รายงานการวิจัยนักศึกษาระดับปริญญาตรี

เรื่อง

ผลของสารสกัดหยาบจากมะเฟืองสุกต่อการยับยั้งเชื้อกลุ่ม *Staphylococci* spp. ที่แยกจากสุนัขที่เป็นโรคผิวหนังอักเสบ

Effect of *Averrhoa carambola* crude extract on *staphylococci* spp. isolated from canine pyoderma

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

กรกมล ปัตเต
สุธิดา หาโกสี
เบญจมาศ แก่นภักดี

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
2561
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
(งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ปีงบประมาณ 2561)

รายงานการวิจัยนักศึกษาระดับปริญญาตรี

เรื่อง

ผลของสารสกัดหยาบจากมะเฟืองสุกต่อการยับยั้งเชื้อกลุ่ม *Staphylococci* spp. ที่แยกจากสุนัขที่เป็นโรคผิวหนังอักเสบ

Effect of *Averrhoa carambola* crude extract on *staphylococci* spp. isolated from canine pyoderma

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

กรกมล ปัตเต
สุธิดา หาโกสี
เบญจมาศ แก่นภักดี

สาขาวิชาเทคนิคการสัตวแพทย์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
2561
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
(งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ปีงบประมาณ 2561)

หัวข้อวิจัย ผลของสารสกัดหยาบจากมะเฟืองสุกต่อการยับยั้งเชื้อกลุ่ม *Staphylococci* spp. ที่แยกจากสุนัขที่เป็นโรคผิวหนังอักเสบ

ผู้ดำเนินการวิจัย 1.นางสาวกรกมล ปัตเต

2. นางสาวสุธิดา หาโกสี

3. นางสาวเบญจมาศ แก่นภักดี

ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร.ฐานิดา ศรีหาวงศ์

หน่วยงาน สาขาวิชาเทคนิคการสัตวแพทย์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

ปี พ.ศ. 2561

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบมะเฟืองสุกในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus* spp. โดยวิธี Agar well diffusion พบว่าสารสกัดทุกกลุ่มการทดสอบสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ โดยสารสกัดหยาบจากมะเฟืองสุกที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 75% และ 95% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus* spp. และทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโต (MIC) พบว่าสารสกัดหยาบผสมมะเฟืองสุกที่สกัดด้วย 75% และ 95% เอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด มีค่า MIC ต่อเชื้อ coa01 (7.81, 15.62 mg/mL), coa02 (3.90, 7.82 mg/mL), coa03 (31.25, 62.50 mg/mL) และ coa04 (62.50, 62.50 mg/mL) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบผสมมะเฟืองสุกมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคผิวหนังในสุนัข สามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับรักษาโรคติดเชื้อ เพื่อทดแทนหรือใช้ร่วมกับยาต้านจุลชีพในสัตว์เลี้ยงต่อไป

คำสำคัญ: สารสกัดหยาบ, ฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย, มะเฟือง, *Staphylococcus* spp.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

Research Title Effect of *Averrhoa carambola* crude extract on *Staphylococci* spp. group isolated from canine pyoderma.

Researcher Kornkamol Patae
Sutthida Hagosee
Benjamas Pakdee

Research Consultants Dr.Thanida Srihawong

Organization Program of Veterinary Technology
Rajabhat Maha Sarakham University

Year 2018

ABSTRACT

The aim of this research is to evaluate antibacterial effect of the ripen *Averrhoa carambola* crude extract on *Staphylococci* spp. isolated from canine pyoderma. The inhibitory effect was presented all groups using agar well diffusion method. *Averrhoa carambola* crude extract derived from 75% and 95% ethanol extraction inhibited *Staphylococci* spp. The MIC values of 75% and 95% ethanol extracted *Averrhoa carambola* on *Staphylococci* spp were coa01 (7.81, 15.62 mg/mL), coa02 (3.90, 7.82 mg/mL), coa03 (31.25, 62.50 mg/mL) and coa04 (62.50, 62.50 mg/mL) respectively. The result showed that *Averrhoa carambola* crude extract has a potential against on *Staphylococci* spp. associated canine pyoderma. It could to develop as an ingredient of antibacterial products in commercial pets.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยเนื่องจากได้รับทุนอุดหนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ทางคณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ฐานิดา ศรีหาวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยที่คอยให้คำปรึกษาการวางแผนงานวิจัยและตรวจแก้ไขเล่มรายงานวิจัยเพื่อความสมบูรณ์ของงานวิจัย

ขอขอบคุณสาขาวิชาเทคนิคการสัตวแพทย์และการพยาบาลสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและศูนย์เครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ความอนุเคราะห์ เครื่องมือและสิ่งอำนวยความสะดวกต่างๆต่องานวิจัยฉบับนี้

คณะผู้วิจัย

ตุลาคม 2561

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ข

กิตติกรรมประกาศ ค

สารบัญ ง

สารบัญตาราง ฉ

สารบัญภาพ ช

บทที่ 1 บทนำ.....1

ความเป็นมาและความสำคัญ.....1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....1

ขอบเขตการวิจัย.....3

บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....4

2.1 โรคผิวหนังอักเสบ (Pyoderma).....4

2.2 เชื้อ *Staphylococcus* spp.....5

2.3 การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย.....6

2.4 มะเฟือง.....6

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....14

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี.....14

3.1.1 วัสดุและอุปกรณ์.....14

3.1.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ.....14

3.2 วิธีการทดลอง.....15

3.2.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ.....15

3.2.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย.....15

3.2.3 การทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียจาก สารสกัดหยาบผสมมะเฟืองสุก.....15

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

หน้า

3.2.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ....16
บทที่ 4 ผลการวิจัย....17
4.1 การเตรียมสารสกัดหยาบมะเฟืองสุก....17
4.2 การจำแนกเชื้อแบคทีเรียด้วยการทดสอบ Coagulase....17
4.3 การทดสอบและการวิเคราะห์ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar well diffusion....18
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยอภิปรายผลและข้อเสนอแนะ....21
สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผล....21
ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้....22
ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป....22
บรรณานุกรม....23
บรรณานุกรมภาษาไทย....23
บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ....23
ภาคผนวก....26
ประวัติผู้วิจัย....34

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 แสดงคุณค่าทางโภชนาการจากเนื้อผลมะเฟือง 100 กรัม....9

2 องค์ประกอบทางเคมีกายภาพของมะเฟืองที่ระยะการสุกต่างๆ....12

3 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของมะเฟืองที่ระยะการสุกต่างๆ....12

4 ลักษณะและน้ำหนักสุทธิของสารสกัดหยาบจากมะเฟือง....17

5 แสดงความหมายของอักษรย่อ....17

6 เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus* spp....17

7 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบมะเฟืองสุกโดยวิธี Agar well diffusion (Day 1)....18

8 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบมะเฟืองสุกโดยวิธี Agar well diffusion (Days 2)....18

9 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบมะเฟืองสุกโดยวิธี Agar well diffusion (Days 3)....19

10 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบมะเฟืองสุกโดยวิธี Agar well diffusion (Days 4)....19

11 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบผสมมะเฟืองที่สามารถยับยั้ง (MIC) แบคทีเรีย (mg/mL)....20

สถาบันวิทยบริการเฉลิมพระเกียรติ มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1 โรคผิวหนังอักเสบในสุนัข.....5

2 A. การย้อมติดสีแกรมของ *S. aureus* ที่ปรากฏเป็นกลุ่ม ผนังเซลล์ติดสีของคริสตัลไวโอเลต B. ลักษณะโคโลนีของ *S. aureus* ที่เจริญบน Blood agar.....5

3 A. ลักษณะลำต้น B. ใบ C. ดอก D. ผลของมะเฟือง.....8

4 แสดงการยับยั้งเชื้อของสารสกัดหยาบมะเฟืองสุกที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95% และกลุ่มควบคุม.....19

5 แสดงการยับยั้งเชื้อของสารสกัดหยาบมะเฟืองสุกที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 75% และกลุ่มควบคุม.....20

6 แสดงตัวอย่างการทดสอบ (MIC).....20

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บทที่ 1
บทนำ

โรคผิวหนังอักเสบ (Pyoderma) เป็น*โรคผิวหนัง*ชนิดหนึ่งที่พบในสุนัขซึ่งเกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียจำพวก *Staphylococcus* มีการติดเชื้อเฉพาะบริเวณผิวชั้นนอก (Surface pyoderma) และในบางครั้งพบว่ามีการติดเชื้อของผิวหนังชั้นใน (Deep pyoderma) ลึกลงไป ซึ่งสาเหตุหลักของโรคผิวหนังอักเสบ (Pyoderma) เกิดจากเชื้อกลุ่มเชื้อ กลุ่ม *Staphylococci* spp. การเกิดผิวหนังอักเสบ สุนัขจะมีอาการคัน เป็นตุ่ม เกิดแผล ขนร่วง ในทางภูมิปัญญาชาวบ้าน เมื่อสุนัขมีอาการเป็นโรคผิวหนังหรือมีอาการขนร่วงผิดปกติ จะนิยมใช้ผลสุกของมะเฟืองคั้นเป็นน้ำและทาบริเวณที่ขนร่วงเป็นประจำ พบว่าแผลเริ่มดีขึ้นและหายและขนขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งแสดงว่ามะเฟืองอาจจะออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ กระตุ้นกระบวนการหายของบาดแผลและช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของขนได้ มะเฟืองเป็นพืชที่มีการรายงานถึงการนำส่วนต่างๆ เช่น ผล ใบ ดอก เมล็ด ราก เปลือก มาใช้ในคน ซึ่งสารสกัดจากมะเฟืองมีรายงานว่ามีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านเชื้อแบคทีเรีย และต้านมะเร็ง โดยในปัจจุบันสารสกัดจากมะเฟืองนิยมนำไปใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอางและยารักษาโรค จากรายงานว่ามะเฟืองสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าผลมะเฟืองสุกน่าจะออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อกลุ่ม *Staphylococci* spp. ที่เป็นสาเหตุโรคผิวหนังในสุนัขได้

ดังนั้นทางทีมวิจัยจึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากมะเฟืองสุก ซึ่งผลจากการวิจัยนี้อาจจะนำสารสกัดจากมะเฟืองสุกไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ป้องกันโรคผิวหนังในสุนัขต่อไป

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบของมะเฟืองต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococci* spp.
2. เพื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะเฟืองในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococci* spp.

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. กลุ่มทดสอบ

ในการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากมะเฟืองในการยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococci* spp. จะแบ่งกลุ่มทดสอบออกเป็นทั้งหมด 4 กลุ่มดังนี้

กลุ่มที่ 1: กลุ่มทดสอบ A (Treatment): สารสกัดหยาบจากมะเฟืองสุก (สกัดด้วย 95% เอทานอล)

กลุ่มที่ 2: กลุ่มทดสอบ B (Treatment): สารสกัดหยาบจากมะเฟืองสุก (สกัดด้วยเมทานอล)

กลุ่มที่ 3: กลุ่มควบคุมที่ให้ผลเป็นลบ (Negative control): 95% เอทานอลและเมทานอล

กลุ่มที่ 4: กลุ่มควบคุมที่ให้ผลเป็นบวก (Positive control): ยาเพนนิซิลิน (Pennicilin)

2. การเตรียมและการสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลาย

นำผลมะเฟืองผลสุก ที่อยู่ในเขตพื้นที่ภาคอีสานมาล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แยกเอาส่วนของเมล็ดออกให้เหลือแต่เนื้อ นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นผสมกับตัวทำละลาย 95% เอทานอล และเมทานอล ด้วยอัตราส่วน 1 : 4 ส่วน แช่ทิ้งไว้ 7 วัน แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge) ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ภายใต้อุณหภูมิ 4 - 8 องศาเซลเซียส จากนั้นน้ำส่วนน้ำไปกรองด้วยกระดาษ Whatmam No. 4 จากนั้นนำไประเหยส่วนของตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง กลั่นระเหย (evaporator) ใส่ในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการทดสอบต่อไป

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

3. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococci*

เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococci* ที่ใช้ในงานวิจัยแยกได้เชื้อจากผิวหนังสุนัขอักเสบ และเตรียมความเข้มข้นของแบคทีเรียให้มีปริมาณจำนวน 1.5 x 10^8 colony forming unit (CFU)/mL เทียบกับสารละลายมาตรฐาน McFarland standard No. 0.5

4. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Staphylococci จากสารสกัดหยาบมะเฟือง

4.1 การทดสอบและการวิเคราะห์ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Staphylococci ด้วยวิธี Agar well diffusion

ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากมะเฟืองสุก โดยนำเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococci* ไปกระจายตัว ใน Trypticase soy broth 1 mL ให้มีความขุ่นเทียบเท่า McFarland standard No. 0.5 (ประมาณ 1x10^8 CFU/mL) นำไม้พันสำลีจุ่มเชื้อบิดข้างหลอดแก้ว

พอหมาดแล้ว ไปเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าของ Trypticase Soy Agar จากนั้นเจาะหลุมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 mm ด้วย cork borer แล้วหยดสารสกัดสารสกัดหยาบจากมะเฟืองสุก ที่สกัดจาก 95% เอทานอล และเมทานอล ปริมาณ 100 µL บ่มเพาะเลี้ยงในตู้ 37 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง นำออกมาอ่านผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Inhibition Zone)

4.2 การทดสอบและการวิเคราะห์ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะเฟืองสุกในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Staphylococci ด้วยวิธี Agar dilution

ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากมะเฟืองสุก โดย เตรียมจานอาหาร Trypticase Soy Agar ที่มีสารสกัดสารสารสกัดหยาบจากมะเฟืองสุก ด้วยความเข้มข้นตั้งแต่ 2,500 mg/mL จนถึง 2.44 mg/mL ด้วยการทำ two - fold dilution ทิ้งไว้ agar แข็งตัว หลังจากนั้นเตรียมเชื้อ กลุ่ม Staphylococci โดยใช้ metal inoculation loop ขนาดความจุ 1 µL ถ่ายเชื้อไปแตะบนผิวหน้าอาหาร Trypticase Soy Agar ที่มีสารสกัดหยาบจากมะเฟืองสุกผสมอยู่โดยเริ่มจากอาหารที่ไม่มีสารสกัดและมีสารสกัดที่มีความเข้มข้นจากต่ำไปสูงหลังจากนั้นนำทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง อ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรทั้งหมดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (Minimum inhibition concentration, MIC)

ขอบเขตการวิจัย

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Staphylococci ที่เป็นสาเหตุหลักของโรคผิวหนังอักเสบในสุนัขโดยใช้สารสกัดหยาบจากเนื้อมะเฟืองสุก ในพื้นที่ท้องถิ่นภาคอีสาน นำมาทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย 95% และ 75% เอทานอล ทดสอบประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Staphylococci ในห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์และรายงานผลการยับยั้งการการเจริญเติบโตเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Staphylococci ของสารสกัดหยาบจากมะเฟืองสุกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% และ 75% เอทานอล โดยเปรียบเทียบกับกลุ่ม Negative control และ Positive control

บทที่ 2
ตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคผิวหนังอักเสบ (Pyoderma)

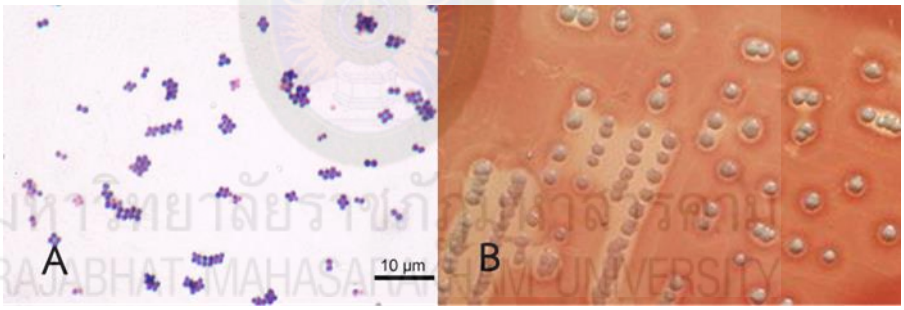
โรคผิวหนังอักเสบในสุนัข (Pyoderma) เกิดจากเชื้อแบคทีเรียจำนวนมากและมีลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาคลินิกที่แตกต่างกัน บางชนิดมีการติดเชื้อบริเวณผิวชั้นนอก (Membrane จะไม่ถูกทำลาย) บางชนิดพบบริเวณผิวหนังชั้นใน (Membrane จะถูกทำลาย) หรืออาจพบ Pseudopyoderma (ผิวหนังอักเสบเป็นหนองเทียม) ที่ไม่ใช่อาการของ Pyoderma ที่แท้จริงเป็นเพียงอาการแทรกซ้อนและไม่สามารถรักษาด้วยยาต้านการติดเชื้อได้โดยปกติผิวหนัง และรูขุมขนของสัตว์ เชื้อแบคทีเรียจะมีการปรับตัวให้เข้ากับจุลภาคของ *Superficial stratum corneum* และรูขุมขน ดังนั้นจึงเกิดการสร้างภูมิคุ้มกันที่ผิวหนัง (Simpson *et al*, 1992) *S. intermedius* แบคทีเรียก่อโรคชนิดแกรมบวกที่พบได้มากในสุนัขที่เป็นโรค Pyoderma นอกจากนี้ยังพบชนิด *Staphylococcus aureus (S. aureus)* และ *Staphylococcus hyicus (S. hyicus)* สุนัขที่สุขภาพดีอาจจะพบเชื้อจุลินทรีย์ตามพื้นผิวของผิวหนังมีจำนวนน้อย และมีโอกาสอยู่แบบชั่วคราว (Saijonmaa and Lloyd, 1996) ในทางตรงกันข้ามเชื้อ *Staphylococci* ส่วนมากจะอยู่บริเวณที่เป็นเยื่อเมือก (ทวารหนัก,จมูก,ระบบสืบพันธ์, ปาก) เมื่อสุนัขกัดหรือเลียขนก็จะก่อให้เกิดบาดแผลอักเสบติดเชื้อ และเป็นหนองขึ้น (Allaker*et al.,*1991) โรคผิวหนังอักเสบ (Pyoderma) จำแนกได้ 2 ชนิดคือ 1. การติดเชื้อแบคทีเรียเฉพาะผิวหนังชั้นนอก (Surface pyoderma) 2. การติดเชื้อแบคทีเรียในส่วนลึกของผิวหนัง ตั้งแต่ระดับ รูขุมขนจนถึงหนังแท้และใต้ผิวหนัง (Deep pyoderma) ทำให้ผิวหนังอักเสบ เกิดอาการคัน เป็นตุ่ม เกิดแผลขนร่วงเป็นต้น (นิภัทรา, 2016)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาพที่ 1 โรคผิวหนังอักเสบในสุนัข

ที่มา: https://www.dogilike.com/content/vettalk/3201/

2.2 เชื้อ *Staphylococcus* spp.



ภาพที่ 2 A. การย้อมติดสีแกรมของ *S. aureus* ที่ปรากฏเป็นกลุ่ม ผนังเซลล์ติดสีของคริสตัลไวโอเลต B. ลักษณะโคโลนีของ *S. aureus* ที่เจริญบน Blood agar

ที่มา: https://th.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus

Staphylococcus spp. เป็นเชื้อแบคทีเรีย แกรมบวก รูปร่างกลม มีขนาด 2 – 4 มม. อยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่นหรือเป็นคู่ มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 – 1.5 ไมโครเมตร ไม่ค่อยมีการเคลื่อนไหว เป็นแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนหรือไม่ต้องการก็ได้ มีการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิเหมาะสมประมาณ 30 – 40 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญเติบโตได้ดีในอุณหภูมิ 15 และ 45 °C และสร้างเอนไซม์ Coagulase มักพบเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่ผิวหนัง โพรงจมูก คอหอย และ

ช่องทวารหนักของสุนัข แมว (Abraham *et al*., 2007) เป็นเชื้อโรคที่ฉวยโอกาสที่ได้รับการระบุว่าเป็นเชื้อที่ติดจากคนสู่สัตว์ (Zoonosis)

2.3 การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย

แบคทีเรีย คือ จุลชีพหรือสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ที่มีประโยชน์และโทษต่อสิ่งมีชีวิตการรักษาโรคที่เกิดจากแบคทีเรียส่วนใหญ่จะใช้ยาปฏิชีวนะ ซึ่งการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ สามารถแบ่งได้ 4 วิธีคือ

1. ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย
2. ยับยั้งการทางานของเอนไซม์ของแบคทีเรีย
3. ยับยั้งการสร้างโปรตีนของแบคทีเรีย
4. ยับยั้งขบวนการสร้างสารอาหารและพลังงานของแบคทีเรีย

แบคทีเรียมีการพัฒนาตนเองให้ทนต่อยาปฏิชีวนะ เรียกว่าการดื้อยา ซึ่งการดื้อยาของแบคทีเรียนั้นเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม โดยการเปลี่ยนแปลงระดับโครโมโซมนั้น สามารถถ่ายทอดจากแบคทีเรียตัวหนึ่งไปสู่อีกตัว จึงทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อได้อย่างรวดเร็ว

การดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียเกิดจากการที่เชื้อแบคทีเรียมีการปรับตัวต่อยาโดยวิธีการต่างๆ เพื่อที่จะขจัดหรือลดประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะ โดยการดื้อยาอาจเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติของเชื้อนั้นๆ หรืออาจเกิดภายใต้ความกดดันของยาปฏิชีวนะ (วีรวรรณ, 2549)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

2.4 มะเฟือง

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Averrhoa carambola*

อาณาจักร: Plantae

หมวด: Magnoliophyta

ชั้น: Magnoliopsida

อันดับ: Geraniales

วงศ์: Oxalidaceae

สกุล: Averrhoa

สปีชีส์: *Averrhoa carambola* L. (นิดดา, 2557)

2.4.1 ต้นกำเนิดและการกระจายพันธุ์

มะเฟืองมีต้นกำเนิดในศรีลังกาและโมโลคัส แต่ได้รับการปลูกในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และมาเลเซียเป็นเวลาหลายร้อยปี (Morton, 1987) สมุนไพรยืนต้นเป็นที่ปลูกกันทั่วไปในประเทศ

มาเลเซีย ไต้หวัน ไทย อิสราเอล ฟลอริด้า บราซิล ฟิลิปปินส์ จีน ออสเตรเลีย อินโดนีเซีย ในเขตอบอุ่นของอินเดีย บังคลาเทศ และพื้นที่อื่นๆ ของโลกที่มีสภาพภูมิอากาศเดียวกัน (Ghani, 2003)

2.4.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

2.4.2.1 ลำต้น เป็นไม้ผลยืนต้นขนาดกลาง ลักษณะเป็นทรงพุ่ม ซึ่งมีทั้งลักษณะตั้งตรงและกึ่งเลื้อย มีลำต้นสูงประมาณ 5 – 12 เมตร ขนาดลำต้นประมาณ 20 – 25 เซนติเมตร เปลือกลำต้นมีลักษณะเรียบ สีน้ำตาลอมดำ และมีรอยแตกตามยาวไปทั่ว ลำต้นแตกกิ่งจำนวนมาก (นิดดา, 2557)

2.4.2.2 ใบ ประกอบด้วยก้านใบหลักยาวประมาณ 15 – 25 เซนติเมตร และมีใบย่อยจำนวน 5 – 11 ใบ โดยใบย่อยเรียงเป็นคู่ๆ จนถึงปลายก้านใบ และมีใบสุดท้ายเป็นใบเดี่ยว ใบมะเฟืองมีลักษณะคล้าย และขนาดใกล้เคียงกับใบมะยม แต่ใบมะเฟืองค่อนข้างมนกว่า ฐานใบเบี้ยวมน ปลายใบแหลม มีก้านใบสีม่วงแดง ใบอ่อนมีสีแดงหรือม่วงแดง เมื่อแก่มีสีเขียวเข้ม แผ่นใบด้านล่างมีสีจางกว่าด้านบน และขอบใบเรียบ แผ่นใบเป็นมัน

2.4.2.3 ดอก เป็นดอกสมบูรณ์เพศ ที่มีเกสรทั้งเพศผู้ และเพศเมียในดอกเดียวกัน โดยออกดอกเป็นช่อตามกิ่ง และลำต้น ช่อดอกยาวประมาณ 1.5 – 7.5 เซนติเมตร ดอกตูมมีสีม่วงแดง เมื่อบานจะมีสีแดงม่วง สีขาว หรือชมพู ประกอบด้วยกลีบดอกขนาดเล็ก 5 กลีบ ภายในดอกมีเกสรตัวผู้ 10 อัน เกสรตัวเมีย 1 อัน ด้านล่างสุดเป็นรังไข่ที่จะเจริญเป็นผล

2.4.2.4 ผล และเมล็ด ผลมะเฟืองมีลักษณะเป็นเหลี่ยม หรือเป็นแฉกคล้ายรูปดาว 5 – 6 เหลี่ยม ซึ่งเป็นที่มาของชื่อสามัญ Star Fruit ผลมีขนาดยาวประมาณ 5 – 15 เซนติเมตร ขนาดผลประมาณ 3 – 10 เซนติเมตรปลายก้นแหลม ผลขณะอ่อนจะมีสีเขียวอ่อน สีเขียว และค่อยเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมเหลือง และสีเหลืองเมื่อสุกเต็มที่ มีรสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย บางพันธุ์มีรสเปรี้ยวมาก ภายในผลบริเวณแกนกลางมีเมล็ดแทรกอยู่ จำนวนเมล็ด 5 – 12 เมล็ด เมล็ดมีลักษณะฐานมน ปลายแหลม เปลือกเมล็ดแข็ง มีสีน้ำตาล ผลมะเฟืองจะเริ่มสุกหลังจากดอกบานแล้วประมาณ 55 – 60 วัน (กระทรวงสาธารณสุข, 2530)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาพที่ 3 A. ลักษณะลำต้น B. ใบ C. ดอก D. ผลของมะเฟือง
ที่มา: http://puechkaset.com/มะเฟือง/

2.4.3 ส่วนประกอบทางเคมี

การวิเคราะห์พฤกษเคมีของลำต้นมะเฟืองแสดงให้เห็นว่ามี saponins, alkaloids, flavonoids และ tannins (Thomas *et al*., 2008) ผลของมะเฟืองก็พบว่ามี proanthocyanidins, epicatechin, gallic acid ในรูป gallotannin และ L–ascorbic acid (Shui and Leong, 2004) มีรายงานว่า sterols ที่สำคัญที่มีอยู่ในผลของมะเฟือง คือ β–sitosterol, campesterol, lupeol และ isofucosterol นอกจากนี้ยังมีกรดไขมัน 4 ชนิด ได้แก่ palimitic, oleic, linoleic และ linolenic acid (Nordby and Hall, 1979) มีองค์ประกอบ o–glycosyl flavonoid เช่น quercetin–3–o–β–d glycoside และ rutin ส่วนที่กินได้ของผลมะเฟืองเป็นแหล่งที่ดีของการลดและไม่ลดน้ำตาล แร่ธาตุ สารอาหารที่ระเหย แทนนิน เส้นใยอาหาร เพคติน, เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เหล็ก แคลเซียม ฟอสฟอรัส และ องค์ประกอบ carotenoid (Tiwari *et al*., 1979) ส่วนประกอบอื่นๆ ที่ระบุได้แก่ cyaniding–3 –o–β –dglucoside, cyaniding–3 –5 –o–β –d–diglucoside, β –amirin (Gunasegaran, 1992) และ flavones glycoside C เช่น apigeni–6–C– β–L–fucopyranoside และ apigenin–6–C–β–1–fucopyranosidethis หลังเป็นที่รู้จักกันว่า carambolaflavone (Araho *et al*., 2005) พบ p–Anisaldehyde, 5 –hydroxymethyl–2 –furfur–al, gallic acid และ แอลกอฮอล์ dihydroabscissic ในเปลือกลำต้นของมะเฟือง (Raganyaki *et al*., 1980)

2.4.4 คุณค่าทางโภชนาการ

มะเฟืองเต็มไปด้วยสารอาหารที่สำคัญ อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น L–ascorbic acid, epicatechin และ gallic acid ในรูปของ gallotannin (Shui and Leong, 2004) การบริโภคผลของมะเฟือง 100 กรัม สามารถให้คุณค่าทางโภชนาการดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงคุณค่าทางโภชนาการจากเนื้อผลมะเฟือง 100 กรัม

คุณค่าทางโภชนาการจากเนื้อผลมะเฟือง 100 กรัม		
พลังงาน	30	กิโลแคลอรี
คาร์โบไฮเดรต	6.73	กรัม
น้ำตาล	3.98	กรัม
เส้นใยอาหาร	2.8	กรัม
ไขมัน	0.38	กรัม
โปรตีน	1.04	กรัม
วิตามินบี 5	0.39	มิลลิกรัม
โฟเลต	12	ไมโครกรัม
วิตามินซี	34.40	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	12	มิลลิกรัม
โพแทสซียม	133	มิลลิกรัม
สังกะสี	0.12	มิลลิกรัม

ที่มา: USDA Nutrient database

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM RAJABHAT UNIVERSITY

2.4.5 สรรพคุณทางยา

ภูมิปัญญาไทยมีการใช้มะเฟืองในการแพทย์แผนโบราณสืบทอดกันมา ดังนี้

1. ผล สามารถช่วยดับกระหาย แก้ร้อนใน ลดความร้อนภายในร่างกาย บรรเทาอาการของนิ่วในทางเดินปัสสาวะ ขับเสมหะ ใช้ขจัดรังแค บำรุงเส้นผม ช่วยให้เลือดแข็งตัวง่าย ช่วยระงับความฟุ้งซ่าน ช่วยให้หลับง่ายขึ้น และบรรเทาอาการเลือดออกตามไรฟัน

2. ใบและราก ปรุงกินเป็นยาดับพิษร้อน แก้ไข้ ใบสดตำใช้พอกตุ่มอีสุกอีใส และกลากเกลื้อน ใบต้มผสมน้ำอาบแก้ตุ่มคัน

3. แก่นและราก ต้มกินแก้ท้องร่วง แก้เส้นเอ็นอักเสบ (กรณ์กาญจน์, 2552)

2.4.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Sripanidkulchai *et al*. (2002) รายงานว่า สารสกัดจากลำต้นของมะเฟืองมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยยับยั้ง *Staphylococcus aureus* และ *Klebsiella* spp. โดยค่าความเข้มข้นต่ำสุดของ MBC คือ 15.62 mg/mL และ 125 mg/mL ตามลำดับ

Masum *et al.* (2007) ตรวจสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของมะเฟือง โดยวิธี disc diffusion รายงานว่า สารสกัด methanol และปิโตรเลียมอีเทอร์ คาร์บอนเตตระคลอไรด์ คลอโรฟอร์ม และสารละลายที่ละลายน้ำได้ของเปลือกมะเฟือง สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Bacillus cereus, B.megaterium, B.subtilis, Staphylococcus aureus* เป็นต้น แบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Escherichia coli, Pseudomonas auriginosa, Salmonella typhi, S. paratyphi* ฯลฯ และเชื้อรา *Candida albicans, Aspergillus niger* ค่าเฉลี่ยของโซนยับยั้งที่ได้จากกระบวนการผลิตปิโตรเลียมอีเธอร์ คาร์บอนเตตระคลอไรด์ และคลอโรฟอร์มที่ละลายได้ในสารละลายเมทานอลที่ความเข้มข้น 400 μg/disc พบว่ามีค่าเฉลี่ย 8 – 12 มิลลิเมตร 8 – 12 มิลลิเมตร และ 8 – 15 มิลลิเมตร ตามลำดับ

Cabrini *et al*. (2011) ทำการศึกษาประสิทธิภาพการต้านการอักเสบของสารสกัดจากใบมะเฟืองในเอธานอล 80% เฮกเซน เอทิลอะซิเตท และบิวทานอล และอีก 2 flavonoids ที่แยกได้ การต้านการอักเสบถูกวัดโดยใช้น้ำมัน Croton ไปกระตุ้นให้เกิดการบวมน้ำในหูของหนู พบว่า การรักษาด้วยสารสกัดเอธานอลสามารถยับยั้งการอักเสบในหูของหนูได้ โดยมีค่าการยับยั้งสูงสุด 73 ± 3% และการรักษาด้วยเอทิลอะซิเตทเป็นผลดีที่สุดส่งผลให้ระดับการยับยั้ง 75 ± 5 และ 54 ± 8% สำหรับการเกิดอาการบวมน้ำและ MPO ตามลำดับ การรักษาด้วยสารประกอบที่แยกได้ apigenin–6 –C–β–L–fucopyranoside และ apigenin–6 –C–(2 –O–α–l–rhamnopyranosyl) –β–L–fucopyranoside ไม่ให้ผลลัพธ์ที่ประสบความสำเร็จ

Leivas *et al*. (2016) รายงานกิจกรรมทางเภสัชวิทยาของมะเฟือง ในการศึกษานี้ polysaccharides ถูกสกัดด้วยน้ำเดือด และทำให้บริสุทธิ์โดยการละลายน้ำแข็งและ Fehling หลังจากขั้นตอนการทำให้เป็นของเหลวแล้ว วิเคราะห์โดยใช้องค์ประกอบทางน้ำตาล การซึมผ่านของเจลโครมาโทกราฟี เมทิลเลชัน และการวิเคราะห์ด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า 2 มิติ (2D NMR) ประกอบด้วยอะราบิโนส (Ara) กาแลคโตส (Gal) และกรด galacturonic (GalA) ในอัตราส่วนโมลเท่ากับ 12.3: 1.7: 86.0 การวิเคราะห์ด้วย Methylation และ NMR spectroscopy พบว่ามีสารประกอบ galacturonan ที่ประกอบด้วย (1 ⟶ 4) – เชื่อมโยง α–D–Galp หน่วยย่อยที่ O – 2 โดย (1 ⟶ 5) – เชื่อมโยง α–L–Araf และ terminal α–L–Araf และ α–D–Galp A ได้รับการประเมินผลของ PFSCW (10 – 300 mg/kg, i.p.) เกี่ยวกับพฤติกรรมที่ไม่พึงประสงค์โดยการฉีด formalin ในหนูที่ได้รับการประเมิน แสดงให้เห็นถึงการต้านความเจ็บปวด และคุณสมบัติต้านการอักเสบ การศึกษานี้อาจเป็นประโยชน์ในการบำบัดรักษาความเจ็บปวดและการอักเสบ

Vasant and Narasimhacharya (2014) รายงานว่า การบริโภคฟลูออไรด์นำไปสู่การรบกวนทางสรีรวิทยาหลายประการในการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และสารต้านอนุมูลอิสระ

มะเฟืองเป็นผลไม้ที่บริโภคกันทั่วไปในประเทศเขตร้อนและเป็นส่วนผสมในยาพื้นบ้าน เนื่องจากมะเฟืองมีสารโพลีฟีนอล และสารต้านอนุมูลอิสระ จึงได้มีการศึกษาถึงศักยภาพของมะเฟืองรูปแบบอาหารเสริมในการลดน้ำตาลในเลือดสูงที่เกิดจากฟลูออไรด์ ไขมันในเลือดสูง และความเครียดจากออกซิเดชันของหนูในห้องปฏิบัติการ การได้รับฟลูออไรด์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ทำให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง ภาวะไขมันในเลือดสูง และความเครียดจากออกซิเดชั่น เมื่อรับประทานอาหารที่ถูกเสริมด้วยผงมะเฟือง คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และสารต้านอนุมูลอิสระได้รับการฟื้นฟูอย่างมีนัยสำคัญ เป็นที่คาดกันว่าฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด ลดกรดไขมัน และสารต้านอนุมูลอิสระของมะเฟืองในหนูที่ได้รับฟลูออไรด์อาจเป็นผลมาจากการมี polyphenols flavonoids saponins phytosterols กรดแอสคอร์บิก และเส้นใย ผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่ามะเฟืองสามารถนำมาใช้เป็นอาหารเสริมในบริเวณเฉพาะถิ่นของฟลูออไรด์เพื่อให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง ภาวะไขมันในเลือดสูง และความเครียดจากการออกซิเดชั่น

ปรรัตน์ (2556) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีกายภาพของกากมะเฟืองที่ระยะการสุกต่างๆ แบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ Dark Green (DG) Light Green (LG) Color Break (CB) และ Ripe (R) รายงานดังตารางที่ 2 และศึกษาปริมาณที่เหมาะสมในการเติมกากมะเฟืองผงเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาน้ำสลัดที่ร้อยละ 0 – 3 โดยน้ำหนัก การทดลองพบว่า มะเฟืองระยะที่ 3 – CB เป็นระยะที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงสุดโดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 138.40 มิลลิกรัม Gallic acid/100g FW ปริมาณวิตามินซี เท่ากับ 21.6 mg/100 g ปริมาณสารแอนตี้ออกซิแดนท์เท่ากับ 126.00 mol AEAC/g FW ดังตารางที่ 3

สถาบันวิทยบริการ มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีกายภาพของมะเฟืองที่ระยะการสุกต่างๆ

ระยะการสุก	องค์ประกอบทางเคมีกายภาพ				
	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด	ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ)	อัตราส่วนของน้ำตาล*ต่อกรด	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	ร้อยละของกาก
DG	5.66^{c}±0.19	0.81^{a}±0.02	6.98^{d}±0.04	1.65^{d}±0.01	19.53^{a}±0.00
LG	5.86^{c}±0.17	0.75^{b}±0.02	7.77^{c}±0.01	1.85^{c}±0.01	17.59^{b}±0.01
CB	6.84^{b}±0.13	0.63^{c}±0.01	10.77^{b}±0.04	2.10^{b}±0.00	17.78^{c}±0.02
R	7.68^{a}±0.33	0.32^{d}±0.00	23.41^{a}±0.65	2.98^{a}±0.00	14.71^{d}±0.04

หมายเหตุ: *น้ำตาล หมายถึงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

$^{a, b, c}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งหมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

Values (Means±SD), n = 3

ที่มา: ปรรัตน์ ศุภมิตรโยธิน, 2556

ตารางที่ 3 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของมะเฟืองที่ระยะการสุกต่างๆ

ระยะการสุก	ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ		
	สารฟีนอลทั้งหมด^{ns} (mg Gallic acid/100 g fresh weight)	วิตามินซี (mg/100g)	แอนตี้ออกซิแดนท์ (mol AEAC/fresh weight)
DG	116.87±2.01	10.0 ± 0.00^{c}	121.66 ± 2.51^{b}
LG	122.63±3.51	16.6 ± 0.03^{b}	113.33 ± 3.78^{c}
CB	138.40±1.37	21.6 ± 0.03^{a}	126.00 ± 2.64^{a}
R	126.27±5.67	16.6 ± 0.03^{b}	123.00 ± 0.00^{b}

หมายเหตุ: $^{a, b, c}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$), Values (Means±SD) n=3

ที่มา: ปรรัตน์ ศุภมิตรโยธิน, 2556

Barman *et al*. (2016) รายงานว่า มะเฟืองและน้ำมะเฟืองได้รับความนิยมในอินเดียเป็นยาพื้นบ้าน น้ำมะเฟืองมีความเข้มข้นของออกซิเดชันสูงมาก จากรายงานผู้ป่วยโรคไตวายเฉียบพลันเข้ารับการรักษาในศูนย์เดียวกันผู้ป่วยทุกรายมีประวัติการกินมะเฟืองและน้ำมะเฟือง ผู้ป่วยจะมีอาการปวดท้องและปัสสาวะลดลงหลังจากรับประทาน 10 – 12 ชั่วโมง ผู้ป่วยบางรายจำเป็นต้องทำการ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ฟอกไต การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การรับประทานมะเฟืองจำนวนมากในขณะท้องว่าง และในสถานะที่ขาดน้ำเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อความเป็นพิษต่อไต

กรณ์กาญจน์ (2552) รายงานฤทธิ์ลดน้ำตาลและสร้างไกลโคเจนของมะเฟืองพบว่า อนุพันธ์กลูโคไพแรนโนไซด์ของเอพิจีนิน (apigenin–6–C–beta–l–fucopyranoside) ที่ได้จากผลมะเฟืองมีผลทันทีในการลดน้ำตาลในเลือดของหนูที่เป็นเบาหวาน ไกลโคไซด์ดังกล่าวกระตุ้นการหลั่งอินซูลินชนิดที่ถูกกระตุ้นโดยกลูโคส และมีผลในการสังเคราะห์ไกลโคเจนในกล้ามเนื้อ Soleus ผลในการสังเคราะห์ไกลโคเจนในกล้ามเนื้อถูกยับยั้ง เมื่อมีการใช้สารยับยั้งการส่งผ่านสัญญาณสู่อินซูลิน (Insulin signal transduction inhibitor) ฟลาโวนอยด์จากมะเฟืองจึงมีฤทธิ์เป็นทั้ง Antihyperglycemic (Insulin secretion) และ Insulinomimetic (Glycogen synthesis)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.1.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1.1 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)

3.1.1.2 เครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporater)

3.1.1.3 เครื่องอบลมร้อน (Hot Air Oven)

3.1.1.4 เครื่องกรองสาร (Vacuum pump)

3.1.1.5 เครื่องปั่นผลไม้

3.1.1.6 ที่เจาะจุกคอร์ก (Cork borer)

3.1.1.7 แผ่นกรองที่ผ่านการฆ่าเชื้อขนาด 10 ไมครอน

3.1.1.8 กระดาษกรอง Whatman No. 1 และ 4

3.1.1.9 ไม้พันสำลี (Cotton swab)

3.1.1.10 ไมโครปิเปต (Micropipette)

3.1.1.11 จานเพาะเชื้อ (Plate)

3.1.1.12 กระบอกตวง (Cylinder)

3.1.1.13 บีกเกอร (Beaker)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

3.1.1.14 ขวดดูแรน

3.1.1.15 หลอดทดลองพลาสติก ขนาด 50 ml

3.1.1.16 ผ้าขาวบาง

3.1.1.17 กรวยกรอง

3.1.1.18 อุปกรณ์หั่น เช่น มีด เขียง

3.1.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.2.1 เมทานอล 95% เอทานอล และ 75% เอทานอล

3.1.2.2 ยาเพนิซิลิน

3.1.2.3 Trypticase soy broth

3.1.2.4 Trypticase soy agar

3.1.2.5 Nutrient agar

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ

ผลมะเฟืองที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นมะเฟืองในระยะสุก มีสีเหลือง จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ และนำไปปั่นละเอียดและสกัดด้วยตัวทำละลายทั้งหมด 2 ชนิด ได้แก่ เอทานอลความเข้มข้น 95% และ 75% ด้วยวิธีการหมัก (maceration) นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการกรองสารสกัดด้วยผ้าขาวบาง และตามด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 4 และ 1 ตามลำดับโดยใช้ชุดเครื่องปั้มกรอง (Rocker) นำไประเหยด้วยเครื่องทำระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 60 °C นำสารสกัดหยาบที่ได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อรอทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่อไป โดยแบ่งกลุ่มทดสอบออกเป็น 10 กลุ่มดังนี้

กลุ่มที่ 1: กลุ่มทดสอบ C (Treatment): สารสกัดหยาบมะเฟืองสุก
(สกัดด้วย 75% เอทานอล)

กลุ่มที่ 2: กลุ่มทดสอบ D (Treatment): สารสกัดหยาบมะเฟืองสุก
(สกัดด้วย 95% เอทานอล)

กลุ่มที่ 3: กลุ่มควบคุมที่ให้ผลเป็นลบ (Negative control): 95%, 75% เอทานอล และเมทานอล

กลุ่มที่ 4: กลุ่มควบคุมที่ให้ผลเป็นบวก (Positive control): ยาเพนนิซิลิน (Pennicilin) ความเข้มข้น 31 mg/mL

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM RAJABHAT UNIVERSITY

3.2.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

แบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ แบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* spp. ที่แยกได้จาก ที่แยกได้จากห้องปฏิบัติการ

3.2.3 การทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบผสมมะเฟืองสุก

3.2.3.1 การทดสอบและการวิเคราะห์ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion

ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากมะเฟืองสุก โดยนำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ ไปกระจายตัวใน Trypticase soy broth 1 mL ให้มีความขุ่นเทียบเท่า McFarland standard No. 0.5 (ประมาณ $1x10^8$ CFU/mL) นำไม้พันสำลีจุ่มเชื้อบิดข้างหลอดแก้วพอหมาดแล้ว ไปเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าของ Trypticase Soy Agar จากนั้นเจาะหลุมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 มิลลิเมตร ด้วย Cork borer แล้วสารสกัดหยาบผสมมะเฟืองสุกที่สกัดจาก 95% เอทานอล และ 75% เอทานอล ปริมาณ

100 µL บ่มเพาะเลี้ยงในตู้ 37 °C เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง นำออกมาอ่านผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Inhibition Zone)

3.2.3.2 การทดสอบและการวิเคราะห์ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบมะเฟืองสุกในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar dilution

ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากมะเฟืองสุก โดย เตรียมจานอาหาร Trypticase Soy Agar ที่มีสารสกัดสารสกัดหยาบจากมะเฟือง ด้วยความเข้มข้นตั้งแต่ 520 mg/mL จนถึง 0.48 mg/mL ด้วยการทำ two – fold dilution ทิ้งให้ agar แข็งตัว หลังจากนั้นเตรียมเชื้อแบคทีเรียโดยใช้ Metal inoculation loop ขนาดความจุ 1 µL ถ่ายเชื้อไปแตะบนผิวหน้าอาหาร Trypticase Soy Agar ที่มีสารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายต่างๆ อยู่โดยเริ่มจากอาหารที่ไม่มีสารสกัดและมีสารสกัดที่มีความเข้มข้นจากต่ำไปสูง หลังจากนั้นนำทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง อ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะเฟืองด้วยตัวทำละลายต่างๆทั้งหมดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (Minimum inhibition concentration, MIC)

3.2.4. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ค่าเฉลี่ยของ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Inhibition Zone) นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี One way anova และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองด้วยวิธี Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P<0.05$) ด้วยโปรแกรม SPSS version 2000

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 การเตรียมสารสกัดหยาบมะเฟืองสุก

จากสมุนไพรมะเฟืองสุกนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 95% และ 75% แบ่งออกเป็นกลุ่มละ 1 กิโลกรัม ในตัวทำละลาย 1,000 มิลลิลิตร ผลจากการสกัดแสดงดังตารางที่ 4 และใช้รหัสแทนกลุ่มทดสอบดังตารางที่ 5

ตารางที่ 4 ลักษณะและน้ำหนักสุทธิของสารสกัดหยาบจากมะเฟือง

ตัวทำละลาย	สารสกัด	ลักษณะของสารสกัด	น้ำหนักสุทธิ (g)
95% เอทานอล	มะเฟืองสุก	ข้นหนืด สีน้ำตาลกลาง	70.55
75% เอทานอล	มะเฟืองสุก	ข้นหนืด สีน้ำตาลกลาง	65.47

ตารางที่ 5 แสดงความหมายของอักษรย่อ

Code	ความหมาย
75RIAC	สารสกัดหยาบมะเฟืองสุกที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 75%
95RIAC	สารสกัดหยาบมะเฟืองสุกที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95%

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

4.2 การจำแนกเชื้อแบคทีเรียด้วยการทดสอบ Coagulase

จากการทดสอบ Coagulase test พบเชื้อกลุ่ม *Staphylococcus* spp. ที่ให้ผล Positive จำนวน 4 ตัวอย่าง ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus* spp.

ลำดับ	เชื้อแบคทีเรีย	Code No.
1	*Staphylococcus* spp.	coa01
2	*Staphylococcus* spp.	coa02
3	*Staphylococcus* spp.	coa03
4	*Staphylococcus* spp.	coa04

4.3 การทดสอบและการวิเคราะห์ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar well diffusion

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบมะเฟืองสุกต่อการยังยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* spp. ที่ให้ผล Positive Coagulase test จำนวน 4 ตัวอย่าง ด้วยวิธี Agar well diffusion และวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone พบว่าสารสกัดหยาบมะเฟืองสุกที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 95% และ 75% สามารถยับยั้งเชื้อ coa01, coa02, coa03 และ coa04 ได้ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$ ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 7 ถึง ตารางที่ 10 ภาพที่ 4 และ 5

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบมะเฟืองสุกโดยวิธี Agar well diffusion (Day 1)

กลุ่มทดสอบ	ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (mean±SD) (มิลลิเมตร)			
	coa01	coa02	coa03	coa04
75RIAC	9.17±1.04^{b}	9.17±0.58^{b}	7.83±0.29^{b}	7.83±0.58^{bc}
95RIAC	8.33±0.29^{c}	8.67±0.29^{b}	7.67±0.29^{b}	7.33±0.29^{cd}

หมายเหตุ: ตัวเลขแสดง Mean±SD, n=3

$^{c, d}$ แสดงนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบคอลัมน์เดียวกัน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบมะเฟืองสุกโดยวิธี Agar well diffusion (Days 2)

กลุ่มทดสอบ	ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (mean±SD) (มิลลิเมตร)			
	coa01	coa02	coa03	coa04
75RIAC	8.67±0.77^{c}	9.00±0.50^{cd}	8.67±0.77^{c}	8.50±0.87^{c}
95RIAC	8.50±0.00^{cd}	8.50±0.00^{d}	7.50±1.00^{c}	7.50±1.00^{c}

หมายเหตุ: ตัวเลขแสดง Mean±SD, n=3

$^{c, d}$ แสดงนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบคอลัมน์เดียวกัน

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบมะเฟืองสุกโดยวิธี Agar well diffusion (Days 3)

กลุ่มทดสอบ	ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (mean±SD) (มิลลิเมตร)			
	coa01	coa02	coa03	coa04
75RIAC	10.33±0.77^{c}	10.67±0.58^{c}	9.30±1.04^{c}	9.50±0.50^{c}
95RIAC	8.33±0.29^{cd}	8.67±0.29^{d}	7.33±0.29^{d}	7.67±0.58^{d}

หมายเหตุ: ตัวเลขแสดง mean±SD, n=3

$^{c, d}$ แสดงนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบคอลัมน์เดียวกัน

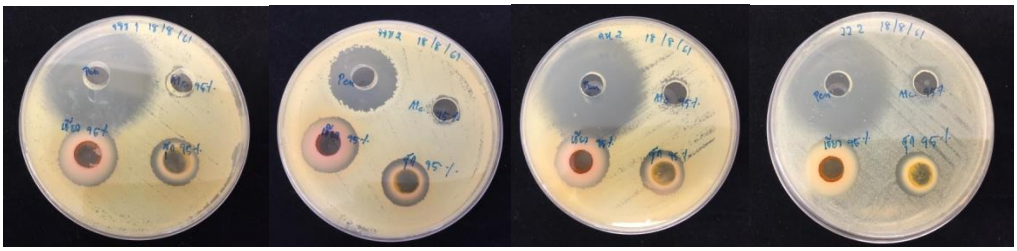
ตารางที่ 10 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบมะเฟืองสุกโดยวิธี Agar well diffusion (Days 4)

กลุ่มทดสอบ	ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone (mean±SD) (มิลลิเมตร)			
	coa01	coa02	coa03	coa04
75RIAC	9.67±0.58^{c}	10.40±1.04^{c}	9.50±0.50^{c}	9.17±0.29^{c}
95RIAC	9.00±0.00^{c}	9.67±0.29^{c}	8.17±0.29^{cd}	8.33±0.58^{c}

หมายเหตุ: ตัวเลขแสดง Mean±SD, n=3

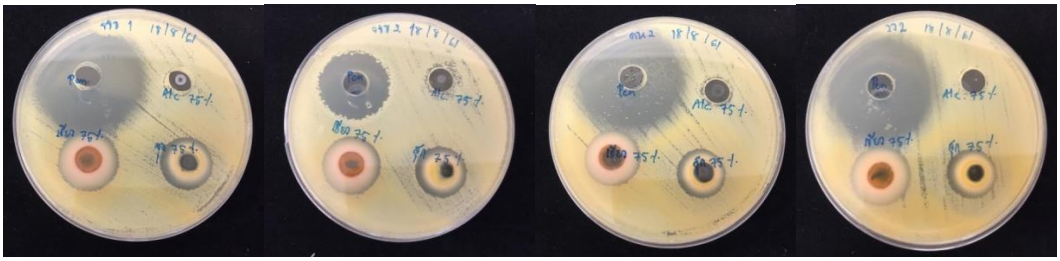
$^{c, d}$ แสดงนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบคอลัมน์เดียวกัน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY



coa01 coa02 coa03 coa04

ภาพที่ 4 แสดงการยับยั้งเชื้อของสารสกัดหยาบมะเฟืองสุกที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95% และกลุ่มควบคุม



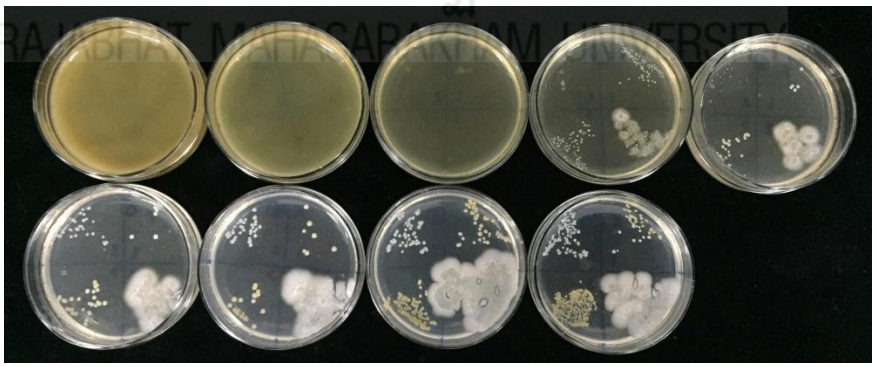
coa01 coa02 coa03 coa04

ภาพที่ 5 แสดงการยับยั้งเชื้อของสารสกัดหยาบมะเฟืองสุกที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 75% และกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 11 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบผสมมะเฟืองที่สามารถยับยั้ง (MIC) แบคทีเรีย (mg/mL)

กลุ่มทดสอบ	coa01	coa02	coa03	coa04
	MIC	MIC	MIC	MIC
75RIAC	7.81	3.90	31.25	62.50
95RIAC	15.62	7.82	62.50	62.50

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY



ภาพที่ 6 แสดงตัวอย่างการทดสอบ (MIC)

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป วิเคราะห์ผลการทดลอง

จากผลการทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบมะเฟืองสุก ทดสอบต่อเชื้อกลุ่ม *Staphylococcus* spp. จำนวน 4 ตัวอย่าง ได้แก่ coa01, coa02, co03 และ coa04 โดยพบว่า สารสกัดมะเฟืองมะเฟืองสุก ที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95% และ 75% สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ทั้งหมด ซึ่งสอดกับงานวิจัยของ Sripanidkulchai *et al*. (2002) รายงานว่า สารสกัดจากมะเฟืองมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยยับยั้ง *Staphylococcus aureus* แต่มีประสิทธิภาพต่างกันขึ้นอยู่ระยะของมะเฟือง และชนิดของตัวทำละลาย

มะเฟืองระยะสุกที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 75% มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งแบคทีเรียเมื่อเทียบกับเอทานอล 95% แสดงว่าตัวทำละลายแต่ละชนิดสามารถสกัดสารที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้แตกต่างกัน ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์พบว่า ในผลของมะเฟืองมีสารที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ proanthocyanidins, epicatechin, gallic acid ในรูป gallotannin และ L-ascorbic acid (Guanghou and Leong, 2004) ยังมีรายงานว่า Sterols ที่สำคัญที่มีอยู่ในผลของมะเฟือง คือ β–sitosterol, campesterol, lupeol และ isofucosterol (Nordby and Hall, 1979) นอกจากนี้ Masum *et al*. (2007) ยังรายงานว่าสารสกัดจากมะเฟือง ที่สกัดด้วยเมทานอล สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ และเชื้อราได้ โดยลักษณะการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของมะเฟือง อาจเป็นเพราะมีรสเปรี้ยว และมีความเป็นกรดสูงเนื่องจากมีกรดอินทรีย์หลายชนิด เช่น กรดซิตริก กรดโอลิอิก กรดปาล์มมิติก และไวตามินซี เป็นต้น (วันดี, 2539; Farnsworth and Bunyapraphatsara, 1992) อาจมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในอีกปัจจัยหนึ่ง จากการศึกษาของ Onyeagba *et al*. (2004) พบว่าน้ำมะนาวมีฤทธิ์ต้าน *S. aureus*, *Bacillus* spp., *E. coli* และ *Salmonella* spp. นอกจากนี้ พิทยา และคณะ (2551) รายงานว่า น้ำมะนาวและมะกรูดมีฤทธิ์ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Staphylococcus* spp. มะเฟืองจึงเป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งที่ควรนำมาศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ และเชื้อรา เพื่อนำผลไปพัฒนาเป็นยาต้านจุลชีพต่อไป

โดยสรุป สารสกัดหยาบมะเฟืองสุกที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 95% และ 75% สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ทั้งหมด ผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถใช้เป็นแนวทางเบื้องต้นในการยืนยันฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรต่อแบคทีเรีย และการเลือกทำวิจัยในระดับลึก ซึ่งจะ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM UNIVERSITY

นำไปพัฒนาต่อยอดเป็นยาสำหรับรักษาโรคติดเชื้อ เพื่อทดแทนหรือใช้ร่วมกับยาต้านจุลชีพ เพื่อช่วยลดผลข้างเคียงจากสารเคมีและค่าใช้จ่ายที่เกิดจากการใช้ยาปฏิชีวนะในอนาคต

ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

1. ควรศึกษาตัวทำละลายชนิดอื่นๆ เพื่อความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น
2. ควรปรับความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรให้สูงขึ้น เพื่อผลการทดสอบที่ชัดเจนมากยิ่งขึ้น
3. ควรศึกษาในเชิงลึกเพื่อยืนยันฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อแบคทีเรีย
4. ควรศึกษากลไกการออกฤทธิ์ทางเภสัชจลศาสตร์
5. ควรวิเคราะห์ผลการยับยั้ง และการฆ่าเชื้อแบคทีเรียเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ เพื่อนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นยาสำหรับรักษาโรคติดเชื้อ

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

1. ควรศึกษาประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เพื่อนำไปเทียบกับ ยาปฏิชีวนะ
2. ควรศึกษากลไกการออกฤทธิ์ทางเภสัชจลศาสตร์
3. ควรศึกษาปรับความเข้มข้นของอัญชันให้มีความเข้มข้นที่สูงขึ้น
4. ควรศึกษาการสกัดด้วยตัวทำละลายอื่นเช่น Methanol, Ethyl acetate เป็นต้น

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บรรณานุกรม (References)

กรณ์กาญจน์ ภมรประวัติธนะ. (2552). **มะเฟืองผลไม้ควบคุมน้ำหนัก.** หมอชาวบ้าน. (366).

กระทรวงสาธารณะสุข. (2530). **มะเฟือง สรรพคุณ และการปลูกมะเฟือง.** (สืบค้นเมื่อ 7 มกราคม 2561) Available from: URL: http://puechkaset.com/มะเฟือง/.

นิภัทรา สวนไพรินทร์. **MRSP infection in dogs; update on diagnosis and management recommendation.** ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นิดดา หงส์วิวัฒน์. (2557). **มะเฟือง ผลไม้สุขภาพ สรรพคุณต้านโรค.** ครัว. 20(236): 16 – 22.

ปรรัตน์ ศุภมิตรโยธิน. (2556). **การใช้กากมะเฟืองผงเพื่อเป็นแหล่งของสารแอนตี้ออกซิแดนท์ในน้ำสลัด.** วารสารวิทยาศาสตร์ มข. (41)4: 1008 – 1018.

พิทยา ภาภิรมย์, อรุณี บุตรตาสี, และวชิราภรณ์ กัมปนาวราวรรณ. (2551). **ฤทธิ์ของน้ำมะนาว และน้ำมะกรูดต่อเชื้อสแตปฟิโลคอคไคที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบโคแอคกุเลส ที่แยกได้จากสุนัข.** วารสารวิจัย มข. (13)7: 866 – 872.

วันดี กฤษณพันธ์. (2539). **สมุนไพรสารพัดประโยชน์.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ.

วีรวรรณ ลุวีระ. (2549). **การดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรีย.** สงขลานครินทร์เวชสาร. (24)5: 453 – 458.

Abraham JL, Morris DO, Griffeth GC, Shofer FS, and Rankin SC. (2007). **Surveillance of healthy cats and cats with infl ammatory skin disease for colonization of the skin by methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and Staphylococcus schleiferissp schleiferi.** Veterinary Dermatolology. (18)4: 252 – 259.

Allaker R.P., Whitlock M, Lloyd D.H. (1991). **Cytotoxic activity of Staphylococcus hyicus.** Veterinary Microbiology. (26)1–2: 161-166

Araho D, Miyakoshi M, Chou WH, Kambara T, Mizutani K, and Ikeda T. (2005). **A new flavone C-glycoside from the leaves of Avehrroa carambola,** Natural Medicines. (59)3: 113 – 116.

Barman AK, Goel R, Sharma M, and Mahanta PJ. (2016). **Acute kidney injury associated with ingestion of star fruit: Acute oxalate nephropathy.** Indian J Nephrol. (26)6: 446 – 448.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

Cabrini DA, Moresco HH, and Imazu P. (2011). **Analysis of the Potential Topical Anti-Inflammatory Activity of Averrhoa carambola L. inMice**. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 10.

Farnsworth NR, and Bunyapraphatsara N. (1992). **Thai Medical Plants. Prachachon.** Co.Ltd. Bangkok.

Ghani A. (2003). **Medicinal Plants of Bangladesh with Chemical Constituents and Uses.** 2nd ed. Dhaka. Asiatic Society of Bangladesh. 10.

Gunasegaran R. (1992). **Flavonoids and anthocyanins of three oxalidaceae.** Fitoterapia. (63)1: 89 – 90.

Guanghou S, Leong LP. (2004). **Residue from star fruit as valuable source for functional.** Food Science & Technology Programme, Department of Chemistry, National University of Singapore, Singapore 117543, Singapore. Food Chemistry 97 (2006) 277 – 284.

Leivas CL, Nascimento LF, Barros WM, Santos AR, Iacomini M and Cordeiro LM. (2016). **Substituted galacturonan from starfruit: Chemical structure and antinociceptive and anti-inflammatory effects.** Int J Biol Macromol. 84: 295 – 300.

Masum Md, Rahman Md, Begum K, Begum B and Rashid Md. (2007). **Phytochemical and Biological studies of Averrhoa carambola**. J.Pharm. Sci. (6)2: 125 – 128.

Morton JF. (1987). **Fruits of Warm Climates.** Flair Books, Miami FL. 125 – 128.

Nobdby HE and Hall TN, (1 9 7 9). **Lipid markers in chemotaxonomy of tropical fruits: Preliminary Studies with carambola and loquat.** Proc. Fla. State Hort. Soc. 92: 298 – 300.

Onyeagba RA, Ugbogu OC, Okeke CU, and Iroakasi O. (2004). **Studies on the antimicrobial effects of garlic (Allium sativum Linn, giger (Zingiber offinule Roscor) and lime (Citrus aurantifolia).** Afr. J. Biotech. (3)10): 552 – 554.

Ranganayaki S, Singh R, and Singh AK. (1980). **The chemical examination of the bark of A. carambola.** Proceedings of national Academy of sciences India. Section A. 50: 61 – 63.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM UNIVERSITY

Sailonmaa-Koulumies LE., Lloyd DH. (1996). **Colonization of the canine skin with bacteria.** Vaterinary dermatology, 7(3): 153 – 162

Simpson AI, Allaker RP, Lloyd DH. (1992). **Occurrence of Staphylococcus intermedius on the hair and skin of normal dogs.** Journals & Books, 52(2): 174 – 176

Shui G and Leong LP. (2004). **Analysis of polyphenolic anti-oxidants in starfruit using Liquid chromatography and Mass spectrometry.** J Chromatogr A. (1022) 2: 67 – 75.

Sripanidkulchai B, Tattawasart U and Laupattarakasem P. (2002). **Antiinflammatory and Bactericidal Properties of elected Indigenous Medicinal Plants Used for Dysuria.** Thai J. Pharm. Sci. (26)1: 33 – 38.

Thomas S, Patil DA, Patil AG, Naresh C. (2008). **Pharmacognostic evaluation and physicochemical analysis of Averrhoa carambola L Fruit.** Journal of Herbal Medicine and Toxicology. (2)2: 51 – 54.

Tiwari VD , Sohi AS , Chopra TR. (1979). **Allergic Contact Dermatitis Due To Parthenium Hysterophorus.** Indian J Dermatol Venereol Leprol 45 (6): 392 – 400

Vasant RA and Narasimhacharya AV. (2014). **Antidotal activity of Averrhoa carambola (Star fruit) on fluoride induced toxicity in rats.** Interdis Toxicol. (7)2: 103 – 110.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก

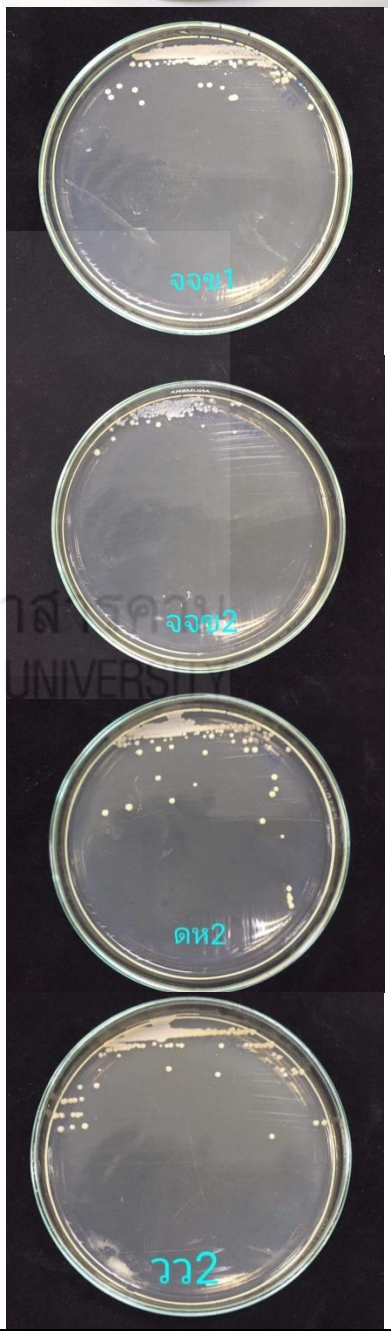
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ลำดับภาพ	คำอธิบาย	ภาพประกอบ
1	มะเฟืองระยะระยะสุกที่ใช้ในงานวิจัย	
2	เตรียมมะเฟืองโดยการหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ	
3	ชั่งน้ำหนักมะเฟืองกลุ่มละ 1 กิโลกรัม	
4	ปั่นมะเฟืองด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 95% และ 75%	

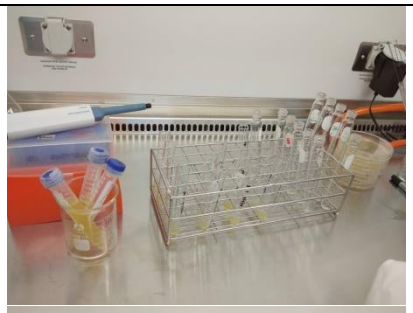
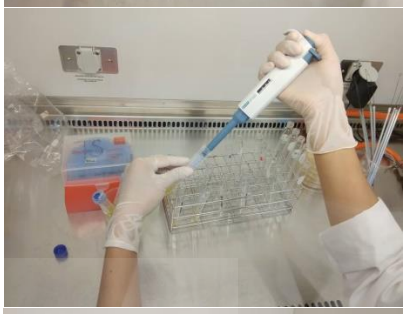
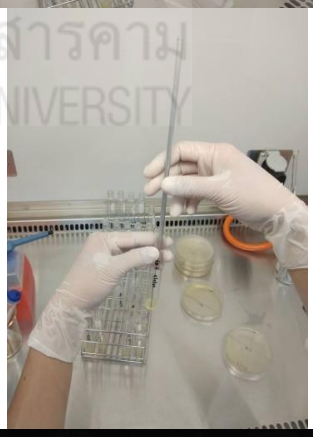
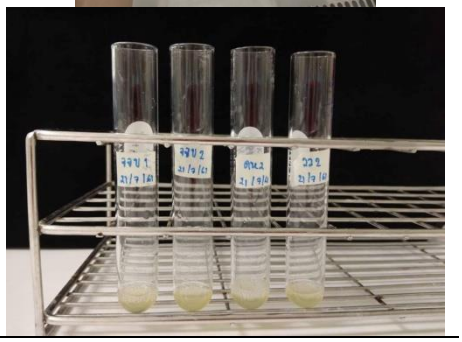
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ลำดับภาพ	คำอธิบาย	ภาพประกอบ
5	หมักโดยการตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 7 วัน	
6	กรองสารสกัดด้วยผ้าขาวบาง	
7	กรองสารสกัดอีกรอบด้วยกระดาษ Whatman No. 1 และ 4 ตามลำดับโดยใช้ชุดเครื่องปั้มกรอง (Rocker)	
8	ระเหยด้วยเครื่องทำระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 60°C	
9	สารสกัดที่ได้จากการระเหยด้วยเครื่องทำระเหยสุญญากาศ	

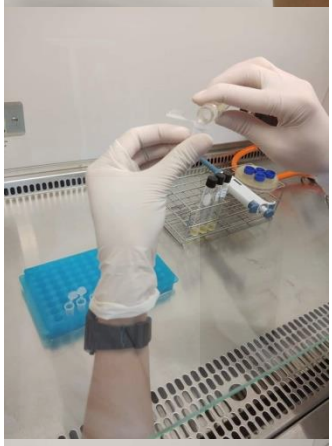
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ลำดับภาพ	คำอธิบาย	ภาพประกอบ
10	สารสกัดหยาบจากมะเฟืองหลังจากเข้า Hot air oven	
11	เชื้อแบคทีเรีย coa01 ที่ใช้ในการทดสอบ	
12	เชื้อแบคทีเรีย coa02 ที่ใช้ในการทดสอบ	
13	เชื้อแบคทีเรีย coa03 ที่ใช้ในการทดสอบ	
14	เชื้อแบคทีเรีย coa04 ที่ใช้ในการทดสอบ	

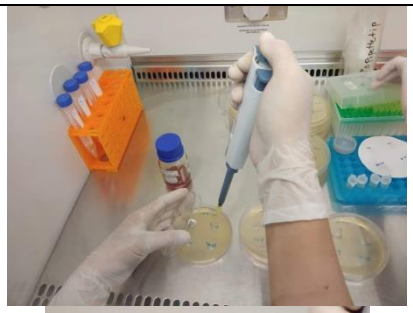
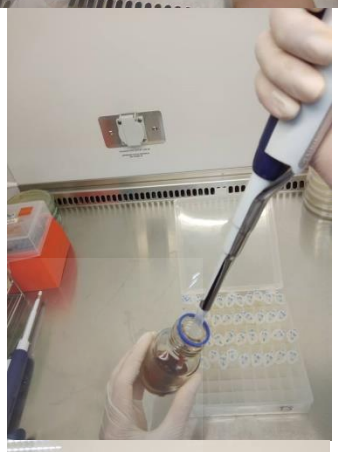
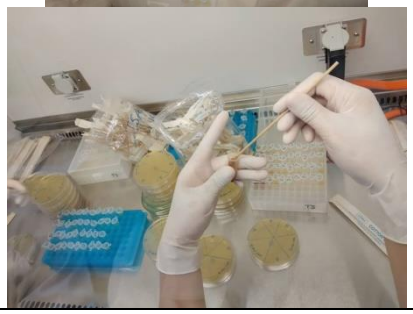
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ลำดับภาพ	คำอธิบาย	ภาพประกอบ
15	เตรียมทำการทดสอบ Coagulase test	
16	ใช้ปิเปตดูดพลาสมา 50 µL ใส่ในหลอดทดลอง	
17	ใช้ Loop เขี่ยโคโลนีเชื้อที่ต้องการทดสอบ	
18	จุ่มเชื้อลงในพลาสมาที่เตรียมไว้แล้ว	
19	นำเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง	

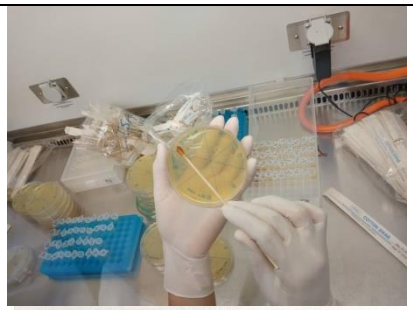
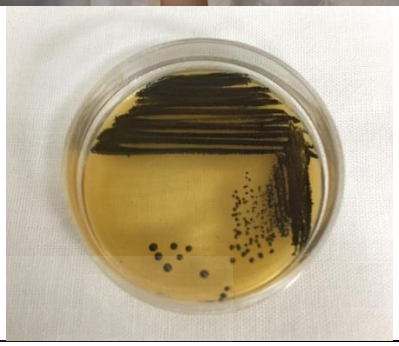
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ลำดับภาพ	คำอธิบาย	ภาพประกอบ
20	ชั่งสารสกัดหยาบจากสมุนไพร	
21	วัดค่า OD และเจอจางเชื้อTSB ให้มีความขุ่นเทียบเท่า McFarland standard No. 0.5	
22	นำไม้พันสำลีจุ่มเชื้อแล้ว เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าของ TSA	
23	เจาะหลุมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 mm ด้วย Cork borer	

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ลำดับภาพ	คำอธิบาย	ภาพประกอบ
24	หยดสารสกัดหยาบปริมาณ 100 µL/หลุม	
26	Dilute สารสกัดหยาบสมุนไพรใน TSB ด้วยการทำ two–fold dilution	
27	เตรียมหลอดอาหาร TSB ที่มีสารสกัดหยาบผสมจากผลมะเฟืองสดและแคสด	
28	ตัวอย่างจากการทดสอบ MIC Tube จะนำไป Streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA	

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ลำดับภาพ	คำอธิบาย	ภาพประกอบ
29	Streak เชื้อจากการทดสอบ MIC Tube บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA	
30	การทดสอบเชื้อบนอาหาร BPA	

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – สกุล	นางสาวกรกมล ปัตเต
วันเดือนปีเกิด	วันที่ 19 พฤษภาคม พ.ศ. 2540
ภูมิลำเนา	บ้านเลขที่ 12 หมู่ที่ 2 ตำบลหนองจิก อำเภอบรบือ จังหวัดมหาสารคาม 44130
การศึกษา	พ.ศ. 2555 จบการศึกษามัธยมศึกษาตอนต้นจาก โรงเรียนบรบือวิทยาคาร อำเภอบรบือ จังหวัดมหาสารคาม พ.ศ. 2558 จบการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลายจาก โรงเรียนบรบือวิทยาคาร อำเภอบรบือ จังหวัดมหาสารคาม
ชื่อ – สกุล	นางสาวเบญจมาศ แก่นภักดี
วันเดือนปีเกิด	วันที่ 4 เมษายน พ.ศ. 2539
ภูมิลำเนา	บ้านเลขที่ 52 หมู่ที่ 14 ตำบลนามน อำเภอนามน จังหวัดกาฬสินธุ์ 46230
การศึกษา	พ.ศ. 2555 จบการศึกษามัธยมศึกษาตอนต้นจาก โรงเรียนนามนพิทยาคม อำเภอนามน จังหวัดกาฬสินธุ์ พ.ศ. 2558 จบการศึกษามัธยมศึกษาตอนต้นจาก โรงเรียนนามนพิทยาคม อำเภอนามน จังหวัดกาฬสินธุ์
ชื่อ – สกุล	นางสาวสุธิดา หาโกสี
วันเดือนปีเกิด	วันที่ 16 กรกฎาคม พ.ศ. 2539
ภูมิลำเนา	บ้านเลขที่ 29 หมู่ที่ 1 ตำบลท่าตูม อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม 44000
การศึกษา	พ.ศ. 2555 จบการศึกษามัธยมศึกษาตอนต้นจาก โรงเรียนอนุบาลมหาสารคาม อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม พ.ศ. 2558 จบการศึกษามัธยมศึกษาตอนต้นจาก โรงเรียนบูรพาพิทยาคาร อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY