O157 : H7 โดยส่วนมากเกิดจากอาหารที่มีเนื้อวัวหรือนมเป็นส่วนประกอบ โดย *E. coli* สายพันธุ์นี้จะเจริญและสร้างสารพิษเอนเทอโรทอกซินชนิดทนความร้อนได้ในเนื้อบดและนมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในเวลา 24 ชั่วโมง แต่ตัวเซลล์แบคทีเรียเองไม่ทนความร้อน มีความไวต่อกรดโดยเฉพาะในกรณีที่ใช้กรดน้ำส้ม (acetic acid) หรือ กรดแลคติก (lactic acid) ปรับพีเอช โดยช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญคือเป็นกลางหรือกรดเล็กน้อย และไม่ทนต่อเกลือแกงสูง สารพิษของ *E. coli* สายพันธุ์นี้ทำให้คนเกิดอาการเลือดออกในทางเดินอาหารได้ โดยสารพิษที่ทนความร้อนของ *E. coli* ทำให้คนเกิดอาการถ่ายปัสสาวะปนเลือด ประกอบด้วยลักษณะอาการที่สำคัญ 3 ประการ คือ ไตล้มเหลวเฉียบพลัน โลหิตจาง และเกร็ดเลือดลดลง นอกจากนี้ยังทำให้เกิดอาการเลือดออกในลำไส้คือ การถ่ายเป็นเลือด ปวดท้อง และถ่ายอุจจาระเหลวเป็นน้ำหลังได้รับเชื้อประมาณ 3 - 8 วัน

2.6.2 ซัลโมเนลลา (*Salmonella*)

สุมณฑา วัฒนสินธุ์ (2545) อธิบายว่า *Salmonella* มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งในภาวะที่มีและไม่มีอากาศ เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง อยู่ในตระกูลเอนเทอโรแบคเทอริซิอี (enterobacteriaceae) เช่นเดียวกับแบคทีเรียพวกโคลิฟอร์มและ *E. coli* เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษอย่างรุนแรงเนื่องจากการบริโภคอาหารหรือน้ำดื่มที่ปนเปื้อน และเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษสูงเป็นอันดับ 1 ในประเทศสหรัฐอเมริกาและอังกฤษ โดย *Salmonella* สามารถจำแนกได้โดยนิยมใช้เทคนิคมาตรฐานคือ serotyping มีหลักการคือ การใช้แอนติเซรัมที่มีความจำเพาะทำปฏิกิริยากับแอนติเจน ทำให้เกิดการตกตะกอนของโปรตีน (พนัสนันท์ ศิลมัฐ, 2553) โดยสามารถจำแนก *Salmonella* ได้เป็น 2 สปีชีส์ คือ *Salmonella enterica* และ *Salmonella bongori* แต่ละสปีชีส์จำแนกออกเป็นอีกหลายสปีชีส์ย่อย (subspecies) โดยเชื้อ *Salmonella* กว่า 2,000 ซีโรวาร์ (serovars) หรือซีโรไทป์ (serotypes) ถูกนำมาจัดอยู่ในสปีชีส์ *Salmonella enterica* ซึ่งจำแนกย่อยออกเป็น 6 กลุ่ม ดังนี้

- กลุ่ม I : S. *enterica* subsp. *enterica*
- กลุ่ม II : *S. enterica* subsp. *salamae*
- กลุ่ม III a : *S. enterica* subsp. *arizonae*
- กลุ่ม III b : *S. enterica* subsp. *diarizonae*
- กลุ่ม IV : *S. enterica* subsp. *houtenae*
- กลุ่ม VI : *S. enterica* subsp. *indica*

แบคทีเรียกลุ่ม V เดิม ได้ถูกยกฐานะขึ้นเป็นสปีชีส์คือ *Salmonella bongori* และไม่มีสปีชีส์ย่อย

ระบบการเขียนชื่อของ *Salmonella* สามารถแบ่งได้เป็น 2 กรณี ได้แก่ *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ให้เขียนชื่อสกุล ชนิดและชนิดย่อยด้วยตัวเอน ส่วนชื่อซีโรวาร์ให้เขียนด้วยตัวตรงโดยตัวอักษรแรกเขียนเป็นตัวพิมพ์ใหญ่ เช่น S. *enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium โดยในทางปฏิบัตินิยมเขียนแบบสั้น ๆ เพียงชื่อสกุล ตามด้วยซีโรวาร์ เช่น *Salmonella* Typhimurium หรือ *S.* Typhimurium ส่วน *Salmonella enterica* subsp. II, III a, III b, IV, VI และ *Salmonella bongori* ชื่อซีโรวาร์จะเขียนอยู่ในรูปแบบโครงสร้างของแอนติเจน เช่น *Salmonella enterica* subsp. *salamae* serovar 6, 7 : a : Z_6 หรือในทางปฏิบัตินิยมเขียนแบบสั้น ๆ เช่น *Salmonella* II 6, 7 : a : Z_6 (พนัสนันท์ ศิลมัฐ, 2553)

สุมณฑา วัฒนสินธุ์ (2545) ยังอธิบายว่า ในทางระบาดวิทยา สามารถจำแนกเชื้อ *Salmonella* ออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ

- เชื้อ *Salmonella* ที่อาศัยคนเป็นโฮสต์เพียงอย่างเดียว ประกอบด้วย *S.* Typhimurium, *S.* Paratyphi และ *S.* Paratyphi C เป็นชนิดที่ทำให้เกิดโรคไข้ไทฟอยด์และไข้รากสาดน้อย จัดเป็นเชื้อ *Salmonella* ที่มีความรุนแรงมากที่สุดและมีอัตราการตายสูงสุด

- เชื้อ *Salmonella* ที่ปรับตัวตามโฮสต์ ประกอบด้วย *S.* Enteritidis สายพันธุ์ PT4, *S.* Pullorum และ *S.* Gallinarum อาศัยเป็ดหรือไก่เป็นโฮสต์ประจำ *S.* Dublin อาศัยวัวเป็นโฮสต์ประจำ *S.* Abortus - equi อาศัยม้าเป็นโฮสต์ประจำ *S.* Abortus - ovis อาศัยแกะเป็นโฮสต์ประจำ และ *S.* Choleraesuis อาศัยห่านเป็นโฮสต์ประจำ

- เชื้อ *Salmonella* ที่ไม่จำกัดโฮสต์ ได้แก่ เชื้อ *Salmonella* ส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดโรคกับคนและสัตว์ ประกอบด้วยเชื้อ *Salmonella* ที่เหลือทั้งหมดซึ่งทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ

แหล่งที่อยู่อาศัยปฐมภูมิของเชื้อ *Salmonella* คือ ลำไส้ของสัตว์ เช่น สัตว์ปีก สัตว์เลี้ยง มนุษย์ รวมทั้งแมลง แบคทีเรียจะออกมาตามอุจจาระ อาศัยสัตว์ แมลง และ น้ำ แพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อม ดิน น้ำ ปุ๋ย ซากสัตว์ วนเวียนเข้าสู่วงจรของห่วงโซ่อาหารสู่ลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เป็นวัฏจักร การขนส่งสัตว์และอาหารระหว่างประเทศจึงทำให้เชื้อแพร่กระจายไปทั่วโลก ในผลิตภัณฑ์อาหาร เชื้อ *Salmonella* แพร่กระจายในอาหารหลายชนิดที่มีเนื้อ นม ไข่ และ ผักเป็นส่วนประกอบ สัตว์ปีกเป็นแหล่งปนเปื้อนที่สำคัญ โดยการระบาดของเชื้อ *Salmonella* ที่เกิดกับมนุษย์พบว่าร้อยละ 23 มีสาเหตุมาจากไข่และผลิตภัณฑ์ไข่ ร้อยละ 16 มีสาเหตุมาจากไก่และไก่งวง ร้อยละ 8 มีสาเหตุมาจากเนื้อโคและเนื้อสุกร ร้อยละ 3 มีสาเหตุมาจากไอศกรีม ร้อยละ 2 มีสาเหตุมาจากสลัดมันฝรั่ง และ ร้อยละ 9 มีสาเหตุมาจากอาหารอื่น ๆ เชื้อ *Salmonella* สามารถทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการของโรคอาหารเป็นพิษได้ภายใน 12 - 14 ชั่วโมงหลังบริโภคอาหาร โดยผู้ป่วยมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ปวดศีรษะ หนาวสั่น ท้องเดิน เหงื่อออก อ่อนเพลีย ปวดเมื่อยตามกล้ามเนื้อ เป็นลม มีไข้ปานกลาง มึนงง โดยอาการมักทรงตัวอยู่ราว 2 - 3 วัน หลังหายป่วยแล้วผู้ติดเชื้อบางส่วนยังคงมีเชื้อ *Salmonella* อยู่ในร่างกายและกลายเป็นพาหะต่อไป (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

4138052479

2.6.3 แสตปฟิลโลคอกคัส ออเรียส (*Staphycoccus aureus*)

Staphycoccus aureus หรือ *S. aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ลักษณะกลม อยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น สร้างสารพิษซึ่งขับออกมานอกเซลล์ เรียกว่า เอนเทอโรทอกซิน (enterotoxins) ซึ่งทนความร้อน ได้แก่ สารพิษที่ชักนำให้เกิดการหลั่งของเหลวขึ้นภายในลำไส้หรือทางเดินอาหาร เป็นผลให้เกิดอาการท้องเดิน เป็นจุลินทรีย์ประเภทปรับตัวตามโฮสต์ โดยบริเวณปลายเปิดของอวัยวะที่เป็นช่องทางติดต่อกับสิ่งแวดล้อมภายนอกร่างกายของโฮสต์มักพบเชื้อเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะจมูก มือ ซอกเล็บ แขน รวมทั้งส่วนอื่น ๆ ของร่างกายของผู้เตรียมและจัดบริการอาหาร นับว่าเป็นแหล่งสำคัญที่ทำให้เชื้อแพร่กระจายไปในอาหาร โดยแบคทีเรียในจีนัส *Staphycoccus* มีมากกว่า 30 สปีชีส์ แต่ *Staphycoccus aureus* (*S. aureus*) เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษบ่อยที่สุด โดยสามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 7.0 - 47.8 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงกว้าง และช่วงอุณหภูมิที่สร้างสารพิษอยู่ระหว่าง 10 - 46 องศาเซลเซียส แต่เหมาะสมที่สุดคือ 40 - 45 องศาเซลเซียส สามารถเจริญได้ในช่วงพีเอชกว้างตั้งแต่ 4.0 - 9.8 แต่ที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 6.0 - 7.0 และตามปกติถือว่าค่าวอเตอร์ - แอคติวิตี (a_w) ต่ำสุดของ *S. aureus* อยู่ที่ 0.86 ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปและนำมาใช้อ้างอิงในการประเมินความเสี่ยง อาการของโรคอาหารเป็นพิษมักเกิดขึ้นประมาณ 4 ชั่วโมงหลังจากบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไป ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องรุนแรง ท้องเสีย เหงื่อออก ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย และบางครั้งมีไข้ด้วย ตามปกติอาการจะทรงอยู่ราว 24 - 48 ชั่วโมง อัตราการตายต่ำมาก อาการมักหายได้เองในคนที่มีสุขภาพปกติ โดยอาหารที่เป็นสื่อมีหลายชนิด โดยเฉพาะอาหารที่ผ่านการสัมผัสด้วยมือแล้วไม่ผ่านความร้อนอีก (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

2.7 การล้างผักสด

ขั้นตอนการล้างเป็นขั้นตอนหนึ่งที่ช่วยลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนผิวหน้า การล้างผักสดในระดับอุตสาหกรรมมักใช้สารเคมีเพื่อให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น เช่น การใช้สารประกอบคลอรีน โดยในโรงงานอุตสาหกรรมมักใช้ในรูปของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำจะได้เป็นกรดไฮโปคลอรัส (hypochlorous) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) โดยกรดไฮโปคลอรัสจะแตกตัวเป็นไฮโปคลอไรท์ไอออน (hypochlorite ion) ต่อไป สารประกอบคลอรีนมักใช้ความเข้มข้นของคลอรีนอิสระในช่วง 50 - 200 ppm ในการล้างหรือฉีดพ่นลงบนผักสดเป็นเวลาตั้งแต่ 1 - 10 นาทีหรือมากกว่านั้นที่อุณหภูมิต่ำ (Gonzalez *et al.*, 2004; Tirpanalan *et al.*, 2011) มีหลายปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของคลอรีน โดยการสูญเสียกิจกรรมของคลอรีนอาจเกิดจากการเพิ่มอุณหภูมิ หรือการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์หรือโลหะ เป็นต้น (Gonzalez *et al*, 2004) นอกจากนี้การใช้คลอรีนยังมีข้อเสียคือมีฤทธิ์กัดกร่อนสูง ซึ่งอาจทำให้ภาชนะเสียหาย รวมถึงเป็นอันตรายต่อผู้เตรียม และหากใช้ในระดับความเข้มข้นสูงหรือสัมผัสด้วยระยะเวลานานก็อาจส่งผลต่อคุณภาพของผักได้ อีกทั้ง by - products ที่เกิดขึ้นยังเป็นสารก่อมะเร็ง จึงจำเป็นต้องใช้น้ำสะอาดปริมาณมากมาล้างผักสดหลังแช่คลอรีนเพื่อกำจัดคลอรีนออกไปให้มากที่สุด ดังนั้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาใช้ทดแทนสารเคมีในขั้นตอนการล้าง

4138052479

2.8 โหระพา

โหระพา (*Ocimum basilicum* Linn.) เป็นผักที่นิยมนำมารับประทานสด หากมีการรับประทานโหระพาสดที่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคเข้าไป และไม่ผ่านการให้ความร้อนซึ่งเป็นขั้นตอนของการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ อาจส่งผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้ นอกจากนี้ยังมีการส่งออกไปยังสหภาพยุโรปและประสบปัญหาถูกตรวจพบแบคทีเรีย *Escherichia coli* เกินมาตรฐานเมื่อส่งไปถึงประเทศปลายทาง โดยปัญหาดังกล่าวส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจด้านการส่งออกโหระพาของประเทศไทย โอกาสปนเปื้อนแบคทีเรียมีตั้งแต่การเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว การแปรรูป รวมทั้งระหว่างการวางจำหน่าย (ตรีอุบล แก้วหย่อง และ บวรศักดิ์ ลีนานนท์, 2544)

จากปัญหาดังกล่าวทำให้กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้กำหนดมาตรการตรวจสอบ *Escherichia coli* ในโหระพาที่จะส่งออกไปนอกราชอาณาจักร โดยต้องนำหนังสือรับรองจากกรมวิชาการเกษตรนี้ไปแสดงต่อกรมศุลกากรเพื่อประกอบการส่งออกไปยังประเทศสมาชิกสหภาพยุโรป (กรมการค้าต่างประเทศ, 2550; กรมวิชาการเกษตร, 2548) และเพื่อเป็นการพัฒนาและยกระดับผู้ผลิตของไทยให้สามารถผลิตสินค้าเกษตรและอาหารที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคให้ได้มาตรฐานเป็นที่ยอมรับทั้งในประเทศและระหว่างประเทศ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์จึงได้จัดทำมาตรฐานเรื่องข้อกำหนดด้านความปลอดภัยสินค้าเกษตรและอาหารขึ้น โดยกำหนดให้ผัก - ผลไม้สดตัดแต่ง บรรจุ พร้อมบริโภคมีปริมาณแบคทีเรีย *Escherichia coli* ได้ไม่เกิน 100 ซีเอฟยูต่อกรัม (cfu/g) (มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2548)

4138052479

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Acharyya *et al.* (2009) รายงานว่าสารสกัดเมล็ดหว้าด้วยเมทานอล โดยใช้ชุดสกัดซอกห์เล็ตในการสกัด สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ โดยเฉพาะ *Vibrio cholera*, *Aeromonas hydrophila* และ *Bacillus subtilis* ที่มีค่า MBC อยู่ในช่วง 0.25 - 4.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ *Escherichia coli* มีค่า MBC เท่ากับ 16.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Bhatia and Bajaj (1975) รายงานว่าพบกรดแกลลิก (gallic acid) กรดเอลลาจิก (ellagic acid) คอริลาจิน (corilagin) และเอลลาจิแทนนินที่เกี่ยวข้อง (related ellagitannins) 3, 6 - เฮกซะไฮดรอกซี-ไดฟีนออิล - กลูโคส (3, 6 - hexahydroxydiphenoyl - glucose) และไอโซเมอร์ (isomers) 4, 6 - เฮกซะไฮดรอกซีไดฟีนออิล - กลูโคส (4, 6 - hexahidroxydiphenoyl - glucose) 1 - แกลโลอิล กลูโคส (1 - galloyl glucose) 3 - แกลโลอิล กลูโคส (3 - galloyl glucose) และ เควอร์เซทิน (quercetin) ในสารสกัดเมล็ดหว้าจากเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70

Borhade (2012) รายงานว่าสารสกัดเมล็ดหว้าด้วยเมทานอล โดยใช้ชุดสกัดซอกห์เล็ตสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและลบโดยเฉพาะ *Bacillus cereus* ที่มีขนาดโซนใส (clear zone) เท่ากับ 27.00 มิลลิเมตร ตามด้วย *Staphylococcus aureus* มีขนาดโซนใสเท่ากับ 20.88 มิลลิเมตร *Klebsiella pneumoniae* มีขนาดโซนใสเท่ากับ 18.32 มิลลิเมตร และ *Escherichia coli* มีขนาดโซนใสเท่ากับ 2.75 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 200 ไมโครกรัมต่อเวล (µg/well)

Chandrasekaran and Venkatesalu (2004) ทดลองหาผลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเมล็ดหว้าต่อการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ เปรียบเทียบระหว่างการสกัดด้วยน้ำและเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 โดยวิธีกวนที่อุณหภูมิ 40 - 60 องศาเซลเซียส พบว่าการสกัดด้วยเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ให้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการสกัดด้วยน้ำ โดยสามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* Typhimurium, *Klebsiella pneumonia* และ *Escherichia coli*

Mohamed *et al.* (2010) ทดลองหาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียในพืชพื้นบ้านของอินเดียที่มีสรรพคุณทางยา 6 ชนิด ได้แก่ *Eugenia jambolana*, *Cassia auriculata*, *Murraya koenigii*, *Salvadora persica*, *Ipomoea batatas* และ *Andrographis paniculata* และพบว่าสารสกัดเมล็ดหว้ายับยั้งแบคทีเรียได้ดีที่สุดทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ โดยเฉพาะ *Staphylococcus aureus* ที่มีค่า MIC เท่ากับ 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามด้วย *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* มีค่า MIC เท่ากับ 1.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร *Klebsiella pneumonia* มีค่า MIC เท่ากับ 3.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ *Staphylococcus epidermis* มีค่า MIC เท่ากับ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Narendhirakannan and Banerjee (2011) สกัดเมล็ดหว้าด้วยเอทานอลโดยใช้ชุดสกัดซอกห์เล็ต พบว่าสารสกัดเมล็ดหว้าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ได้แก่ *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* มีค่า MIC เท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน *Staphylococcus aureus* และ *Klebsiella pneumonia* มีค่า MIC เท่ากับ 3.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตรีอุบล แก้วหย่อง และ บวรศักดิ์ ลีนานนท์ (2544) ได้ศึกษาผลของการใช้สารฆ่าเชื้อร่วมกับสารลดแรงตึงผิวเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการล้างและลดจำนวน *Salmonella* Typhimurium ในโหระพา โดยพบว่าการใช้สารละลายที่มีคลอรีนอิสระ (free available chlorine) เข้มข้น 200 พีพีเอ็ม ร่วมกับทวีน 80 (tween 80) เข้มข้นร้อยละ 0.1 สามารถลดจำนวน *Salmonella* Typhimurium ในโหระพาได้ดี

4138052479