# ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดข้าวหมากจากข้าวเหนียวกล้อง และข้าวเหนียวกล้องงอก

# The Antibacterial Efficiency of Khaow-Mak Extracts from Glutinous Brown Rice and Germinated Glutinous Brown Rice

วรางคณา รัตนะ [1], ดร.วัชรี หาญเมืองใจ [2]
[1]นักศึกษาระดับปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
[2]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

**บทคัดย่อ**

การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดข้าวหมากจากข้าวเหนียวกล้องและข้าวเหนียวกล้องงอก ในส่วนของการสกัดสาร โดยใช้น้ำข้าวหมาก และเนื้อข้าวหมาก พบว่าชุดการทดลองของข้าวเหนียวกล้อง ในส่วนของน้ำข้าวหมากในอัตราส่วนของพันธุ์ข้าวมูเซอ (0:1) ให้ผลผลิตสูงสุด เท่ากับร้อยละ 50 ในส่วนของเนื้อข้าวหมาก พันธุ์ข้าว กข.6 : มูเซอ (1:3) ให้ผลผลิตสูงสุด เท่ากับร้อยละ 19 และในทำนองเดียวกันชุดการทดลองของข้าวเหนียวกล้องงอก ในส่วนของน้ำข้าวหมาก พันธุ์ข้าวมูเซอ (0:1) ให้ผลผลิตสูงสุด เท่ากับ ร้อยละ 43.5 และพันธุ์ข้าว กข.6 : มูเซอ (1:3) ให้ผลผลิตของเนื้อข้าวหมากสูงสุด เท่ากับร้อยละ 18.7 ในผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ Salmonella sp., Vibrio cholerae, Listeria ivanovii, Enterrobacter aerogines และ Escherichia coli ของสารสกัดจากน้ำข้าวหมาก เนื้อข้าวหมาก และน้ำสดจากข้าวหมากข้าวกล้อง และข้าวกล้องงอก ด้วยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดจากน้ำข้าวหมากข้าวกล้อง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Vibrio cholerae, Listeria ivanovii, Enterrobacter aerogines และ Escherichia coli ได้ดีที่สุด ในสูตรข้าวหมากมูเซอ 25%, มูเซอ 25%, สันกำแพง 100% และมูเซอ 75% โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของวงใส เท่ากับ 0.85, 0.85, 0.93 และ 0.97 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนผลของสารสกัดจากน้ำข้าวหมากข้าวกล้องงอก คือ สูตรข้าวหมากมูเซอ 50%, สันกำแพง 100%, สันกำแพง 100%, มูเซอ 75% โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของวงใส เท่ากับ 11.85, 18.00, 12.25 และ 12.83 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากเนื้อข้าวหมากข้าวกล้อง สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ Vibrio cholerae, Listeria ivanovii, Enterrobacter aerogines และ Escherichia coli ได้ดีที่สุดคือ สูตรข้าวหมากสันกำแพง 75%, สันกำแพง 75%, สันกำแพง 75% และสันกำแพง 75% โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของวงใส เท่ากับ 0.98, 0.90, 0.90 และ 0.90 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากเนื้อข้าวหมากข้าวกล้องงอก สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ Vibrio cholerae, Listeria ivanovii, Enterrobacter aerogines และ Escherichia coli ได้ดีที่สุดคือ สูตรข้าวหมากสันกำแพง 75%, สันกำแพง 100%, สันกำแพง 100%, สันกำแพง 75% โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของวงใส เท่ากับ 10.17, 11.33, 11.00 และ 12.17 มิลลิเมตร และมูเซอ 25% สามารถยับยั้งเชื้อ Salmonella sp เท่ากับ 12.0 มิลลิเมตร และ สารสกัดจากน้ำสดข้าวหมากข้าวกล้องยับยั้งการเจริญเชื้อ Vibrio cholerae, Listeria ivanovii, Enterrobacter aerogines และ Escherichia coli ได้ดีที่สุดคือ สูตรข้าวหมากสันกำแพง 75%, สันกำแพง 75%, สันกำแพง 75% และสันกำแพง 75% โดยมีขนาด

เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของวงใส เท่ากับ 0.80, 0.80, 12.2 และ 1.22 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ผลการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบหาค่า ( MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (MBC) สารสกัดจากเนื้อข้าวหมาก น้ำข้าวหมากจากข้าวกล้องและ ข้าวกล้องงอก พบว่าผลการทดสอบกับเชื้อ Salmonella sp. สารสกัดจากเนื้อข้าวกล้อง คือข้าวหมากสูตรมูเซอ 25% มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 500 mg/ml ส่วนเชื้อ Vibrio cholera สารสกัดจากน้ำข้าวหมาก และเนื้อข้าวหมากจากข้าวกล้อง คือข้าวหมากสูตรสันกำแพง 75% มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 125 mg/ml ส่วนเชื้อ Listeria ivanovii สารสกัดจากน้ำข้าวหมากและเนื้อข้าวหมากจากข้าวกล้อง คือ ข้าวหมากสูตรมูเซอ 50% และ กข.6 100% มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 125 และ 500 mg/ml ส่วน เชื้อ Enterrobacter aerogines สารสกัดจากน้ำข้าวหมาก และเนื้อข้าวหมากจากข้าวกล้อง คือข้าวหมากสูตร กข.6 100% และสันกำแพง 100% มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 125 และ125 mg/ml และเชื้อ Escherichia coli สารสกัดจากน้ำข้าวหมากและเนื้อข้าวหมากจากข้าวกล้อง คือข้าวหมากสูตรมูเซอ 75% และสันกำแพง 75% มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 125 และ 500 mg/ml

**คำสำคัญ : ข้าวหมาก / ข้าวกล้อง / ข้าวกล้องงอก**

**Abstract**

The study of antibacterial efficiency of Khaow-Mak extracts from glutinous brown rice (GBR) and germinated glutinous brown rice (GGBR). Part I, the products from Khaow-Mak fermentation, the highest aqueous yield of GBR and GGBR were RD6: Musoe rice (0:1) ratio at 50 and 43.5% while the non-aqueous yield were RD6: Musoe rice (1:3) at 19 and 18.7% respectively. Part II, the antibacterial efficiency of Khaow-Mak extracts to 5 types of bacteria; Salmonella sp., Vibrio cholerae, Listeria ivanovii, Enterrobacter aerogines and Escherichia coli, the results shown that the extracts from aqueous part of Khaow-mak from GBR were inhibited growth of V. cholera and L. invanovii at 0.85 mm from RD6:Mosoe rice(3:1), En. aerogines at 0.93 mm from RD6:San Kam Phaeng rice (0:1) and E. coli at 0.97 mm from RD6:Mosoe rice (1:3) respectively. In addition, the extracts from aqueous part of Khaow-mak GGBR from RD6: San Kam Phaeng rice (1:3) was inhibited growth of V. cholerae, L. ivanovii, En. aerogines and E. coli at 0.98, 0.90, 0.90 and 0.90 mm respectively. Moreover, the extracts from non-aqueous part of Khaow-mak from GBR from RD6:San Kam Phaeng rice (0:1) was inhibited growth of L. invanoii and En. aerogines at 11.33 and 11.00 mm while RD6:San Kam Phaeng rice (1:3) was inhibited growth of V. cholera and E. coli at 10.17 and 12.17 mm respectively. Surprisingly, Salmonella sp. was inhibited by the extract from non-aqueous part of RD6: Mosoe rice (3:1) at 12.0 mm. In addition, the fresh aqueous part of RD6: San Kam Phaeng rice (1:3) was inhibited V. cholerae, L. ivanovii, En. aerogines and E. coli at 0.80, 0.80, 12.20 and 1.22 mm respectively. Part III, analytical of Minimum inhibition concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC), the results shown that Salmonella sp. was inhibited by extracts of non-aqueous part from RD6: Mosoe rice (3:1) in the lowest MIC and MBC at 500

mg/ml while the lowest of MIC and MBC of V. cholera were extracts from aqueous and non-aqueous part of RD6: San Kam Phaeng rice (1:3) at 125 mg/ml. In addition, L. invanovii was inhibited by extracts from aqueous and non-aqueous part of RD6: Mosoe rice (1:1) and RD6 rice only in the lowest of MIC and MBC at 125 and 500 mg/ml and En. aerogines was inhibited by extracts in the lowest of MIC and MBC at 125 mg/ml from aqueous and non-aqueous part of RD6 only and San Kam Phaeng rice only. Finally, the lowest of MIC and MBC analysis from aqueous and non-aqueous part to inhibited growth of Es. coli were RD6: Mosoe rice (1:3) and RD6: San Kam Phaeng rice (1:3) at 125 and 500 mg/ml respectively.

**Keywords : Khaow-Mak / Glutinous Brown Rice / Germinated Glutinous Brown Rice**

**บทนำ**

ผลิตภัณฑ์จากข้าวได้รับการวิจัยและพัฒนาไปในรูปแบบที่หลากหลาย ทั้งนี้เพราะแนวโน้มการบริโภคข้าวในหลายประเทศลดลงดังนั้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากข้าวจึงเป็นแนวทางหนึ่งเพื่อเพิ่มมูลค่าการแปรรูปและพัฒนาผลิตภัณฑ์มากมายแต่ยังไม่มีผลิตภัณฑ์จากการหมักแป้งข้าวผู้วิจัยฯ เล็งเห็นว่าเพื่อเพิ่มความหลากหลายในการแปรรูป และเป็นการฟื้นฟูภูมิปัญญาเพื่ออนุรักษ์อาหารพื้นบ้านเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้ข้าวและใช้ประโยชน์จากข้าวให้หลากหลาย การทำข้าวหมากจากข้าวเหนียวกล้องและข้าวเหนียวกล้องงอก จึงน่าจะเป็นอีกแนวทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เพราะจุลินทรีย์หรือลูกแป้ง เมื่อเจริญบนข้าวจะผลิตสารสำคัญที่ก่อประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยเฉพาะการเป็นสารโพรไบโอติก และสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งปัจจุบันสารกลุ่มนี้ถูกนำมาใช้ในการส่งเสริมและป้องกันโรคต่าง ๆ ทั้งในรูปของอาหารและสมุนไพร เพราะสารต้านอนุมูลอิสระจะทำหน้าที่ขจัดอนุมูลอิสระได้ดี (ศรีวัฒนา ทรงจิตสมบูรณ์, 2548) สอดคล้องกับแนวทางการดูแลสุขภาพในปัจจุบันที่สนใจบริโภคอาหารโพรไบโอติกที่ช่วยในการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย เพราะเชื้อยีสต์ในข้าวหมากเป็นโพรไบโอติกชนิดหนึ่งที่ก่อประโยชน์ต่อร่างกาย โดยทำการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย กระตุ้นการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระภูมิคุ้มกันมะเร็ง ช่วยระบบทางเดินอาหารให้ทำงานเป็นปกติและดูดซึมวิตามินดีขึ้น ผลิตเม็ดเลือดแดงดีขึ้นยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค และช่วยให้การดูดซึมแคลเซียมดี ทั้งยังรักษาแผลในลำไส้ จากการอักเสบเรื้อรัง (ทองจุล ขันขาว, 2554)

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจและต้องการที่จะศึกษาและมุ่งเน้นในด้านการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดข้าวหมากจากข้าวเหนียวกล้องและข้าวเหนียวกล้องงอก ซึ่งเป็นข้าวเหนียวกล้องและข้าวเหนียวกล้องงอกที่ผลิตจากข้าวสายพันธุ์ท้องถิ่นในจังหวัดเชียงใหม่ โดยศึกษาอัตราส่วนของข้าวเหนียวขาวและข้าวเหนียวดำที่ต่างกัน และใช้ลูกแป้งหมากที่ผลิตขึ้นในจังหวัดเชียงใหม่ โดยศึกษาลักษณะทางกายภาพและประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากข้าวหมากที่ผลิตได้ เพื่อนำภูมิปัญญาของไทยมาพัฒนาให้เกิดประโยชน์และเป็นแนวทางเพื่อผลิตเป็นสินค้ามูลค่าเพิ่มต่อไป

**วัตถุประสงค์ของการวิจัย**

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเนื้อข้าวหมากและน้ำข้าวหมากจากข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวกล้อง และข้าวเหนียวกล้องงอก

**ขอบเขตการวิจัย**

**การทบทวนวรรณกรรม**

กฤติกา ณ เชียงใหม่ (2541) ศึกษาผลการยับยั้งของสารสกัดจากเห็ดรับประทานได้ต่อเชื้อแบคทีเรียบางชนิด นำเห็ดรับประทานได้ 22 ชนิดมาสกัดโดยแช่ในตัวทำละลาย 5 ชนิด ได้แก่ethanol, methanol, phosphate buffur saline (PBS), acetone และ hexane ตรวจสอบผลการยับยั้งการเจริญกับแบคทีเรียทดสอบ 5 ชนิด ได้แก่ Bacillus cereus, Escherichia coli, Micrococcus luteus, Samonella enteridis และ Staphylococcus aureus ด้วยวิธี disc diffusion method พบว่าสารสกัดจากเห็ด 6 ชนิด คือ เห็ดถ่าน ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย สามารถยับยั้งเชื้อ Micrococcus luteus ได้มีบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) เท่ากับ 35 มิลลิเมตร เห็ดหลินจือ ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย สามารถยับยั้งเชื้อ Micrococcus luteus ได้มีบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) เท่ากับ 21 มิลลิเมตร เห็ดขอนขาวแห้ง ใช้ PBS เป็นตัวทำละลาย สามารถยับยั้งเชื้อ Micrococcus luteus ได้มีบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) เท่ากับ 22 มิลลิเมตร เห็ดพุงหมู ใช้ hexane เป็นตัวทำละลาย สามารถยับยั้งเชื้อ Micrococcus luteus ได้มีบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) เท่ากับ 21 มิลลิเมตร เห็ดฟานสีน้ำตาลอมเหลืองทองแห้งใช้ hexane เป็นตัวทำละลาย สามารถยับยั้ง เชื้อ Bacillus cereus ได้มีบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) เท่ากับ 11.5 มิลลิเมตร และสดใช้ hexane เป็นตัว ทำละลาย สามารถยับยั้งเชื้อ Micrococcus luteus ได้มีบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) เท่ากับ 11 มิลลิเมตร และเห็ดหอมใช้เมทานอลและ hexane เป็นตัวทำละลาย สามารถยับยั้งเชื้อ Micrococcus luteus ได้มีบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) เท่ากับ 15 และ 10 มิลลิเมตร ตามลำดับ

อัครสิทธิ์ บุญส่งแท้ และสุกิจ ทองแบน (2554) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช 4 ชนิด ได้แก่ ว่านกระแจะจันทร์ ว่านธรณีเย็น ศึกษาร่วมกับว่านนางคำ และว่านมหาเมฆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ Staphylococcus aureus และ Escherichia coli โดยจากการศึกษาพบว่า ว่านนางคำมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุดในการเจริญของเชื้อ S. aureus และ

E. coli ในสารสกัดที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ สารสกัดจากว่านมหาเมฆ และว่านธรณีเย็น ที่ระดับความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อพิจารณาดูถึงประสิทธิภาพของสารสกัดในด้านความเข้มข้น พบว่า ว่านมหาเมฆ และว่านธรณีเย็นมีคุณสมบัติ ในการยับยั้งเชื้อ S. aureus ได้ในทุกความเข้มข้น ส่วนว่านกระแจะจันทร์ มีคุณสมบัติในการยับยั้ง ได้เพียงความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ และว่านนางคำ ยับยั้งได้น้อยที่สุดเพียง ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อ E .coli ว่านมหาเมฆ และว่านนางคำ มีคุณสมบัติในการยับยั้งได้ในทุกความเข้มข้น รองลงมาได้แก่ ว่านกระแจะจันทร์ ส่วนว่านธรณีเย็น มีคุณสมบัติในการยับยั้งได้น้อยที่สุดที่ค่าความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์

กีรติญา เอี่ยมถาวร (2555) ได้ศึกษาสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรในการยับยั้งเชื้อที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารคือเชื้อ Sal. typhi, Shi.flexneri, Ent. aerogenes, P.vulgalis, Ps. aeruginosa และ E.coli สารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรเมื่อนำมาทดสอบกับแบคทีเรียก่อโรคบริเวณระบบทางเดินอาหาร พบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ทุกชนิด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ในช่วง 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดโพรพอลิสมีผลการยับยั้งเชื้อ Sal. Typhi สูงที่สุด โดยมีค่า MBC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิต นมผึ้งสามารถฆ่าเชื้อ Shi.flexneri, K.Pneumonia และ Ent. Aerogenes ได้ดีที่สุดโดยมีค่า MBC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิต เมื่อผสมสารทดสอบพบว่าสารผสมสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทุกชนิด สารสกัดฟ้าทะลายโจรผสมโพรพอลิสยับยั้ง Ps. Aeruginosa ได้ดีที่สุด สารสกัดฟ้าทะลายโจรผสมนมผึ้ง สามารถยับยั้งเชื้อ Ps. aeruginosa และ E.coli ได้ดีที่สุด นมผึ้งผสมกับสารสกัดโพรพอลิส สารสกัดฟ้าทะลายโจรโพรพอลิส และนมผึ้งมีค่า MBC เท่ากันเมื่อทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียทุกชนิด สารสกัดฟ้าทะลายโจรเมื่อนำมาทดสอบกับแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร พบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ทุกชนิด โดยมีค่า MBC ในช่วง 125-250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**วิธีดำเนินการวิจัย**

1. ศึกษากระบวนการหมักข้าวหมากข้าวเหนียวกล้อง และข้าวเหนียวกล้องงอก

การหมักข้าวหมาก ดัดแปลงจากวิธีการของ อุไรวรรณ วัฒนกุล.(2555) ในการทำข้าวหมาก แบ่งเป็น 9 ชุดการทดลองชุดละ 1000 g (น้ำหนักข้าวดิบ) คือ กข 6 (1:0), สันกำแพง (0:1), มูเซอ (0:1), กข 6 : สันกำแพง (1:3), กข 6 : สันกำแพง (1:1), กข 6 : สันกำแพง (3:1), กข 6 : มูเซอ (1:3), กข 6 : มูเซอ (1:1), กข 6 : มูเซอ (3:1) นำข้าวแต่ละชนิดไปแช่น้ำในอัตราส่วนข้างต้นเป็นเวลา 8 ชั่วโมง (แช่ข้าวเหนียวกล้องขาว กข 6 ข้าวเหนียวกล้องดำสันกำแพงและข้าวเหนียวกล้องดำดอยมูเซอแยกกัน) นำข้าวที่แช่ไว้มาล้างน้ำให้สะอาด 2 ครั้ง นำข้าวที่สุกมาผึ่งให้เย็นและล้างน้ำสะอาด 2 ครั้ง ทำการนึ่งข้าวโดยนึ่งแยกข้าวกล้องงอก กข 6 นึ่งเป็นเวลา 20 นาที ตามอัตราส่วน นำข้าวทั้งสองชนิดมาผสมกันตามอัตราส่วนในชุดการทดลอง ที่กำหนดและทำการวัดอุณหภูมิ อุณหภูมิไม่เกิน 30 องศาเซลเซียส โรยลูกแป้งข้าวหมากที่บดละเอียด 6 กรัมต่อข้าว 1000 กรัม ผสมให้เข้ากัน จากนั้นบรรจุใส่ภาชนะที่แห้งและสะอาดเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ใช้เวลา ในการหมัก 3 วัน จนได้เป็นข้าวหมาก เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2. การหาสารสกัดจากเนื้อข้าวหมากและน้ำข้าวหมาก

2.1 การสกัดสารจากเนื้อข้าวหมาก

การสกัดสารจากเนื้อข้าวหมาก (ดัดแปลงจาก Moongngarm A, Saetang N, 2010) นำเนื้อข้าวหมากที่ได้จากการคั้นไปอบที่ 50 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จนแห้งและนำไปบดให้ละเอียด มาสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยนำไปแช่ในเอทานอล 80% นำไปเขย่าที่ 120 รอบ/นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปกรองเก็บ ส่วนที่เป็นน้ำไว้แล้วนำเนื้อไปสกัดด้วยเอทานอล 80% ทำซ้ำ 2 ครั้ง และนำส่วนที่เป็นเอทานอลมารวมกัน กรองด้วยกระดาษกรอง นำน้ำเอทานอลที่ได้มาระเหยด้วยเครื่อง Vacuum rotary evaporator ที่ 50 °C จนตัวทำละลายออกจนหมดและจะได้สารสกัดหยาบออกมา หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาคำนวณหาร้อยละของผลผลิต (% yield) และเก็บสารสกัดที่ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

2.2 การสกัดสารจากน้ำข้าวหมาก

การทำน้ำข้าวหมากให้เข้มข้น นำน้ำที่ได้แยกไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกตะกอนขนาดเล็กออก จากนั้นนำน้ำไปทำให้เข้มข้นโดนนำไประเหยในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้น และจะได้น้ำข้าวหมากเข้มข้น หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาคำนวณหาร้อยละของผลผลิต (% yield) และเก็บสารสกัดที่ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

3. การศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเนื้อและน้ำข้าวหมาก

3.1 การเตรียมเชื้อทดสอบ

การเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย Salmonella sp., Enterobacter aerogenes, Listeria ivanovii, Escherichia coli และ Vibrio cholerae ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Nutrient broth ที่ความเร็วรอบการเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 °C (ดัดแปลง จิราภรณ์ บุราคร และเรือนแก้ว ประพฤติ, 2555) นำแบคทีเรียที่เลี้ยงมาวัดค่า Optical Density (OD) เจือจางด้วย Nutrient broth (NB) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 625 nm ให้มีค่า OD อยู่ในช่วง 0.08-0.1 (108 CFU/ml) (กาญจนา และคณะ, 2555)

3.2 การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ ด้วยวิธี Agar well diffusion method

นำเชื้อที่ได้จากการเตรียมมาลงเชื้อด้วยวิธีการ swab โดยใช้ cotton swab ปลอดเชื้อจุ่มสารละลายแบคทีเรียที่เตรียมไว้ นำมา Swab ให้ทั่วอาหาร NA ใช้ cork borer ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm เจาะอาหาร NA ให้เป็นหลุม แล้วหยดสารสกัดตัวอย่างเข้มข้น ปริมาตร 30 µl ลงในหลุมบนจานอาหาร NA โดยใช้ยาปฏิชีวนะเป็น positive control และ DMSO เป็น negative control จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลการทดสอบโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone)

4. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Minimal inhibitory concentration (MIC) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อ Minimal Bactericidal Concentration (MBC) ด้วยวิธีไมโครเพลต (micro plate method)

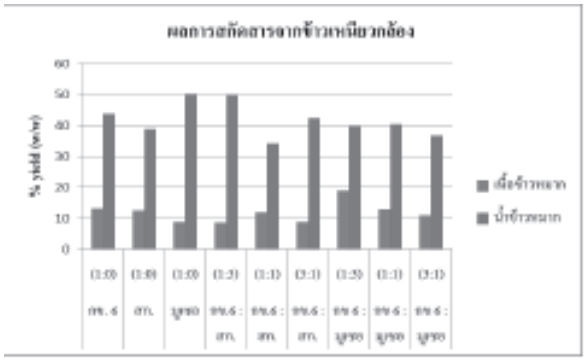
นำสารสกัดเข้มข้นชนิดที่ทำให้เกิดวงใส มาเจือจางสารสกัดลงในอาหาร NA ให้ได้ปริมาตร 1.5 ml จากนั้นทำการเจือจางแบบลำดับ (10-fold serial dilution) ใน micro plate (หลุมละ 200 µl) ประมาณ 5 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ โดยความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบเท่ากับ 5000 ไมโครกรัม/มิลลิเมตร ผสมอาหารและสารสกัดในขณะที่อาหารยังไม่แข็งตัวและรอให้อาหารแข็งตัว หลังจากนั้นเติมเชื้อที่ผ่าน

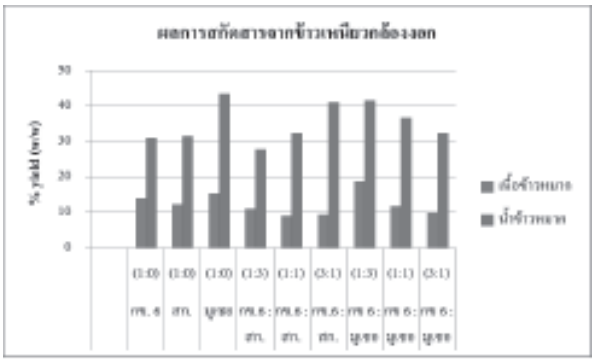
การปรับความเข้มข้นแล้ว ปริมาตร 10 µl บนผิวอาหารที่แข็งตัวแล้ว จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกการเจริญของเชื้อที่เกิดขึ้น

**ผลการวิจัย**

1. ผลทดลองการสกัดสารจากเนื้อข้าวหมากและน้ำข้าวหมาก

ผลการทดลองการสกัดสารจากข้าวเหนียวกล้อง และข้าวเหนียวกล้องงอก แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือของน้ำข้าวหมากและเนื้อข้าวหมาก ผลการศึกษาพบว่าข้าวเหนียวกล้องของน้ำข้าวหมากมีค่าร้อยละของผลผลิต (w/w) มีค่าสูงที่สุด เท่ากับ 50 คือพันธุ์ข้าวมูเซอ (0:1) ส่วนเนื้อข้าวหมากมีค่าร้อยละของผลผลิต (w/w) มีค่าสูงที่สุด เท่ากับ 19 คือพันธุ์ข้าว กข.6 : มูเซอ (1:3) ข้าวเหนียวกล้องงอก ของน้ำข้าวหมากมีค่าร้อยละของผลผลิต (w/w) มีค่าสูงที่สุด เท่ากับ 43.5 คือพันธุ์ข้าวมูเซอ (0:1) ส่วนเนื้อข้าวหมากมีค่าร้อยละของผลผลิต (w/w) มีค่าสูงที่สุด เท่ากับ 18.7 คือพันธุ์ข้าว กข.6 : มูเซอ (1:3) (รูปที่ 1 และ 2)



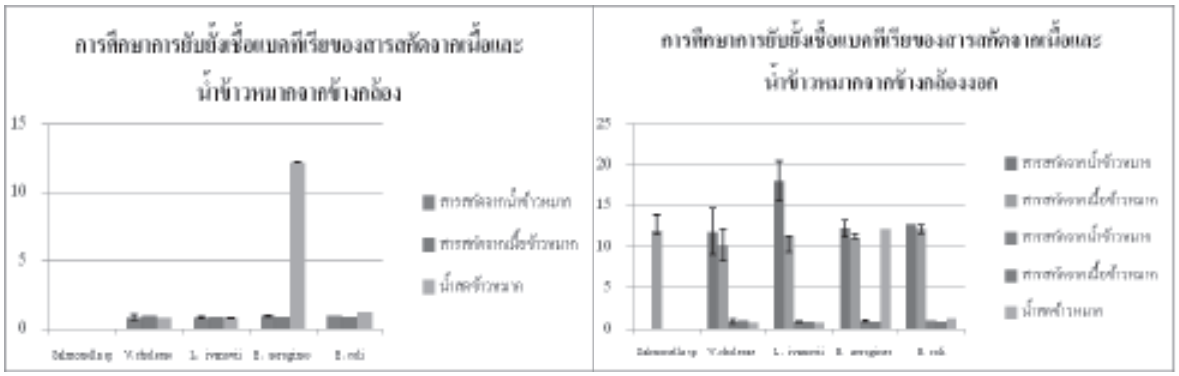




รูปที่ 1 : ค่าร้อยละของผลผลิตจากข้าวหมากข้าวเหนียวกล้อง รูปที่ 2 : ค่าร้อยละของผลผลิตจากข้าวหมากข้าวเหนียวกล้องงอก

2. ผลการทดลองการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเนื้อและน้ำข้าวหมากจากข้าวกล้องและข้าวกล้องงอก ด้วยวิธี Agar well diffusion method

ผลการทดลองการศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Salmonella sp., Vibrio cholerae, Listeria ivanovii, Enterrobacter aerogines และ Escherichia coli สารสกัดจากน้ำข้าวหมาก เนื้อข้าวหมาก น้ำสดข้าวหมากข้าวกล้องและข้าวกล้องงอก พบว่าผลของสารสกัดจากน้ำข้าวหมากข้าวกล้อง ยับยั้งการเจริญเชื้อ Vibrio cholerae, Listeria ivanovii, Enterrobacter aerogines และ Escherichia coli ได้ดีที่สุดคือ มูเซอ 25%, มูเซอ 25%, สันกำแพง 100% และมูเซอ 75% โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของวงใส เท่ากับ 0.85, 0.85, 0.93 และ 0.97 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากน้ำข้าวหมากข้าวกล้องงอก คือ มูเซอ 50%, สันกำแพง 100%, สันกำแพง 100%, มูเซอ 75% โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของวงใส เท่ากับ 11.85,18.00, 12.25 และ 12.83 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดจากเนื้อข้าวหมากข้าวกล้อง ยับยั้งการเจริญเชื้อ Vibrio cholerae, Listeria ivanovii, Enterrobacter aerogines และ Escherichia coli ได้ดีที่สุดคือ สันกำแพง 75%, สันกำแพง 75%, สันกำแพง 75% และสันกำแพง 75% โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของวงใส เท่ากับ 0.98, 0.90, 0.90 และ 0.90 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากเนื้อข้าวหมากข้าวกล้องงอก คือ สันกำแพง 75%, สันกำแพง 100%, สันกำแพง 100%, สันกำแพง 75% โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย

ของวงใส เท่ากับ 10.17, 11.33, 11.00 และ 12.17 มิลลิเมตร และมูเซอ 25% สามารถยับยั้งเชื้อ Salmonella sp. เท่ากับ 12.0 มิลลิเมตร สารสกัดจากน้ำสดข้าวหมากข้าวกล้อง ยับยั้งการเจริญเชื้อVibrio cholerae, Listeria ivanovii, Enterrobacter aerogines และ Escherichia coli ได้ดีที่สุดคือ สันกำแพง 75%, สันกำแพง 75%, สันกำแพง 75% และสันกำแพง 75% โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของวงใส เท่ากับ 0.80, 0.80, 12.2 และ 1.22 มิลลิเมตร ตามลำดับ (รูปที่ 3 และ 4)




รูปที่ 3 : การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดข้าวหมากข้าวกล้อง รูปที่ 4 : การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดข้าวหมากข้าวกล้องงอก

3. ผลการทดลองการค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Minimal inhibitory concentration (MIC) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อ Minimal Bactericidal Concentration (MBC) ด้วยวิธีไมโครเพลต (micro plate method)

ผลการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (MBC) สารสกัดจากเนื้อข้าวหมาก น้ำข้าวหมากจากข้าวกล้องและข้าวกล้องงอก พบว่าผลการทดสอบกับเชื้อ Salmonella sp. สารสกัดจากเนื้อข้าวกล้องคือ มูเซอ 25% มี MIC และ ค่า MBC เท่ากับ 500 mg/ml เชื้อ Vibrio cholera สารสกัดจากน้ำข้าวหมากและเนื้อข้าวหมากจากข้าวกล้อง คือสันกำแพง 75% มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 125 mg/ml เชื้อ Listeria ivanovii สารสกัดจากน้ำ ข้าวหมากและเนื้อข้าวหมากจากข้าวกล้อง คือมูเซอ 50% และกข.6 100% มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 125 และ500 mg/ml เชื้อ Enterrobacter aerogines สารสกัดจากน้ำข้าวหมากและเนื้อข้าวหมากจากข้าวกล้อง คือ กข.6 100% และสันกำแพง 100% มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 125 และ 125 mg/ml เชื้อ Escherichia coli สารสกัดจากน้ำข้าวหมากและเนื้อข้าวหมากจากข้าวกล้อง คือมูเซอ 75% และสันกำแพง 75% มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 125 และ 500 mg/ml

**อภิปรายผลการวิจัย**

ผลการทดลองการสกัดสารจากข้าวเหนียวกล้อง และข้าวเหนียวกล้องงอก พบว่า ข้าวเหนียวกล้องของน้ำข้าวหมากมีค่าร้อยละของผลผลิต (w/w) มีค่าสูงที่สุด เท่ากับ 50 คือพันธุ์ข้าวมูเซอ (0:1) ส่วนเนื้อข้าวหมากมีค่าร้อยละของผลผลิต (w/w) มีค่าสูงที่สุด เท่ากับ 19 คือพันธุ์ข้าวกข6 : มูเซอ (1:3) ข้าวเหนียวกล้องงอก ของน้ำข้าวหมาก มีค่าร้อยละของผลผลิต (w/w) มีค่าสูงที่สุด เท่ากับ 43.5 คือพันธุ์ข้าวมูเซอ (0:1) ส่วนเนื้อข้าวหมากมีค่าร้อยละของผลผลิต (w/w) มีค่าสูงที่สุด เท่ากับ 18.7 คือพันธุ์ข้าว กข6 : มูเซอ (1:3)

ทั้งนี้ เนื่องจากข้าวเหนียวแต่ละสายพันธุ์มีสารพันธุกรรมแตกต่างกันทำให้สารต่าง ๆ ที่ข้าวสร้างขึ้นแตกต่างกัน ทั้งชนิดและปริมาณ ไม่ว่าจะเป็นสารให้สี กลิ่น รส รวมทั้งสารต้านแบคทีเรีย (สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์ และคนอื่น ๆ. 2551: 18- 19)

ผลการทดลองการศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Salmonella sp., Vibrio cholerae, Listeria ivanovii, Enterrobacter aerogines และ Escherichia coli พบว่าสารสกัดจากน้ำข้าวหมาก เนื้อข้าวหมาก น้ำสดข้าวหมากข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกสามารถยับยั้งได้สูงสุดถึง 18.00 มิลลิเมตร ของเชื้อ Listeria ivanovii และสารสกัดจากน้ำข้าวหมากข้าวกล้องงอก

ผลการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบหาค่า Minimum inhibitory concentration (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (MBC) สารสกัดจากเนื้อข้าวหมาก น้ำข้าวหมากจากข้าวกล้องและข้าวกล้องงอก มีค่า MIC และค่า MBC ต่ำสุดเท่ากับ 125 mg/ml ของเชื้อแบคทีเรีย Vibrio cholerae, Listeria ivanovii, Enterrobacter aerogines และ Escherichia coli และน้ำข้าวหมากข้าวกล้อง ซึ่งพิจารณาจากองค์ประกอบทางเคมีของสกัดได้พบว่า น่าจะมีสารกลุ่มหนึ่ง ที่สามารถออกฤทธิ์และเกิดกลไกในการต้านแบคทีเรียได้โดยทั่วไปสารกลุ่มดังกล่าวจะมีส่วน ในการทำลายชั้นเมมเบรนทำให้เป็นรูและทำให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีนภายในเซลล์ทำให้เกิดการต้านแบคทีเรียได้ (Kabuki, et al. 2000: 64)

**ข้อเสนอแนะ**

งานวิจัยขั้นต่อไปควรศึกษาตัวทำละลายชนิดอื่น ๆ และวิธีอื่น ๆ ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ต่อไป

**เอกสารอ้างอิง**


กาญจนา วรราษฎร์ กฤษณ์ สงวนพวก ผ่องเพ็ญ จิตรอารีย์รัตน์ เฉลิมชัย วงษ์อารี และ มัณฑนา บัวหนอ. (2555). **ประสิทธิภาพการใช้น้ำมันหอมระเหยในการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ที่ได้จากสารละลายปักแจกันของกุหลาบตัดดอก.** วิทยาศาสตร์เกษตร 43 (3พิเศษ):523-527.

ติกา ณ เชียงใหม่. (2541). **ผลยับยั้งของสารสกัดจากเห็ดรับประทานได้ต่อเชื้อแบคทีเรียบางชนิด.** รายงานการวิจัย สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

กีรติญา เอี่ยมถาวร และยิ่งมณี ตระกูลพัว. (2555). **การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโพรพอลิส นมผึ้ง และฟ้าทะลายโจร.** การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานระดับชาติ ณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

จิราภรณ์ บุราคร และเรือนแก้ว ประพฤติ. (2555). **ผลของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านไทยจำนวน 7 ชนิดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย.** การแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือกปีที่ 10 ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน.

ทองจุล ขันขาว. (2554). **ข้าวหมากอาหารโพรไบโอติกเพื่อสุขภาพ.** แหล่งที่มา: http://www.thongjoon.com/2011/10/blog-post.html, 19 ธันวาคม 2557.

สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์, สุเมธ ตันตระเธียร, ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา และจันทร์ประภา อิ่มจงใจรัก. (2551). **ประสิทธิภาพ ของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วง.** รายงานวิจัยย่อย ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 1-29.

ศรีวัฒนา ทรงจิตสมบูรณ์. (2548). **"ข้าวเหนียวดำหลากประโยชน์หลายแนวคิด เสริมเศรษฐกิจไทยสู่สากล"** การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2552. (มิถุนายน 2552) : 325-342.

อัครสิทธิ์ บุญส่งแท้ และ สุกิจ ทองแบน. (2554). **การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากสมุนไพรพื้นบ้านเพื่อยกระดับผลิตภัณฑ์ท้องถิ่นในพื้นที่สะลวง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่.** รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่, 2554.

อุไรวรรณ วัฒนกุล. (2555). **คุณค่าทางโภชนาการบางประการในข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวสังข์หยดพัทลุง.** การประชุมวิชาการแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 9. :721-729.

Kabuki, T., Nakajima, H., Arai, M., Ueda, S.I., Kuwabara, Y., & Dosako,. (2000). **SCharacterization of novel antimicrobial compounds from mango (Mangifera indica L.) kernel seeds.** Food Chemistry. 71(1), 61-66.