กิจกรรมของสารสกัดจากเครื่องเทศในการต้านแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร

Antibacterial activity of spice extracts against food spoilage bacteria and gastrointestinal pathogenic bacteria

กัณฑรัตน์ มหาวิริโย

จิตรลดา บุษมงคล

นัฐพงษ์ ธรรมจินดา

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SPICE EXTRACTS AGAINST FOOD SPOILAGE BACTERIA AND GASTROINTESTINAL PATHOGENIC BACTERIA

GANTHARAT MAHAWIRIYO
CHITLADA BUDSAMONGKON
NUDTAPONG THUMMAJINDA

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	กิจกรรมของสารสกัดจากเครื่องเทศในการต้านแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียและแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร Antibacterial Activity of Spice Extracts against Food Spoilage Bacteria and Gastrointestinal Pathogenic Bacteria		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกัณฑรัตน์	มหาวิริโย	รหัสนักศึกษา 54051161
	นางสาวจิตรลดา	บุษมงคล	รหัสนักศึกษา 54051172
	นายนัฐพงษ์	ธรรมจินดา	รหัสนักศึกษา 54051216
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต		
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม		
ปีการศึกษา	2557		
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2557

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร.คนึงกานต์ กลั่นบุศย์ ประธานกรรมการ	
ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการ	
รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	กิจกรรมของสารสกัดจากเครื่องเทศในการต้านแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียและแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร Antibacterial Activity of Spice Extracts against Food Spoilage Bacteria and Gastrointestinal Pathogenic Bacteria		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกัณฑรัตน์	มหาวิริโย	รหัสนักศึกษา 54051161
	นางสาวจิตรลดา	บุษมงคล	รหัสนักศึกษา 54051172
	นายนัฐพงษ์	ธรรมจินดา	รหัสนักศึกษา 54051216
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต		
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม		
ปีการศึกษา	2557		
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ		

บทคัดย่อ

ในการศึกษานี้ได้ตรวจหากิจกรรมการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารและแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียรวมทั้งหมด 11 สายพันธุ์ และศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศทั้งหมด 21 ชนิดที่สกัดด้วยเมทานอลโดยวิธี disc diffusion และหาค่า MIC ด้วยวิธี agar dilution สารสกัดหยาบจากกานพลู (*Syzygium aromaticum*) ดอกกระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa*) และใบไทม์ (*Thymus vulgaris*) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ค่อนข้างหลากหลายชนิดมากที่สุด แบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษหลายชนิด เช่น *Listeria monocytogenes* ถูกยับยั้งได้ดีโดยสารสกัดจากกานพลู (MIC เท่ากับ 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) *Yersinia enterocolitica* ถูกยับยั้งได้ดีโดยสารสกัดหยาบจากลูกจันทน์ (*Myristica fragrans*), โรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis*) และชะเอม (*Glycyrrhiza glabra*) (ค่า MIC เท่ากับ 0.2-0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) *Bacillus cereus* ถูกยับยั้งได้ดีด้วยสารสกัดจากลูกจันทน์และโรสแมรี่ (ค่า MIC เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ขณะที่ *Clostridium perfringens* ถูกยับยั้งโดยโรสแมรี่ได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เชื้อ *Salmonella* Enteritidis และ *Salmonella* Weltevreden ค่อนข้างต้านทานต่อสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่างๆ (ค่า MIC มากกว่า 6.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ยกเว้นสารสกัดหยาบจากกานพลูที่ยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* Weltevreden ได้ที่ค่า MIC 3.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเชื้อ *Helicobacter pylori* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคในกระเพาะอาหาร มีความไวต่อการถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบจากดอกกระเจี๊ยบแดงมากที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 3.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วน *Porphyromonas gingivalis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคในช่องปากถูกยับยั้งได้ดีโดยสารสกัดจากโป๊ยกั๊ก (*Illicium verum*) ลูกจันทน์และกานพลู (MIC เท่ากับ 3.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ถูกยับยั้งได้ดีโดยสารสกัดจากโรสแมรี่และกานพลู (MIC เท่ากับ 3.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สารสกัดหยาบจากกานพลูมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด (496.01 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด) ขณะที่สารสกัดจากโรสแมรี่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุด (214.94 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด) สารสกัดหยาบจากกานพลู โรสแมรี่และใบไทม์ มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดในบรรดาสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศชนิดอื่น สารสกัดทั้ง 3 ชนิดนี้มีค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 116.40-846.19 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อกรัมของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) โดยวิธี DPPH และมีค่า reducing capacity อยู่ในช่วง 3.63-1.95 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัดโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) และได้ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง 986.66-456.91 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของสารสกัดโดยวิธี ABTS radical cation decolorization (ABTS) นอกจากนี้ยังได้คัดเลือกสารสกัดหยาบจากกานพลูและสารสกัดหยาบจากใบไทม์ ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและต้านอนุมูลอิสระ มาประยุกต์ใช้โดยเติมลงในน้ำชะล้างน่องไก่สด เพื่อขจัดการปนเปื้อน ชะลอการเน่าเสียและการเกิดออกซิเดชันของไขมันในน่องไก่สดแช่เย็น การเติมสารสกัดหยาบจากกานพลูความเข้มข้นร้อยละ 2 ลงในน้ำชะล้างมีผลทำให้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ผิวน่องไก่สดหลังการชะล้างลดจำนวนลงได้ดีที่สุดโดย 0.56 log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร และยังทำให้จำนวน *Pseudomonas* ทั้งหมดบนผิวน่องไก่สดที่เก็บรักษาไว้ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสลดลง รวมทั้งช่วยชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมันในน่องไก่แช่เย็น

คำสำคัญ : กิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรีย สารต้านอนุมูลอิสระ สารพฤกษเคมี สารสกัดจากเครื่องเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antibacterial activity of spices extracts against food spoilage bacteria and gastrointestinal pathogenic bacteria
Students	Miss Gantharat Mahawiriyo
	Miss Chitlada Budsamongkon
	Mr. Nudtapong Thummajinda
Degree	Bachelor of Science
Major	Industrial Microbiology
Academic Year	2014
Advisor	Associate Professor Dr. Suree Nanasombat

Abstract

The antimicrobial activity and phytochemical properties of 21 spice methanolic extracts against 11 gastrointestinal pathogenic and food spoilage bacteria using disc diffusion and the minimum inhibitory concentration (MIC) determination (agar dilution) methods were studied. Extracts of clove (*Syzygium aromaticum*), roselle (*Hibiscus sabdariffa*) and thyme (*Thymus vulgaris*) showed broad action in inhibition of all bacterial strains tested. Food poisoning bacteria such as *Listeria monocytogenes* was inhibited by *S. aromaticum* extracts at the MIC of 0.8 mg/mL whereas *Yersinia enterocolitica* was inhibited by nutmeg (*Myristica fragrans*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and licorice (*Glycyrrhiza glabra*) extracts (0.2-0.8 mg/mL MIC). *Bacillus cereus* was inhibited by nutmeg and rosemary extracts (0.2 mg/mL MIC), while *Clostridium perfringens* was inhibited by rosemary extract (0.4 mg/mL MIC). *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Weltevreden were relatively resistant to various extracts at the MIC of more than 6.4 mg/mL, except for clove extract which inhibited growth of *Salmonella* Weltevreden at the MIC of 3.2 mg/mL. *Helicobacter pylori*, a stomach pathogenic bacterium, was most susceptible to

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

roselle flower extract at the MIC of 3.2 mg/mL. *Porphyromonas gingivalis*, an oral pathogenic bacterium, was inhibited by star anise (*Illicium verum*), nutmeg and clove extracts at the MIC of 3.2 mg/mL. *Pseudomonas fluorescens*, a food spoilage bacterium, was inhibited by rosemary and clove extracts at the MIC of 3.2 mg/mL. Clove extract had the highest total phenolics (496.01 mg GAE/g extract), whereas rosemary extract had the highest total flavonoids (214.94 mg CE/g extract). Extracts of clove, rosemary and thyme showed strongest antioxidant activity, among all spice extracts tested. These three spice extracts had EC_{50} value in the ranges of 116.40 to 846.19 µg/g 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) by DPPH method, reducing capacity of 3.63-1.95 mmol Fe(II)/g extract by Ferric reducing antioxidant power (FRAP) method and had the antioxidant activity in the range of 986.66-456.91 mg trolox equivalent (TE)/g extract by ABTS radical cation decolorization (ABTS) method. In addition, *S. aromaticum* and *T. vulgaris* extracts with strong antibacterial and antioxidant activities were selected to apply in rinsing water for as well as retardation of spoilage and lipid oxidation in raw chilled chicken thigh. Addition of 2% cloves extract in rinsing water resulted in decrease of total viable counts on surface of raw chicken thigh by 0.56 log CFU/ 25 cm^2 after rinsing, and also caused decrease of total *Pseudomonas* count on surface of raw chicken thighs as well as delayed the lipid oxidation in raw chicken thigh after storage at 4 °C for 7 days.

Keywords : Antibacterial activity, Antioxidant, Phytochemicals, Spice extracts

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจากอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ ที่ให้คำแนะนำตลอดจนได้ทำการถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์ในการปฏิบัติงานที่ดีให้แก่ผู้จัดทำ คณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.คนึงกานต์ กลั่นบุศย์ และดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ที่ให้เกียรติเป็นประธานกรรมการและกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษที่ช่วยในการตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษ รวมทั้งให้คำแนะนำ ชี้แนะการแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความถูกต้องเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมืออุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการต่างๆ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาให้ใช้สถานที่เพื่อปฏิบัติงานวิจัยและอำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงาน

ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาของผู้จัดทำที่เป็นกำลังใจและให้คำปรึกษาในการทำโครงงานพิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนและพี่ๆทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่อง ให้ข้อคิดเห็น กำลังใจและมิตรภาพที่ดีตลอดมา

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้ในโครงงานพิเศษนี้

นางสาวกัณฑรัตน์ มหาวิริโย
นางสาวจิตรลดา บุษมงคล
นายนัฐพงษ์ ธรรมจินดา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	V
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	X
สารบัญรูป	XI
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์การทดลอง	3
1.3 ขอบเขตการทดลอง	4
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 เครื่องเทศ	5
2.1.1 ความหมายของเครื่องเทศ	5
2.1.2 ประโยชน์ของเครื่องเทศ	6
2.1.3 เครื่องเทศที่ใช้ในงานวิจัย	6
2.1.3.1 กระชาย	6
2.1.3.2 กระเจี๊ยบแดง	7
2.1.3.3 ชะเอม	8
2.1.3.4 กระเทียม	8
2.1.3.5 กานพลู	9
2.1.3.6 ข่า	10
2.1.3.7 ขิง	11
2.1.3.8 ตะไคร้	12
2.1.3.9 ใบไทม์	12
2.1.3.10 ลูกจันทน์	13
2.1.3.11 กระวาน	14
2.1.3.12 พริกหอม	15
2.1.3.13 โป๊ยกั๊ก	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.1.3.14 พริกชี้ฟ้า	16
2.1.3.15 พริกไทย	17
2.1.3.16 ยี่หร่า	18
2.1.3.17 หอมแดง	19
2.1.3.18 มะกรูด	19
2.1.3.19 เมล็ดผักชี	20
2.1.3.20 โรสแมรี่	21
2.2 สมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของเครื่องเทศ	24
2.3 เชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคทางเดินอาหารและอาหารเป็นพิษ	25
2.3.1 เชื้อ *Helicobacter pylori*	25
2.3.2 เชื้อ *Staphylococcus aureus*	26
2.3.3 เชื้อ *Salmonella* spp.	27
2.3.4 เชื้อ *Clostridium perfringens*	28
2.3.5 เชื้อ *Escherichia coli*	28
2.3.6 เชื้อ *Bacillus cereus*	29
2.3.7 เชื้อ *Yersinia enterocolitica*	30
2.3.8 เชื้อ *Listeria monocytogenes*	30
2.3.9 เชื้อ *Porphyromonas gingivalis*	31
2.3.10 เชื้อ *Pseudomonas fluorescens*	31
2.4 สมบัติทางพฤกษเคมีของเครื่องเทศ	32
2.4.1 ความหมายของสารพฤกษเคมี	32
2.4.2 ตัวอย่างของพฤกษเคมีในธรรมชาติ	32
2.4.2.1 ฟีนอลิก (Phenolic)	32
2.4.2.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)	33
2.4.3 คุณสมบัติของพฤกษเคมี	34
2.5 ดัชนีชี้วัดความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total Antioxidant Capacity)	35
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	
3.1 อุปกรณ์	37
3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง	37
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง	38
3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	39
3.1.5 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	39
3.2 วิธีการ	40
3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากเครื่องเทศและการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์	40
3.2.1.1 การเตรียมสารสกัดเครื่องเทศด้วยเมทานอล	40
3.2.1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย	40
3.2.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเครื่องเทศ	42
3.2.2.1 การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเครื่องเทศด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Agar disc diffusion method)	42
3.2.2.2 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)	43
3.2.3 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ	44
3.2.3.1 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเครื่องเทศด้วยวิธี DPPH	44
3.2.3.2 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเครื่องเทศด้วยวิธี FRAP	45
3.2.3.3 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเครื่องเทศด้วยวิธี ABTS	45
3.2.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ	46
3.2.3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ	47
3.2.4 การประยุกต์ใช้สารสกัดหยาบจากเครื่องเทศในการชะลอการเน่าเสียของน่องไก่สดแช่เย็น	47
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	
4.1 สมบัติการยับยั้งการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.1.1 การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการเจือจางในอาหาร 50

4.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 61

4.2.1 ความสามารถในการกำจัด 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical 61

4.2.2 Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay 61

4.2.3 ABTS radical cation decolorization assay 62

4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 63

4.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 63

4.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ 64

4.4 การลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนน่องไก่สดโดยใช้สารสกัดหยาบจากกานพลูและสารสกัดหยาบจากใบไทม์ 69

4.4.1 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของน่องไก่สดในระหว่างการเก็บรักษา 69

4.4.2 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบเจริญที่อุณหภูมิต่ำ 69

4.4.3 การเปลี่ยนแปลง *Pseudomonas* spp. ในน่องไก่สด 70

4.5 การเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ในน่องไก่สดที่ชะล้างด้วยน้ำกลั่น น้ำกลั่นผสมสารสกัดจากกานพลู และน้ำกลั่นผสมสารสกัดจากใบไทม์ 72

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 75

เอกสารอ้างอิง 78

ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 86

ภาคผนวก ข การเตรียมสารละลาย 90

ภาคผนวก ค การคำนวณ 109

ภาคผนวก ง ตารางผลการทดลองทั้งหมด 121

ภาคผนวก จ ค่าการวิเคราะห์ทางสถิติ 134

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สารประกอบทางเคมีของเครื่องเทศชนิดต่างๆ	22
3.1 เครื่องเทศที่ใช้ในการทดลอง	38
4.1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method)	58
4.2 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่ความเข้มข้นต่ำสุดด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)	60
4.3 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ	67
4.4 ผลของการจุ่มน่องไก่สดด้วยน้ำกลั่น สารสกัดจากกานพลูและสารสกัดจากใบไทม์ ต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรฟและ *Pseudomonas* spp.	74
4.5 การเปลี่ยนแปลงของค่า TBARS (Thiobabituric acid number) ของเนื้อน่องไก่สดระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 กระชาย	6
2.2 กระเจี๊ยบแดง	7
2.3 ชะเอม	8
2.4 กระเทียม	8
2.5 กานพลู	9
2.6 ข่า	10
2.7 ขิง	11
2.8 ตะไคร้	12
2.9 ใบไทม์	12
2.10 ลูกจันทน์	13
2.11 กระวาน	14
2.12 พริกหอม	15
2.13 โป๊ยกั๊ก	15
2.14 พริกชี้ฟ้า	16
2.15 พริกไทย	17
2.16 ยี่หร่า	18
2.17 หอมแดง	19
2.18 มะกรูด	19
2.19 เมล็ดผักชี	20
2.20 โรสแมรี่	21
2.21 เชื้อ *Helicobacter pylori*	25
2.22 เชื้อ *Staphylococcus aureus*	26
2.23 เชื้อ *Salmonella* spp.	27
2.24 เชื้อ *Clostridium perfringens*	28
2.25 เชื้อ *Escherichia coli (E. coli)*	28
2.26 เชื้อ *Bacillus cereus*	29
2.27 เชื้อ *Yersinia enterocolitica*	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
2.28 เชื้อ *Listeria monocytogenes*	30
2.29 เชื้อ *Porphyromonas gingivalis*	31
2.30 เชื้อ *Pseudomonas fluorescens*	31
2.31 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอล	33
2.32 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์	34
2.33 สารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติและสังเคราะห์ขึ้น	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

เครื่องเทศเป็นผักหรือพืชใดๆที่แห้ง มีสารให้กลิ่นหอมฉุนและรสเผ็ดร้อน อาจอยู่ในรูปทั้งต้นหรือทั้งส่วนของพืช หรืออยู่ในรูปของส่วนที่แตกหัก หรืออยู่ในรูปที่บดเป็นผง หน้าที่หลักของเครื่องเทศคือใช้ในการแต่งกลิ่นและรสของอาหาร การที่อาหารมีกลิ่นหอมเป็นการช่วยเจริญอาหาร ช่วยกระตุ้นให้เกิดการย่อยอาหารเพิ่มขึ้น เครื่องเทศอาจได้มาจากส่วนต่างๆของพืชที่แห้ง เช่น ใบ เปลือกต้น (เช่นอบเชย) bud (เช่นกานพลู) ผล เช่น allspice ลูกจันทน์ (nutmeg) และส่วนอื่นๆ เป็นต้น (Hirasa และ Takemasa, 1998; Farrel, 1990) เครื่องเทศเหล่านี้เป็นพืชที่ประกอบด้วยเส้นใย น้ำตาล ไขมัน โปรตีน เถ้า ยาง(gum) น้ำมันหอมระเหยและสารประกอบอื่นๆ ซึ่งในบรรดาองค์ประกอบเหล่านี้ น้ำมันหอมระเหย (Volatile essential oil) เป็นส่วนที่สำคัญในการให้กลิ่นรสที่เฉพาะของเครื่องเทศ เนื่องจากมีองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิด กลิ่นและรสของเครื่องเทศมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปริมาณของน้ำมันหอมระเหยและสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมี (Hirasa และ Takemasa, 1998) เครื่องเทศไม่เพียงแต่นำมาใช้ในการประกอบอาหารเท่านั้น แต่ยังมีรายงานว่าเครื่องเทศหลายชนิดมีสมบัติในการต้านสารต้านอนุมูลอิสระได้ดี (Wojdylo และคณะ, 2007; Embuscado, 2015) และสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด (Shan และคณะ, 2007; Sethi และคณะ, 2013)

จุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหารหลายชนิดเป็นปัญหาส่งผลต่อคนทั่วโลก ยกตัวอย่างเช่น เชื้อ *Porphyromonas gingivalis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในช่องปากก่อให้เกิดโรคปริทันต์ และเหงือกอักเสบในมนุษย์ แบคทีเรียชนิดนี้สามารถทำลายเนื้อฟันและอาจทำให้เสียฟันไปในภายหลัง (Cai และ Wu, 1996) เชื้อ *Helicobacter pylori* เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหาร รวมทั้งช่วยเพิ่มความเสี่ยงต่อการเป็นโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร (Dog, 2006) เชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณผิวหนัง ต่อมผิวหนัง และชั้นเยื่อเมือกของสัตว์เลือดอุ่น อาการอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* จะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน เป็นตะคริวที่ท้องอ่อนเพลีย ซึ่งเป็นลักษณะเด่นและมักจะมีอาการท้องเสียอีกด้วย เชื้อ *Salmonella* spp. เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารเช่นกัน ซึ่งโรคที่เกิดจากเชื้อ *Salmonella* นั้นจะมีอาการแตกต่างกันไป โดยมี 2 แบบคือ 1. Enteritis จะมีภาวะลำไส้อักเสบ เป็นไข้อ่อนๆคลื่นไส้อาเจียน ปวดท้องและท้องเสีย 2. Systemmic disease ไข้ไทฟอยด์ที่ใช้เวลาในการฟักตัวตั้งแต่ 3-5 วัน และจะแสดงอาการออกมาอย่างช้า เช่น ปวดหัว ท้องผูก และปรากฏจุดสีแดงดอกกุหลาบตามร่างกาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Adams และ Moss, 1995) และนอกจากนี้ยังมีเชื้อจุลินทรีย์อีกหลายชนิดที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารได้ เช่น *Clostridium perfringens, Escherichia coli, Bacillus cereus, Yersinia enterocolitica, Listeria monocytogenes* เป็นต้น (Adams และ Moss, 1995) ส่วนใหญ่โรคทางเดินอาหารที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์มักใช้ยาสังเคราะห์หรือยาปฏิชีวนะในการรักษา ซึ่งการใช้ยาเหล่านี้มักมีผลข้างเคียงต่อร่างกายเช่น ยา Bismuth Subsalicylate ที่ทำให้ผู้ใช้ยาอาจมีอาการ hypercapnia, สับสน, ง่วง, หูอื้อ, อาเจียนและปวดท้อง (Steven และ Sainsbury, 1991) ดังนั้นทางเลือกที่ดีต่อสุขภาพคือการรับประทานเครื่องเทศซึ่งไม่มีผลข้างเคียงกับมนุษย์

จากการศึกษาของนักวิจัยหลายๆท่านพบว่าเครื่องเทศมีสมบัติสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ มีรายงานของ Shan และคณะ (2007) ได้รายงานว่า ผักชี ยี่หร่า กานพลู พริกไทยขาว พริกไทยดำ โรสแมรี่และใบไทม์ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียหลายชนิด กานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. gingivalis, E. coli, S. aureus* และ *P. fluorescens* ได้ (Cai และ Wu, 1996; Sethi และคณะ, 2013) ใบไทม์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค เช่น *B. cereus, E. coli* และ *S. aureus* (Al-Bayati, 2008) นอกจากนี้ยังพบว่า กระเจี๊ยบแดง ชะเอม ขมิ้น ขิง และยี่หร่า สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* ได้ (Liu และคณะ, 2008; Wittschier และคณะ, 2009; Dog, 2006) แต่ยังมีเครื่องเทศอีกหลายชนิดที่ไม่ได้มีการรายงานไว้จึงควรทำการศึกษาวิจัยต่อไป อย่างไรก็ตาม เครื่องเทศไม่เพียงแต่จะต้านแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารได้เท่านั้น ยังมีรายงานว่าเครื่องเทศมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย

การเน่าเสียของอาหารคือ การเปลี่ยนแปลงที่ไม่พึงประสงค์หรือการยอมรับไม่ได้สำหรับการบริโภค ซึ่งเกี่ยวข้องกับรสชาติ กลิ่น และลักษณะสัมผัสที่เปลี่ยนแปลงไป อาหารส่วนใหญ่จะเกิดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์โดยจุลินทรีย์จะเจริญเติมโตหรือเผาผลาญอาหารทำให้เกิดการเน่าเสียได้ง่ายยิ่งขึ้น (Blackburn, 2006) กลุ่มของแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ได้แก่ *Bacillus, Clostridium, Escherichia, Listeria, Pseudomonas, Staphylococcus, Salmonella* และ *Yersinia* ซึ่งเชื้อเหล่านี้มักพบในอาหารประเภทเนื้อสัตว์เน่าเสียง่าย โดยเฉพาะเนื้อไก่สดแช่เย็นที่มักจะเสื่อมเสียโดยแบคทีเรียที่ชอบเจริญที่อุณหภูมิต่ำ เช่น *Pseudomonas* ทำให้เก็บรักษาไว้ได้ไม่นานที่อุณหภูมิแช่เย็น (4 องศาเซลเซียส) (Jay และคณะ, 2005) นอกจากการเน่าเสียโดยจุลินทรีย์แล้ว เนื้อสดอาจเสื่อมคุณภาพโดยปฏิกิริยาเคมี เช่น การเกิดออกซิเดชันของไขมัน เนื่องจากในเนื้อสัตว์ประกอบไปด้วยไขมันไม่อิ่มตัวและ prooxidant ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีแนวโน้มทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ง่าย (Monahan, 2000) ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในเนื้อสัตว์สามารถเกิดขึ้นได้ 2 รูปแบบคือ 1) hydrolytic rancidity ซึ่งมักมีความสำคัญในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อในบางสถานการณ์ ปฏิกิริยาการหืนแบบนี้เริ่มเกิดขึ้นกับไขมันในเนื้อสัตว์โดยมีเอนไซม์เป็นตัวเร่งโดยเฉพาะในที่ซึ่งมีจุลินทรีย์เจริญอยู่และ 2) oxidative rancidity ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการหืน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบได้ในสัตว์บ่อยกว่า hydrolytic rancidity ปฏิกิริยาการหืนแบบนี้เป็นปฏิกิริยา auto-oxidation ที่เกิดขึ้นในสภาพที่มีออกซิเจนในบรรยากาศโดยออกซิเจนจะเข้าทำปฏิกิริยาที่พันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและในที่สุดจะทำให้กลิ่นและรสที่ผิดปกติในเนื้อสัตว์ (Hamilton, 1994) และเกิดสารไฮดรอกซิลเปอร์ออกไซด์ (hydroxyl peroxides) ที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ ดังนั้นจึงควรป้องกันการเกิดออกซิเดชันโดยใช้สารยับยั้งปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันโดยสารที่ยับยั้งออกซิเดชันทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระจะเรียกว่าสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Kolakowska, 2003; Yanishlieva-Maslarova และคณะ, 2001) โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะทำหน้าที่ให้หรือรับอิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ เพื่อให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรมากขึ้นหรือลดการก่อตัวของอนุมูลอิสระโดยการยับยั้งกิจกรรมหรือการแสดงออกของเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ รวมทั้งส่งเสริมกิจกรรมและการแสดงออกของเอนไซม์ที่สร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (Lu และคณะ, 2010) ดังนั้นจึงได้มีการใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์ ได้แก่ บิวทีเลเตตไฮดรอกซีอะนีโซล (BHA (butylated hydroxyanisole)) บิวทีเลเตตไฮดรอกซีโทลูอีน (BHT (butylated hydroxytoluene)) โพรพิล-แกลเลต (PG (propyl gallate)) เติมลงในอาหารเพื่อป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร (Maisuthisakul และคณะ, 2007; Yamazaki และคณะ, 2007) อย่างไรก็ตามการบริโภค BHT ในปริมาณที่สูงจะเป็นพิษต่อระบบประสาทและกระเพาะอาหาร (Nieva-Echevarría และคณะ, 2015) ดังนั้นการใช้เครื่องเทศซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ จึงมีความปลอดภัยกว่าสารที่สังเคราะห์จากเคมี ดังนั้นการใช้เครื่องเทศในการชะลอการเน่าเสียของเนื้อไก่สดแช่เย็น อาจเป็นอีกวิธีหนึ่งที่เป็นไปได้ เนื่องจากมีผู้ที่ประสบความสำเร็จในการใช้เครื่องเทศมาประยุกต์ในการชะลอการเน่าเสียของเนื้อสด เช่น Naveena และคณะ, 2006

ดังนั้นถ้าสามารถค้นหาเครื่องเทศที่มีคุณสมบัติในการต้านกิจกรรมของจุลินทรีย์ คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ จะทำให้เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการคัดเลือกเครื่องเทศของไทย ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้แทนสารเคมีในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารประเภทต่างๆ เพื่อช่วยป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหาร และนอกจากนี้ยังช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาของการผลิตภัณฑ์อาหาร รวมถึงสามารถช่วยต้านออกซิเดชันของไขมัน

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ
2. เพื่อศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของเครื่องเทศ
3. เพื่อนำเครื่องเทศมาประยุกต์ใช้ในการชะลอการเน่าเสียของน่องไก่สด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียและก่อโรคทางเดินอาหารของสารสกัดจากเครื่องเทศ ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและกิจกรรมทางพฤกษเคมีอื่นๆของเครื่องเทศหลายชนิดเพื่อคัดเลือกเครื่องเทศที่มีกิจกรรมดังกล่าวที่สูงมาเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงชนิดของสารสกัดเครื่องเทศที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียและก่อโรคทางเดินอาหารได้ดี
2. ทำให้ทราบถึงคุณสมบัติทางด้านพฤกษเคมีของเครื่องเทศ เช่น เป็นสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด
3. สามารถนำสารสกัดเครื่องเทศมาประยุกต์ใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเสียและแบคทีเรียก่อโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เครื่องเทศ

2.1.1 ความหมายของเครื่องเทศ

ความหมายและความสำคัญของเครื่องเทศ ในพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถาน พ.ศ. 2525 ได้ให้ความหมายของเครื่องเทศไว้ว่า เครื่องเทศคือของหอมฉุนและเผ็ดร้อนที่ได้จากต้นไม้สำหรับใช้ทำยาและปรุงอาหาร (รุ่งรัตน์, 2540)

เครื่องเทศ หมายถึงของหอมฉุนและเผ็ดร้อนที่ได้จากต้นไม้สำหรับใช้ทำยาและปรุงอาหาร ซึ่งเครื่องเทศเป็นพืชที่มีน้ำมันหอมระเหย (Aromatic plant) มักใช้เติมลงไปในอาหาร เพื่อเพิ่มกลิ่นและรสชาติให้กับอาหารให้น่ารับประทานยิ่งขึ้น แม้ว่าจะใช้ในปริมาณไม่มาก (รุ่งรัตน์, 2540)

เครื่องเทศ เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน เครื่องเทศมีความสำคัญมากต่ออุตสาหกรรมยารักษาโรค อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุตสาหกรรมอาหารแทบทุกประเภท เช่น อุตสาหกรรมกระป๋อง ซอส ซุป อาหารหมักดองและเครื่องดื่มบางชนิด ซึ่งในสมัยโบราณเครื่องเทศเป็นสิ่งแรกที่ทำให้เกิดการค้าแลกเปลี่ยนสินค้ากันขึ้นในระหว่างประเทศแถบตะวันออกกับประเทศแถบตะวันตก ในปีหนึ่งๆ มนุษย์จะใช้เครื่องเทศชนิดต่างๆ รวมกันแล้วนับได้หลายแสนตันหรือมูลค่าหลายล้านบาท (รุ่งรัตน์, 2540)

เครื่องเทศแต่ละชนิดมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันออกไป ทำให้เกิดกลิ่นและรสชาติที่เฉพาะตัว องค์ประกอบหลักๆ ดังนี้

Aldehyde คือกลุ่มของสารที่มีองค์ประกอบพื้นฐานเป็นพวกคาร์บอนและไฮโดรเจน ซึ่งจะจับกับออกซิเจนได้ง่าย กลายเป็นกรดคาร์บอนิก ทำให้เกิดรสเปรี้ยวเช่น Cinnamon Aldehyde ในเปลือกอบเชย (รุ่งรัตน์, 2540)

Alkaloid คือสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ นอกจากนี้ยังมีพวกคาร์บอน ไฮโดรเจนและออกซิเจนด้วย (รุ่งรัตน์, 2540)

Essential oil คือไขมันที่มีจุดเดือดต่ำ ระเหยได้ที่อุณหภูมิห้อง จึงมีส่วนสำคัญในการนำพาสารให้กลิ่นจากเครื่องเทศไปยังอวัยวะรับกลิ่นในจมูกของมนุษย์ พบมากในใบ ดอก ผลและเมล็ด อาจทำการแยกสารสกัดออกมาจากส่วนของพืชได้ง่ายโดยบีบกลั่นด้วยไอน้ำหรือสกัดด้วยสารละลายต่างๆ (รุ่งรัตน์, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 ประโยชน์ของเครื่องเทศ

1. ช่วยเพิ่มกลิ่นและรสชาติของอาหาร เครื่องเทศจะทำให้อาหารมีกลิ่นหอมและรสชาติน่ารับประทานมากยิ่งขึ้น ซึ่งกลิ่นของเครื่องเทศเกิดจากน้ำมันหอมระเหย ส่วนรสที่ได้จากเครื่องเทศส่วนใหญ่เป็นรสเผ็ดร้อน (รุ่งรัตน์, 2540)

2. ช่วยเพิ่มสีสันให้กับอาหาร ซึ่งเป็นสีธรรมชาติไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค สีที่ได้จากเครื่องเทศมีหลายสี เช่นสีเหลืองจากขมิ้น สีแดงจากพริกสุก เป็นต้น (รุ่งรัตน์, 2540)

3. ช่วยถนอมอาหารและดับกลิ่นอาหาร สำหรับเครื่องเทศที่ใช้ดับกลิ่นคาว เช่น ข่าและตะไคร้ เป็นต้น (รุ่งรัตน์, 2540)

2.1.3 เครื่องเทศที่ใช้ในการวิจัย

เครื่องเทศทั้งหมดจำนวน 21 ชนิดที่ใช้ในการศึกษาได้ทำการเก็บรวบรวมมาจากตลาดทั่วไปของกรุงเทพมหานคร โดยเครื่องเทศเหล่านี้เป็นสิ่งที่ใช้เติมลงไปในอาหาร เพื่อเพิ่มกลิ่นและรสชาติให้กับอาหารให้น่ารับประทานมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ได้แก่

2.1.3.1 กระชาย

รูปที่ 2.1 กระชาย

ที่มา : http://decembertown.com /กระชาย/ (สืบค้น 1 พ.ย. 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Gastrochilus panduratur* Ridl.

ชื่อวงศ์ ZINGBERACEAE

ลักษณะภายนอก เป็นไม้ล้มลุกที่ปลูกไว้ปรุงอาหารกันทั่วไป กระชายมีอยู่ 3 ชนิด กระชายเหลือง กระชายดำ และกระชายแดง ส่วนมากคนนิยมกินกระชายเหลือง กระชายมีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรคทั่วไปที่สามารถหาได้ง่ายตามร้านขายยาหรือตามท้องตลาด ซึ่งสามารถรักษาโรคได้หลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดและมีสรรพคุณ คือแก้โรคบิดมีตัว เป็นยาบำรุงกำลัง เป็นยาอายุวัฒนะ แก้วิงเวียนศีรษะ แก้ท้องเดิน แก้ฝีในปาก โดยทั่วไปแล้วในการนำกระชายมาทำเป็นยารักษาโรคจะใช้ส่วนหัวของกระชายมากกว่าส่วนอื่นๆ (สุทธิชัย, 2543)

องค์ประกอบทางเคมี

น้ำมันระเหยง่าย ร้อยละ0.08 ประกอบด้วย 1,8 cineol, boesenbergin A, dl-pinostrobin, camphor, cardamonin, panduratin นอกจากนี้ยังพบสาร flavonoid และ chromene เช่น 6- dihydroxy–4–methoxychalcone, pinostrobin, pinocembin (สุทธิชัย, 2543)

2.1.3.2. กระเจี๊ยบแดง

รูปที่ 2.2 ดอกกระเจี๊ยบแดง

ที่มา : http://decembertown.com/กระเจี๊ยบแดง/87/ (สืบค้น 1 พ.ย. 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Hibiscus sabdariffa* Linn.

ชื่อวงศ์ MALVACEAE

ลักษณะภายนอก เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก ลำต้น กิ่งก้านใบ มีสีแดง ใบเว้นลึกสามหยัก ดอกเหลือง กลางดอกสีแดง กลีบดอกมีสีแดงหนา รสเปรี้ยว ผลยาวปลายแหลมมีจีบตามยาว สามารถปลูกได้ในประเทศเขตร้อนทั่วไป โดยใช้เมล็ด สรรพคุณของกระเจี๊ยบแดงนั้นจะแบ่งตามส่วนต่างๆ เช่น ใบ มีรสเปรี้ยว รับประทานเพื่อขับเสมหะ ทำให้โลหิตไหลเวียนดี ช่วยย่อยอาหาร กลีบเลี้ยง สามารถขับปัสสาวะ แก้เสมหะ ขับน้ำดี ลดไข้ แก้อาการไอ แก้กระหายน้ำ ส่วนเมล็ด สามารถขับเหงื่อ ลดไขมันในโลหิต บำรุงโลหิต แก้โรคทางเดินปัสสาวะอักเสบ สามารถใช้เป็นยาระบายได้ (วุฒิ, 2540)

องค์ประกอบทางเคมี

กระเจี๊ยบแดงมีสาร Anthocyanin และกรดอินทรีย์หลายตัว เช่น citric acid, mallic acid, tartaric acid, vitamin C ทำให้ปัสสาวะมีฤทธิ์เป็นกรด นอกจากนี้ยังพบสารในกลุ่มของ Flavoniods และ Phenolic acid (Da-Costa-Rocha และคณะ 2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3.3 ชะเอม

รูปที่ 2.3 ชะเอมแผ่น

ที่มา : http://journaloftom.wordpress.com/2014/01/07 (สืบค้น 2 พ.ย. 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Glycyrrhiza glabra* Linn. *Var.typica* Regel.

ชื่อวงศ์ LEGUMINOSAE

ลักษณะภายนอก ชะเอมเป็นเถายืนต้นขนาดเล็ก มีความยาวประมาณ 1 เมตร มีรากใหญ่ แตกใบแขนง ใบประกอบรูปขนนก ใบย่อย 9-17 ใบ สีเขียวอมเหลือง ดอกช่อ กลีบมีสีม่วงอ่อนฝักแบนยาว ชะเอมมีสรรพคุณคือ ฝัก จะให้รสหวาน ใช้บำรุงกำลัง แก้คอแห้ง ทำให้ชุ่มคอ ใบ มีรสหวานเอียน ทำให้เสมหะแห้ง แก้ดีพิการ ดอก แก้ฝีดาษ ส่วนราก แก้เบื่ออาหาร แก้ไข้ บำรุงกล้ามเนื้อและส่วนเปลือกรากสามารถใช้เป็นยาระบายท้องในเด็กอ่อน (วุฒิ, 2540)

องค์ประกอบทางเคมี

ชะเอม มีสารในกลุ่ม steriods, prostaglandins, carbohydrates, phenols, glycosides (cardiac glycosides, diterpene glycosides) และ sapongenins เป็นองค์ประกอบ (วุฒิ, 2540)

2.1.3.4 กระเทียม

รูปที่ 2.4 กระเทียม

ที่มา : http://sellspices.blogspot.com/2012/04/sell-garlic.html (สืบค้น 1 พ.ย. 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Allium sativum* L.

ชื่อวงศ์ AMARYLLIDACEAE

ลักษณะภายนอก กระเทียมเป็นพืชในตระกูลแอลเลียม (Allium) เช่นเดียวกับหัวหอมมีประโยชน์ในการรักษาโรคมากมาย กระเทียมประกอบไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุหลายชนิด โพแทสเซียม เหล็ก แคโรทีน เจอร์เมเนียม และซีลีเลียม ที่สำคัญยังมีกรดอะมิโนเอซิด แอลลิซิน (Amino Acid Allcin) ซึ่งมีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นกระเทียมจึงมีคุณสมบัติในการรักษาโรค เช่น โรคหืด สิว ความผิดปกติของแก้วหู ความผิดปกติของถุงน้ำดี อาหารไม่ย่อยและท้องเสีย นอกจากนี้กระเทียมมีคุณสมบัติในการทำให้เกิดความสมดุลในการเผาผลาญอาหารและช่วยเสริมภูมิคุ้มกันของร่างกาย (สุทธิชัย, 2543)

องค์ประกอบทางเคมี

กระเทียมมีน้ำมันหอมระเหยประมาณร้อยละ 0.6-1 ในน้ำมันหอมระเหยมีสารเคมีที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบหลายชนิด ตัวที่สำคัญก็คือ อัลลิซิน นอกจากนี้ยังมี Sulfane dimethy dipropl-disulfide sllinase อัลลิซิน เป็นน้ำมันไม่มีสี ละลายได้ในน้ำ ในแอลกอฮอล์ เบนซิน และอีเทอร์ (วุฒิ, 2540) นอกจากนี้กระเทียมยังมีสารประกอบเคมีในกลุ่มของ Allicin, diallyl disulfide และ allyl isothiocyanate (Kaefer และ Milner, 2008)

2.1.3.5 กานพลู

รูปที่ 2.5 กานพลู

ที่มา : http://ict.sci.psu.ac.th/web_sciweek_56/final/senior/5/Sasnu%20Sky.html (สืบค้น 1 พ.ย. 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Syzygium aromaticum*

ชื่อวงศ์ MYRTACEAE

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะภายนอก กานพลูจัดเป็นไม้ยืนต้น มีใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม ใบอ่อนสีแดงหรือน้ำตาลแดง กานพลูจัดเป็นเครื่องเทศและสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยา มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว (รุ่งรัตน์, 2540) โดยทั่วไปมักจะนำดอกตูมของกานพลูมาทำเป็นยารักษาอาการต่างๆ เช่น แก้อาการท้องอืด อาหารไม่ย่อย รักษาโรคพยาธิ และฆ่าเชื้อรา ในการปรุงยานั้นส่วนใหญ่จะนำดอกตูมของกานพลูมาตากแห้ง ซึ่งกานพลูหาซื้อได้ง่าย มีขายตามร้านขายยาแผนโบราณทั่วไป (สุทธิชัย, 2543)

องค์ประกอบทางเคมี

กานพลูมีสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ Eugenol, eugenol acetate, ß-caryophyllene, α-cububene, acopaene, isoeugenol, nerolidol และ farnesol (Kaefer และ Milner, 2008; Peter, 2001) นอกจากนี้กานพลูยังมีสารจำพวก isoeugenol และ gallic acid อีกด้วย (Kaefer และ Milner, 2008)

2.1.3.6 ข่า

รูปที่ 2.6 ข่า

ที่มา : http://alangcity.blogspot.com/2013/02/blog-post_7538.html

(สืบค้น 2 พ.ย. 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Alpinia galangal* Swartz.

ชื่อวงศ์ ZINGIBERACEAE

ลักษณะภายนอก เป็นไม้ล้มลุกจำพวกเหง้า เหง้าใหญ่ขาวอวบ ต้นสูงประมาณ 2 เมตร ใบพายปลายแหลม ยาวประมาณ 20-50 เซนติเมตร ขอบเรียบมีขนเล็กน้อย ก้านใบสั้น มีกาบใบห่อหุ้มลำต้นบนดิน ออกดอกเป็นช่อ ดอกเล็กสีขาวอมเขียว ผลกลมรี สีแดงส้ม ถ้าแก่จัดจะมีสีดำ มีเมล็ด 2-3 เมล็ด ข่าจะมีรสเผ็ดร้อน ซึ่งมีสรรพคุณ คือ ช่วยย่อยอาหาร แก้ปวดท้อง ท้องอืดท้องเฟ้อ แก้บิดมีตัวและบิดไม่มีตัว บำรุงธาตุ แก้อาการปวดท้อง แก้ตกเลือด เป็นต้น (วุฒิ, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบทางเคมี

น้ำมันหอมประมาณร้อยละ 0.04 ประกอบด้วย methyl-cinnamate ร้อยละ48 cinenol ร้อยละ 20-30 ที่เหลือเป็นการบูร และ d-pinene (วุฒิ, 2540)

2.1.3.7 ขิง

รูปที่ 2.7 ขิง

ที่มา : http://frynn.com/%E0%B8%82%E0%B8%B4%E0%B8/ (สืบค้น 2 พ.ย. 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Zingiber officinale* Roscoe.

ชื่อวงศ์ ZINGIBERACEAE

ลักษณะภายนอก ขิงเป็นทั้งพืชเครื่องเทศและพืชสมุนไพร จัดเป็นพืชไร่และพืชผักประเภทล้มลุก มีลำต้นใต้ดิน เรียกว่าเหง้าหรือแง่ง เจริญขึ้นเป็นกอ ลำต้นแท้มีลักษณะเป็นข้อๆ แข็ง มีสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน จะแตกแขนงไปกับพื้นดิน ลำต้นส่วนเหนือดินเป็นลำต้นเทียม ส่วนใบเป็นใบเดี่ยว ใบจะออกเรียงสลับกันเป็นสองแถว ดอกมีสีขาวออกเป็นช่อ ส่วนผลมีลักษณะกลม แข็ง และโต สรรพคุณของขิงคือ ช่วยขับลม ช่วยขยายหลอดเลือดใต้ผิวหนัง ช่วยย่อยอาหาร แก้ท้องอืดจุกเสียด ขับเสมหะ และนอกจากนี้ ขิงยังมีสารที่สำคัญคือ น้ำมันหอมระเหย มีประมาณ ร้อยละ0.5-4.4 ประกอบด้วย terpene, zingiberine และ cineol (รุ่งรัตน์, 2540)

องค์ประกอบทางเคมี

เหง้าแก่ของขิง มีสารจำพวก Oleo-resin เป็นสารที่ทำให้มีรสเผ็ดและมีกลิ่นหอม (วุฒิ, 2540) ขิงยังมีสารต้านอนุมูลอิสระได้แก่ α -Zingiberene, geranial, geraniol, β-bisabolene, nerol, 1,8-cineol, α-terpineol, borneol, β-phellandrene, linalool, methyl nonyl ketone และ camphene นอกจากนี้ยังพบสารประกอบทางเคมีในขิงอีกหลายชนิด คือ Zingiberone, ingerol, paradol และ curcumin, shagoal (Kaefer และ Milner, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3.8 ตะไคร้

รูปที่ 2.8 ตะไคร้

ที่มา : http://myveget.com89.html (สืบค้น 2 พ.ย. 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Cymbopogon citratus (DC.) Stapf*

ชื่อวงศ์ GRAMINAE

ลักษณะภายนอก เป็นไม้ล้มลุกที่มีอายุหลายปีสามารถปลูกได้ทั่วไปโดยเฉพาะบริเวณดินร่วนซุย ใบตะไคร้มีสีเขียวยาวแหลม ดอกฟูสีขาว หัวโตขึ้นจากดินเป็นกอๆ กลิ่นหอมฉุนค่อนข้างร้อน ซึ่งโดยทั่วไปตะไคร้มีสรรพคุณดังนี้ น้ำมันจากใบและต้น นำมาแต่งกลิ่นอาหาร เครื่องดื่ม สบู่ เพื่อให้กลิ่นหอม ลำต้นแก่หรือเหง้าของตะไคร้ นำมารักษาอาการต่างๆของโรคได้เช่น แก้อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับประจำเดือน ขับปัสสาวะ แก้นิ่ว (สุทธิชัย, 2543)

องค์ประกอบทางเคมี

ตะไคร้ มีน้ำมันหอมระเหยที่ประกอบไปด้วย Alcohol ที่เรียกว่า geraniol ร้อยละ55-92, citronellal, citronellol และ borneol (วุฒิ, 2540) นอกจากนี้ตะไคร้ มีสารช่วยในการขับน้ำดีมาช่วยย่อย คือ borneol และ cineole อีกทั้งยังมีสารในกลุ่ม Farnesol (Kaefer และ Milner, 2008)

2.1.3.9 ใบไทม์

รูปที่ 2.9 ใบไทม์

ที่มา : http://www.baanjomyut.com/library_2/spices/11.html (สืบค้น 2 พ.ย. 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Thymus vulgaris*

ชื่อวงศ์ LABIATAE

ลักษณะภายนอก ใบไทม์มีลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก ลำต้นเตี้ย ทอดเลื้อยตามหน้าดิน แตกกิ่งก้านหนาแน่น ใบมีขนาดเล็กออกเรียงสลับ ใบดอกตลอดปีไม่ผลัดใบ มีถิ่นกำเนิดในประเทศสหรัฐอเมริกาและยุโรป อยู่ในสกุลเดียวกับมินต์ (Lamiaceae) ดอกสีขาว ชมพู ม่วง ออกเป็นกระจุกที่ปลายยอด ทั้งลำต้นและใบเป็นสีเขียวอมเทา ลำต้น กิ่งก้าน และใบ มีกลิ่นหอมอ่อนๆ เฉพาะส่วนที่นำมาใช้เป็นเครื่องเทศ คือ ใบ การใช้ประโยชน์ใบไทม์นำมาใช้กับอาหารประเภทเนื้อสัตว์ จะช่วยให้ลำไส้และกระเพาะอาหารทำงานย่อยเนื้อสัตว์ได้ดีขึ้น จะใส่ในเนื้อย่าง สตู (stew) หรือซุปเนื้อ ส่วนคนไทยจะเอามาเคี้ยวกินกับเนื้อน้ำตก ไก่ย่าง เนื้อย่าง (สุทธิชัย, 2543)

องค์ประกอบทางเคมี

ใบไทม์ มีสารประกอบทางเคมี Thymol ร้อยละ 49.85 และยังพบสารประกอบเคมีอื่นๆ หลายชนิด ได้แก่ carvacrol, cineole, α-pinene, apigenin, β-carotene, eugenol, limonene, ursolic acid, luteolin, gallic acid, caffeic acid, rosmarinic acid, carnosic acid และ hispidulin, cismaritin (Kaefer และ Milner, 2008)

2.1.3.10 ลูกจันทน์

รูปที่ 2.10 ลูกจันทน์

ที่มา : http://forebay.plazacool.com/forebay-item- -pid440236.html (สืบค้น 2 พ.ย. 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Myristica fragrans* Linn.

ชื่อวงศ์ MYRISTICACEAE

ลักษณะภายนอก ลูกจันทน์เป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ ใบเดี่ยวรูปไข่ขอบขนาน ปลายแหลม ยาวประมาณ 10 เซนติเมตร ผิวมัน แยกเป็นต้นตัวผู้และตัวเมีย ดอกเดี่ยว กลีบดอกเล็ก รูปโคนสีเหลือง ลูกจันทน์เป็นพืชที่ปลูกเพื่อการค้าได้เป็นอย่างดีมีราคาสูง ต้นจันทน์เทศจะมีอายุ 8-9 ปี ไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จนถึง 30 ปี สรรพคุณทางยาของจันทน์เทศ คือ แก้ท้องร่วง บำรุงโลหิต กระหายน้ำ แก้ปวดมดลูก เป็นต้น นอกจากนี้จันทน์เทศยังมีสารสำคัญ คือ น้ำมันหอมระเหย ประมาณ ร้อยละ8-15 (วุฒิ, 2540)

องค์ประกอบทางเคมี

ลูกจันทร์ มีสารประกอบทางเคมี คือ Caffeic acid และ catechin (Kaefer และ Milner, 2008)

2.1.3.11 กระวาน

รูปที่ 2.11 กระวาน

ที่มา : http://www.thiposod.com/?name=knowledge&file=readknowledge&id=20

(สืบค้น 2 พ.ย. 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Amomum krervanh* Pierre., A. *cardamomun* Linn.

ชื่อวงศ์ ZINGIBERACEAE

ลักษณะภายนอก กระวานเป็นพืชล้มลุกประเภทเหง้า สูงประมาณ 3 เมตร ใบรูปดอกกว้าง ดอกออกจากเหง้าเป็นช่อทรงพุ่ม สีเหลือง ผลกลมสีขาวนวลสีน้ำตาลอ่อน หรือ สีแดง ภายในมีเมล็ดสีน้ำตาลไหม้ติดกันเป็นกลุ่มก้อน ผลจะอยู่ติดกับก้านรวมเป็นช่อ กระวานมีหลายสายพันธุ์ ส่วนมากการใช้เป็นยาหรือปรุงยา จะมักใช้กระวานแดง หรือเรียกว่า กระวานดำ สรรพคุณของกระวานคือ กระวานมีรสเผ็ด ส่วนใบสามารถขับลม ขับเสมหะ แก้ลม ดอก แก้ตาเจ็บ ตาแฉะ ตามัว ลูกกระวาน ขับเสมหะ ขับโลหิต แก้อาการอาหารไม่ย่อย ท้องอืดท้องเฟ้อ ส่วนเหง้าหรือหน่อ ช่วยขับพยาธิที่อยู่ในเนื้อได้ด้วย (วุฒิ, 2540)

องค์ประกอบทางเคมี

กระวาน หรือเม็ดกระวานมีสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ คือ Limonene, caffeic acid (Kaefer และ Milner, 2008) ผลของกระวานมีสาระสำคัญคือพิมเสน ร้อยละ 22.5 ในน้ำมันประกอบด้วย d-borneol และ d-camphor (วุฒิ, 2540) สารในกลุ่มเทอร์ปีนและ Diterpene peroxide ฤทธิ์ช่วยยับยั้งเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* สารที่ออกฤทธิ์คือ Cineole

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ยังพบสารต้านอนุมูลอิสระได้แก่ α-terpinyl acetate, limonene, borneol, methyleugenol, α-pinene, β-pinene, sabinene, myrcene, aphellandrene, ɣ-terpinene, *p*-cymene, terpinolene, linalool, linalyl acetate (Agbor และคณะ, 2006; Peter, 2001)

2.1.3.12 พริกหอม

รูปที่ 2.12 พริกหอม

ที่มา : http://sellspices.blogspot.com/2012/05/pimienta-de-sichuan.html (สืบค้น 2 พ.ย. 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Zanyhoxylum budrunga* Wall.

ชื่อวงศ์ RUTACEAE

ลักษณะภายนอก พริกหอมเป็นไม้เถายืนต้น ใบสีเขียวทึบ ผลเท่าเมล็ดพริกไทย เปลือกสีแดงเป็นช่อ เมื่อแก่จะแตกออก มีเมล็ดสีดำเล็กๆ กลมผิวมัน เกิดตามป่าดงดิบแล้ง ป่าเบญจพรรณทั่วไป สามารถขยายพันธุ์โดยเมล็ดได้ สรรพคุณทั่วไปของพริกหอมคือ ใบ มีรสเผ็ด แก้รำมะนาด แก้ปวดฟัน ส่วนเมล็ด ขับลมในลำไส้ ขับปัสสาวะ บำรุงธาตุ หนองใน (วุฒิ, 2540)

2.1.3.13 โป๊ยกั๊ก

รูปที่ 2.13 โป๊ยกั๊ก

ที่มา : http://frynn.com81/ (สืบค้น 2 พ.ย. 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Illicium verum* Hooker.

ชื่อวงศ์ ILLICEACEAE

ลักษณะภายนอก โป๊ยกั๊กเป็นไม้ยืนต้นพุ่มขนาดเล็ก ใบเดี่ยวรูปไข่ ปลายแหลม ดอกเดี่ยว ขาว ผลมีลักษณะเป็นรูปดาว 8 แฉก สามารถเก็บผลได้เมื่อแก่จัด มีถิ่นกำเนิดทางภาคตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศจีนและตังเกี๋ยในเวียดนาม มีอายุประมาณ 80-100 ปี สามารถนำผลมาทำเป็นเครื่องเทศและยาได้ สรรพคุณของโป๊ยกั๊กคือให้รสหอมร้อน ขับลม ขับเสมหะ บำรุงธาตุ แก้อาการอาหารไม่ย่อย แก้ลมกองหยาบ (วุฒิ, 2540)

องค์ประกอบทางเคมี

โป๊ยกั๊ก มีสารต้านอนุมูลอิสระคือ Chlorogenic acid isomers, trans-anethole, estragole, anise ketone และ anisic acid (วุฒิ, 2540)

2.1.3.14 พริกชี้ฟ้า

รูที่ 2.14 พริกชี้ฟ้าแดง

ที่มา : http://www.sahavicha.com/?name=knowledge&file=read (สืบค้น 2 พ.ย. 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Capsicum annuum* Linn .

ชื่อวงศ์ SOLANACEAE

ลักษณะภายนอก พริกชี้ฟ้ามีต้นลักษณะคล้ายต้นพริกขี้หนู แต่ใบมีขนาดใหญ่กว่ารูปหัวใจเรียว ผลกลมยาวปลายแหลม สีขาว เหลืองอ่อนหรือเขียว ผลแก่มีสีส้มหรือแดง ยาวกว่าพริกขี้หนู ผลชี้ขึ้นข้างบน รสเผ็ดจัด รากพริกเป็นรากแก้ว ใบเป็นใบเดี่ยว ผิวใบเรียบไม่มีขน ลักษณะใบเป็นรูปหอก ส่วนดอกเป็นดอกเดี่ยวขนาดเล็ก สรรพคุณรวมของพริกโดยรวมคือ แก้ลมจุกเสียด แก้ท้องอืด ทำให้เจริญอาหาร แก้เส้นเอ็น แก้ปวดเมื่อยตามร่างกาย ทำให้การไหลเวียนของเลือดดีขึ้น (วุฒิ, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบทางเคมี

พริกนั้นมีสารที่สำคัญคือ Capsaicin นอกจากนั้นยังมีสารอื่นๆที่ให้ความเผ็ดอีก และพริกยังมีสารต้านอนุมูลอิสระ ยกตัวอย่างเช่น Alanine, ascorbic acid และ bata-carotene และสารประกอบเคมีอีกหลายชนิด เช่น α-Tocopherol, capsaicin, dihydrocapsaicin, lutein, β-carotene, ascorbic acid และ vitamin E (Kaefer และ Milner, 2008)

2.1.3.15 พริกไทย

รูปที่ 2.15 พริกไทย

ที่มา : http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action (สืบค้น 2 พ.ย. 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Piper nigrum* Linn.

ชื่อวงศ์ PIPERACEAE

ลักษณะภายนอก พริกไทยเป็นเครื่องเทศชูรสอาหารและยังเป็นสมุนไพรรักษาโรคได้หลายชนิด ซึ่งพริกไทยมีสรรพคุณทางยามากมาย นำมารักษาโรคต่างๆได้ ไม่ว่าจะเป็นโรคเกี่ยวกับท้อง เกี่ยวกับทางเดินอาหารตัวอย่างเช่น พริกไทยมีสรรพคุณรักษาโรคท้องเฟ้อ โดยการนำพริกไทยดำป่นลงในอาหารที่ท่านรับประทานหรืออาจใช้พริกไทยอ่อนนำมาทำเป็นกับข้าว พริกไทยอ่อนเป็นอาหารเรียกน้ำย่อยและช่วยย่อยอาหารได้ดี ในช่วงที่มีอากาศร้อน การกินพริกไทยมากทำให้ร่างกายร้อนได้ (สุทธิชัย, 2543)

องค์ประกอบทางเคมี

พริกไทย มีสารต้านอนุมูลอิสระ คือ a-Pinene, linalool, β-damascenone, eugenol, skatole, mcresol, guaiacol และ piperonal นอกจากนี้ยังมีสารประกอบเคมีชนิดอื่นคือ Piperidine, piperine, limonene, α-pinene และ β- pinene (Kaefer และ Milner, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3.16 ยี่หร่า

รูปที่ 2.16 ยี่หร่า

ที่มา : http://sellspices.blogspot.com/2012/04/cinnamon.html (สืบค้น 2 พ.ย. 2557)

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Ocimum gratissimum* Linn.

ชื่อวงศ์ LAMIACEAE

ลักษณะภายนอก ยี่หร่าเป็นญาติห่างๆ กับพืชในสกุลกระเพรา (สกุล Ocimum) เป็นไม้พุ่มเตี้ย มีความสูงประมาณ 50-80 เซนติเมตร ลำต้นมีสีน้ำตาลแก่ แตกกิ่งก้านสาขาขนาดเล็ก กิ่งก้านไม่ใหญ่ ในช่วงปีแรกและปีที่สองจึงออกดอกออกผล ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเมล็ด และการปักชำกิ่งเจริญเติบโตได้ดีในดินร่วนซุยและมีความชื้นปานกลางในสภาพกลางแจ้ง ใบเดี่ยวออกตรงข้ามกันเป็นคู่ๆ ลักษณะเป็นรูปกลมรี โคนใบสอบ ปลายใบแหลม ขอบใบหยักเป็นฟันเลื่อย ใบสีเขียวสด ผิวใบสากมือ ใบยี่หร่ามีกลิ่นหอมเฉพาะตัว มีรสร้อน จึงช่วยดับกลิ่นคาวจากอาหารจำพวกเนื้อสัตว์เนื้อปลาได้เป็นอย่างดี ดอกยี่หร่าออกดอกเป็นช่อที่บริเวณปลายยอด ช่อดอกนั้นจัดเป็นแบบ Spike-like raceme ดอกจะบานจากล่างไปหาปลายช่อ โดยแต่ละช่อจะประกอบไปด้วยดอกย่อยขนาดเล็กประมาณ 50-100 ดอก ยี่หร่ามีสรรพคุณดังนี้ ช่วยแก้อาการคลื่นไส้ ด้วยการใช้ใบนำมาชงเป็นชาดื่มจนกว่าจะหาย ช่วยในการทำงานของระบบย่อยอาหาร ช่วยแก้อาการปวดท้องเนื่องจากอาหารไม่ย่อย ช่วยฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยการใช้ผลแห้งประมาณ 3-5 กรัมนำมาชงกับน้ำเดือดประมาณ 1 ลิตร ทิ้งไว้สักระยะแล้วจึงนำมาดื่มวันละ 3-4 ถ้วยตวง (สุทธิชัย, 2543)

องค์ประกอบทางเคมี

ยี่หร่า มีสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ คือ Carvone, limonene, α-pinene, kaempferol และเม็ดของยี่หร่า ยังพบสารประกอบทางเคมีหลายชนิด ได้แก่ α-Pinene, β-carotene, limonene, quercetin, benzoic acid, β-sitosterol, caffeic acid,cinnamic acid, ferulic acid, fumaric acid, kaempferol, myristicin, 1,8-cineole, *p*-coumaric acid, quercetin, rutin, vanillic acid และ vanillin (Kaefer และ Milner, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3.17 หอมแดง

รูปที่ 2.17 หอมแดง

ที่มา : http://www.baanmaha.com/community/thread40164.html (สืบค้น 2 พ.ย. 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Allium ascalonicum* Linn.

ชื่อวงศ์ AMARYLLIDACEAE

ลักษณะภายนอก หอมแดงเป็นพืชล้มลุก และเป็นพืชผักส่วนครัวชนิดหนึ่ง รากเป็นรากฝอย มีหัวอยู่ใต้ดิน ประกอบด้วยหัวเล็กหลายหัวอยู่รวมกัน มีเปลือกนอกสีขาวห่อหุ้ม ใบมีลักษณะปลายแคบ ปลายแหลม ดอกจะออกเป็นกลุ่ม กลม ประกอบด้วยดอกหลายดอก ก้านดอกมีสีขาว สรรพคุณทั่วไปของหอมแดงคือ ใช้เป็นยาขับปัสสาวะ ขับประจำเดือน แก้ไข้ลดความร้อน ยาแก้ลมพิษ มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อโรค และหอมแดงยังมีสารประเภทน้ำมันหอมระเหย ส่วนที่นำมาใช้คือส่วนหัวหรือต้น (รุ่งรัตน์, 2540)

องค์ประกอบทางเคมี

หอมแดง มีสารประกอบทางเคมี คือ Quercetin และ dipropyl disulfides (Kaefer และ Milner, 2008)

2.1.3.18 มะกรูด

รูปที่ 2.18 มะกรูด

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1493/kaffir-lime94 (สืบค้น 2 พ.ย. 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Citrus hystrix* DC.

ชื่อวงศ์ RUTACEAE

ลักษณะภายนอก มะกรูดมีลักษณะคล้ายมะนาวแต่จะมีผิวที่ขรุขระกว่ามะนาว มะกรูดเป็นไม้พุ่มขนาดใหญ่ลำต้นเกลี้ยงเกลา กิ่งก้านมีหนามแหลมแข็ง ใบจะมีลักษณะสีเขียว มีกลิ่นฉุนของน้ำมันหอมระเหย ออกดอกเป็นช่อสีเขียวปนเหลืองบ้าง ผลมีลักษณะลูกกลมผิวขรุขระ ส่วนที่นำมาเป็นยาและสรรพคุณของมะกรูด คือ รากมะกรูด สามารถกระทุ้งพิษ แก้ภายใน และแก้เสมหะ ใบมะกรูด จะมีน้ำมันหอมระเหย ผลมะกรูดนำมาใช้แต่งกลิ่น และนำมาเป็นยาขับลมในลำไส้ แก้แน่นหน้าอก มะกรูดสามารถหาซื้อได้ง่ายและการปลูกก็ไม่ยาก (สุทธิชัย, 2543)

องค์ประกอบทางเคมี

ใบมะกรูด มีน้ำมันระเหยง่ายประมาณร้อยละ 0.08 ซึ่งองค์ประกอบหลักเป็น แอล-ซิโตรเนลลาล (l-citronellal) ประมาณร้อยละ 65, citronellol และ citronellol acetate นอกจากนี้ยังพบ sabinene, alpha-pinene, β-pinene, , cymene, linalool และสารอื่นที่พบได้แก่ indole alkaloids, rutin, hesperidin, diosmin และ α-tocopherol (สุทธิชัย, 2543)

2.1.3.19 เมล็ดผักชี

รูปที่ 2.19 เมล็ดผักชี

ที่มา : http://sellspices.blogspot.com/2012/04/coriander-seeds.html (สืบค้น 2 พ.ย. 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Coriandrum sativum* Linn.

ชื่อวงศ์ UMBELLIFERAE

ลักษณะภายนอก เมล็ดผักชีเป็นไม้ล้มลุกขนาดเล็ก กิ่งก้านเนื้ออ่อนกลวงผิวเรียบ แผ่นใบแบน รูปทรงกลม ดอกเล็กสีขาว ออกดอกเป็นช่อที่ปลายยอด ติดผลในหน้าหนาว ใช้ทั้งต้นเป็นอาหารหรือปลูกเก็บผลขาย ผักชีมีสรรพคุณ คือ ขับเหงื่อ แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ ดับกลิ่นคาวปลาคาวเนื้อ แก้ปวดศีรษะ แก้กระหาย แก้บิด แก้เจ็บตา เป็นต้น (วุฒิ, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบทางเคมี

ผักชี มีสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ Quercetin, caffeic acid, cineole, geraniol, borneol, 1,8-cineole, α-terpinene, β-carotene, β-pinene, β-sitosterol, cinnamic acid, ferrulic acid, γ-terpinene, kaempferol, limonene, myrcene, *p*-coumaric acid, *p*-cymene, quercetin, rutin และ vanillic acid (Kaefer และ Milner, 2008)

2.1.3.20 โรสแมรี่

รูปที่ 2.20 โรสแมรี่

ที่มา : http://www.nanagarden.com-11.html (สืบค้น 2 พ.ย. 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Rosmarinus officinalis* L.

ชื่อวงศ์ LABIATAE

ลักษณะภายนอก โรสแมรี่เป็นไม้ยืนต้นพุ่มเตี้ย ตระกูลเดียวกับมินต์ ใบเขียวสด เรียวตรง หน้าใบสีเขียวเข้ม ใต้ใบสีเขียวจางๆ ออกดอกเป็นกลุ่มเล็กๆ สีน้ำเงินอ่อน แพร่พันธุ์โดยการใช้เมล็ด ปักชำ ตอนกิ่ง และแขนงราก โรสแมรี่จะเติบโตได้ดีมากในดินร่วนซุย และควรปลูกในที่ที่มีร่มเงา ลักษณะต้นที่ดูสวยงามมักจะเพาะจากเมล็ด มีน้ำมันหอมระเหยที่สามารถใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องสำอาง นำมาทำน้ำหอม และแต่งกลิ่นอาหารได้ โรสแมรี่นำมาใช้ประโยชน์ไม่ว่าจะเป็น ลำต้น น้ำมัน และใบอ่อน ทำเป็นยาเพื่อบำบัดอาการต่างๆ สำหรับต้นโรสแมรี่นั้นประกอบด้วย กรดแทนนิน พร้อมเรซิ่น ซึ่งเป็นน้ำมันหอมระเหย ที่มีรสขม ส่วนประกอบหลักในน้ำมันโรสแมรี่คือ borneol bornyl acetate และ ester การบูรชนิดพิเศษ คล้ายๆ กับชนิดที่มีส่วนผสมของ myrtle, cineol, pine และ camphene (วุฒิ, 2540; Kaefer และ Milner, 2008)

องค์ประกอบทางเคมี

ดอกของโรสแมรี่ มีสารประกอบทางเคมี ได้แก่ Carnasol, carnosic acid, cineole, geraniol, α-pinene, β-carotene, apigenin, limonene, naringin, luteolin, caffeic acid, rosmarinic acid, rosmanol และ vanillic acid (Kaefer และ Milner, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 สารประกอบทางเคมีของเครื่องเทศชนิดต่างๆ

เครื่องเทศ	ชื่อวิทยาศาสตร์	สารประกอบทางเคมี
กระชาย	*Gastrochilus panduratur* Ridl.	1,8-cineol, boesenbergin A, dl-pinostrobin, camphor, cardamonin, panduratin, 6-dihydroxy –4–methoxychalcone, pinostrobin และ pinocembin (สุทธิชัย, 2543)
กระเจี๊ยบแดง	*Hibiscus sabdariffa* Linn.	Anthocyanin, mallic acid, vitamin C, Flavoniods และ Phenolic acid (Da-Costa-Rocha และคณะ, 2014)
กระเทียม	*Allium sativum* L.	Sulfane dimethy dipropl-disulfide sllinase, Allicin, diallyl disulfide และ allyl isothiocyanate (Kaefer และ Milner, 2008)
กานพลู	*Syzygium aromaticum*	Eugenol, eugenol acetate, β-caryophyllene, α-cububene, acopaene, isoeugenol, nerolido, farnesol , isoeugenol และ gallic acid (Kaefer และ Milner, 2008)
ข่า	*Alpinia galangal* Swartz.	methyl-cinnamate , cinenol และ d-pinene (วุฒิ, 2540)
ขิง	*Zingiber officinale* Roscoe.	α-Zingiberene, geranial, geraniol, β-bisabolene, nerol, 1,8-cineol, α-terpineol, borneol, β-phellandrene, linalool, ingerol, paradol และ curcumin, shagoal (Kaefer และ Milner, 2008)
ชะเอม	*Glycyrrhiza glabra* Linn. *Var.typica* Regel.	steriods, prostaglandins, carbohydrates, phenols, glycosides (cardiac glycosides, diterpene glycosides) และ sapongenins (วุฒิ, 2012)
ตะไคร้	*Cymbopogon citratus (DC.) Stapf.*	geraniol, citronellal, citronellol และ borneol (วุฒิ, 2540)
ใบไทม์	*Thymus vulgaris*	Thymol (Nezhadali et al., 2014), carvacrol, cineole, α-pinene, apigenin, β-carotene, eugenol, , carnosic acid ,hispidulin และ cismaritin (Kaefer และ Milner, 2008))
โป๊ยกั๊ก	*Illicium verum* Hooker	Chlorogenic acid isomers, trans-anethole, estragole, anise ketone, anisaldehyde และ anisic acid (Kaefer และ Milner, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 สารประกอบทางเคมีของเครื่องเทศชนิดต่างๆ (ต่อ)

เครื่องเทศ	ชื่อวิทยาศาสตร์	สารประกอบทางเคมี
พริกไทย	*Piper nigrum* Linn.	α-Pinene, β-damascenone, eugenol, guaiacol, piperonal Piperidine, piperine, limonene, α-pinene และ β-pinene (Kaefer และ Milner, 2008)
มะกรูด	*Citrus hystrix* DC.	l-citronellal, citronellol, citronellol acetate, sabinene, α-pinene, β-pinene (สุทธิชัย, 2553)
กระวาน	*Amomum krervanh Pierre, A. cardamomun Linn.*	Limonene, caffeic acid (Kaefer, 2008), terpinyl acetate, limonene, borneol, methyleugenol, α-pinene, β-pinene, sabinene, myrcene, aphellandrene, ɣ-terpinene, *p*-cymene, terpinolene, linalool, linalyl acetate (Agbor และคณะ, 2006; Peter, 2001)
เมล็ดผักชี	*Coriandrum sativum Linn.*	Quercetin, caffeic acid, cineole, geraniol, borneol, 1,8-cineole, α-terpinene, β-carotene, β-pinene, β-sitosterol, cinnamic acid, ferrulic acid, γ-terpinene, kaempferol, limonene, myrcene, *p*-coumaric acid, *p*-cymene, quercetin, rutin และ vanillic acid (Kaefer และ Milner, 2008)
ยี่หร่า	*Ocimum gratissimum Linn.*	Carvone, limonene, α-pinene, kaempferol, α-Pinene, β-carotene, limonene, quercetin, benzoic acid, β-sitosterol, caffeic acid, cinnamic acid, ferulic acid, fumaric acid, kaempferol, myristicin, 1,8-cineole, *p*-coumaric acid, quercetin, rutin, vanillic acid และ vanillin (Kaefer และ Milner, 2008)
ลูกจันทน์	*Myristica fragrans Linn.*	Caffeic acid และ catechin (Kaefer และ Milner, 2008)
หอมแดง	*Allium ascalonicum Linn.*	Quercetin และ dipropyl disulfides (Kaefer และ Milner, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 สมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของเครื่องเทศ

กระเจี๊ยบแดง รายงานของ Da-Costa-Rocha และคณะ (2014) กล่าวว่า protocatechuic acid ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นสารประกอบทางเคมีในดอกกระเจี๊ยบแดงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Acinetobacter baumannii* และการสกัดกระเจี๊ยบแห้งโดยเมทานอล ให้ผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์เช่น *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* และ *Pseudomonas fluorescence* แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Candida albicans* ได้

กานพลู จากผลงานวิจัยของ Krishnan และคณะ (2014) ได้รายงานว่าสารสกัดจากเครื่องเทศกานพลูโดยใช้น้ำในการสกัด พบว่ากานพลูมี eugenol เป็นส่วนประกอบหลัก ร้อยละ 49.85 และมีหน้าที่ในการออกฤทธิ์ต่อต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
นอกจากนี้สาร eugenol มีฤทธิ์ต้านการอักเสบในสัตว์ทดลองโดยมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase และ lipoxygenase จากการทดสอบหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโดย การวิเคราะห์ DPPH และ การวิเคราะห์ $ABTS^{+}$ พบว่าสารสกัดที่มีความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระสูงคือ สารสกัดจากกานพลู และสมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดกานพลูวิเคราะห์โดยใช้วิธี agar-well diffusion ผลการทดลองพบว่าสารสกัดกานพลูสามารถยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescence* และ *Escherichia coli* ได้

รายงานวิจัยของ Shan และคณะ (2007) ได้ทดลองหากิจกรรมต้านเชื้อแบคทีเรียโดยใช้วิธี agar-well diffusion โดยเตรียมสารสกัดด้วย phosphate buffered saline (PBS, pH 7.0-7.2) พบว่ากานพลูสามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphyrococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้

ข่า จากรายงานการวิจัยของ Oonmetta-aree และคณะ (2006) ได้ทำการสกัดสารจากเครื่องเทศหรือข่าโดยใช้เอทานอลในการสกัด เพื่อทดสอบผลการต้านเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ 209P และ *Escherichia coli* สายพันธุ์ NIHJ JC-2 โดยใช้วิธี agar disc ผลการทดลองพบว่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกมีความไวต่อสารสกัดจากข่ามากกว่าเชื้อ *Escherichia coli* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ กิจกรรมการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากข่ามีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Bacillus megaterium* ได้น้อยและไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์แกรมลบบางชนิด นอกจากนี้ได้นำสารสกัดจากข่ามาทดลองหาค่า MIC และ MBC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยใช้วิธี broth dilution โดยทำการทดสอบกับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งผลการทดลองพบว่าค่า MBC ของการฆ่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็น 1.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ใบไทม์ รายงานวิจัยของ Nezhadali และคณะ (2014) ได้รายงานว่า ส่วนประกอบน้ำมันหอมระเหยที่แยกได้โดยการ hydrodistillation จากใบไทม์ สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ โดยได้ทำการทดสอบกิจกรรมการต้านเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี disk diffusion และวิธี broth dilution ให้ผลการทดสอบว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบไทม์ สามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis*, *S. aureus* และ *S. pyogenes* ได้ดีซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก และเชื้อ *S. aureus* เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อที่ผิวหนัง

รายงานวิจัยของ Shan และคณะ (2007) ได้ทดลองหากิจกรรมต้านเชื้อแบคทีเรีย พบว่าใบไทม์สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus, L. monocytogenes* และ *S. aureus* ได้ จากการทดลองด้วยวิธี agar-well diffusion method โดยเตรียมสารสกัดด้วย phosphate buffered saline (PBS, pH 7.0-7.2)

ยี่หร่า จากการรายงานงานวิจัยของ Aguiar และคณะ (2014) ซึ่งได้ศึกษากิจกรรมการต้านเชื้อจุลินทรีย์จากเครื่องเทศ หนึ่งในเครื่องเทศที่ได้ทำการศึกษาคือยี่หร่า โดยได้นำน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศ ทำการทดสอบกิจกรรมการต้านเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี MIC ผลการทดลอง พบว่าน้ำมันหอมระเหยของยี่หร่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้คือ 512 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

โรสแมรี่ รายงานวิจัยของ Shan และคณะ (2007) ได้ทดลองหากิจกรรมต้านเชื้อแบคทีเรียโดยใช้วิธี agar-well diffusion โดยเตรียมสารสกัดด้วย phosphate buffered saline (PBS, pH 7.0-7.2) พบว่าโรสแมรี่สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus, L. monocytogenes* และ *S. aureus* ได้

2.3 เชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารและอาหารเป็นพิษ

2.3.1 *Helicobacter pylori*

รูปที่ 2.21 เชื้อ *Helicobacter pylori*
ที่มา: https://microbewiki.kenyon.edu/images/thumb/2/24/H.pylori.gif (25 ก.ย.2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Helicobacter pylori เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเกลียว (spiral) มีขนาดกว้าง 0.5-1.0 µm ยาว 2.5-5.0 µm มีอวัยวะช่วยในการเคลื่อนที่ชนิดมีปลอกหุ้มประมาณ 2-6 อันด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ (polar sheathed flagella) เชื้อเจริญได้ในสภาวะออกซิเจนต่ำ (microaerophilic) (Owen, 1998) ปกติแล้วกระเพาะอาหารจะมีสภาพที่เป็นกรดอย่างแรงซึ่งจะทำหน้าที่ทำลายแบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ แต่เนื่องจากเชื้อ *H. Pylori* จะมีลักษณะพิเศษที่สำคัญคือสามารถสร้างด่างมาหักล้างกับกรดได้ ทำให้เชื้อนี้สามารถอยู่และเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดอย่างแรงในกระเพาะอาหารได้ (Owen, 1998)

โรคกระเพาะอาหารและโรคมะเร็งในกระเพาะอาหาร

เมื่อติดเชื้อ *Helicobacter pylori* คนส่วนใหญ่ยังคงไม่แสดงอาการ โดยจะมีอาการเหมือนโรคกระเพาะอาหาร หลังจากนั้นจะพัฒนากลายเป็นมะเร็งกระเพาะอาหารในที่สุด โดยผู้ที่มีแผลในกระเพาะมีโอกาสเป็นมะเร็งกระเพาะอาหารมากกว่าคนปกติถึง 90 เท่า (Mehmood และคณะ, 2010)

โรคแผลในกระเพาะอาหาร

ความสัมพันธ์ระหว่างการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* และโรคแผลในกระเพาะอาหารได้รับการศึกษาอย่างละเอียดถี่ถ้วนและเป็นที่ยอมรับว่าตอนนี้สิ่งมีชีวิตเป็นสาเหตุใหญ่ แต่ไม่ใช่สาเหตุเดียวของการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารทั่วโลก กลไกที่เชื้อ *Helicobacter pylori* ก่อให้เกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารยังเป็นที่เข้าใจไม่สมบูรณ์ แต่ส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับการรวมกันของความบกพร่องทางพันธุกรรมของโฮสต์ ปัจจัยความเป็นพิษของสิ่งมีชีวิต (เช่น VacA และโปรตีน CagA) ความเสียหายทางกลไกที่เยื่อเมือกและการเปลี่ยนแปลงของกระเพาะอาหารและสารคัดหลั่งในลำไส้เล็กส่วนต้น (Mehmood และคณะ, 2010)

2.3.2 *Staphylococcus aureus*

รูปที่ 2.22 ลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ที่มา: http://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus (25 ก.ย.2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างทรงกลมไปจนถึงรูปร่างไข่ เซลล์มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 ไมโครเมตร การแบ่งเซลล์ที่มีมากกว่าหนึ่งระนาบ ทำให้เซลล์ไม่สม่ำเสมอจึงทำให้เห็นคล้ายกับพวงองุ่น *S. aureus* สามารถสร้างเอนไซม์ catalase แต่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ oxidase ได้ เป็นแบคทีเรียจำพวก facultative anaerobic เชื้อ *S. aureus* เป็นพวก mesophile เจริญได้ในอุณหภูมิระหว่าง 7-48 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส ส่วนค่า pH ที่เหมาะสมในการเจริญคือ 6-7 โดยมีค่า pH ต่ำสุดอยู่ที่ 4 และสูงสุดอยู่ที่ 9.8-10 แหล่งที่อยู่อาศัยของเชื้อคือ บริเวณผิวหนัง ต่อมผิวหนัง และชั้นเยื่อเมือกของสัตว์เลือดอุ่น อาการอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* จะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน เป็นตะคริวที่ท้องอ่อนเพลีย ซึ่งเป็นลักษณะเด่นและมักจะมีอาการท้องเสียอีกด้วย (Adams และ Moss, 1995)

2.3.3 *Salmonella* spp.

รูปที่ 2.23 *Salmonella* spp.

ที่มา: http://textbookofbacteriology.net/S.typhi.Gram.jpeg (25 ก.ย.2557)

Salmonella spp. เป็นหนึ่งในสมาชิกของแฟมมิลี่ Enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ มีรูปร่างท่อน เป็นแบคทีเรียประเภท facultative anaerobic มีการสร้าง catalase แต่ไม่มีการสร้าง oxidase สามารถเคลื่อนที่ได้ เชื้อนี้สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส ไปจนถึง 47 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส เชื้อ *Salmonella* นั้นไวต่อความร้อนมาก สามารถทำลายอย่างง่ายดายโดยใช้อุณหภูมิพาสเจอไรซ์ มีค่า a_w ต่ำสุดอยู่ที่ 0.93 แต่สามารถอยู่รอดได้ดีในอาหารแห้ง และจะมีอัตราการรอดชีวิตมากขึ้นเมื่อมีค่า a_w ลดลง มีค่า pH ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ที่ 7 โรคที่เกิดจากเชื้อ *Salmonella* นั้นจะมีอาการแตกต่างกันไป โดยมี 2 แบบคือ 1). Enteritis จะมีภาวะลำไส้อักเสบเป็นไข้อ่อนๆ คลื่นไส้อาเจียน ปวดท้อง และท้องเสีย 2). Systemmic disease (Adams และ Moss, 1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 *Clostridium perfringens*

รูปที่ 2.24 *Clostridium perfringens*

ที่มา:http://en.wikipedia.org/wiki/Clostridium_perfringens /File:Clostridium_perfringens.jpg (25 ก.ย.2557)

C. perfringens เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อน เจริญไม่ได้ในที่มีออกซิเจน (anaerobe) และมีการสร้างสปอร์รูปไข่อยู่ที่ท้ายของเซลล์ มีช่วงอุณหภูมิในการเจริญเติบโตที่กว้าง ตั้งแต่ 12-50 องศาเซลเซียส แต่อย่างไรก็ตามจะเจริญได้ช้ามากเมื่ออยู่ในที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือ 43-47 องศาเซลเซียส สำหรับโรคอาหารเป็นพิษที่มาจากเชื้อ *C. perfringens* นั้นปกติจะหายได้ด้วยตังเอง ไม่มีไข้ โดยลักษณะอาการของโรคคือ จะวิงเวียนศีรษะ ปวดท้อง ท้องเสีย และมีอาการอาเจียนในบางครั้ง ส่วนใหญ่แล้วจะแสดงอาการหลังรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไป 8-24 ชั่วโมง โดยขึ้นอยู่กับปริมาณของเชื้อที่ได้รับเข้าไป (Adams และ Moss, 1995)

2.3.5 *Escherichia coli (E. coli)*

รูปที่ 2.25 ภาพเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*

ที่มา: http://th.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli (25 ก.ย.2557)

Escherichia เป็น genus หนึ่งในแฟมมิลี่ Enterobacteriaceae ซึ่ง *E. coli* ก็เป็นสปีชีส์หนึ่งในจีนัสนั้น มีการสร้างเอนไซม์ catalase แต่มีไม่มี oxidase สามารถทำให้เกิดการหมักได้ มีรูปร่างเป็นท่อนสั้นๆ แกรมลบ ไม่มีการสร้างสปอร์ เป็นพวก mesophile เจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 7-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10 องศาเซลเซียส ไปจนถึง 50 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือประมาณ 37องศาเซลเซียส ค่า pH ที่เป็นกลางเหมาะสมที่สุดในการเจริญเติบโตของเชื้อ และมีค่า a_w ต่ำสุดในการเจริญคือ 0.95 *E. coli* มีอยู่ 4 กลุ่มใหญ่ที่ทำให้เกิดโรคท้องเสีย

1. *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC) โรคที่เกิดจากกลุ่มนี้นั้น มักจะมีอาการระหว่าง 12-36 ชั่วโมงหลังจากรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อน อาการของโรคมีตั้งแต่เป็นไข้อ่อนๆ ท้องเสียเล็กน้อยไปจนถึงรุนแรงคล้ายกับโรคอหิวาตกโรค โดยมีลักษณะถ่ายเป็นน้ำ แต่ไม่มีเลือดและเมือกปนออกมา ปวดท้องและอาเจียน
2. *Enteroinvasive E. coli* (EIEC) *E. coli* กลุ่มนี้เป็นผลทำให้เกิดอาการของโรคบิดไม่มีตัว ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับ *Shigella* โดยจะมีอาการ เป็นไข้ ปวดท้องอย่างรุนแรง วิงเวียนศีรษะ ถ่ายอุจจาระเป็นน้ำมีเลือดและเมือกปนออกมาด้วย
3. *Enteropathogenic E. coli* (EPEC) อาการของโรคเมื่อได้รับเชื้อกลุ่มนี้คือ วิงเวียนศีรษะ คลื่นไส้ ท้องเสีย และถ่ายอุจจาระเป็นน้ำมีเลือดแต่ไม่มีเมือกปนออกมา โดยปกติจะแสดงอาการ 12-36 ชั่วโมง หลังจากรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไป
4. *Enterohaemorrhagic E. coli* (EHEC) ในบางครั้งเราจะรู้จักกันในชื่อ *Verotoxin-producing E. coli* (VTEC) โดยมีการอธิบายครั้งแรกในประเทศแคนนาดา โดยกลุ่มนี้จะเป็นคู่แข่งกับเชื้อ *Campylobacter* และ *Salmonella* ซึ่งมีความถี่มากในการก่อโรคกับมนุษย์ (Adams และ Moss, 1995)

2.3.6 *Bacillus cereus*

รูปที่ 2.26 *Bacillus cereus*

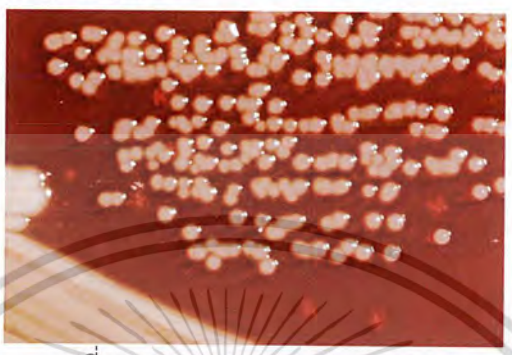
ที่มา: http://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/xbc/xbc01.html (25 ก.ย.2557)

Bacillus cereus คือแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* ซึ่งเป็นชนิดที่ทำให้เกิดโรค ย้อมติดสีแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อนขนาดใหญ่ประมาณ 1 ไมโครเมตร สร้างสปอร์ เจริญได้ในที่มีอากาศ ในบางครั้งจะแสดงออกในรูปของแบคทีเรียแกรมลบ สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิตั้งแต่ 8-55 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญเติบโตคือประมาณ 28-55 องศาเซลเซียส เชื้อ *B. cereus* เป็นเชื้อที่สามารถรบกวนสิ่งแวดล้อมได้ในวงกว้างและยังสามารถพบได้ทั้งในดิน น้ำ และผัก อาการของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคที่เกิดจากเชื้อนั้น จะมีอาการคล้ายคลึงกับอาการอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *C. perfringens* โดยจะมีอาการ 8-16 ชั่วโมงหลังจากรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อน ลักษณะอาการคือท้องเสีย ปวดท้อง ถ่ายอุจจาระเป็นน้ำ วิงเวียนศีรษะ และคลื่นไส้ในบางครั้ง (Adams และ Moss, 1995)

2.3.7 *Yersinia enterocolitica*



รูปที่ 2.27 *Yersinia enterocolitica*

ที่มา: http://en.wikipedia.org/wiki/Yersiniaica/File:Yersinia_enterocolitica_01.png (25 ก.ย.2557)

Yersinia enterocolitica คือ อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae เป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคชนิดหนึ่ง ซึ่งสามารถย้อมติดสีแกรมลบ มีลักษณะเป็นท่อนสั้น สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้าง ตั้งแต่ –1 องศาเซลเซียส ไปจนถึง 40 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือ 29 องศาเซลเซียส แต่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่จะเคลื่อนที่ได้เมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 30 องศาเซลเซียส เชื้อจะมีความไวต่อความร้อน แต่จะมีความไวต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ มีค่า pH ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือ 7-9 สามารถพบได้ในแหล่งธรรมชาติ เช่น ดิน น้ำ และในช่องท้องของสัตว์หลายชนิด นอกจากนี้ยังสามารถเจอเชื้อนี้ได้ในนม เนื้อสัตว์ ผักและผลไม้ สำหรับโรคที่เกิดจากเชื้อตัวนี้นั้นส่วนมาก มักจะเกิดกับเด็กอายุต่ำว่า 7 ปี โดยลักษณะเด่นคือ จะมีอาการปวดท้อง มีอาการท้องเสียประกอบกับมีไข้ คลื่นไส้และอาเจียน (Adams และ Moss, 1995)

2.3.8 *Listeria monocytogenes*

รูปที่ 2.28 Scanning electron micrograph of *Listeria monocytogenes*.

ที่มา: http://en.wikipedia.org/wiki/File:Listeria_monocytogenes.jpg (25 ก.ย.2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Listeria monocytogenes เป็นแบคทีเรียแกรมบวกมีรูปร่างลักษณะเป็นท่อน ไม่สามารถสร้างสปอร์ได้ สร้างเอนไซม์ catalase และไม่สร้างเอนไซม์ oxidase เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้างคือ ตั้งแต่ 0-42 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญจะอยู่ระหว่าง 30 และ 35 องศาเซลเซียส อาการของโรคท้องเสียที่เกิดจากเชื้อชนิดนี้ ส่วนมากจะเกิดกับผู้หญิงมีครรภ์ เด็กอ่อน หรือผู้สูงอายุ และผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยจะมีอาการเป็นไข้ คล้ายกับเป็นหวัด ไขสันหลังอักเสบ และสมองอักเสบ (Adams และ Moss, 1995)

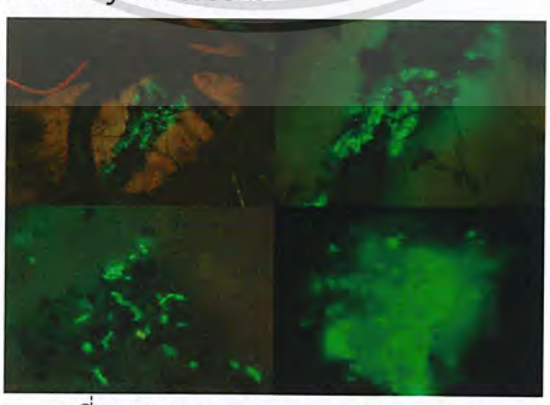
2.3.9 *Porphyromonas gingivalis*

รูปที่ 2.29 *Porphyromonas gingivalis*

ที่มา: http://web.dent.osaka-u.ac.jp/~prevent/images/research02_04.jpg (25 ก.ย.2557)

Porphyromonas gingivalis เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในช่องปาก เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นท่อนและเป็นแบคทีเรียจำพวก anaerobic โดยที่เชื้อชนิดนี้เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคปริทันต์และเหงือกอักเสบในมนุษย์ ที่ส่งผลทำลายเนื้อฟัน และอาจทำให้เสียฟันไปในภายหลัง (Cai และ Wu, 1996)

2.3.10 *Pseudomonas fluorescens*



รูปที่ 2.30 *Pseudomonas fluorescens*

ที่มา: http://web.mst.edu/~microbio/BIO221_2009/images_2009/Pseudomonas-2.jpg (25ก.ย.2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pseudomonas fluorescens เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างเป็นท่อน เป็นแบคทีเรียที่สามารถหลั่งสารเรืองแสงที่ชื่อ fluorescein ได้ โดยเฉพาะภายใต้สภาวะที่มีธาตุเหล็กต่ำ เชื้อชนิดนี้เป็นพวก obligate aerobe ยกเว้นสำหรับบางสายพันธุ์ที่สามารถใช้เป็น NO_3 รับอิเล็กตรอนแทนที่ O_2 มันสามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้ flagella (Ganeshan และ Kumar, 2005)

2.4 สมบัติทางพฤกษเคมีของเครื่องเทศ

2.4.1 ความหมายของสารพฤกษเคมี

สารพฤกษเคมี หมายถึง สารประกอบไบโอแอ็กทีฟ (bioactive compounds) ที่พบได้ในอาหารประเภทพืชผักต่างๆ ทำให้พืชผักเหล่านั้นมีรสชาติ กลิ่น สี และคุณสมบัติอื่นๆ ในอาหาร เช่น ให้ความเผ็ดในพริก ให้กลิ่นในกระเทียมและหัวหอม ให้รสขม และยังมีส่วนเกี่ยวข้องกับการลดความเสี่ยงของโรคเรื้อรังต่างๆได้ สำหรับในร่างกายคนเรา สารพฤกษเคมีจะให้ผลทางกายภาพ โดยเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ทำหน้าที่คล้ายฮอร์โมน ยับยั้งการเกิดโรคเรื้อรัง เป็นต้น (วิวัฒน์, 2545)

2.4.2 ตัวอย่างสารพฤกษเคมีที่พบในธรรมชาติ

2.4.2.1 ฟีนอลิก (Phenolic)

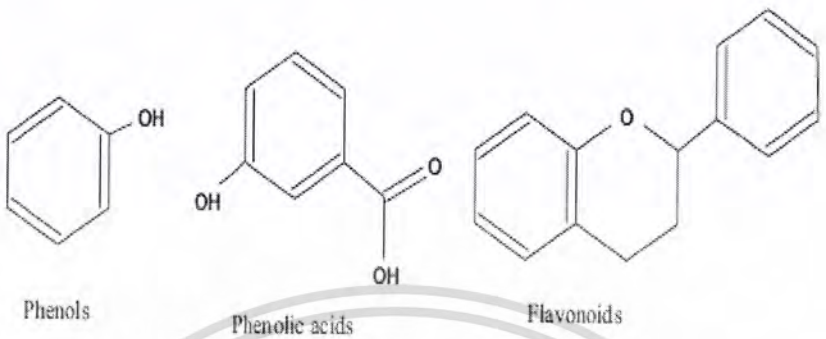
สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่วเมล็ดแห้ง เมล็ดธัญพืช ซึ่งมีบทบาทในการป้องกันการเจ็บป่วยและการเกิดโรค สามารถนำมาใช้กับอาหาร เพื่อเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถละลายได้ในน้ำ (วิวัฒน์, 2545)

โมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก ที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซิน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่ สารประกอบฟีนอลิกพื้นฐาน คือ สารฟีนอล (phenol) ในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ ในธรรมชาติสารประกอบฟีนอลที่อยู่ในรูปอิสระจะพบได้น้อย โดยส่วนใหญ่จะพบในรูปที่รวมอยู่กับสารประกอบอื่นๆ (วิวัฒน์, 2545)

สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignin) กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoid) สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กันเองหรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น (วิวัฒน์, 2545)



ภาพที่ 2.31 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอล

ที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compounds

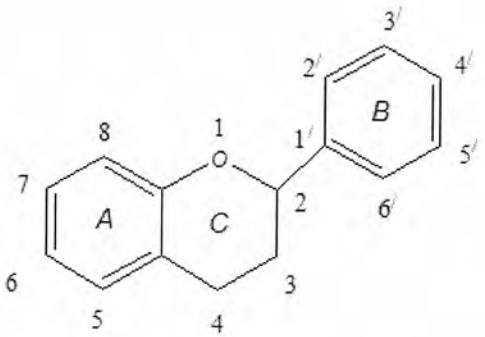
2.4.2.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) จัดเป็นสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenolic compounds) โดยมีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrone) ซึ่งสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามโครงสร้างเคมีได้ 7 กลุ่ม ได้แก่ ฟลาโวนอล (flavonols) ฟลาโวน (flavones) ฟลาวาโนน (flavanones) ฟลาวานอล (flavanols) ฟลาวาโนนอล (flavanonols) ไอโซฟลาโวน (isoflavones) และแอนโธไซยานิดิน (anthocyanidins) สามารถพบได้ในพืช เช่น ผัก ผลไม้ และเครื่องดื่มบางชนิดเช่น ไวน์ ชา เป็นต้น มีงานวิจัยจำนวนมากแสดงให้เห็นว่าฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง เช่น ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ต้านการเกิดมะเร็ง (anticancer) ยับยั้งการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง (antiproliferation) ต้านการอักเสบ (anti-inflammation) ต้านโรคเบาหวาน (antidiabetes) ลดระดับของคลอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ในเลือด (cholesterol and triglyceride lowering effects)

Craig (1999) รายงานว่า สมุนไพรทั่วไปที่ให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากได้แก่ ชะเอมเทศ หัวหอม โรสแมรี่ และใบไทม์ เป็นต้น ซึ่งมีคุณสมบัติทางชีวภาพมาก โดยจะส่งเสริมคุณภาพของมนุษย์ และช่วยลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรค รวมไปการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันการเกิดออกซิเดชันของคลอเลสเตอร์รอล ยับยั้งการรวมตัวของเกล็ดเลือด ต้านการอักเสบและต้านเนื้องอก

ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นกลุ่มของสารประกอบที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซ-ไพโรน (phenylbenzopyrones) ซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็กและมีโครงสร้างประกอบด้วยการจัดเรียงตัวของคาร์บอน 15 ตัว (C_6- C_3– C_6) เป็นวงแหวน 3 วง ได้แก่ วงแหวนเบนซีน (benzene ring) 2 วง (A and B) เชื่อมต่ออยู่กับวงแหวนไพแรน (heterocyclicpyran ring) ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.32 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์
ที่มา: http://teainstitutemfu.com/main/blog/องค์ประกอบทางเคมี

2.4.3 คุณสมบัติของพฤกษเคมี

พฤกษเคมีเป็นสารที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระคือ สารประกอบพวกเอนไซม์หรือสารอื่นที่สามารถป้องกันหรือชะลอกระบวนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารที่สามารถทำปฏิกิริยาในเซลล์ ได้แก่ สารจำพวกโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และ DNA เพื่อรักษาระดับปริมาณของอนุมูลอิสระในร่างกาย (อนันต์, 2551) ซึ่งไขมันเป็นสารประกอบที่จำเป็นในสัตว์และในเยื่อหุ้มเซลล์มนุษย์ ถูกทำลายได้ง่ายและรวดเร็วต่ออนุมูล แสง ออกซิเจน และอุณหภูมิสูง ในอาหารการย่อยสลายไขมันทำให้เกิดความเสื่อมเสียของคุณภาพและการสร้างกลิ่นไม่พึงประสงค์

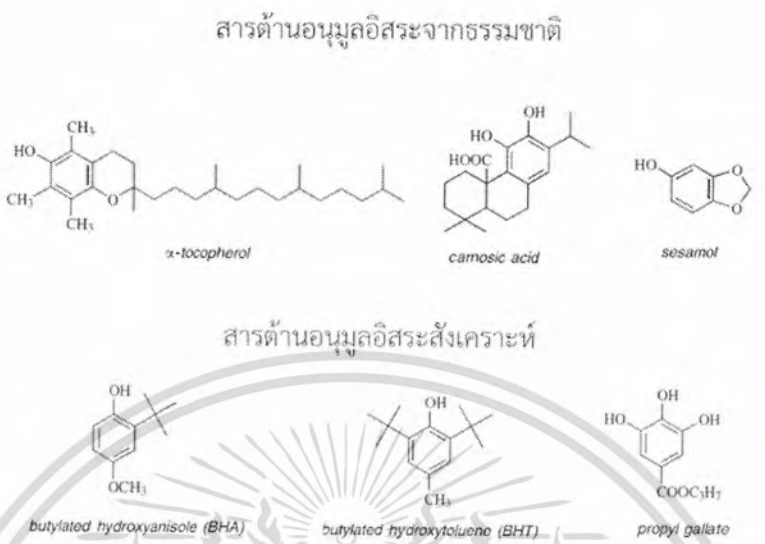
สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ได้ดังนี้

1. สารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ (Natural antioxidant) มี 4 ประเภท (Frankel and Meyer, 2000) ได้แก่
   1) สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มของเอนไซม์ที่สร้างได้ในเซลล์ร่างกาย ได้แก่ คาทาเลส ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส และกลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส เป็นต้น
   2) สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มของวิตามิน ได้แก่ วิตามินอี วิตามินเอ
   3) สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มของแร่ธาตุ เช่น ซีลีเนียม และสังกะสี
   4) สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มของสารพฤกษเคมี เช่น แคโรทีน ไลโคปีนและสารประกอบฟีนอลิกเป็นต้น
2. สารต้านอนุมูลอิสระจากการสังเคราะห์ (Synthetic antioxidant) ได้แก่

สารต้านอนุมูลอิสระจากการสังเคราะห์ได้แก่ บิวทีเลเตตไฮดรอกซีอะนีโซล (BHA (butylated hydroxyanisole)) บิวทีเลเตตไฮดรอกซีโทลูอีน (BHT (butylated hydroxytoluene))

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพรพิล-แกลเลต (PG (propyl gallate)) ใช้เติมลงในอาหารเพื่อป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร (Maisuthisakul และคณะ, 2007; Yamazaki และคณะ, 2007)



ภาพที่ 2.33 สารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติและสังเคราะห์ขึ้น

ที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0188/antioxidant

ในปัจจุบันสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติในกลุ่มของพฤกษเคมี โดยเฉพาะสารประกอบฟีนอลิกจากพืช ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทั้งในแง่ของการให้ประโยชน์ต่อร่างกายในการป้องกันการเกิดโรค อันมีสาเหตุมาจากภาวะ oxidation stress และใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารอันเนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและน้ำมันในอาหาร (Maisuthisakul และคณะ, 2007)

2.5 ดัชนีชี้วัดความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total Antioxidant Capacity)

จากการที่ร่างกายและเซลล์มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้หลายชนิด จึงมีระบบควบคุมป้องกันไม่ให้มีอนุมูลอิสระเกินสมดุลทำให้เกิดอันตราย ซึ่งมีหลักการสำคัญในการวิเคราะห์คือ

1. การวิเคราะห์จากการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน (hydrogen atom transfer, HAT)

2. การวิเคราะห์จากการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (electron transfer, ET หรือ SET)

วิธีวิเคราะห์โดยใช้หลักการ HAT จะวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในเลือดหรือพลาสมาในการขจัดอนุมูลอิสระโดยวิธีการให้อะตอมไฮโดรเจน

$$X^{\bullet} + AH \longrightarrow XH + A^{\bullet}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการนี้จะหาพลังงานที่ทำให้พันธะของหมู่ที่จะให้อะตอมไฮโดรเจนแตกออก ปฏิกิริยา HAT จะไม่ขึ้นอยู่กับตัวทำละลายและค่าพีเอช แต่หากมีสารรีดิวซ์หรือโลหะอยู่ด้วยจะทำให้การวิเคราะห์โดยวิธี HAT ซับซ้อนและส่งผลให้ค่าที่วิเคราะห์สูงกว่าความเป็นจริง (โอภา, 2550)

วิธีวิเคราะห์โดยใช้หลักการ SET หรือ ET เป็นการหาความสามารถในการส่งผ่านอิเล็กตรอนไปรีดิวซ์สารอื่นได้แก่ โลหะและอนุมูล สารต้านอนุมูลอิสระจะขจัดอนุมูลโดยกลไก HAT และ SET ซึ่งให้ผลผลิตที่เหมือนกันในขั้นตอนสุดท้าย (โอภา, 2550)

วิธี FRAP

วิธี FRAP เป็นการวิเคราะห์โดยตรง มีหลักการว่าสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายทำหน้าที่โดยการให้อิเล็กตรอนจึงจัดเป็นสารรีดิวซ์ วิธีนี้ใช้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe(III)-TPTZ (ferric tripyridyl triazine) เป็นสารทดสอบ อะตอมเหล็กนี้จะถูกรีดิวซ์ได้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอรัส Fe(II)-TPTZ ซึ่งมีสีน้ำเงินดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร (โอภา, 2550)

วิธี DPPH

อนุมูลอิสระ $DPPH^{\cdot}$ เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้วโดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลอิสระ การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถรีดิวซ์ การวัดทำโดยใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์วัดการลดลงของสีเมื่อเติมสารต้านอนุมูลลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (โอภา, 2550)

วิธี ABTS

โดยการใช้ ABTS เป็นสารให้กำเนิดอนุมูล $ABTS^{\cdot+}$ และวัดการขจัด $ABTS^{\cdot+}$ เปรียบเทียบกับสารโทรล็อกซ์ วิธีนี้ ABTS จะถูกออกซิไดส์โดยอนุมูลเปอร์ออกซีเกิดเป็นอนุมูลที่มีประจุบวก $ABTS^{\cdot+}$ และมีสี ดังนั้นเมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไปจะทำให้สีลดลง (โอภา, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลองได้แก่ เครื่องเทศ 21 ชนิด (ตารางที่ 3.1) ประกอบด้วย หอมแดง (*Allium ascalonicum* Linn.), กระเทียม (*Allium sativum* L.), ข่า (*Alpinia galangal* Swartz.), กระวาน (*Amomum krervanh* Pierre., A. *cardamomun* Linn.), พริกชี้ฟ้า (*Capsicum annuum* Linn.), มะกรูด (*Citrus hystrix* DC.), ผักชี (*Coriandrum sativum* Linn.), ตะไคร้ (*Cymbopogon citratus (DC.) Stapf*), กระชาย (*Gastrochilus panduratur* Ridl.), ชะเอมแผ่น (*Glycyrrhiza glabra* Linn. *Var.typica* Regel.), ดอกกระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa* Linn.), โป๊ยกั๊ก (*Illicium verum* Hooker.), ลูกจันทน์ (*Myristica fragrans* Linn.), ยี่หร่า (*Ocimum gratissimum* Linn.), พริกไทยขาว (*Piper nigrum* Linn.), พริกไทยดำ (*Piper nigrum* Linn.), โรส-แมรี่ (*Rosmarinus officinalis* L.), กานพลู (*Syzygium aromaticum*), ใบไทม์ (*Thymus vulgaris*), พริกหอม (*Zanyhoxylum budrunga* Wall.) และขิง (*Zingiber officinale* Roscoe.)

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองมีทั้งหมด 11 เชื้อ ได้แก่ *Bacillus cereus* DMST 5040, *Clostridium perfringens* DMST 16637, *Escherichia coli* DMST 4212, *Helicobacter pylori* DMST 20165, *Salmonella* Weltevreden DMST 10638, *Salmonella* Enterlitidis DMST 8014, *Yersinia enterocolitica* DMST 9380, *Listeria monocytogenes* DMST 11256, *Pseudomonas fluorescens* DMST 20076 ได้มาจากศูนย์เก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์แห่งชาติ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ได้มาจากศูนย์เก็บรักษาจุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, *Porphyromonas gingivalis* JCM 12257 ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยทางทันตแพทย์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลองมีดังนี้ Brain Heart Infusion Broth (BHIB, Difco), Nutrient broth (NB), Columbia Blood Agar (CBA, Difco) เติมเลือดแกะความเข้มข้นร้อยละ 5, Mueller Hinton Broth / Mueller Hinton Agar (MHB/MHA Difco, Dickinson and Company, USA), Blood Agar (เติมสารละลายฮีมีนความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีนาไดโอนความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมเลือดแกะร้อยละ 5), *Pseudomonas* Isolation Agar (PIA, Difco, Dickinson and Company, USA), Plate count agar (PCA, Difco, Dickinson and Company, USA), Rappaport-Vassiliadis Medium (RV, Difco, Dickinson and Company, USA), Triple Sugar Iron Agar (TSI, Difco, Dickinson and Company, USA) และ Xylose lysine deoxycholate agar (XLD, Difco, Dickinson and Company, USA)

ตารางที่ 3.1 เครื่องเทศที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	ชื่อวงศ์	ชื่อไทย	ส่วนที่ใช้
Allium ascalonicum Linn.	Shallot	AMARYLLIDACEAE	หอมแดง	หัว
Allium sativum L.	Garlic	AMARYLLIDACEAE	กระเทียม	หัว
Alpinia galangal Swartz.	Galanga	ZINGIBERACEAE	ข่า	เหง้า
Amomum krervanh Pierre	cardamom	ZINGIBERACEAE	กระวาน	ผล
Capsicum annuum Linn.	Cayenne pepper	SOLANACEAE	พริกชี้ฟ้า	ผล
Citrus hystrix DC.	Kifir lime	RUTACEAE	มะกรูด	ใบ
Coriandrum sativum Linn.	Coriander	UMBELLIFERAE	ผักชี	เมล็ด
Cymbopogon citratus (DC.) Stapf.	Lemon Grass	GRAMINAE	ตะไคร้	ลำต้น
Gastrochilus panduratur Ridl.	Galingale	ZINGBERACEAE	กระชาย	เหง้า
Glycyrrhiza glabra Linn.*Var.typica* Regel.	Licorice	LEGUMINOSAE	ชะเอม	ราก
Hibiscus sabdariffa Linn.	Roselle	MALVACEAE	กระเจี๊ยบแดง	ดอก
Illicium verum Hooker	Star Anise	ILLICEACEAE	โป๊ยกั๊ก	ดอก
Myristica fragrans Linn.	Nutmeg	MYRISTICACEAE	ลูกจันทน์	เมล็ด
Ocimum gratissimum Linn.	Caraway	LAMIACEAE	ยี่หร่า	เมล็ด
Piper nigrum Linn.	White peper	PIPERACEAE	พริกไทยขาว	เมล็ด
Piper nigrum Linn.	Black peper	PIPERACEAE	พริกไทยดำ	เมล็ด
Rosmarinus officinalis L.	Rosemary	LABIATAE	โรสแมรี่	ใบ
Syzygium aromaticum	Clove	MYRTACEAE	กานพลู	ดอก
Thymus vulgaris	Thyme	LABIATAE	ใบไทม์	ใบ
Zanyhoxylum budrunga Wall.	Kamchat ton	RUTACEAE	พริกหอม	เมล็ด
Zingiber officinale Roscoe.	Ginger	ZINGIBERACEAE	ขิง	เหง้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองได้แก่ เมทานอล (Methanol, Avantor Ferformance Materials, inc., USA), สารละลายเมทานอลความเข้มข้น 30%, Dimethyl sulfoxide (DMSO, CaelovErba, Italy), สารละลายเปปโตน, acetate buffer, แอมพิซิลิน (Ampicillin), เพนนิซิลิน จี (Penicillin G, M&H Manufacturing), 2,2–diphenyl–1–picryl–hydrazyl (DPPH, Aldrich, Sigma-Aldrich, Switzerland), เฟอริกคลอไรด์ (ferric chloride หรือ $FeCl_3.6H_2O$), 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ, Fluka, Sigma-Aldrich, Switzerland), เฟอรัสซัลเฟต (Ferrous sulfate หรือ $FeSO_4.7H_2O$), กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid หรือ HCl), กรดแกลลิก (Gallic acid, Fluka, Sigma-Aldrich, Switzerland), สาร Folin-Ciocalteu (Folin-ciocalteu's phenol, Fluka, Switzerland), แคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate หรือ Ca_2CO_3), 2-2´-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS, Sigma, Sigma-Aldrich, Switzerland), โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (Potassium persulphate หรือ $K_2S_2O_8$), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (Trolox, Aldrich, Sigma-Aldrich, United States), คาเทชิน (Catechin, Aldrich, Sigma-Aldrich, Switzerland), โซเดียมไนไตรท์ (Sodium nitrite หรือ $NaNO_2$), อะลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium chloride หรือ $AlCl_3$), โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide หรือ NaOH), 2-Thiobarbituric acid (TBA, Aldrich, Sigma-Aldrich, United States) และแอลฟา-โทโคโฟรอล (α-tocophorol, Fluka, Switzerland)

3.1.5 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เครื่อง freeze dry (Labcono, 190633), เครื่องบด (blender, National, MX 795N), เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator, Heidolph, Laborota), ตู้อบลมร้อน (Memmert, UFE 600), ตู้บ่มเชื้อ (Memmert, INP 600), ตู้เย็น (SANYO, SR-F383), ตู้เขี่ยเชื้อ (BossTech, VT 90), หม้อนึ่งความดัน (TOMY, ES-315), เครื่องเขย่า (shaker, GALLENKAMP), เครื่องผสม (vortex mixer, VORTEX GENIE 2, G560E), เครื่องจ่ายตัวอย่างลงอาหารเลี้ยงเชื้ออัตโนมัติ (Sprial Biotech, autoplate 4000, USA), anaerobic jar, ไมโครปิเปตขนาด 20-200 ไมโครลิตร (eppendrof, USA), ไมโครปิเปตขนาด 500-5000 ไมโครลิตร (eppendrof, USA), ไมโครปิเปตขนาด 2-20 ไมโครลิตร (Thermo Scentific, USA), ไมโครปิเปตขนาด 10-100 ไมโครลิตร (BIOHIT, USA), ไมโครปิเปตขนาด 100-1000 ไมโครลิตร (BIOHIT, USA), เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, japan), เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge, FALCON, 6/300) อ่างควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิ (Memmert, WNB 14), เดซิเคเตอร์ และกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

3.2 วิธีการ

3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากเครื่องเทศและการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

3.2.1.1 การเตรียมสารสกัดเครื่องเทศด้วยเมทานอล

นำเครื่องเทศทั้งหมด 21 ชนิดได้แก่ หอมแดง กระเทียม ข่า กระวาน พริกชี้ฟ้า มะกรูด เมล็ดผักชี ตะไคร้ กระชาย ชะเอม ดอกกระเจี๊ยบแดง โป๊ยกั๊ก ลูกจันทน์ ยี่หร่า พริกไทยขาว พริกไทยดำ โรสแมรี่ กานพลู ใบไทม์ พริกหอมและขิง มาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆแล้วนำมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง จากนั้นนำเครื่องเทศมาบดให้ละเอียดและนำมาสกัดด้วยเมทานอล ในอัตราส่วนสารสกัด : ตัวทำละลาย เท่ากับ 1 : 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

การเตรียมสารสกัดเครื่องเทศ ทำได้โดยชั่งตัวอย่างผงเครื่องเทศแต่ละชนิดมา 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมเมทานอลลงไปในปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อ 1 นาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลา นำสารสกัดเครื่องเทศมากรองด้วยผ้าขาวบางเป็นการกรองครั้งที่ 1 แล้วกรองผ่านกระดาษ Whatman เบอร์ 1 เป็นการกรองครั้งที่ 2 จากนั้นนำสารละลายของสารสกัดเครื่องเทศที่ได้ไประเหยเอาเมทานอลออกโดยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator, Heidolph, Laborota) จะได้สารสกัดหยาบของเครื่องเทศ นำสารสกัดเครื่องเทศที่ได้ใส่ขวดสีชาหรือขวดที่ห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอยด์และปิดปากขวดของสารสกัดเครื่องเทศด้วยอะลูมิเนียมฟอยด์เจาะรู นำขวดสารสกัดเครื่องเทศไปตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันหรือโถดูดความชื้นเป็นการระเหยเมทานอลออก จะได้สารสกัดแห้งแล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ เมื่อทำการวิเคราะห์ให้เตรียม Stock solution ของสารสกัดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารสกัดหยาบแห้งมาเจือจางด้วย Dimethy sulfoxide (DMSO) ความเข้มข้นร้อยละ 10 จากนั้นเก็บสารสกัดในขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วและห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอยด์เพื่อป้องกันแสง

3.2.1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่กลุ่มแบคทีเรียใช้อากาศและกลุ่มแบคทีเรียไม่ใช้อากาศ สำหรับกลุ่มแบคทีเรียใช้อากาศที่ใช้ในการทดสอบมีทั้งหมด 8 ชนิด ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *Escherichia coli, Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Salmonella* Weltevreden, *Salmonella* Enteritidis, *Pseudomonas fluorescens* และ *Yersinia enterocolitica* เตรียมโดยนำแบคทีเรียแต่ละชนิดที่เก็บไว้จากหลอด Stock culture (cryotube) มาถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารเหลว BHI Broth ที่มีปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ยกเว้น *Pseudomonas fluorescens* นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเก็บเกี่ยวเซลล์โดยนำเชื้อที่ได้ในหลอดอาหาร BHI Broth ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อ 1 นาที เป็นเวลา 15 นาที จะได้ส่วนใสและตะกอนเซลล์ แล้วทำการล้างเซลล์จำนวน 2 ครั้ง โดยการเทส่วนใสทิ้งให้เหลือแต่ตะกอนเซลล์ เติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตรเท่ากับอาหารเหลวเดิม (5 มิลลิลิตร) ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex mixer นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อ 1 นาที เป็นเวลา 15 นาที ทำการเทส่วนใสทิ้ง เป็นการล้างเซลล์ครั้งที่ 1 แล้วทำการล้างเซลล์อีก 1 ครั้ง โดยทำตามวิธีการเดิม จนกระทั่งได้ตะกอนเซลล์ เมื่อได้ตะกอนเซลล์แล้วนำมาเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทำการผสมเข้าด้วยกัน นำมาปรับความขุ่นของสารแขวนลอยแบคทีเรียให้มีค่าความขุ่นเท่ากับความขุ่นของสารละลายมาตรฐาน McFarland เบอร์ 3 (10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร)

สำหรับกลุ่มแบคทีเรียไม่ใช้อากาศที่ใช้ในการทดสอบมีทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ *Helicobacter pylori, Porphyromonas gingivalis* และ *Clostridium perfringens* นำแบคทีเรียแต่ละชนิดที่เก็บไว้จากหลอด Stock culture (cryotube) มาถ่ายเชื้อ โดยเชื้อ *Helicobacter pylori* และ *Clostridium perfringens* ถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารเหลว BHI Broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ใน Anaerobic jar ภายใต้สภาวะ microaerophilic โดยใส่แผ่น Campygen gas (oxoid, oxoid Ltd., England) เป็นเวลา 3 วัน สำหรับเชื้อ *Porphyromonas gingivalis* ถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารเหลว BHI Broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่เติมสารละลายฮีมินความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตรและมีนาไดโอนความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ใน Anaerobic jar ภายใต้สภาวะไร้อากาศ โดยใส่แผ่น Anaerocult A (Merck, Darmstadt, Germany) เป็นเวลา 8-10 วัน เมื่อครบกำหนดนำมาปรับความขุ่นของสารแขวนลอยแบคทีเรียให้มีค่าความขุ่นเท่ากับความขุ่นของสารละลายมาตรฐาน McFarland เบอร์ 3 (10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเครื่องเทศ

3.2.2.1 การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเครื่องเทศด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Agar disc diffusion method)

การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งของสารสกัดจากเครื่องเทศทั้งหมด 21 ชนิด ของเชื้อจุลินทรีย์ 2 กลุ่มดังกล่าวด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น กลุ่มแบคทีเรียใช้อากาศที่ใช้ในการทดสอบทั้งหมด 8 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *Escherichia coli, Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Salmonella* Weltevreden, *Salmonella* Enteritidis, *Pseudomonas fluorescens* และ *Yersinia enterocolitica* ทำตามวิธีของ Hussain และคณะ (2008) สำหรับกลุ่มแบคทีเรียไม่ใช้อากาศที่ใช้ในการทดสอบทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ *Helicobacter pylori, Porphyromonas gingivalis* และ *Clostridium perfringens* มาทำตามวิธีของ Thong-Ngam และ Chatsuwan (2007)

การทดสอบในกรณีของแบคทีเรียใช้อากาศ ทำโดยการปิเปตสารเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli, Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Salmonella* Weltevreden, *Salmonella* Enteritidis, *Pseudomonas fluorescens* และ *Yersinia enterocolitica* ซึ่งมีความเข้มข้นของเซลล์แบคทีเรียเท่ากับ 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร ที่ได้เตรียมไว้แล้ว ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบนอาหาร MHA ส่วนแบคทีเรียไม่ใช้อากาศทำโดยการปิเปตเชื้อแบคทีเรีย *Helicobacter pylori* ลงบนอาหาร Columbia Blood Agar (เติมเลือดแกะร้อยละ 5) ปิเปตเชื้อ *Porphyromonas gingivalis* ลงบนอาหาร Blood Agar ที่เติมสารละลายฮีมินความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตร, มีนาไดโอนความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อลิตร และเลือดคนร้อยละ 5 ปิเปตเชื้อ *Clostridium perfringens* ลงบนอาหาร Blood Agar ที่เติมเลือดแกะร้อยละ 5 หลังจากเติมเชื้อลงบนอาหารแล้วให้ทำการเกลี่ยเชื้อแบคทีเรียด้วยไม้พันสำลีปราศจากเชื้อแล้วคีบแผ่นกระดาษกรองปลอดเชื้อที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 6 mm วางลงบนผิวหน้าอาหาร จากนั้นทำการหยดสารสกัดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 15 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง นำไปบ่มโดยแบคทีเรียที่ใช้อากาศบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรียไม่ใช้อากาศได้แก่เชื้อ *Helicobacter pylori* และ *Clostridium perfringens* ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ใน Anaerobic jar ภายใต้สภาวะ microaerophilic โดยใส่แผ่น Campygen gas (oxoid, oxoid Ltd., England) เป็นเวลา 3 วัน ส่วนเชื้อ *Porphyromonas gingivalis* ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสใน Anaerobic jar ภายใต้สภาวะไร้อากาศ โดยใส่แผ่น Anaerocult A (Merck, Darmstadt, Germany) เป็นเวลา 8-10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจผลการทดลองโดยตรวจดูโซนการยับยั้ง (Inhibition zone) และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนการยับยั้ง (ในหน่วยมิลลิเมตร) สำหรับชุดควบคุมเชิงลบ (Negative control) ใช้ DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 15 ไมโครลิตร หยดลงแผ่นกระดาษกรอง ชุดควบคุมเชิงบวกใช้ยาปฏิชีวนะเพนนิซิลิน จีความเข้มข้น 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตรและยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2.2.2 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)

การวิเคราะห์หาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีเจือจางในอาหารแข็ง ทำตามวิธีของ Collins และคณะ (2001) เริ่มจากทำการเจือจาง stock solution ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัดเครื่องเทศแต่ละชนิด ปิเปตสารสกัดเครื่องเทศปริมาตรที่แตกต่างกันในแต่ละระดับความเข้มข้นในหลอดทดลองและปิเปตน้ำกลั่นปราศจากเชื้อลงไปในหลอดที่มีสารสกัดเครื่องเทศ จนได้ปริมาตรของสารสกัดเครื่องเทศรวมกับน้ำกลั่นเท่ากับ 250 มิลลิลิตร ปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากเชื้อ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ปริมาตร 4,750 ไมโครลิตร ซึ่งเชื้อ *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Weltevreden, *Salmonella* Enteritidis, *Pseudomonas fluorescens* และ *Yersinia enterocolitica* จะใช้อาหาร BHI Agar สำหรับเชื้อ *Helicobacter pylori* ใช้อาหาร Columbia Blood Agar (เติมเลือดแกะร้อยละ 5) เชื้อ *Porphyromonas gingivalis* ใช้อาหาร Blood Agar ที่เติมสารละลายฮีมินความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตร มีนาไดโอนความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อลิตร และเลือดคนร้อยละ 5 และเชื้อ *Clostridium perfringens* ใช้อาหาร Blood Agar เติมเลือดแกะร้อยละ 5 ทำการเขย่าให้เข้ากันแล้วนำมาเอียง เพื่อให้ได้หลอดอาหารที่มีผิวหน้าเอียง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จะมีความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดในหลอดทดลอง ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 6.4, 3.2, 1.6, 0.8, 0.4 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการถ่ายเชื้อจากสารแขวนลอยเซลล์ของจุลินทรีย์แต่ละชนิดลงบนผิวหน้าอาหารที่มีความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละระดับลงไป 1 loop ด้วยวิธีการ Simple streak นำไปบ่ม โดยแบคทีเรียใช้อากาศบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรียไม่ใช้อากาศ โดยเชื้อ *Helicobacter pylori* และ *Clostridium perfringens* ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ใน Anaerobic jar ภายใต้สภาวะ microaerophilic โดยใส่แผ่น Campygen gas (oxoid, oxoid Ltd., England) เป็นเวลา 3 วัน สำหรับเชื้อ *Porphyromonas*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

gingivalis ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้อากาศ โดยใส่แผ่น Anaerocult A (Merck, Darmstadt, Germany) เป็นเวลา 8-10 วัน

การตรวจผลรายงานค่า MIC เท่ากับระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ชุดควบคุมเชิงลบจะใช้ DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10 ชุดความคุมเชิงบวกใช้ยาปฏิชีวนะเพนนิซิลินความเข้มข้น 1,000 , 500, 250, 125, 62.5, 31.25 , 16 และ 8 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และชุดความคุมเชิงบวกแบคทีเรียแกรมทุกชนิดใช้ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินความเข้มข้น 5, 1, 0.5, 0.25, 0.1 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2.3 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ

3.2.3.1 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเครื่องเทศด้วยวิธี DPPH

การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเครื่องเทศด้วยวิธี DPPH method ทำการทดลองตามวิธีการของ Brand-Williams และคณะ (1995) โดยนำตัวอย่างของสารสกัดเครื่องเทศแต่ละชนิด มาทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 5 ระดับ ได้แก่ 1,000, 500, 100, 10 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารสกัดแต่ละชนิดปริมาตร 75 ไมโครลิตร มาผสมกับสารละลาย 2,2–diphenyl–1–picryl–hydrazyl (DPPH, Aldrich, Sigma-Aldrich, Switzerland) ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร (ในเมทานอล) ปริมาตร 2.925 มิลลิลิตรในคิวเวตแต่ละอันและใช้เมทานอลแทนสารสกัดเพื่อใช้เป็นแบลงค์(Blank) แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยทันทีด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโต-มิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Japan) ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร จากนั้นนำไปเก็บในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้งหนึ่ง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ของ DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015265 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตร เพื่อทำกราฟมาตรฐานและหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

นำค่าที่วัดได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลืออยู่ (% $DPPH^{\bullet}_{REM}$) จากปฏิกิริยาในคิวเวตแต่ละอันของสารสกัดแต่ละความเข้มข้นจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆ การหาความเข้มข้น (ร้อยละ) ของ DPPH ที่เหลือ ($DPPH^{\bullet}_{REM}$) คำนวณได้โดยใช้สมการดังนี้

$$[\%DPPH^{\bullet}_{REM}] = \frac{[DPPH^{\bullet}]_T}{[DPPH^{\bullet}]_{0\text{-}T}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดย $[DPPH^{\bullet}]_T$ หมายถึงความเข้มข้นของ DPPH• ที่เวลาใดๆ และ $[DPPH^{\bullet}]_{0\text{-}T}$ หมายถึงความเข้มข้นของ DPPH• ที่เวลา 0 นาที จากนั้นนำค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือของสารสกัดแต่ละชนิด ณ เวลาที่เสถียรมาพล็อตกราฟกับอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดต่อความเข้มข้นของ DPPH (ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมของ DPPH) หาสมการเส้นตรงจากกราฟเพื่อคำนวณหา EC_{50} (Effective concentration) ของสารสกัดแต่ละชนิดและค่า AE (Antiradical efficiency) ซึ่งเท่ากับ $1/EC_{50}$

3.2.3.2 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเครื่องเทศด้วยวิธี FRAP

การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเครื่องเทศด้วยวิธี FRAP โดยทำการดัดแปลงเล็กน้อยจากวิธีการทดลองของ Lado และคณะ (2004) โดยทำการเตรียม FRAP reagent ดังนี้ 1) acetate buffer pH 3.6 ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ 2) สารละลาย 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ, Fluka, Sigma-Aldrich, United States) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ และ 3) สารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ วิธีการทดสอบทำได้ดังนี้ ทำการเตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยปิเปต acetate buffer ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 2,4,6-tripyridyl-s-triazine ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลาย FRAP reagent ที่ได้ปริมาตร 3 มิลลิลิตรผสมกับสารสกัดแต่ละชนิด (ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, japan) ที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร โดยใช้ FRAP reagent เป็นแบลงค์และใช้สารละลายมาตรฐานของเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) ในการเตรียมกราฟมาตรฐาน ซึ่งทำการเจือจางสารละลายนี้ให้ได้ทั้งหมด 7 ระดับได้แก่ 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร ทำการทดลองด้วยวิธีการเดียวกันกับสารละลายตัวอย่าง นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายเฟอรัสซัลเฟตจะได้กราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารตัวอย่าง

3.2.3.3 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเครื่องเทศด้วยวิธี ABTS

การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเครื่องเทศด้วยวิธี ABTS ทำตามวิธีการของ Re และคณะ (1999) เริ่มจากการเตรียมสารละลาย $ABTS^{+}$ โดยผสมสารละลาย 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid (ABTS, Sigma, Sigma-Aldrich,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Switzerland) ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์กับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) ความเข้มข้นสุดท้าย 2.45 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 1:1 ผสมให้เข้ากันเก็บไว้ในที่มืดอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลาย $ABTS^+$ ที่ได้มาเจือจางด้วยเอทานอลจนกระทั่งวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตรได้เท่ากับ 0.7 ± 0.02 นำมา 3 มิลลิลิตร ผสมกับสารสกัดจากเครื่องเทศปริมาตร 30 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที หลังจากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร โดยใช้โทรล็อกซ์เป็นสารมาตรฐาน แสดงผลในหน่อยมิลลิกรัมโทรล็อกซ์ต่อกรัมสารสกัด (mg TE/g extract)

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (Trolox, Aldrich, Sigma-Aldrich, United States) รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของสารสกัด ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ความเข้มข้น 1,000, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.5625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีข้างต้นแต่ใช้สารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ ความเข้มข้นต่างๆแทนสารสกัดจากเครื่องเทศ ส่วนแบลงค์ให้ใช้เอทานอลแทน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงมาพล๊อตกราฟมาตรฐานของความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโทรล็อกซ์กับค่าการดูดกลืนแสงของโทรล็อกซ์จะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อนำไปใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดที่มีในตัวอย่าง

3.2.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากเครื่องเทศ ตามวิธีการของ Bao และคณะ (2005) เริ่มโดยทำการเตรียมสารสกัดเครื่องเทศแต่ละชนิดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปิเปตสารสกัดเครื่องเทศแต่ละชนิดลงในหลอดทดลองปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ปิเปตน้ำบริสุทธิ์คุณภาพสูง (ultra-pure water) ปริมาตร 6 มิลลิลิตร และสาร Folin-Ciocalte's reagent (Folin-ciocalteu's phenol, Fluka, Switzerland) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ทำการเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร และเติมน้ำบริสุทธิ์คุณภาพสูงปริมาตร 1.9 มิลลิลิตร ทำการเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงคำนวณหาปริมาณสารฟีนอลิก

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (Gallic acid, Fluka, Sigma-Aldrich, Switzerland) รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิกความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองเหมือนวิธีข้างต้นแต่ใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นต่างๆแทนสารสกัดจากเครื่องเทศ ส่วนแบลงค์ให้ใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงมาพล็อตกราฟมาตรฐานของความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อนำมาใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในตัวอย่างวิเคราะห์

3.2.3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ได้ทำตามวิธีของ Kathirvel และ Sujatha (2012) โดยมีขั้นตอนดังนี้ นำสารสกัดเครื่องเทศ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 1.25 มิลลิลิตรและโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง แล้วตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร แล้วตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่น 275 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร คำนวณค่าที่ได้จากเส้นกราฟมาตรฐานคาเทชิน จากนั้นรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด การคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ สามารถคำนวณค่าได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายคาเทชิน มีที่ระดับความเข้มข้น 10, 25, 50, 100, 250, 750 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนแบลงค์ให้ใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัดเครื่องเทศ

3.2.4 การประยุกต์ใช้สารสกัดหยาบเครื่องเทศในการชะลอการเน่าของน่องไก่สดแช่เย็น

การศึกษาผลการเติมสารสกัดหยาบจากกานพลูและสารสกัดหยาบจากใบไทม์ในน้ำชะล้างน่องไก่สด ได้ทำการดัดแปลงวิธีของ Capita และคณะ (2000) และSakhare และคณะ (1999) ในการทดลองครั้งนี้ได้เตรียมน้ำชะล้างน่องไก่สดทั้งหมด 5 ชุด ได้แก่ 1). น้ำกลั่น (ชุดควบคุม) 2). น้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูความเข้มข้นร้อยละ 1 3). น้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูความเข้มข้นร้อยละ 2 4). น้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากใบไทม์ความเข้มข้นร้อยละ 1 5). น้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากใบไทม์ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยเตรียมชุดละ 300 มิลลิลิตร ก่อนการชะล้างน่องไก่ได้ทำการตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนจุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรฟและจำนวน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pseudomonas spp. ทั้งหมด ด้วยวิธีถูด้วยไม้พันสำลีที่ผิวของน่องไก่สด (25 ตารางเซนติเมตร) แต่ละชุด หลังจากนั้นนำน่องไก่สดแต่ละชุดไปชะล้างในน้ำชะล้างแต่ละชุดที่เตรียมไว้ หลังจากชะล้างเสร็จ ทิ้งไว้ให้ผิวน่องไก่แห้ง 5 นาที จึงนำมาตรวจหาจุลินทรีย์ทั้งหมด จุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรฟและ *Pseudomonas* spp. ทั้งหมด ด้วยวิธีถูด้วยไม้พันสำลีที่น่องไก่สดบริเวณเดิมอีกครั้ง จากนั้นจึงนำน่องไก่แต่ละทรีตเมนต์ไปบรรจุใส่ถุงพลาสติกปลอดเชื้อ แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน เมื่อครบเวลาการเก็บรักษานำน่องไก่แต่ละทรีตเมนต์มาวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนจุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรฟ และจำนวน *Pseudomonas* spp. ทั้งหมดที่ผิวของน่องไก่พร้อมทั้งวิเคราะห์หาค่า TBARS ในน่องไก่สดโดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ก) ตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนจุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรฟและจำนวน *Pseudomonas* spp. ทั้งหมดที่ผิวของน่องไก่สด ทำด้วยเทคนิค Spiral plating ซึ่งทำได้ดังนี้ นำน่องไก่สดที่จะวิเคราะห์ถูด้วยไม้พันสำลีปราศจากเชื้อให้ทั่วพื้นที่ 25 ตารางเซนติเมตร จากนั้นนำไม้พันสำลีที่ผ่านการถูแล้วใส่ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และทำการเจือจางจนกระทั่งได้ระดับความเข้มข้นเป็น 10^{-4} จากนั้นจ่ายตัวอย่างด้วยเครื่องจ่ายตัวอย่าง (Sprial Biotech, autoplate 4000, USA) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนี้ 1) อาหาร Plate count agar (PCA) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 2) อาหาร PCA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เพื่อการตรวจหาจำนวนไซโครโทรฟ และ 3) อาหาร *Pseudomonas* isolation agar (Difco Laboratories, บริษัทประเทศไทย) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อการตรวจหาจำนวน *Pseudomonas* spp. และคำนวณหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนจุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรฟและจำนวน *Pseudomonas* spp. ทั้งหมด โดยคำนวณในรูปของ CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร

ข) วิธีวิเคราะห์หาค่าไทโอบาบิทูริก การหาค่าไทโอบาบิทูริก (Thiobabituric acid number) ได้ทำตามวิธีของ Kirk และ Sawyer (1991) โดยการตัดชิ้นเนื้อน่องไก่สดปริมาณ 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ ทำการตีป่นให้เป็นเนื้อเดียวกันเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเทลงในฟลาสก์สำหรับกลั่น แล้วล้างถุงตีป่นด้วยน้ำอีกปริมาตร 47.5 มิลลิลิตร เทลงในฟลาสก์สำหรับกลั่นอีกครั้ง เติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 4 โมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เพื่อให้มีค่าพีเอช 1.5 เติมลูกแก้วเล็กน้อยเพื่อป้องกันการเกิดฟองอากาศ ให้ความร้อนกับฟลาสก์เพื่อกลั่นโดยจะเก็บสารละลายที่ได้จากการกลั่น 50 มิลลิลิตรภายใน 10 นาทีหลังจากที่สารในฟลาสก์เริ่มเดือด จากนั้นปิเปตสารละลายที่ได้จากการกลั่นมา 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาปิด เติมสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการใช้

2-Thiobarbituric acid (TBA, Aldrich, Sigma-Aldrich, United States) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร (เตรียมได้โดยชั่งสาร TBA 0.883 กรัม ใส่ในสารละลายกรดแอซิติกความเข้มข้นร้อยละ 90) ปิดฝาแล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 35 นาที นำหลอดทดลองมาทำให้เย็นเป็นเวลา 10 นาทีแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร ส่วนการเตรียมแบลงค์ (blank) มีวิธีเตรียมเหมือนกันแต่ใช้น้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตรแทนสารละลายที่ได้จากการกลั่น ในการวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสง จะวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเปรียบเทียบกับแบลงค์ นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่วัดได้มาคูณกับค่า K จะได้ค่า TBA ซึ่งเป็นความเข้มข้นของสารมาโลนาลดีไฮด์ที่มีอยู่ในตัวอย่าง (mg MAD/kg sample) ซึ่งค่า K หาได้จากการทำกราฟมาตรฐานของสาร 1,1,3,3-tetrethoxypropane (TPE) ค่า TBA ที่คำนวณได้แสดงอยู่ในรูปของค่า TBARS (Thiobarbituric acid reactive substance) ซึ่งมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมมาโลนาลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 สมบัติการยับยั้งการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ

4.1.1 การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)

จากผลการศึกษาคุณสมบัติการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารโดยสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศทั้งหมด 21 ชนิดด้วยวิธี Disc diffusion และวิธี Agar dilution (ตารางที่ 4.1 และ ตารางที่ 4.2) ผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ทุกชนิดที่ทดสอบ คือดอกกระเจี๊ยบแดงและใบไทม์ แต่มีโซนการยับยั้งไม่กว้างมากนัก โดยสารสกัดหยาบจากดอกกระเจี๊ยบแดงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่โซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 7.88 ถึง 13.35 มิลลิเมตร และสารสกัดหยาบจากใบไทม์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่โซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 7.84 ถึง 19.75 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากกานพลู พบว่าสารสกัดหยาบจากกานพลูมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิดรองลงมา แต่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญสูงกว่า คือโซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 8.9 ถึง 32.5 มิลลิเมตร เมื่อพิจารณาค่า MIC (ตารางที่ 4.2) จะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบจากดอกกระเจี๊ยบแดงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Clostridium perfringens* ได้ (ค่า MIC 1.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Helicobacter pylori* ได้โดยมีค่า MIC 3.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยที่สารสกัดหยาบจากใบไทม์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ทดสอบทุกชนิดได้โดยมีค่า MIC 6.4 หรือมากกว่า 6.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดหยาบจากกานพลูมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด โดยเฉพาะเชื้อ *Listeria monocytogenes* ซึ่งถูกยับยั้งได้ดีมากโดยสารสกัดหยาบจากกานพลู (ค่า MIC เท่ากับ 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือ *Bacillus cereus, Clostridium perfringens, Staphylococcus aureus* และ *Yersinia enterocolitica* (มีค่า MIC เท่ากับ 1.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนเชื้อ *Porphyromonas gingivalis, Pseudomonas fluorescens* และ *Salmonella* Weltevreden

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถูกยับยั้งได้โดยสารสกัดหยาบจากกานพลูที่มีค่า MIC เท่ากับ 3.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้เชื้อ *Porphyromonas gingivalis* ยังถูกยับยั้งได้ดีโดยสารสกัดหยาบจากโป๊ยกั๊กและลูกจันทน์ (ค่า MIC เท่ากับ 3.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้ดีที่สุดคือสารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดง (ค่า MIC เท่ากับ 3.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

เมื่อพิจารณาความไวของเชื้อต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศชนิดต่างๆ พบว่าเชื้อ *Porphyromonas gingivalis* ถูกยับยั้งได้โดยสารสกัดจากเครื่องเทศทุกชนิดที่ทดสอบ โดยเฉพาะสารสกัดหยาบจากโป๊ยกั๊ก ลูกจันทน์และกานพลู ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้ดีกว่าสารสกัดชนิดอื่นคือมีค่า MIC เท่ากับ 3.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนแบคทีเรียชนิดอื่นที่มีความไวค่อนข้างมากต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศคือ *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* และ *Staphylococcus aureus* โดยที่เชื้อ *Yersinia enterocolitica* มีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากลูกจันทน์ โรสแมรี่และซะเอมมากที่สุด (มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.2 ถึง 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เชื้อ *Listeria monocytogenes* มีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากลูกจันทน์ โรสแมรี่และกานพลูมากที่สุด (มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.4 ถึง 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนเชื้อ *Staphylococcus aureus* มีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากโรสแมรี่ ลูกจันทน์และซะเอมมากที่สุด (มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.4 ถึง 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบจากโรสแมรี่สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* ได้ดีที่สุด มีค่า MIC เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากลูกจันทน์สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Yersinia enterocolitica* ได้ดี (มีค่า MIC เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สารสกัดหยาบจากยี่หร่าสามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* และ *Yersinia enterocolitica* ได้ดี (มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 1.6 ถึง 3.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สารสกัดหยาบจากโป๊ยกั๊กสามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Porphyromonas gingivalis*, *Staphylococcus aureus* และ *Yersinia enterocolitica* ได้ดี (มีค่า MIC 3.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สารสกัดหยาบจากข่าสามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, และ *Yersinia enterocolitica* ได้ดี (มีค่า MIC 3.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศชนิดอื่นๆ ไม่ได้แสดงผลไว้ในตาราง 4.2 ได้แก่สารสกัดหยาบจากกระชาย ขิง พริกชี้ฟ้าและเมล็ดผักชี พบว่ามีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้เช่นกัน โดยสารสกัดหยาบจากกระชายและพริกชี้ฟ้ายับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้เกือบทุกชนิดที่ทดสอบ ซึ่งมีค่า MIC มากกว่า 6.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยกเว้นเชื้อ *Yersinia enterocolitica* (ค่า MIC เท่ากับ 6.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยที่สารสกัดหยาบจากขิง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ทุกชนิดที่ทดสอบ โดยมีค่า MIC มากกว่า 6.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากเมล็ดผักชีสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้เกือบทุกชนิดที่ทดสอบ โดยมีค่า MIC มากกว่า 6.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยกเว้นเชื้อ *Listeria monocytogenes* (มีค่า MIC เท่ากับ 6.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

ในการทดลองนี้สารสกัดหยาบจากดอกกระเจี๊ยบแดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทุกชนิดที่ทดสอบ ผลงานวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ เช่น งานวิจัยของ Chao และ Yin (2008) ที่ได้รายงานว่าสารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดงทั้งชนิดที่สกัดด้วยน้ำและสารละลายเอทานอล (ร้อยละ 75) สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคหลายชนิด เช่น *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ได้โดยสารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดงที่สกัดด้วยน้ำมีค่า MIC อยู่ในช่วง 112 ถึง 144 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดงที่สกัดด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 มีค่า MIC อยู่ในช่วง 72 ถึง 96 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และยังได้ทดสอบสมบัติการต้านแบคทีเรียโดยกรดโฟรโตคาเทชูอิก (protocatechuic acid) ซึ่งเป็นหนึ่งในสารสำคัญที่เป็นส่วนประกอบในดอกกระเจี๊ยบแดง พบว่ากรดโฟรโตคาเทชูอิกสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียดังกล่าวได้ ค่า MIC อยู่ในช่วง 24 ถึง 44 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ Olaleye (2007) ได้รายงานว่าสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงที่สกัดด้วยเมทานอลและน้ำในอัตราส่วน 4:1 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Klebseilla pneumonia* ได้ดีที่สุด (เส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง 40 มิลลิเมตร) และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa, Bacillus stearothermophilus, Serratia mascences, Clostridium sporogenes, Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ได้ โดยเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้งอยู่ในช่วง 18 ถึง 28 มิลลิเมตร และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) อยู่ในช่วง 0.30 ถึง 1.30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และยังได้วิเคราะห์สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงนี้พบว่ามีสาร Saponins, Flavonoids, Alkanoids, Cardiac glycosides Cardenoledes, Steroidal ring และ Deoxy sugar เป็นส่วนประกอบ นอกจากนี้ Khalaphallah และ Soliman (2014) ยังได้รายงานกิจกรรมการต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดงที่สกัดโดยเอทานอล (ร้อยละ 75) พบว่าสารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis, Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้เช่นเดียวกัน กิจกรรมการต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดงอาจเป็นผลมาจากการมีกรดหลายชนิดเป็นองค์ประกอบ Da-Costa-Rocha และคณะ (2014) ได้กล่าวว่า สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงมีกรดอินทรีย์สูงรวมถึงกรดซิตริก (citric acid) กรดไฮดรอกซีซิตริก (hydroxycitric acid) กรดฮิบิคัส (hibiscus acid) กรดมาลิก (malic acid) และกรดทาร์ทาริก (tartarica acid) และยังมีกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) อีกเล็กน้อย จากการศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณของกรดอินทรีย์ในกระเจี๊ยบแดงพันธุ์ hibiscus flos พบว่ามีกรดฮิบิคัส (hibiscus acid) ร้อยละ 13–24, กรดซิตริก (citric acid) ร้อยละ 12–20, กรดมาลิก (malic acid) ร้อยละ 2–9, กรดทาร์ทาริก (tartarica acid) ร้อยละ 8 และกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) ร้อยละ 0.02–0.05 ในดอกกระเจี๊ยบแดงแห้งยังพบสารแอนโทรไซยานิน (anthocyanins) ซึ่งเป็นสารกลุ่มหนึ่งที่เป็นอนุพันธ์ของฟลาโวนอยด์และมีรงควัตถุธรรมชาติที่สีของดอกกระเจี๊ยบแดงจะผันแปรตามค่าพีเอช สารสีจากกระเจี๊ยบแดงที่แยกได้มี anthocyanins ที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ 1) Delphinidin-3-sambubioside (ซึ่งรู้จักกันดีในชื่อ hibiscin), 2) Delphinidin-3-glucoside และ 3) Cyanidin-3-glucoside หรือ chrysanthenin

สารสกัดหยาบจากกานพลูมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Sethi และคณะ (2013) ซึ่งได้รายงานว่าสารสกัดจากกานพลูที่ใช้เมทานอลในการสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด โดยทำการทดสอบด้วยวิธี Agar diffusion ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากกานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli, Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* ได้ (เส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง 19 มิลลิเมตร) และความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อ (MIC) เท่ากับ 0.095, 0.080 และ 0.065 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ Betoni และคณะ (2006) ได้รายงานว่าสารสกัดจากกานพลูที่สกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.36 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยของ Krishnan และคณะ (2014) รายงานว่าได้ทำการวิเคราะห์การต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion และวิธี MIC พบว่าสารสกัดจากกานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria monocytogenas, Pseudomonas fluorescens* และ *Escherichia coli* ได้ มีเส้นผ่านศูนย์กลางโซนการยับยั้ง 4.2, 3.5 และ 3.9 มิลลิเมตรตามลำดับ และมีค่า MIC เท่ากับ 15, 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ นอกจากนี้ยังได้จำแนกชนิดของสารที่เป็นส่วนประกอบในสารสกัดจากกานพลู โดยวิธี GC-MS พบสารต่างๆดังนี้ Eugenol (ร้อยละ 49.85), Eugenol acetate (ร้อยละ 22.59), Caryophyllene (ร้อยละ 14.39), Humulene (ร้อยละ 3.58), 1,8-Cineole (ร้อยละ 2.12), Caryophyllene oxide (ร้อยละ 1.91), Muurolene (ร้อยละ 1.21), Cubebene (ร้อยละ 1.21), Cadinene (ร้อยละ 0.98), 4-(2-propenyl)-Phenol (ร้อยละ 0.68), Farnesene (ร้อยละ 0.31), 4-Methylbenzaldehyde (ร้อยละ 0.25) และสารอื่นๆ อีก ร้อยละ 0.45 ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากกานพลูอาจเป็นผลมาจากการมีสารยูจีนอล ดังการรายงานว่า ยูจีนอลบริสุทธิ์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ได้ (Li และคณะ, 2015)

จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากใบไทม์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้หลายชนิด ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของนักวิจัยท่านอื่นๆหลายท่านดังเช่น รายงานการทดลองของ Al-Bayati (2008) ที่ได้ทำการทดลองและพบว่าสารสกัดหยาบจากใบไทม์ที่สกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้หลายชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus,*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bacillus cereus และ *Escherichia coli* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 15.6, 31.2 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Typhi และ *Salmonella* Typhimurium โดยมีค่า MIC เท่ากับ 62.5 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ แต่ *Pseudomonas aeruginosa* ค่อนข้างต้านทานต่อการยับยั้งโดยสารสกัดดังกล่าว มีค่า MIC มากกว่า 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ El-Nekeety และคณะ (2011) ที่ได้ทำการทดลองหาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันไทม์ ซึ่งได้จากการกลั่นใบและดอก พบว่าประกอบด้วย carvacrol ในปริมาณที่มากที่สุด (45 mg/g) รองลงมาคือ thymol (24.7 mg/g), β-phellandrene (9.7 mg/g), linalool (4.1 mg/g), humuline (3.1 mg/g), α-phellandrene (2.3 mg/g) และ myrcene (2.1 mg/g) รวมทั้งพบ α-pinene, β-pinene, α-thyjone, tricyclene, 1,8-cineole และ β-sabinene ในปริมาณที่น้อย (0.93 - 1.3 mg/g) การที่สารสกัดหยาบจากใบไทม์มีฤทธิ์ในการยังยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดีนั้น อาจเนื่องมาจากการที่สารสกัดหยาบดังกล่าวมีสารสำคัญที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ดังเช่นที่มีการรายงานว่าสาร thymol และ carvacrol ซึ่งเป็นสารประกอบหลักในใบไทม์ มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้หลายชนิด เช่น *Shigella sonnei, Shigella flexneri, Escherichia coli* และ *Bacillus cereus* (Bagamboula และคณะ, 2004; Ultee และคณะ, 1998) นอกจากนี้ยังมีการรายงานของ Guarda และคณะ (2011) ที่ได้ทำการทดลองใช้สารบริสุทธิ์ของ thymol และ carvacrol ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ พบว่าสารบริสุทธิ์ทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus, Listeria innocua, Escherichia coli, Saccharomyces cerevisiae* และ *Aspergillus niger* โดยสารบริสุทธิ์ของ thymol มีค่า MIC เท่ากับ 250, 250, 250, 125 และ 250 ppm ตามลำดับ ส่วนสารบริสุทธิ์ของ carvacrol มีค่า MIC เท่ากับ 225, 225, 375, 75 และ 225 ppm ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Nabavi และคณะ (2015) ได้กล่าวว่าไทมอล (thymol หรือ 2-isopropyl-5-methylphenol) เป็นอนุพันธ์ monoterpenes phenol ของ cymene และเป็นไอโซเมอร์ของ carvacrol มีรายงานว่า thymol ลดความต้านทานของแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะเช่น เพนนิซิลิน และยังมีคุณสมบัติทางชีวภาพ เช่น มีฤทธิ์มีฤทธิ์ต้านการกลาย (antimutagenic) ต้านการเกิดเนื้องอก (antitumor) ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) เป็นต้น คาวาครอล (carvacrol หรือ 5-isopropyl-2-methylphenol) เป็น monoterpenes phenol ที่มีสมบัติทางชีวภาพเช่นกัน เช่น การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ยับยั้งอนุมูลอิสระและยับยั้งการเกิดมะเร็ง เป็นต้น ส่วนพารา-ไซมีน (*p*-cymene) และแกมมา-เทอร์พินีน (γ-terpinene) มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เช่นกัน

สารสกัดจากยี่หร่ามีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ค่อนข้างดี โดยผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Amengialue และคณะ (2013) ที่ทำการทดลองโดยใช้สารสกัดจากใบยี่หร่าซึ่งสกัดด้วยเอทานอล พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้ดี (MIC เท่ากับ 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แต่ยับยั้งการเจริญของ *Shigella* spp. และ *Salmonella* spp. ได้ที่ค่า MIC สูงกว่าซึ่งเท่ากับ 40 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

60 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และอีกหนึ่งงานวิจัยที่สอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้คืองานวิจัยของ Adebolu และ Oladimeji (2005) ที่ใช้สารสกัดจากใบยี่หร่าในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคท้องเสีย ซึ่งผลที่ได้คือสารสกัดจากยี่หร่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella* Typhi และ *Salmonella* Typhimurium ได้ดี ในการที่สารสกัดจากยี่หร่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้ดี คาดว่าเป็นผลมาจากสารประกอบที่อยู่ภายใน โดยการทดลองของ Verma และคณะ (2011) ที่ทำการจำแนกสารที่เป็นส่วนประกอบในน้ำมันยี่หร่าที่มีน้ำมันอยู่ ร้อยละ 0.45 ด้วยวิธี GC-MS พบว่าสารประกอบหลักๆของน้ำมันยี่หร่าคือ eugenol (ร้อยละ 63.7), (*Z*)-β-ocimene (ร้อยละ 19.6), germacrene D (ร้อยละ 7.3), β-caryophyllene (ร้อยละ 1.7) และ γ-terpinene (ร้อยละ 1) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Benitez และคณะ (2009) ที่ทำการจำแนกสารประกอบในน้ำมันยี่หร่าทั้งหมด 33 สารประกอบ โดยมีสารประกอบหลักที่พบในน้ำมันยี่หร่าคือ phenylpropanoid eugenol (ร้อยละ 43.2) สารประกอบ hydrocarbon monoterpenes พบสารประกอบ 10 สารประกอบ (ร้อยละ 25) ซึ่งมีสารประกอบหลักคือ β-pinene (ร้อยละ 2.4), α-pinene (ร้อยละ 1.2), และ sabinene (ร้อยละ 1.2) สารประกอบ oxygenated monoterpenes พบสารประกอบ 6 สารประกอบ (ร้อยละ 15) ซึ่งสารประกอบหลักที่พบคือ α-terpineole (ร้อยละ 1.7) สารประกอบ sesquiterpenes hydrocarbons พบสารประกอบ 14 สารประกอบ (ร้อยละ 35) โดยมีสารประกอบหลักคือ β-selinene (ร้อยละ 9.0), α-selinene (ร้อยละ 4.5) และ *trans*-β-caryophyllene (ร้อยละ 6.4) และสารประกอบอื่นๆซึ่งเป็นสารประกอบ oxygenated พบสารประกอบ 3 สารประกอบ (ร้อยละ 7.5) และในการทดลองของ Wattanasatcha และคณะ (2012) ได้ทดลองนำสารบริสุทธิ์ของ thymol, carvacrol, citronellal, eugenol และ terpinen-4-ol มาทดสอบหากิจกรรมการการต้านแบคทีเรีย พบว่า eugenol มีกิจกรรมต้าน *Staphylococcus aureus, Escherichia coli และ Pseudomonas aeruginosa* ได้ดีที่สุดเช่นกัน

สารสกัดจากข่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีโดยเฉพาะเชื้อ *Bacillus cereus, Listeria monocytogenes* และ *Yersinia enterocolitica* ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Oonmetta-aree และคณะ (2006) ซึ่งได้พบว่าสารสกัดจากข่าที่สกัดด้วยเอทานอล (ร้อยละ 100) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดในบรรดาสารสกัดจากเครื่องเทศทั้งหมดที่ทดสอบ รวมทั้งกระชาย ขิงและขมิ้นโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง 22.33 มิลลิเมตร และค่า MIC เท่ากับ 0.325 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* รองลงมาคือสารสกัดจากขิงและสารสกัดจากกระชาย (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง 11 มิลลิเมตร) ส่วนสารสกัดจากขมิ้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้เช่นกัน นอกจากนี้ Mayachiew และ Devahastin (2008) ได้รายงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ว่าสกัดสารจากข่า (Alpinia galangal) ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง 29 มิลลิเมตร และค่า MIC เท่ากับ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และยังจำแนกชนิดของสารที่เป็นส่วนประกอบในสารสกัดจากข่าโดยวิธี GC-MS พบสารประกอบหลักต่างๆดังนี้ 1,8-cineole (ร้อยละ 20.95), β-caryophyllene (ร้อยละ 13.16), β-bisabolene (ร้อยละ 17.95) และ β-selinene (ร้อยละ 10.56) ขณะที่สารประกอบที่พบในปริมาณน้อยได้แก่ α-selinene (ร้อยละ 9.67), farnesene (ร้อยละ 7.47), 1,2-benzenedicarboxylic acid (ร้อยละ 6.42), germacrene B (ร้อยละ 6.10), α-humulene (ร้อยละ 5.02) และ pentadecane (ร้อยละ 2.70) นอกจากนี้ Barik และคณะ (1987) และ Janssen และคณะ (1985) ได้แยกสารประกอบที่สำคัญจากข่า พบว่าเป็นสาร 1'-acetoxychavicol acetate, 1'-acetoxyeugenol acetate, 1'-hydroxychavicol acetate, trans-p-hydroxycinnamaldehyde และ [di-(p-hydroxy-cis-styryl)] ดังนั้นฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากข่าอาจเป็นผลมาจากการมีสารที่สำคัญเหล่านี้เป็นส่วนประกอบ ดังการทดลองของ Latha และคณะ (2009) ที่ได้ทดลองนำสารบริสุทธิ์ของข่าที่สกัดด้วยอะซิโตน ได้แก่ 1'-acetoxychavicol acetate มาทดสอบการยับยั้งการทำงานของพลาสมิดของเชื้อดื้อยาหลายชนิด พบว่า 1'-acetoxychavicol acetate มีประสิทธิภาพในการกำจัดพลาสมิด *Salmonella* Typhi (ร้อยละ 75), เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* (ร้อยละ 70), *Escherichia coli* (ร้อยละ 32) และ Enterococcus (ร้อยละ 66) ที่ต้านทานต่อยาปฏิชีวนะ

สารสกัดหยาบจากลูกจันทน์สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Yersinia enterocolitica* ได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sulaiman และ Ooi (2012) ได้ทดลองทำการสกัดสารจากลูกจันทน์ด้วยเมทานอลร้อยละ 80 (v/v) พบว่าสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ด (seed kernel) ของลูกจันทน์ (*Myristica fragrans*) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ Gupta และคณะ (2013) ได้ทดลองนำเมล็ดลูกจันทน์ที่สุกเต็มที่มาสกัดด้วยอะซิโตน เอทานอล เมทานอล บิวทานอลและน้ำ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากเมล็ดลูกจันทน์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas putida* และ *Pseudomonas aeruginosa* และเชื้อรา *Aspergillus fumigates*, *Aspergillus niger* และ *Aspergillus flavus* ได้โดยสารสกัดจากลูกจันทน์ที่สกัดด้วยอะซิโตนให้ผลการยับยั้งแบคทีเรียที่ทดสอบได้ดีที่สุด นอกจากนี้ยังได้จำแนกชนิดของสารที่เป็นส่วนประกอบในสารสกัดจากลูกจันทน์โดยวิธี GC-MS พบสารต่างๆดังนี้ Sabinene (ร้อยละ 28.61), β-pinene (ร้อยละ 10.26), α-pinene (ร้อยละ 9.72) เป็นส่วนประกอบหลัก และยังพบสาร terpinen-4-ol (ร้อยละ 5.80), myristicin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ร้อยละ 4.30), limonene (ร้อยละ 3.76), γ-terpinene (ร้อยละ 3.71), (Z)-*p*-menth-2-en-1-ol (ร้อยละ 3.21), isoeugenol (ร้อยละ 2.72), elemicin (ร้อยละ 2.67), (E)-*p*-Menth-2-en-1-ol (ร้อยละ 2.15), myrcene (ร้อยละ 2.14), α-phellandrene (ร้อยละ 1.84), *p*-cymene (ร้อยละ 1.81), terpinolene (ร้อยละ 1.63) และ linalool (ร้อยละ 1.12) และสารอื่นๆในปริมาณเล็กน้อย ดังการรายงานว่าสาร β-*pinene* และสาร α-pinene บริสุทธิ์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae* และ *Streptococcus pyogenes* ได้ (Leite และคณะ, 2007)

จากรายงานการวิจัยของ Liu และคณะ (2008) ได้รายงานเกี่ยวกับสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดงและกรดโฟรโตคาเทชูอิก ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้ โดยมีค่า MIC 56 และ 40 ไมโครกรัมต่อลิตรตามลำดับ ซึ่งกรดโฟรโตคาเทชูอิกเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลที่เป็นสารสำคัญที่พบในกระเจี๊ยบแดง (Ali และคณะ, 2005) นอกจากกระเจี๊ยบแดงที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Helicobacter pylori* แล้วยังมีรายงานการวิจัยของ Wittschier และคณะ (2009) ได้รายงานว่าสารสกัดจากชะเอมที่สกัดด้วยน้ำ (1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ช่วยในการยับยั้งการเกาะติดของเชื้อ *H. pylori* ในเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของมนุษย์ การเกาะติดของเชื้อนี้เป็นผลมาจากสารพอลิแซ็คคาไรด์ที่แยกได้จากสารสกัดจากชะเอม นอกจากนี้จากการทดลองนี้ได้พบว่าสารสกัดจากยี่หร่าและสารสกัดจากใบไทม์สามารถยับยั้งการเจริญของ *H. pylori* ได้ เชื้อ *H. pylori* เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างคล้ายตัว S หรือท่อนโค้ง (กว้าง 0.5-0.9 ไมครอน ยาว 2-4 ไมครอน) ไม่สร้างสปอร์ในการเลี้ยงเชื้อในเลือด และรูปแบบเกลียวที่พบได้น้อยมาก เซลล์ที่ปรากฏส่วนใหญ่เป็นแท่งเดี่ยวโค้ง เซลล์ของ *H. pylori* มักจะมี flagella ได้ถึงหกเส้นใยบางครั้งจะพบเซลล์ของ *H. pylori* มีรูปร่างทรงกลม รูปตัว V รูปตัว U และแบบท่อนตรง (Owen, 1998) *H. pylori* เป็นพวก microaerophilic นั่นคือมันต้องใช้ออกซิเจนแต่มีความเข้มข้นต่ำกว่าที่พบในชั้นบรรยากาศ มี hydrogenase ซึ่งสามารถนำมาใช้เพื่อให้ได้พลังงานโดยการออกซิไดซ์โมเลกุลไฮโดรเจน (H_2) ที่ผลิตโดยแบคทีเรียในลำไส้แล้วจะผลิต oxidase, catalase และ urease *H. pylori* สามารถเปลี่ยนรูปร่างไปเป็นแบบ coccoid เพื่อการอยู่รอดและเป็นปัจจัยในการระบาดของเชื้อ ซึ่งรูปแบบ coccoid สามารถยึดติดกับเซลล์เยื่อบุผิวกระเพาะอาหารได้ในหลอดทดลอง ผู้ที่ติดเชื้อ *H. pylori* ส่วนใหญ่จะไม่แสดงอาการแต่อาการที่พบคล้ายกลับโรคกระเพาะทั่วไป จากนั้นจะทำให้ผู้ติดเชื้อป่วยเป็นมะเร็งกระเพาะอาหารในที่สุด จากงานวิจัยได้ชี้ให้เห็นว่าอัตราการเป็นมะเร็งกระเพาะอาหารของผู้ที่มีอาการ multifocal atrophic gastritis อย่างรุนแรงได้เพิ่มขึ้นถึง 90 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (Mehmood และคณะ, 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศด้วยวิธีการแพร่อาหารวุ้น (Disc diffusion method)

ชนิดของแบคทีเรีย	เส้นผ่านศูนย์กลางโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน									
	หอมแดง	ข่า	กระวาน	พริกขี้ฟ้า	มะกรูด	เมล็ดผักชี	ตะไคร้	กระชาย	ชะเอม	กระเจี๊ยบแดง
Bacillus cereus	–	15.75±1.04	–	10.99±0.74	–	–	–	–[b]	17.71±1.07	12.18±0.64
Clostridium perfringens	–	27.32±1.14	–	–	–	–	–	–	12.28±1.15	12.42±1.03
Escherichia coli	–	–	–	–	–	–	–	–	–	8.05±0.26
Helicobacter pylori	–	–	–	–	–	–	–	–	–	12.26±0.98
Listeria monocytogenes	–	21.50±0.93	–	9.08±1.21	–	13.99±1.25	–	8.53±0.69	17.53±2.41	8.59±0.30
Porphyromonas gingivalis	9.30±1.07	23.38±4.65	9.52±0.70	13.32±0.56	9.85±1.68	9.70±0.41	10.76±2.23	10.12±0.06	10.65±0.72	12.70±1.57
Pseudomonas fluorescens	–	7.44±0.58	–	–	–	–	–	–	–	13.35±2.40
Salmonella Enteritidis	–	8.17±1.58	–	–	–	–	–	–	–	7.88±0.64
Salmonella Weltevreden	–	–	–	–	–	–	–	–	–	7.99±0.78
Staphylococcus aureus	–	22.59±1.65	–	9.05±1.96	–	–	–	7.27±0.44	13.09±0.60	8.57±0.44
Yersinia enterocolitica	9.04±1.47	21.18±6.10	9.75±1.32	12.09±1.16	9.00±2.59	–	10.25±1.57	15.55±2.47	9.80±1.07	10.33±1.18

[a] ค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งหมด 3 ซ้ำ ; [b] ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซน < 6 มม.) ; [c] ไม่ได้ทำการทดสอบ เนื่องจาก *S. aureus* ต้านทานต่อยา Ampicillin

หมายเหตุ : สารสกัดหยาบทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/mL ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL

ตารางที่ 4.1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศด้วยวิธีการแพร่อาหารวุ้น (Disc diffusion method) (ต่อ)

ชนิดของแบคทีเรีย	เส้นผ่านศูนย์กลางโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน									
	โป๊ยกั๊ก	ลูกจันทน์	ยี่หร่า	พริกไทยดำ	โรสแมรี่	กานพลู	ใบไทม์	พริกหอม	ขิง	Ampicillin
Bacillus cereus	11.31±0.65	6.88±0.25	9.86±1.68	–	15.55±1.83	21.12±1.45	19.75±1.73	–	–	11.25±0.69
Clostridium perfringens	8.47±0.19	–	–	–	16.72±3.86	18.18±1.96	14.17±4.63	9.96±0.36	–	28.56±0.47
Escherichia coli	–	–	–	–	–	9.75±0.86	8.36±0.59	–	–	13.1±0.61
Helicobacter pylori	–	–	9.42±0.59	–	–	–	8.84±0.66	–	–	29.12±0.65
Listeria monocytogenes	9.12±0.63	10.12±0.77	14.96±1.42	9.86±0.52	12.81±1.91	20.91±4.36	11.16±1.34	8.93±0.63	8.39±0.45	11.05±0.39
Porphyromonas gingivalis	9.57±2.69	9.87±1.08	10.02±0.20	–	9.98±2.28	32.51±3.97	12.28±1.97	8.90±1.75	30.26±4.95	29.06±0.32
Pseudomonas fluorescens	9.11±1.85	–	6.69±0.11	–	–	21.41±0.71	9.55±1.36	–	–	18.80±0.90
Salmonella Enteritidis	7.25±0.17	10.85±4.99	–	–	–	8.90±1.14	8.18±0.37	–	–	31.04±0.75
Salmonella Weltevreden	7.18±0.17	–	–	–	–	10.14±2.19	7.84±0.72	–	–	31.03±0.72
Staphylococcus aureus	11.49±1.49	10.41±0.71	14.74±0.70	–	13.39±0.70	19.98±3.47	12.49±1.24	8.93±0.63	8.82±2.46	– [c]
Yersinia enterocolitica	11.47±0.98	8.13±1.41	12.57±3.77	11.93±2.93	9.38±1.27	11.82±0.73	11.37±2.17	8.31±1.16	–	31.92±0.95

[a] ค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งหมด 3 ซ้ำ ; [b] ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซน < 6 มม.) ; [c] ไม่ได้ทำการทดสอบ เนื่องจาก *S. aureus* ต้านทานต่อยา Ampicillin

หมายเหตุ : สารสกัดหยาบทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/mL ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL

ตารางที่ 4.2 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่ความเข้มข้นต่ำสุดด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง

ชนิดของแบคทีเรีย	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญ (minimum inhibitory concentration (MIC) มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)									
	ข่า	ชะเอม	กระเจี๊ยบแดง	โป๊ยกั๊ก	ลูกจันทน์	ยี่หร่า	โรสแมรี่	ใบไทม์	กานพลู	Ampicillin
Bacillus cereus	3.2	0.4	3.2	3.2	0.2	0.8	0.2	6.4	1.6	–[a]
Clostridium perfringens	6.4	1.6	1.6	>6.4	>6.4	>6.4	0.4	6.4	1.6	0.05
Escherichia coli	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	6.4	0.05
Helicobacter pylori	>6.4	>6.4	3.2	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	5
Listeria monocytogenes	3.2	6.4	6.4	3.2	0.4	3.2	0.8	6.4	0.8	–
Porphyromonas gingivalis	6.4	6.4	>6.4	3.2	3.2	6.4	6.4	6.4	3.2	0.05
Pseudomonas fluorescens	>6.4	>6.4	6.4	>6.4	>6.4	>6.4	3.2	>6.4	3.2	0.05
Salmonella Enteritidis	>6.4	>6.4	6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	6.4	0.05
Salmonella Weltevreden	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	3.2	0.05
Staphylococcus aureus	>6.4	0.8	>6.4	3.2	0.8	3.2	0.4	6.4	1.6	–
Yersinia enterocolitica	3.2	0.8	6.4	3.2	0.2	1.6	0.4	6.4	1.6	0.05

[b] ความเข้มข้นของ Penicillin G (unit/mL)

หมายเหตุ : สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ถูกยับยั้งโดยยาปฏิชีวนะ Gentamicin ที่ความเข้มข้น 0.03 mg/mL แต่ต้านทานต่อยาปฏิชีวนะอื่นที่ทดสอบ

4.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

4.2.1 ความสามารถในการกำจัด 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical

จากการศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ โดยทำการศึกษาจากสารสกัดเครื่องเทศ 21 ชนิดด้วยวิธีการหาความสามารถในการกำจัด 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) โดยสารละลาย DPPH เป็นสารละลายสีม่วงที่มีอนุมูลและมีความเสถียรในสารละลายเมทานอล เมื่อทำปฏิกิริยากับสารสกัดจากเครื่องเทศที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทำให้ความเข้มของสารละลาย DPPH ลดลงและเปลี่ยนเป็นสีเหลือง โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานคือแอลฟา-โทโคเฟอรอล ซึ่งจะแสดงค่าในรูปของค่า EC_{50} ซึ่งเป็นค่าของความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัดที่สามารถลดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระของสารละลาย DPPH โดยเริ่มต้นที่ร้อยละ 50 นั่นหมายถึงถ้าค่า EC_{50} ยิ่งต่ำแสดงว่ามีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดนั้นยิ่งสูง จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่สามารถกำจัดอนุมูลของ DPPH ได้สูงที่สุด (ตารางที่ 4.3) คือโรสแมรี่ ซึ่งค่า EC_{50} คือ 116.40 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัม DPPH สารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่สามารถกำจัดอนุมูลของ DPPH ได้ค่อนข้างสูงได้แก่ สารสกัดจากใบ-ไทม์และกานพลู มีค่า EC_{50} 760.37 และ 846.19 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัม DPPH ตามลำดับ สารสกัดที่มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระปานกลางได้แก่ ขิง มะกรูด ข่าและลูกจันทน์ จะมีค่า EC_{50} คือ 1,721.80, 2,080.73, 3,294.91 และ 5,481.81 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัม DPPH ตามลำดับ สารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ค่อนข้างต่ำได้แก่ ดอกกระเจี๊ยบแดง ชะเอม พริกหอม โป๊ยกั๊ก ยี่หร่าและตะไคร้ โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 8,490.8, 10,999.97, 13,241.6, 13,861.14, 14,999.55 และ 16,305 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัม DPPH ตามลำดับ สารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ต่ำได้แก่ เมล็ดผักชี กระวาน พริกชี้ฟ้า พริกไทยขาว กระเทียม หอมแดง กระชายและพริกไทยดำ โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 26,501.20, 26,501.20, 32,482.21, 34,205.2, 50,168.1, 84,173.3, 93,013 และ 95,561.52 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัม DPPH ตามลำดับ

4.2.2 Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเครื่องเทศโดยการศึกษาสารสกัดจากเครื่องเทศทั้งหมด 21 ชนิดด้วยวิธี FRAP ซึ่งเป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอริก (Fe^{3+}-TPTZ) ให้เปลี่ยนเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอรัส (Fe^{2+}-TPTZ) ที่มีสีน้ำเงิน ซึ่งเกิดจากอะตอมของเหล็กในสาร Fe^{3+}-TPTZ จะถูกรีดิวซ์ให้ได้เป็น Fe^{2+}-TPTZ เทียบกับสารมาตรฐานคือแอลฟา-โทโคเฟอรอล นั่นหมายถึงถ้าค่าความสามารถในการรีดิวซ์ยิ่งสูง แสดงถึงกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดก็จะยิ่งสูงเช่นกัน จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ได้ดีที่สุดคือ กานพลู มีค่าในความสามารถการรีดิวซ์ 3.63 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งสอดคล้องกับกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สารสกัดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์รองลงมาคือ โรสแมรี่ ใบไทม์และขิง โดยมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์อยู่ระหว่าง 2.04, 1.95 และ 1.55 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ สารสกัดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ปานกลางได้แก่ ดอกกระเจี๊ยบแดง มะกรูด ลูกจันทน์ ยี่หร่า พริกหอม ข่าและพริกชี้ฟ้า ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.83, 0.75, 0.64, 0.55, 0.48, 0.37 และ 0.35 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ และสารสกัดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ต่ำได้แก่ กระชาย กระวาน ตะไคร้ พริกไทยดำ เมล็ดผักชี พริกไทยขาว ชะเอม หอมแดง โป๊ยกั๊กและกระเทียม มีค่าเท่ากับ 0.23, 0.18, 0.25, 0.24, 0.20, 0.15, 0.13, 0.04, 0.02 และ 0.01 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ

4.2.3 ABTS radical cation decolorization assay

จากการศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศโดยทำการศึกษาสารสกัดจากเครื่องเทศทั้งหมด 21 ชนิดด้วยวิธีการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ $ABTS^{+}$ เทียบกับสารมาตรฐานโทรล็อกซ์ จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีหรือมีความสามารถในการรีดิวซ์ $ABTS^{+}$ ได้ดีที่สุดคือสารสกัดหยาบจากกานพลู มีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 986.66 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของสารสกัด สารสกัดหยาบที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ $ABTS^{+}$ ได้ดีรองลงมาคือสารสกัดหยาบจากโรสแมรี่และใบไทม์ มีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 510.21 และ 456.91 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของสารสกัด สารสกัดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ปานกลางได้แก่ ยี่หร่า ลูกจันทน์ ดอกกระเจี๊ยบแดง พริกหอม มะกรูด ขิง ข่าและพริกชี้ฟ้า ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 453.93, 450.42, 448.53, 439.06, 430.66, 426.6, 423.37 และ 414.43 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ และสารสกัดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ต่ำได้แก่ พริกไทยดำ กระวาน เมล็ดผักชี กระเทียม กระชาย ตะไคร้ ชะเอม โป๊ยกั๊ก พริกไทยขาวและหอมแดง ซึ่งมีค่าความสามารถใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การรีดิวซ์เท่ากับ 348.68, 341.11, 332.98, 318.37, 263.73, 233.69, 229.08, 213.39, 204.46 และ 201.48 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ

จากการวิเคราะห์สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของเครื่องเทศทั้ง 3 วิธีคือ DPPH, FRAP และ ABTS ให้ผลการวิเคราะห์ที่สอดคล้องกันโดยเฉพาะวิธี FRAP และวิธี ABTS ให้ผลเหมือนกันคือ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกานพลูมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากโรสแมรี่ และใบไทม์ ส่วนผลการวิเคราะห์ของสารสกัดจากเครื่องเทศบางชนิดให้ผลสอดคล้องกันบ้างคือค่าที่วิเคราะห์ได้อยู่ที่ลำดับความมากน้อยลำดับเดียวกันของผลการวิเคราะห์อย่างน้อย 2 วิธี (ลำดับที่ 1 ได้ค่ามากที่สุดและลำดับที่ 21 ได้ค่าน้อยที่สุด) ดังนี้ ขิง (ลำดับที่ 4), ลูกจันทน์ (ลำดับที่ 7), ข่า (ลำดับที่ 10), พริกชี้ฟ้า (ลำดับที่ 11), กระวาน (ลำดับที่ 13), พริกไทยขาว (ลำดับที่ 17) และหอมแดง (ลำดับที่ 21) ส่วนสารสกัดจากเครื่องเทศชนิดอื่นๆมีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างแปรผันระหว่างผลจากทั้ง 3 วิธีการวิเคราะห์

4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

4.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศทั้งหมด 21 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดได้แก่ กานพลู ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 496.01 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด สารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีฟีนอลิกสูงรองลงมาคือ ใบไทม์ โรสแมรี่และมะกรูด โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 243.41, 184.88 และ 154.84 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ส่วนสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีฟีนอลิกปานกลางได้แก่ ขิง พริกหอม ยี่หร่า ดอกกระเจี๊ยบแดงและลูกจันทน์ ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 147.33, 122.93 114.07, 105.81 และ 105.72 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ และสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีฟีนอลิกค่อนข้างต่ำได้แก่ พริกชี้ฟ้า ข่า กระชาย ชะเอม ตะไคร้ พริกไทยดำ กระวาน เมล็ดผักชี โป๊ยกั๊ก พริกไทยขาว กระเทียมและหอมแดง ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 96.08, 88.78, 86.5, 85.30, 79.69, 75.71, 72.66, 64.88, 63.67, 62.32, 59.37 และ 59.36 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศทั้งหมด 21 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุดได้แก่ โรสแมรี่และกานพลู โดยมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 214.94 และ 209.52 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ สารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีปริมาณสูงรองลงมาคือ ใบไทม์ ขิง และลูกจันทน์ โดยมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 199.03, 126.76 และ 123.39 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ สารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดปานกลางได้แก่ ยี่หร่า มะกรูด ดอกกระเจี๊ยบแดง กระชาย พริกหอมและโป๊ยกั๊ก ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 87.65, 72.36, 53.34, 39.03, 34.85, และ 34.14 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างต่ำได้แก่ พริกไทยดำ ข่า ตะไคร้ กระวาน พริกชี้ฟ้าและเมล็ดผักชี มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 16.63, 16.18, 16.01, 15.21, 14.94 และ 13.16 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ และสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดต่ำได้แก่ ชะเอม พริกไทยขาว หอมแดงและกระเทียม มีค่าเท่ากับ 8.80, 4.45, 4.28 และ 3.39 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ

เมื่อพิจารณากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจะเห็นได้ว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากกานพลู โรสแมรี่และใบไทม์ มีความสัมพันธ์สอดคล้องกับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด คือสารสกัดจากกานพลูมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่สูงที่สุดและมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดอีกด้วย ตามด้วยสารสกัดจากใบไทม์และโรสแมรี่ ส่วนสารสกัดหยาบชนิดอื่นๆมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสัมพันธ์สอดคล้องไปในทิศทางเดียวกันบ้างเช่นกัน โดยเฉพาะสารสกัดหยาบจากขิง (ลำดับที่ 4) และดอกกระเจี๊ยบแดง (ลำดับที่ 8) ส่วนสารสกัดจากเครื่องเทศชนิดอื่นๆ เช่นสารสกัดจากยี่หร่า ลูกจันทน์ และมะกรูด มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณที่ค่อนข้างสูง (จัดอยู่ใน 10 อันดับแรก) รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากข่า ตะไคร้และพริกชี้ฟ้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณปานกลาง ส่วนสารสกัดหยาบจากพริกไทยดำ เมล็ดผักชี กระวานและชะเอม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างต่ำ ขณะที่สารสกัดหยาบจากโป๊ยกั๊ก พริกไทยขาว กระเทียมและหอมแดงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่ต่ำที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาสมบัติทางพฤษเคมีและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศทั้ง 21 ชนิด ในการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากกานพลู เป็นสารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากใบไทม์และสารสกัดหยาบจากโรสแมรี่ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของนักวิจัยท่านอื่นอีกหลายๆท่านเช่น รายงานผลการวิจัยของ Wojdylo และคณะ (2007) ที่ได้ทำการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลจำนวน 32 ชนิด พบว่าสารสกัดจากกานพลูซึ่งสกัดด้วยเมทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างสูงโดยมีค่าเท่ากับ 8.96 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของสารสกัดแห้ง และในสารสกัดจากโรสแมรี่และสารสกัดจากใบไทม์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1.71 และ 0.58 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของสารสกัด ซึ่งมีลักษณะเดียวกันกับงานวิจัยของ Shan และ คณะ (2007) ที่ทำการสกัดเครื่องเทศและสมุนไพรด้วยเมทานอล ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากกานพลูมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงเช่นเดียวกัน โดยมีค่าเท่ากับ 14.4 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของสารสกัดแห้ง ส่วนสารสกัดจากโรสแมรี่และสารสกัดจากใบไทม์ มีค่าเท่ากับ 5.1 และ 4.5 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของสารสกัดแห้ง นอกจากนี้ยังมีการรายงานการศึกษาสารสกัดจากกานพลูของ Ivanovic และคณะ (2013) พบว่าสารสกัดจากกานพลูซึ่งสกัดด้วยวิธี Supercritical fluid extraction มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 530.56 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด โดยตรวจพบสารประกอบหลักคือ eugnol ปริมาณมากถึงร้อยละ 64 และพบ eugenyl acetate ร้อยละ 20

ในการทดลองครั้งนี้สารสกัดหยาบจากโรสแมรี่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุด สารสกัดหยาบที่มีสารประกอบฟลาโวนอยด์รองลงมาคือ สารสกัดหยาบกานพลูและสารสกัดหยาบใบ-ไทม์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Vallverdú-Queralt และคณะ (2014) ที่ใช้สารสกัดจากเครื่องเทศและสมุนไพร 6 ชนิดที่สกัดด้วยเอทานอล พบว่าสารสกัดจากโรสแมรี่มีปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลสูงกว่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในใบไทม์ ออริกาโน ยี่หร่าและเบย์ (bay) โดยสารสกัดจากโรสแมรี่มีปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลเท่ากับ 5.02 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง

จากการทดลองสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดกานพลูมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของนักวิจัยท่านอื่นๆเช่น Wojdylo และคณะ (2007) ได้ทำการทดลองหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบด้วยเมทานอลด้วยวิธี ABTS, DPPH และ FRAP พบว่าสารสกัดหยาบจากกานพลูมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี โดยวิธี ABTS มีค่าเท่ากับ 364 ไมโครโมลของโทรล็อกซ์ต่อ 100 กรัมของสารสกัดแห้ง วิธี DPPH มีค่าเท่ากับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น และไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา

854 ไมโครโมลของโทรล็อกซ์ต่อ 100 กรัมของสารสกัดแห้ง และวิธี FRAP มีค่าเท่ากับ 2133 ไมโครโมลของโทรล็อกซ์ต่อ 100 กรัมของสารสกัดแห้ง ซึ่งสูงกว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของโรสแมรี่ ใบไทม์ ลูกจันทน์และชะเอม นอกจากนี้สารสกัดสารจากเครื่องเทศด้วยเอทานอลกับน้ำในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร พบว่าสารสกัดจากกานพลูมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยค่าเท่ากับ 20.71 ไมโครโมลของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของสารสกัดแห้ง โดยวิธี ABTS นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากขิงและพริกไทยมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระได้เล็กน้อย มีค่า ABTS เท่ากับ 37.4 และ 43.1 ไมโครโมลของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของสารสกัดแห้ง

การที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากกานพลู ใบไทม์และโรสแมรี่ อาจเป็นเพราะสารสกัดเหล่านี้มีสารสำคัญหลายชนิดเป็นองค์ประกอบเช่น gallic acid, caffeic acid, syrinagic acid, coumaric acid, rutin, qucetin และ carnosic acid ประกอบอยู่ และจากงานวิจัยของ Vallverdú-Queralt และคณะ (2014) ได้จำแนกชนิดของเครื่องเทศหลายชนิดที่สกัดด้วย hydroalcoholic solvents พบว่าสารประกอบฟีนอลที่พบในโรสแมรี่และใบไทม์ได้แก่ caffeic acid, chlorogenic acid, ferulie acid, *p*-coumaric acid, *p*-hydroxybenzoic acid, protocatechic acid, rosmarinicacid, syrinigic acid และ quercetin ซึ่งสารประกอบที่พบมากในโรสแมรี่ได้แก่ rosmarinic acid โดยพบปริมาณ 156.90 ไมโครกรัมต่อกรัมของสารสกัดแห้ง caffeic acid พบ 12.58 ไมโครกรัมต่อกรัมของสารสกัดแห้ง และ *p*-hydroxybenzoic acid พบ 15.16 ไมโครกรัมต่อกรัมของสารสกัดแห้ง ส่วนในสารสกัดจากใบไทม์สารที่พบปริมาณมากได้แก่ rosmarinic acid พบ 84.04 ไมโครกรัมต่อกรัมของสารสกัดแห้ง caffeic acid พบ 6.56 ไมโครกรัมต่อกรัมของสารสกัดแห้ง และ *p*-hydroxybenzoic acid พบ 4.38 ไมโครกรัมต่อกรัมของสารสกัดแห้ง ในการที่สารสกัดจากกานพลู ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดแล้ว ยังมีกิจกรรมต้านแบคทีเรียได้ดีที่สุด โดยสารประกอบฟีนอลิกที่สูงมีความสัมพันธ์กับกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและการต้านแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	Antioxidant activity[a]				Total Phenolic[a] content (mg GAE / g extract) ± SD	Total Flavonoid[a] content (mg CE / g extract) ± SD
		DPPH assay		FRAP assay (mmol Fe (II) / g extract) ± SD	ABTS assay (mg TE / g extract) ± SD		
		EC_{50} (µg extract / mg DPPH) ± SD	AE (10^{-3})± SD				
Allium ascalonicum Linn.	หอมแดง	84,173.3±4.23	0.01±5.97	0.04±0.04	201.48±2.6	59.36±1.49	4.28±0.07
Allium sativum L.	กระเทียม	50,168.1±10.41	0.01±4.13	0.01±0.005	318.37±0.39	59.37±1.36	3.39±0.41
Alpinia galangal Swartz.	ข่า	3,294.91±1.43	0.3±1.32	0.37±0.00	423.37±4.02	88.78±0.52	16.18±1.35
Amomum krervanh Pierre.	กระวาน	26,501.20±0.80	0.03±1.14	0.18±0.005	341.11±3.02	72.66±1.42	15.21±1.83
Capsicum annuum Linn.	พริกชี้ฟ้า	32,482.21±1.32	0.03±1.25	0.35±0.005	414.43±2.67	96.08±0.34	14.94±1.58
Citrus x hystrix L.	มะกรูด	2,080.73±0.20	0.48±4.76	0.75±0.008	430.66±2.37	154.84±1.55	72.36±0.60
Coriandrum sativum Linn.	เมล็ดผักชี	26,501.20±5.87	0.03±7.00	0.2±0.000	332.98±2.62	64.88±0.51	13.16±1.14
Cymbopogon citratus (DC.) Stapf.	ตะไคร้	16,305±0.98	0.06±6.39	0.25±0.02	233.69±4.24	79.69±0.53	16.01±0.81
Gastrochilus panduratur Ridl.	กระชาย	93,013±2.64	0.1±3.05	0.23±0.00	263.73±1.85	86.51±1.10	39.03±0.98
Glycyrrhiza glabra Linn. Var.typica Regel.	ชะเอม	10,999.97±0.93	0.09±7.96	0.15±0.00	229.08±1.55	85.30±1.40	8.80±0.29
Hibiscus sabdariffa Linn.	กระเจี๊ยบแดง	8,490.8±3.70	0.11±5.14	0.827±0.03	448.53±3.4	105.81±0.91	53.34±1.57

[a] คือค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 4.3 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ (ต่อ)

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	Antioxidant activity[a]				Total Phenolic[a] content (mg GAE / g extract) ± SD	Total Flavonoid[a] content (mg CE / g extract) ± SD
		DPPH assay		FRAP assay (mmol Fe (II) / g extract) ± SD	ABTS assay (mg TE / g extract) ± SD		
		EC_{50} (µg extract / mg DPPH) ± SD	AE (10^{-3})± SD				
Illicium verum Hooker	โป๊ยกั๊ก	13,861.14±9.84	0.07±5.12	0.02±0.008	213.39±2.23	63.67±0.33	34.14±0.44
Myristica fragrans Linn.	ลูกจันทน์	5,481.81±1.30	0.18±4.32	0.64±0.005	450.42±3.46	105.72±1.06	123.38±1.59
Ocimum gratissimum Linn.	ยี่หร่า	14,999.55±8.94	0.06±3.97	0.55±0.008	453.93±2.02	114.07±0.88	87.65±0.07
Piper nigrum Linn.	พริกไทยขาว	34,205.2±6.41	0.02±5.48	0.13±0.005	204.46±4.23	62.32±0.90	4.45±0.51
Piper nigrum Linn.	พริกไทยดำ	95,561.52±6.84	0.01±7.52	0.24±0.005	348.68±1.24	75.71±0.56	16.63±1.82
Rosmarinus officinalis L.	โรสแมรี่	116.40±6.85	8.61±0.00	2.04±0.01	510.21±2.73	184.88±0.73	214.94±1.84
Syzygium aromaticum	กานพลู	846.19±2.85	1.18±3.99	3.63±0.02	986.66±1.06	496.01±0.71	209.52±1.64
Thymus vulgaris	ใบไทม์	760.37±1.61	1.31±2.78	1.95±0.01	456.91±2.09	243.41±0.54	199.03±0.74
Zanyhoxylum budrunga Wall.	พริกหอม	13,241.6±2.27	0.07±1.29	0.48±0.005	439.06±3.35	122.93±1.77	34.85±0.93
Zingiber officinale Roscoe.	ขิง	1,721.80±3.74	0.57±4.30	1.55±0.012	426.6±1.7	147.33±0.31	126.76±0.45

[a] คือค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร โดยมีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ

4.4 การลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนน่องไก่สดโดยใช้สารสกัดหยาบจากกานพลูและสารสกัดหยาบจากใบไทม์

4.4.1 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของน่องไก่สดในระหว่างการเก็บรักษา

จากการทดลองใช้น้ำกลั่นเติมสารสกัดหยาบจากกานพลู (ความเข้มข้นร้อยละ 1 และความเข้มข้นร้อยละ 2) และน้ำกลั่นเติมสารสกัดหยาบจากใบไทม์ (ความเข้มข้นร้อยละ 1 และความเข้มข้นร้อยละ 2) ในการชะล้างน่องไก่สดแล้วนำมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่าน่องไก่สดก่อนการชะล้างมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดใกล้เคียงกัน (6.2 ถึง 7.61 log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร หรือ 1.83×10^{6} ถึง 4.71×10^{7} CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร) หลังจากการชะล้างด้วยน้ำกลั่น น้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลู และน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากใบไทม์ พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ผิวของน่องไก่สดทุกทรีตเมนต์มีจำนวนลดลง โดยเฉพาะน่องไก่สดที่ผ่านการชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูความเข้มข้นร้อยละ 2 น่องไก่ที่ผ่านการชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากใบไทม์ความเข้มข้นร้อยละ 2 และน่องไก่สดชุดควบคุม (ผ่านการชะล้างด้วยน้ำกลั่น) มีจำนวนจุลินทรีย์ลดลงตั้งแต่ 0.5 ถึง 0.69 log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนเชื้อเริ่มต้น หลังจากการเก็บรักษาน่องไก่สดที่ผ่านการชะล้างแล้วไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนครบ 7 วัน พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ผิวน่องไก่สดทุกทรีตเมนต์มีจำนวนเพิ่มขึ้น 0.6 ถึง 1.41 log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร หรือมีจำนวนเท่ากับ 1.49×10^{7} ถึง 3.46×10^{7} CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร

4.4.2 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบเจริญที่อุณหภูมิต่ำ

จากการทดลองเพื่อหาการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบเจริญที่อุณหภูมิต่ำ (ไซโครโทรฟ) ในน่องไก่ที่ผ่านการชะล้าง ผลการทดลองพบว่าน่องไก่สดก่อนการชะล้างมีเชื้อจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 6.07 ถึง 6.92 log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร หรือ 1.2×10^{6} ถึง 8.59×10^{6} CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร หลังจากชะล้างน่องไก่สดในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาพบว่า (ตารางที่ 4.4) ส่วนน่องไก่สดที่ถูกชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากใบไทม์ (ความเข้มข้นร้อยละ 1 และความเข้มข้นร้อยละ 2) มีจำนวนจุลินทรีย์ไซโครโทรฟเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (เพิ่มขึ้น 0.16 ถึง 0.31 log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตรตามลำดับ) และเมื่อเก็บรักษาจนครบ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสน่องไก่สดทุกทรีตเมนต์มีจำนวนไซโครโทรฟที่ผิวเพิ่มขึ้น (เพิ่มขึ้น 0.1 ถึง 0.72 log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร) แต่การเพิ่มขึ้นของจำนวนไซโครโทรฟที่ผิวของน่องไก่สดที่ผ่านการชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบจากกานพลู และน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากใบไทม์ที่ทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นพบว่าน้อยกว่าการเพิ่มขึ้นของจำนวนไซโครโทรฟที่ผิวของน่องไก่สดชุดควบคุม ซึ่งจะเห็นได้ว่าจำนวนไซโครโทรฟที่ผิวของน่องไก่สดชุดควบคุมมีจำนวนมากกว่าจำนวนไซโครโทรฟที่ผิวของน่องไก่สดที่ผ่านการชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูและน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากใบไทม์ที่ทั้ง 2 ระดับความเข้มข้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$)

4.4.3 การเปลี่ยนแปลง *Pseudomonas* spp. ในน่องไก่สด

จากการทดลองพบว่า ก่อนการชะล้างน่องไก่สดมีปริมาณ *Pseudomonas* spp. ใกล้เคียงกัน (5.45 ถึง 6.26 log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร หรือ 2.91×10^5 ถึง 1.82×10^6 CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร) เมื่อนำน่องไก่สดมาชะล้างด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) น้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลู (ความเข้มข้นร้อยละ 1 และความเข้มข้นร้อยละ 2) และน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากใบ-ไทม์ (ความเข้มข้นร้อยละ 1 และความเข้มข้นร้อยละ 2) พบว่าการชะล้างน่องไก่สดด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูความเข้มข้นร้อยละ 2 และน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากใบไทม์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ทำให้ปริมาณเชื้อ *Pseudomonas* spp. ลดลงเล็กน้อย โดยจำนวนเชื้อ *Pseudomonas* spp. ลดลง 0.82 และ 0.03 log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตรตามลำดับ ส่วนน่องไก่สดที่ชะล้างด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) น่องไก่สดที่ชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูความเข้มข้นร้อยละ 1 และน่องไก่สดที่ชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากใบไทม์ความ เข้มข้นร้อยละ 2 มีปริมาณเชื้อ *Pseudomonas* spp. เพิ่มขึ้นเล็กน้อย (เพิ่มขึ้น 0.18 ถึง 0.57 log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร) หลังจากเก็บรักษาน่องไก่สดไว้ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำมาตรวจหาปริมาณ *Pseudomonas* spp. พบว่าการชะล้างน่องไก่สดด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลู (ความเข้มข้นร้อยละ 1 และความเข้มข้นร้อยละ 2) มีผลทำให้ปริมาณเชื้อ *Pseudomonas* spp. ที่ผิวน่องไก่ลดลง (ลดลง 0.57 ถึง 0.25 log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร) จากจำนวน *Pseudomonas* spp. ที่เวลาเริ่มต้นของการเก็บรักษา พบว่า *Pseudomonas* spp. ระหว่างน่องไก่สดที่ถูกชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นกับชุดควบคุมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังพบว่าน่องไก่สดที่ถูกชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นไม่มีความผิดปกติทางสีและกลิ่น แต่น่องไก่ชุดควบคุมและน่องไก่ที่ชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากใบไทม์ทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นมีปริมาณเชื้อ *Pseudomonas* spp. ที่ผิวเพิ่มขึ้นในช่วง 0.17 ถึง 0.99 log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร และยังพบว่าสีของน่องไก่สดชุดควบคุมเปลี่ยนแปลงไปจากสีชมพูอมแดงเป็นสีเขียวคล้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และยังมีกลิ่นเหม็น ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะชะลอการเน่าเสียของน่องไก่สดโดยการชะล้างด้วยน้ำผสมสารสกัดหยาบจากกานพลู

จากการทดลองชะล้างน่องไก่สดด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดจากกานพลูและน้ำกลั่นผสมสารสกัดจากใบไทม์มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง เนื่องจากการชะล้างเป็นการล้างสิ่งสกปรกออกจากน่องไก่สดแล้วยังช่วยชะเอาเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาตั้งแต่แรกออกไปด้วย ซึ่งการชะล้างสามารถช่วยขจัดเชื้อแบคทีเรียให้ลดลงได้ 5-log (Jay และคณะ, 2005) แต่การชะล้างด้วยน้ำเพียงอย่างเดียวอาจจะไม่มีประสิทธิภาพพอที่จะลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้ การที่เติมสารเคมีเช่นกรดแลคติกหรือกรดอะซิติกลงไปในน้ำชะล้าง มีรายงานว่าสามารถลดการปนเปื้อนได้ดี (Sakhare และคณะ, 1999) นอกจากนี้การเติมสารสกัดจากเครื่องเทศสมุนไพรผสมลงไปในน้ำชะล้างก็เคยมีรายงานว่าช่วยลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสดได้มากกว่าการชะล้างด้วยน้ำเพียงอย่างเดียว ดั่งเช่นผลการวิจัยของ Naveena และคณะ (2006) ที่พบว่าการชะล้างเนื้อกระบือไม่ว่าจะด้วยน้ำกลั่นผสมกรดแลคติก น้ำมันกานพลู หรือน้ำกลั่นผสมกรดแลคติก น้ำมันกานพลูและวิตามินซี ก็สามารถทำให้จำนวนจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศทั้งหมด จำนวนจุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรฟและจำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์มมีจำนวนต่ำกว่าการชะล้างด้วยน้ำกลั่นที่ไม่ได้เติมสารใดๆตลอดระยะเวลาเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน นอกจากนี้ Mahmoud และคณะ (2004) ยังได้รายงานว่าการจุ่มผิวหนังปลาคาร์พลงในน้ำชะล้างที่ประกอบด้วยสารที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องเทศเช่น carvacrol ร้อยละ 0.5 และ thymol ร้อยละ 0.5 ก่อนเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส สามารถช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลงได้ถึง 100 เท่า

ในการทดลองนี้ได้ทำการตรวจหาเชื้อ *Pseudomonas* spp. เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้มักพบในเนื้อสดและเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เนื้อเน่าเสียโดย *Pseudomonas* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่ชอบเจริญในที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งเรียกว่าแบคทีเรีย psychrotroph Jay และคณะ (2005) กล่าวว่า psychrotroph มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ที่ 10 ถึง 15 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดในการเจริญอยู่ที่ -5 ถึง 5 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิสูงสุดในการเจริญอยู่ที่ 20 ถึง 35 องศาเซลเซียส เมื่อเก็บเนื้อไก่ไว้เป็นเวลานานเชื้อจะเพิ่มจำนวนขึ้น จนกระทั่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลักษณะปรากฏเช่นเกิดเมือกที่ผิว เกิดการเปลี่ยนสีอย่างเห็นได้ชัด อีกทั้งยังมีกลิ่นเหม็นเน่า สาเหตุที่การชะล้างน่องไก่สดด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดจากกานพลูความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถลดปริมาณของเชื้อ *Pseudomonas* spp. ได้ดีกว่าทรีตเมนต์อื่นๆอาจเป็นเพราะฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสำคัญที่อยู่ในกานพลูเช่น eugenol ดั่งงานวิจัยของ Lee และ Shibamoto (2001) ที่ทำการจำแนกสารประกอบของสารสกัดจากกานพลูโดย GC และ GC-MS พบว่าสารสกัดกานพลูมีองค์ประกอบหลักคือ eugenol (24.371 mg/g) และ acetate eugenyl (2.354 mg/g) นอกจากนี้ Mahmoud และคณะ (2004) ยังรายงานผลวิจัยว่า eugenol ความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas* spp. ได้โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 5.8 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ในน่องไก่สดที่ชะล้างด้วยน้ำกลั่น น้ำกลั่นผสมสารสกัดจากกานพลูและน้ำกลั่นผสมสารสกัดจากใบไทม์

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ในเนื้อน่องไก่สดที่ผ่านการชะล้างด้วยน้ำกลั่น น้ำกลั่นผสมสารสกัดจากกานพลูและน้ำกลั่นผสมสารสกัดจากใบไทม์ แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน (ตารางที่ 4.5) พบว่าค่า TBARS ในเนื้อน่องไก่สดในระยะเริ่มต้นของการเก็บรักษามีค่าค่อนข้างใกล้เคียงกันคือ 0.56 ถึง 0.58 มิลลิกรัมมาโลนาลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของสารสกัด เมื่อเก็บรักษาครบ 7 วัน พบว่าเนื้อน่องไก่สดทุกทรีตเมนต์มีค่า TBARS ลดลงโดยลดลง 0.02 ถึง 0.04 มิลลิกรัมมาโลนาลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของสารสกัด และเมื่อพิจารณาในแต่ละทรีตเมนต์พบว่าเนื้อน่องไก่สดที่ชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูความเข้มข้นร้อยละ 2 มีค่า TBARS ลดลงมากที่สุดจากระยะเริ่มต้นของการเก็บรักษาโดยลดลง 0.04 มิลลิกรัมมาโลนาลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของสารสกัด ดังนั้นการชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดจากกานพลูความเข้มข้นร้อยละ 2 อาจช่วยชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมันในน่องไก่สดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสได้

ในการทดลองนี้การชะล้างน่องไก่สดด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูความเข้มข้นร้อยละ 2 มีผลช่วยชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมันในน่องไก่สดระหว่างเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Naveena และคณะ (2006) ซึ่งได้ศึกษาผลของการชะล้างเนื้อกระบือด้วยน้ำกลั่นผสมกรดแลคติก น้ำกลั่นผสมกรดแลคติกและน้ำมันกานพลู น้ำกลั่นผสมกรดแลคติก น้ำมันกานพลูและวิตามินซี เปรียบเทียบกับการชะล้างด้วยน้ำกลั่นที่ไม่ได้เติมสารใดๆ พบว่าเนื้อกระบือที่ถูกชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมกรดแลคติกและน้ำมันกานพลูมีค่า TBARS น้อยที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับทรีตเมนต์อื่นๆ การที่ค่า TBARS ของน่องไก่สดที่ชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูมีค่าต่ำที่สุดชี้ให้เห็นถึงผลของสารสกัดกานพลูที่ช่วยชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมัน

การวิเคราะห์ค่า TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) เป็นการวัดการเกิดออกซิเดชันของไขมันซึ่งจะวัดปริมาณของแอลดีไฮด์ (aldehyde) ที่อยู่ในรูปมาโลนาลดีไฮด์ (malonalaldehyde) โดย malonalaldehyde (MDA) เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน มีสูตรโครงสร้างคือ $C_3H_4O_2$ ในการตรวจวิเคราะห์ค่า TBARS มีหลักการคือ TBA (thiobarbituric acid) 2 โมเลกุลจะเข้าทำปฏิกิริยากับ MDA 1 โมเลกุลเกิดเป็นสารประกอบที่ให้สีแดง (red chromogen) และน้ำอีก 2 โมเลกุล การวัดความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้นคือการวัดความเข้มข้นของ MDA ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น Fernández และคณะ (1997) ดังนั้นการที่ค่า TBARS มีค่าลดลงแสดงให้เห็นว่าเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันลดลง ทำให้มี MAD และ TBA เข้าทำปฏิกิริยาได้น้อยส่งผลให้เกิดเป็นสารประกอบสีแดงได้น้อยลงเช่นกัน ส่วนการเกิดออกซิเดชัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของไขมันนั้นเป็นปฏิกิริยาที่ซับซ้อน เกิดจากกลุ่มของออกซิเจน (reactive oxygen species) ตัวอย่างเช่นออกซิเจนที่เป็นอนุมูลอิสระและออกซิเจนที่ไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระ ปฏิกิริยาเริ่มจากการดึงอะตอมของไฮโดรเจนที่อยู่ติดกับพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ทำให้เกิดอนุมูลอิสระของไขมัน ($L^{\bullet}$) ซึ่งในสภาพที่มีออกซิเจนอนุมูลอิสระของไขมันจะทำปฏิกิริยา ทำให้เกิดอนุมูลอิสระของ lipoperoxyl ($LOO^{\bullet}$) และท้ายที่สุด $LOO^{\bullet}$ จะทำปฏิกิริยากับอะตอมของไฮโดรเจนถัดไปในกรดไขมันตัวข้างๆผลคือ $LOO^{\bullet}$ จะถูกรีดิวซ์กลายเป็น lipid hydroperoxide (LOOH) และทำให้เกิดอนุมูลอิสระของไขมันตัวใหม่ขึ้นมา กระบวนนี้ในระบบของสิ่งมีชีวิตและการเหม็นหืนแบบที่ออกซิเดทีฟ (oxidative rancidity) ทราบกันดีว่าคือ lipoperoxidation นอกจากนี้สาร lipid hydroperoxide ทำให้แตกสลายได้ง่าย เกิดเป็นโมเลกุลขนาดเล็กๆเช่น แอลดีไฮด์ (aldehydes) คีโตน (ketone) แอลกอฮอล์ (alcohol) และแลคโตน (lactone) ซึ่งสารเหล่านี้บางชนิดเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต การสะสมสารประกอบเหล่านี้ในเนื้อสัตว์ปีกสามารถมีผลต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส (Botsoglou, 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ผลของการชะล้างน่องไก่สดด้วยน้ำกลั่น สารสกัดจากกานพลูและสารสกัดจากใบ-ไทม์ ต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรฟ และจำนวน *Pseudomonas* spp. ที่ผิวน่องไก่สด

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนจุลินทรีย์บนผิวน่องไก่สด (log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร)[a]				
	น้ำกลั่น	กานพลู 1%	กานพลู 2%	ใบไทม์ 1%	ใบไทม์ 2%
Total viable count					
ก่อนการชะล้าง	7.61±0.1^{a}	6.61±0.04^{b}	6.41±0.08^{cd}	6.54±0.06^{bc}	6.26±0.05^{d}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	6.92±0.16^{a}	6.52±0.05^{b}	5.85±0.15^{c}	6.36±0.11^{b}	5.76±0.08^{c}
วันที่ 7 (4°C)	7.52±0.07^{a}	7.46±0.11^{a}	7.38±0.1^{ab}	7.27±0.06^{bc}	7.17±0.05^{c}
Total psychrotroph					
ก่อนการชะล้าง	6.92±0.1^{a}	6.56±0.11^{ab}	6.07±0.12^{b}	6.63±0.05^{ab}	6.27±0.18^{ab}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	6.90±0.08^{a}	6.50±0.08^{ab}	6.02±0.11^{b}	6.79±0.06^{a}	6.56±0.06^{ab}
วันที่ 7 (4°C)	7.62±0.14^{a}	6.76±0.09^{bc}	6.69±0.06^{c}	6.89±0.11^{b}	6.61±0.07^{c}
Total *Pseudomonas*					
ก่อนการชะล้าง	6.26±0.02^{a}	5.95±0.1^{ab}	5.72±0.07^{bc}	5.72±0.08^{c}	5.45±0.12^{c}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	6.83±0.08^{a}	6.27±0.11^{b}	5.44±0.07^{c}	5.69±0.05^{bc}	5.63±0.03^{bc}
วันที่ 7 (4°C)	7.00±0.08^{a}	5.76±0.09^{b}	5.19±0.09^{c}	6.68±0.13^{d}	6.43±0.14^{e}

หมายเหตุ : a ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ, อักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงของค่า TBARS (Thiobabituric acid number) ของเนื้อน่องไก่สดระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ชุดการทดลอง	ค่า TBARS±SD (mg MAD/kg extract)	
	วันที่0	วันที่7
น้ำเปล่า	0.58^{a}±0.03	0.56^{a}±0.02
กานพลู1%	0.58^{a}±0.01	0.56^{a}±0.02
กานพลู2%	0.56^{a}±0.01	0.52^{b}±0.01
ใบไทม์1%	0.56^{a}±0.01	0.53^{ab}±0.01
ใบไทม์2%	0.56^{a}±0.01	0.53^{ab}±0.01

หมายเหตุ :อักษรต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศจำนวน 21 ชนิดด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution) ผลปรากฏว่าสารสกัดหยาบจากดอกกระเจี๊ยบแดงและใบไทม์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ทุกชนิดที่ทดสอบ สารสกัดหยาบจากกานพลูมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้หลายชนิดรองลงมาโดยมีค่า MIC น้อยกว่า 6.4 หรือเท่ากับ 6.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเชื้อ *Porphyromonas gingivalis* มีความไวต่อการถูกยับยั้งจากสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศได้ทุกชนิดที่ทดสอบ โดยเฉพาะสารสกัดหยาบจากโป๊ยกั๊กลูกจันทน์และกานพลู (ค่า MIC เท่ากับ 3.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และแบคทีเรียที่มีความไวค่อนข้างมากต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศคือ *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* และ *Staphylococcus aureus* มีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากลูกจันทน์และโรสแมรี่มากที่สุด สำหรับเชื้อ *Bacillus cereus* มีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากลูกจันทน์และโรสแมรี่ได้ดีที่สุด (มีค่า MIC เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

การศึกษาด้านพฤกษเคมีได้แก่ สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ผลปรากฏว่าสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีคือ โรสแมรี่ ใบไทม์และกานพลู ซึ่งมีสมบัติในการกำจัดอนุมูลของ DPPH (มีค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 116.40 ถึง 846.19 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัม DPPH) และเป็นสารรีดิวซ์ที่ดีในการทดลองด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay (มีค่าอยู่ในช่วง 2.04 ถึง 3.63 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด) นอกจากนี้เครื่องเทศยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ในปริมาณสูง โดยเฉพาะสารสกัดหยาบจากกานพลู ใบไทม์ โรสแมรี่และมะกรูด มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 496.01, 243.41, 184.88 และ 154.84 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ สำหรับสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงได้แก่ สารสกัดหยาบจากโรสแมรี่และกานพลู ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 214.94 และ 209.52 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนน่องไก่สดโดยใช้สารสกัดหยาบจากกานพลู และสารสกัดหยาบจากใบไทม์ โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของน่องไก่สดในระหว่างการเก็บรักษา การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบเจริญที่อุณหภูมิต่ำ และการเปลี่ยนแปลง *Pseudomonas* spp. ในน่องไก่สด จากการทดลองพบว่าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาเปรียบเทียบกับจำนวนเชื้อเริ่มต้น ผลปรากฏว่าน่องไก่สดที่ผ่านการชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูความเข้มข้นร้อยละ 2 น้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากใบไทม์ความเข้มข้นร้อยละ 2 และน่องไก่ชุดควบคุม มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ลดลงตั้งแต่ 0.5 ถึง 0.69 log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร หลังการเก็บรักษาน่องไก่สดครบ 7 วัน ผลปรากฏว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ผิวของน่องไก่สดทุกทรีตเมนต์มีจำนวนเพิ่มขึ้น (เพิ่มขึ้น 0.6 ถึง 1.41 log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร) ส่วนการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ ไซโครโทรฟ ผลปรากฏว่าการชะล้างน่องไก่สดในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาด้วยน้ำกลั่นและน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูทั้ง 2 ระดับความเข้มข้น มีปริมาณไซโครโทรฟลดลงเล็กน้อย ส่วนน่องไก่สดที่ถูกชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากใบไทม์ทั้ง 2 ระดับความเข้มข้น มีจำนวนไซโครโทรฟเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อครบกำหนดการเก็บรักษา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ผลปรากฏว่าน่องไก่สดทุกทรีตเมนต์มีจำนวนไซโครโทรฟเพิ่มขึ้น แต่การเพิ่มจำนวนไซโครโทรฟบนน่องไก่สดที่ผ่านการชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นและน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากใบไทม์ทั้ง 2 ระดับความเข้มข้น มีจำนวนไซโครโทรฟเพิ่มขึ้นน้อยกว่าน่องไก่สดชุดควบคุม และการเปลี่ยนแปลง *Pseudomonas* spp. ในน่องไก่สด ผลปรากฏว่าในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาน่องไก่สดที่ผ่านการชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูความเข้มข้นร้อยละ 2 และน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากใบไทม์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ทำให้ปริมาณเชื้อ *Pseudomonas* spp. ลดลงเล็กน้อย (ลดลง 0.82 และ 0.03 log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตรตามลำดับ) ส่วนน่องไก่สดที่ถูกชะล้างด้วยทรีตเมนต์อื่นมีปริมาณ *Pseudomonas* spp. เพิ่มขึ้นเล็กน้อย หลังจากเก็บรักษาน่องไก่สดครบ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ผลปรากฏว่าน่องไก่สดที่ถูกชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูทั้ง 2 ระดับความเข้มข้น มีผลทำให้ปริมาณเชื้อ *Pseudomonas* spp. ที่ผิวของน่องไก่สดลดลง (ลดลง 0.57 ถึง 0.25 log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร) อีกทั้งยังพบว่าน่องไก่สดที่ถูกชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นไม่มีความผิดปกติทางสีและกลิ่น จึงเป็นไปได้ว่าน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูสามารถชะลอการเน่าเสียของน่องไก่สดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ในเนื้อน่องไก่สด ผลปรากฏว่าเนื้อน่องไก่สดที่ชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดหยาบจากกานพลูความเข้มข้นร้อยละ 2 มีค่า TBARS ลดลงมากที่สุดจากระยะเริ่มต้นของการเก็บรักษาโดยลดลง 0.04 มิลลิกรัมมาโลนาลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของสารสกัด ดังนั้นการชะล้างด้วยน้ำกลั่นผสมสารสกัดจากกานพลูความเข้มข้นร้อยละ 2 อาจช่วยชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมันในน่องไก่สดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสได้

จากการทดลองนี้ มีข้อเสนอแนะในการนำสารสกัดจากเครื่องเทศที่มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์สูง เช่นกานพลู โรสแมรี่และใบไทม์ มาช่วยชะลอการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์อาหารสดหรือผลิตภัณฑ์เนื้อสดต่างๆ เพื่อช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษา เนื่องจากเครื่องเทศเหล่านี้มีสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Brain Heart Infusion Broth (BHIB)

ประกอบด้วย			
	Brain Heart Infusion	6.0	กรัม
	Peptic digest of animal tissue	6.0	กรัม
	NaCl	5.0	กรัม
	Dextrose	3.0	กรัม
	Pancreatic digest of gelatin	14.5	กรัม
	Na_2HPO_4	2.5	กรัม
	Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ผสมส่วนผสมทุกชนิดลงในน้ำกลั่นให้ความร้อนโดยต้ม 1 นาทีเพื่อให้ละลายอย่างสมบูรณ์ แบ่งใส่ขวด นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้ายเท่ากับ 7.4 ± 0.2

2. Nutrient Broth (NB)

ประกอบด้วย			
	Beef extract	3.0	กรัม
	Peptone	5.0	กรัม
	Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ผสมส่วนผสมทุกชนิดลงในน้ำกลั่น ให้ความร้อนจนวุ้นละลาย นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้ายเท่ากับ 6.8 ± 0.2

3. Columbia Blood Agar (CBA)

ประกอบด้วย			
	Pancreatic Digest of Casein	10.0	กรัม
	Proteose peptone No.	5.0	กรัม
	Yeast Extract	5.0	กรัม
	Beef Heart, Infusion from 500 กรัม	3.0	กรัม
	Corn starch	1.0	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sodium Chloride	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้ากันด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากการนึ่งฆ่าเชื้ออาหาร CBA ควรตั้งทิ้งไว้ให้เย็นเล็กน้อย (อุณหภูมิประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส) แล้วจึงทำการเติมเลือดแกะหรือเลือดคนปลอดเชื้อในอัตราส่วนร้อยละ 5

4. Mueller Hinton Agar

ประกอบด้วย ชั่งอาหารสำเร็จรูป	Mueller Hinton agar	38.0	กรัม
	Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

นำมาต้มให้เดือดและละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที ควรตั้งทิ้งไว้ให้เย็นเล็กน้อย อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส เทลงบน plate (ปริมาตร 15 มิลลิลิตรต่อ plate)

5. Blood Agar

ประกอบด้วย	Beef heart infusion	500.0	กรัม
	Tryptose	10.0	กรัม
	NaCl	5.0	กรัม
	Agar	20.0	กรัม
	Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนประกอบของ Blood agar base ทั้งหมดให้เข้ากันด้วยน้ำกลั่น ต้มจนเดือด ใส่ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ นำเข้าหม้อความดันนึ่งอัดไอที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งไว้ข้างนอกให้พออุ่น กระทั่งอุณหภูมิลดลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส เติมสารละลายฮีมีนความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีนาไดโอนความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และเลือดแกะร้อยละ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. *Pseudomonas* Isolation Agar (PIA)

ประกอบด้วย ซั่งอาหารสำเร็จรูป *Pseudomonas* Isolation Agar 44.0 กรัม

Distilled water 1,000 มิลลิลิตร

ผสมส่วนผสมทุกชนิดลงในน้ำกลั่น นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที ควรตั้งทิ้งไว้ให้เย็นเล็กน้อย อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส ค่อยเทลงบน plate

7. Plate count agar (PCA)

ประกอบด้วย			
	Tryptone	5.0	กรัม
	Yeast extracts	2.5	กรัม
	Dextrose	1.0	กรัม
	Agar	15.0	กรัม
	Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ผสมส่วนผสมทุกชนิดลงในน้ำกลั่น ให้ความร้อนจนวุ้นละลาย นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้ายเท่ากับ 7.0 ± 0.2

8. Rappaport-Vassiliadis Medium (RV)

ประกอบด้วย			
	Tryptone	5.0	กรัม
	NaCl	8.0	กรัม
	KH_2PO_4	1.6	กรัม
	Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ผสมส่วนผสมทุกชนิดในน้ำกลั่น ให้ความร้อนจนวุ้นละลาย นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้ายเท่ากับ 5.5 ± 0.2

9. Triple Sugar Iron Agar (TSI)

ประกอบด้วย			
	Bacto peptone	20.0	กรัม
	Sodium chloride	5.0	กรัม
	Lactose	10.0	กรัม
	Sucrose	10.0	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Glucose	1.0	กรัม
Ferrous ammonium sulphate	0.2	กรัม
Sodium thiosulphate	0.2	กรัม
Phenol red	0.025	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ต้มส่วนผสมข้างบนเพื่อละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันดี จากนั้นถ่ายใส่หลอดๆละ 10 ml นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที ด้วยหม้อความดันนึ่งอัดไอ นำออกมาเอียงให้อาหารวุ้นแข็งตัวในลักษณะเป็น agar deep หรือ agar tall

10. Xylose lysine deoxycholate agar (XLD)

ประกอบด้วย

Yeast extracts	3.0	กรัม
L-lysince	5.0	กรัม
Xylose	3.75	กรัม
Lactose	7.5	กรัม
Ferric ammonium citrate	0.8	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
Phenol red	0.08	กรัม
Sucrose	7.5	กรัม
Sodium desoxycholate	2.5	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ผสมส่วนผสมทุกชนิดในน้ำกลั่น ให้ความร้อนพร้อมทั้งคนจนวุ้นละลาย ให้ความร้อนจนเดือนแล้วยกลง อย่าให้ความร้อนมากเกินไป ทิ้งให้เย็นลงจนถึง 50 องศาเซลเซียส เทลงในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าแห้ง 2 ชั่วโมง เปิดฝาเล็กน้อยจากนั้นจึงปิดฝา pH สุดท้าย 7.4 ± 0.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารละลาย

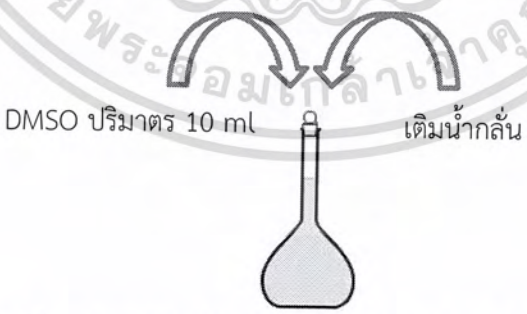
1. การเตรียมเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30

ทำการเตรียมสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยเริ่มจากปิเปตสารละลายเมทานอลปริมาตร 30 มิลลิลิตรลงในขวดปรับปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นซึ่งทำได้ดังนี้

รูปที่ 1 (ข) การเตรียมสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30

2. การเตรียมสารละลาย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10

ทำการเตรียมสารละลาย Dimethy sulfoxide (DMSO) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปิเปตสารละลาย DMSO ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ทำได้ดังนี้



รูปที่ 2 (ข) การเตรียมสารละลาย Dimethy sulfoxide (DMSO) ความเข้มข้นร้อยละ 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การเตรียม Stock solution ของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ

ทำการเตรียม Stock solution ของสารสกัดหยาบที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 3 ระดับ ได้แก่ ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการศึกษาสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ทดสอบ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมี

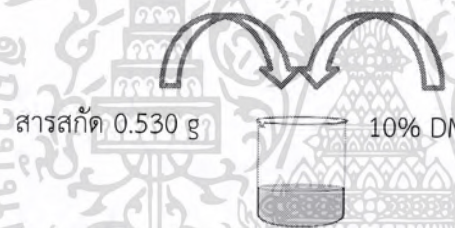
การเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำได้โดยชั่งสารสกัด 0.2000 กรัม แล้วเติม DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10 ลงไป 1 มิลลิลิตร ซึ่งการชั่งสารให้ได้ 0.2000 กรัม นั้นเป็นไปได้ยาก จึงทำได้ดังนี้

จากสารสกัดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กล่าวได้ว่าในสารละลาย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10 ลงไป 1 มิลลิลิตร จะมีสารสกัดอยู่ 0.200 กรัม

หรือ ชั่งสารสกัด 0.2000 g จะเติมสารละลาย 10% DMSO ปริมาตร 1 ml

ถ้าชั่งสารสกัด 0.5300 g จะเติมสารละลาย 10% DMSO ปริมาตร (1×0.5300)/0.20 ml

เท่ากับ 2.65 ml



รูปที่ 3 (ข) ตัวอย่างการเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กล่าวได้ว่าในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ซึ่งสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีสารสกัดอยู่ 0.0010 กรัม หรือ

ชั่งสารสกัด 0.0010 g จะเติม 30% Methanol ปริมาตร 1 ml

ถ้าชั่งสารสกัด 0.0030 g จะเติม 30% Methanol ปริมาตร (1×0.0030)/0.001 ml

เท่ากับ 3 ml

4. การเตรียมสารละลายเปปโตน

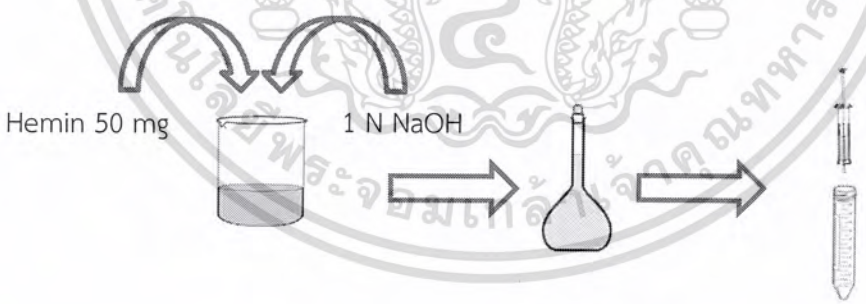
ทำการเตรียมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยชั่งเปปโตนปริมาตร 0.1 กรัม ลงในบิ๊กเกอร์ เติมน้ำกลั่นปริมาตรเล็กน้อย คนให้ละลาย จากนั้นเทลงในขวดปรับปริมาตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ดังแสดงในรูปที่ 4 (ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4 (ข) การเตรียมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 น้ำหนักโดยปริมาตร

5. วิธีการเตรียม Stock solution ของสารสะลายฮีมิน (Hemin)

ทำการเตรียม Stock solution ของสารสะลายฮีมินความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำได้โดยการชั่งฮีมินปริมาณ 50 มิลลิกรัม ลงในบิ๊กเกอร์ เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ปริมาณเล็กน้อยคนให้ละลาย เทลงในขวดปรับปริมาตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จากนั้นกรองผ่านตัวกรอง (filter) ปลอดเชื้อ (ที่บรรจุกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร) เก็บในภาชนะที่ปิดสนิทและพ้นแสงแดด ดังแสดงในรูป



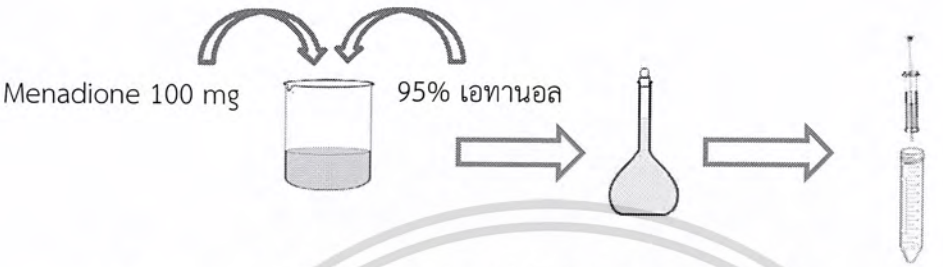
รูปที่ 5 (ข) การเตรียม Stock solution ของสารสะลายฮีมินความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม

6. การเตรียม Stock solution ของสารละลายมีนาไดโอน (Menadione)

ทำการเตรียม Stock solution ของสารละลายมีนาไดโอนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม ในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำได้โดยการชั่งมีนาไดโอนปริมาณ 100 มิลลิกรัม ลงในบิ๊กเกอร์ เติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

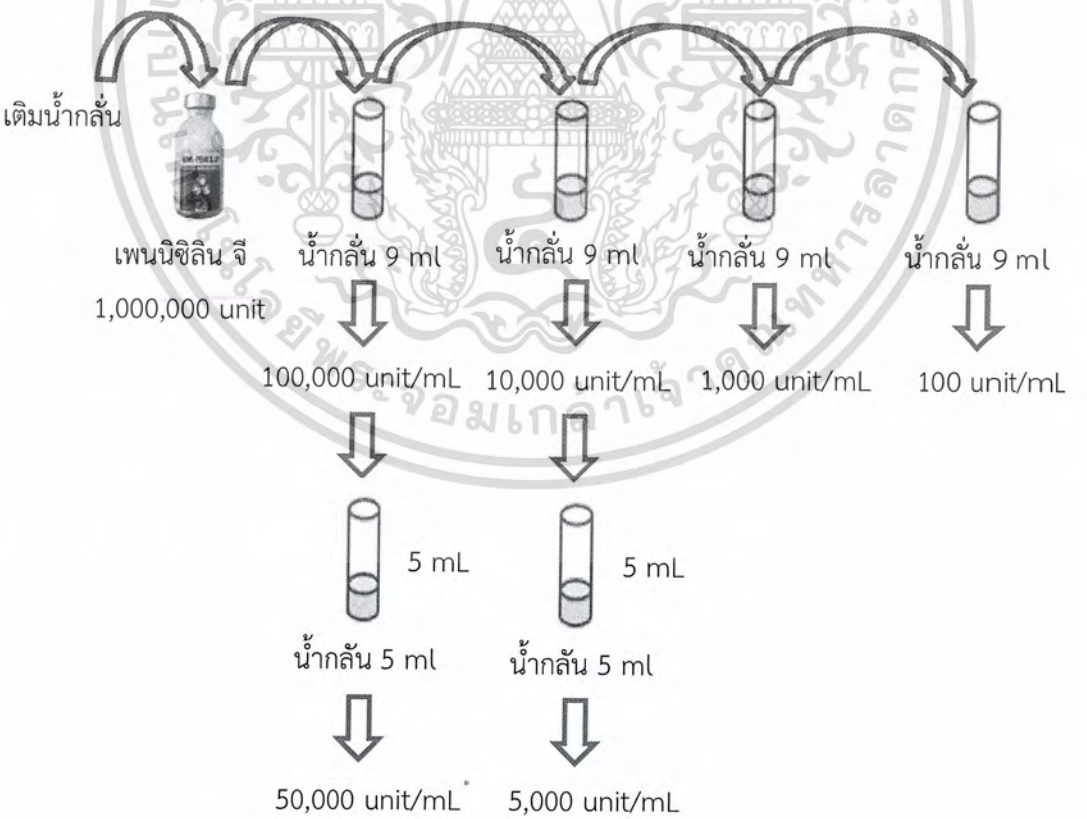
เล็กน้อยคนให้ละลาย เทลงในขวดปรับปริมาตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายเอ-ทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 จากนั้นกรองผ่านตัวกรอง (filter) ปลอดเชื้อ (ที่บรรจุกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร) เก็บในภาชนะที่ปิดสนิทและพ้นแสงแดด



รูปที่ 6 (ข) การเตรียม Stock solution ของสารละลายมีนาไดโอนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม

7. วิธีการเตรียม Agar dilution

7.1 การเตรียม Stock solution ของยาปฏิชีวนะที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกยาเพนนิซิ-ลิน จี (Penicillin G)

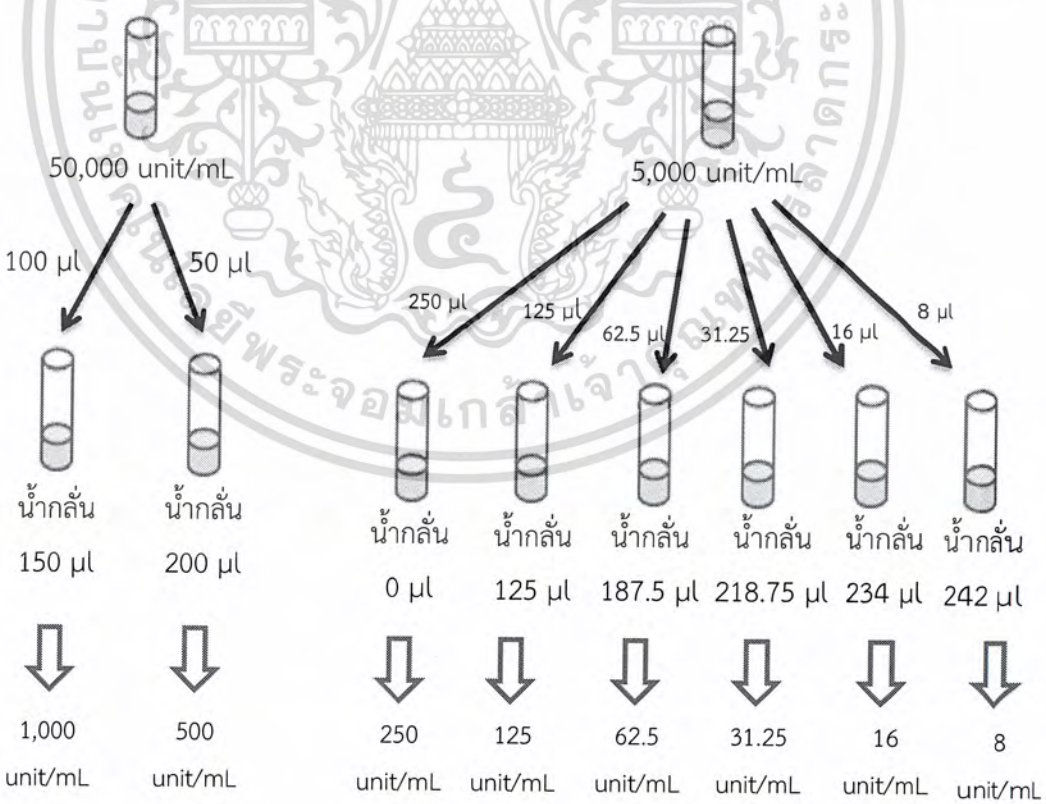


รูปที่ 7 (ข) การเตรียม Stock solution ของยาเพนนิซิลิน จี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

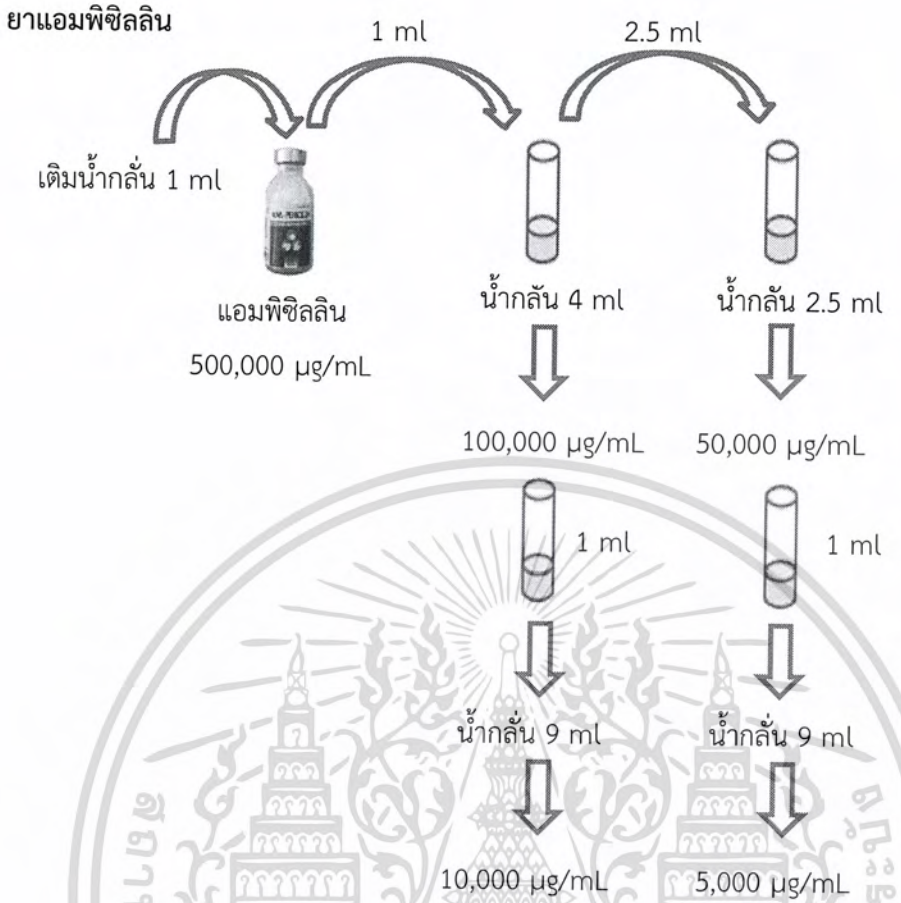
ตารางที่ 1 (ข) การทำความเจือจางของยาเพนนิซิลิน จี ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของยา (unit/mL)	ปริมาตรของยา (µl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (µl)	ความเข้มข้นของยาที่ได้ในหลอดทดลอง (unit/mL)	ความเข้มข้นสุดท้ายของยาในหลอดอาหาร (unit/mL)
50,000	100	150	20,000	1,000
50,000	50	200	10,000	500
5,000	250	0	5,000	250
5,000	125	125	2,500	125
5,000	62.5	187.5	1,250	62.5
5,000	31.25	218.75	625	31.25
5,000	16	234	320	16
5,0000	8	242	160	8



รูปที่ 8 (ข) การทำความเจือจางของยาเพนนิซิลิน จี ความเข้มข้นต่างๆสำหรับ Agar dilution

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

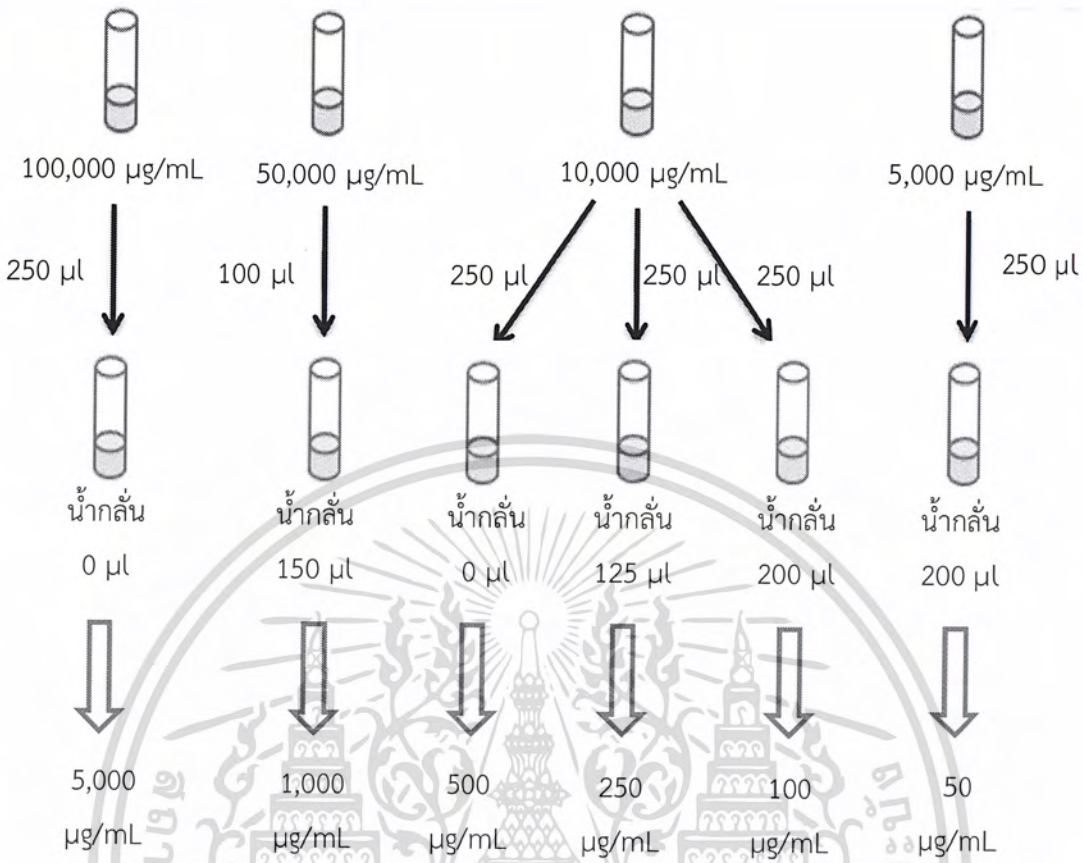


รูปที่ 9 (ข) การเตรียม Stock solution ของยาแอมพิซิลลิน

ตารางที่ 2 (ข) การทำความเจือจางของยาแอมพิซิลลินที่ความเข้มข้นต่างๆ

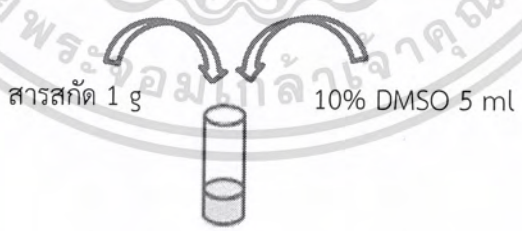
ความเข้มข้นของยา (unit/mL)	ปริมาตรของยา (µl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (µl)	ความเข้มข้นของยาที่ได้ในหลอดทดลอง (unit/mL)	ความเข้มข้นสุดท้ายของยาในหลอดอาหาร (unit/mL)
100,000	250	0	100,000	5,000
50,000	100	150	20,000	1,000
10,000	250	0	10,000	500
10,000	125	125	5,000	250
10,000	50	200	2,000	100
5,000	50	200	1,000	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 10 (ข) การทำความเจือจางของยาแอมพิซิลลินที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับ Agar dilution

7.2 การเตรียม Stock solution ของสารสกัด



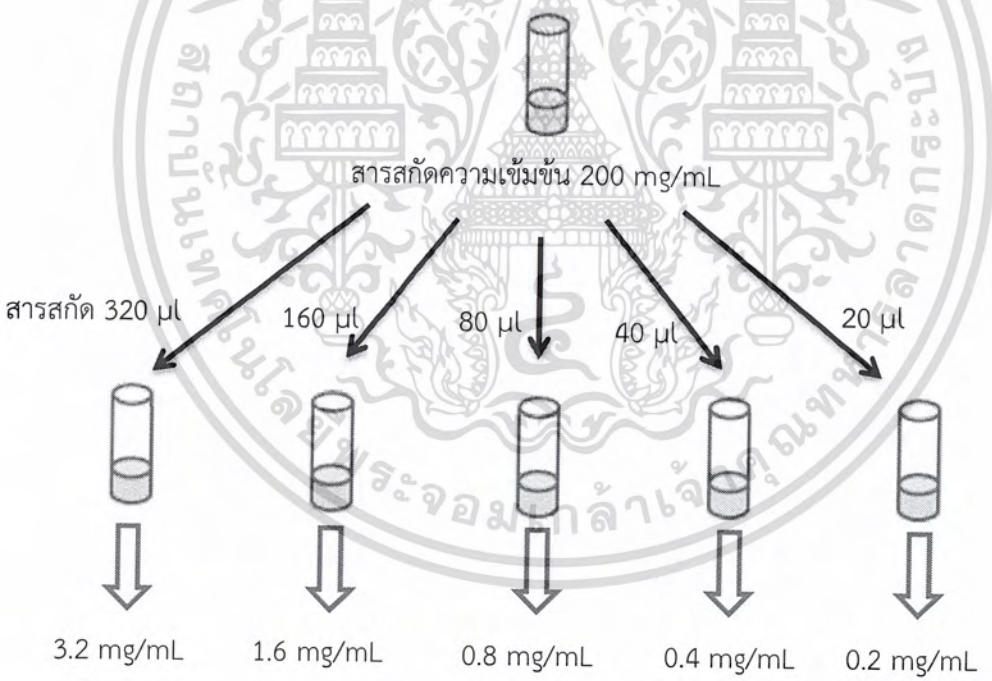
สารสกัดความเข้มข้น 200 mg/ml

รูปที่ 11 (ข) การเตรียม Stock solution ของสารสกัดที่ใช้ทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 (ข) การทำความเจือจางของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับเตรียม Stock solution

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/mL)	ปริมาตรของสารสกัด (µl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (µl)	ปริมาตรของอาหาร (µl)	ความเข้มข้นสุดท้ายของอาหาร (mg/mL)
200	320	680	4,000	3.2
200	160	840	4,000	1.6
200	80	920	4,000	0.8
200	40	960	4,000	0.4
200	20	980	4,000	0.2



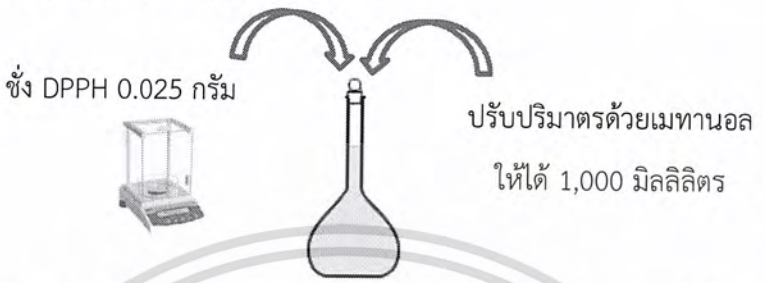
รูปที่ 12 (ข) การทำความเจือจางของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับเตรียม Stock solution

8. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8.1 การเตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ในเมทานอล ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร

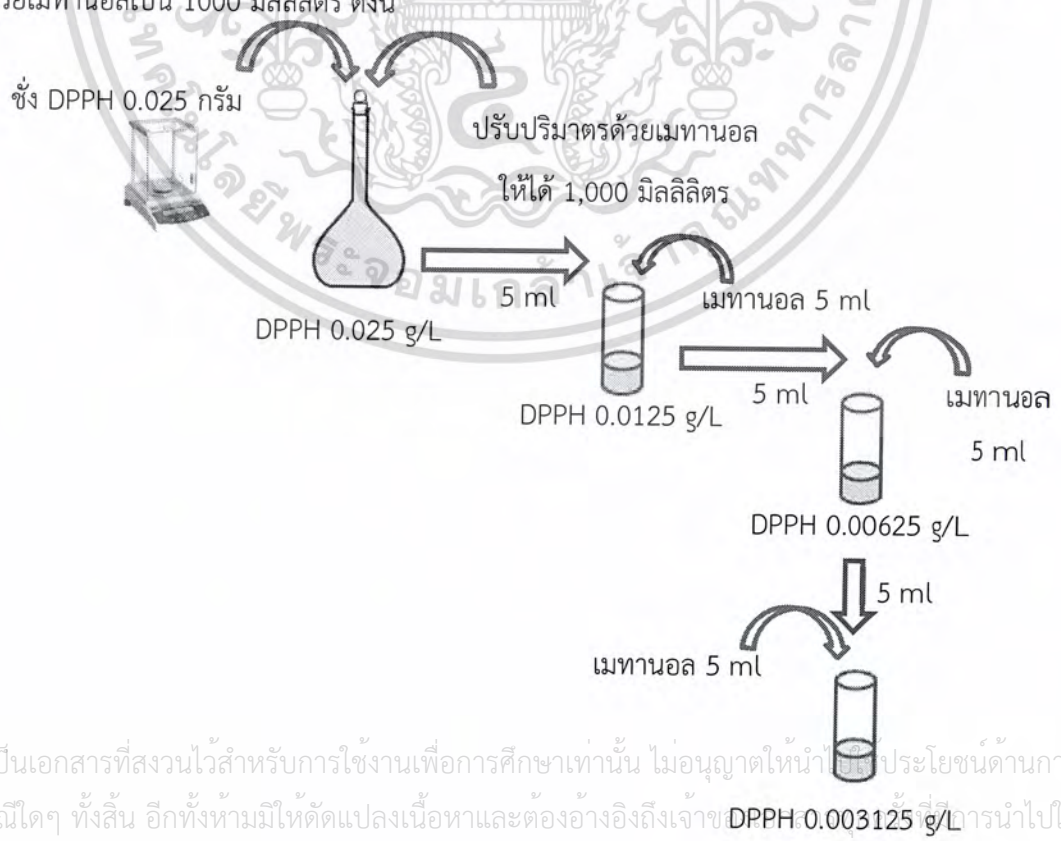
ชั่งสารละลาย DPPH 0.025 กรัม ละลายในเมทานอลเล็กน้อย แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้ได้เท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร



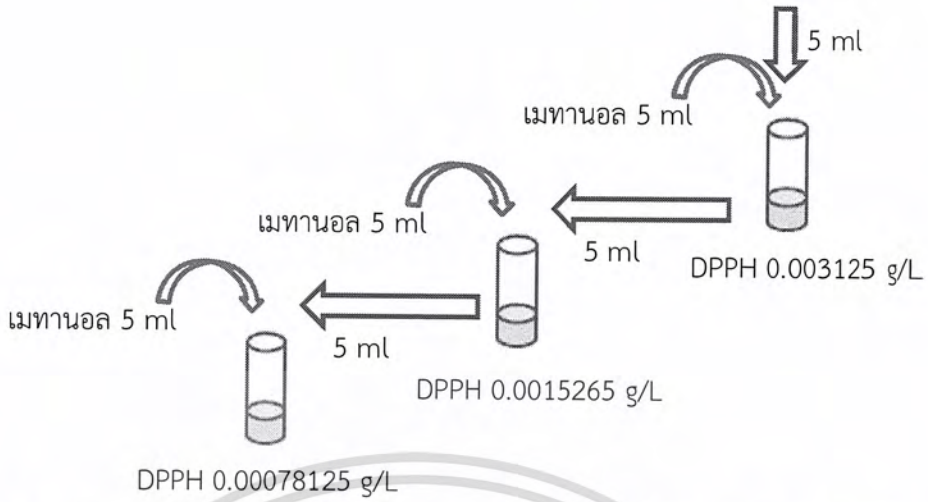
รูปที่ 13 (ข) การเตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ในเมทานอล ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร

8.2 สารละลายมาตรฐาน DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลาย DPPH ทำได้โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015265 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตร โดยทำการชั่งสารละลายมาตรฐาน DPPH 0.025 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลเป็น 1000 มิลลิลิตร ดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

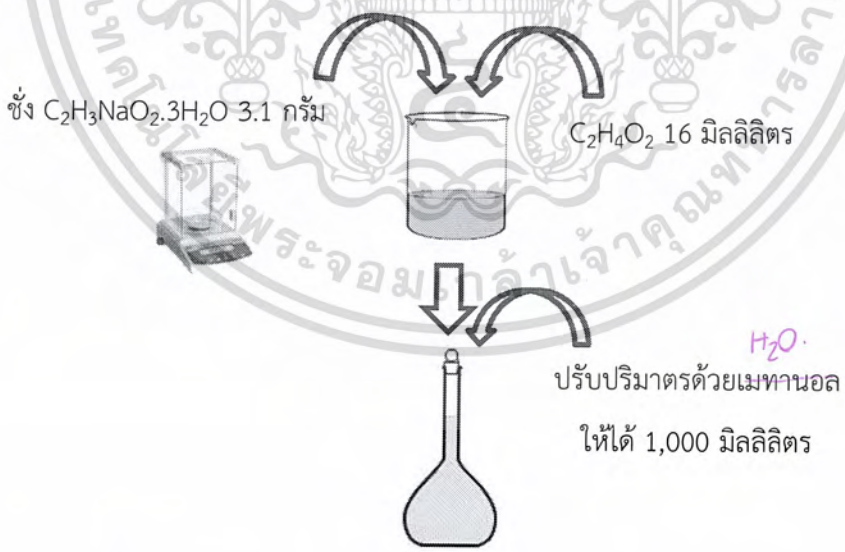


รูปที่ 14 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานDPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

9. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

9.1 การเตรียมสารอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์

ชั่ง $C_2H_3NaO_2.3H_2O$ 3.1 กรัม ผสมกับสารละลาย $C_2H_4O_2$ ปริมาตร 16 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรทั้งหมดในขวดปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น



รูปที่ 15 (ข) การเตรียมสารอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9.2 สารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์

เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ โดยหาความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกในขวด จากสูตร

$$C = 10dx / Mw$$

C คือ ความเข้มข้นหน่วยเป็นนอร์มอล (N)

d คือ ความหนาแน่น

x คือ ปริมาณเนื้อกรด

จะได้ $C = (10 \times 1.19 \times 37) / 36.5 = 12.06$ นอร์มอล

เนื่องจาก 1 โมลาร์ กรดไฮโดรคลอริก เท่ากับ 1 นอร์มอล กรดไฮโดรคลอริก

จะได้ กรดไฮโดรคลอริกมีความเข้มข้น 12.06 โมลาร์

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

ต้องการเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ หรือ 0.04 โมลาร์ จากกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 12.06 โมลาร์ จะได้

$V_1 = (0.04 \times 1000) / 12.06 = 3.32$ มิลลิลิตร

ปิเปตกรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 3.32 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นอยู่แล้ว จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ 1000 มิลลิลิตร

สารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์

จากมวลโมเลกุลของ TPTZ เท่ากับ 312.33 กรัมต่อโมล

สารละลาย 1000 มิลลิโมลาร์ จะมี TPTZ เท่ากับ 312.33 กรัม

ถ้าต้องการสารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ จะมี TPTZ เท่ากับ 3.1233 กรัม

ชั่งสาร TPTZ เท่ากับ 3.1233 กรัม ละลายในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ และปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

9.3 การเตรียมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3.6H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

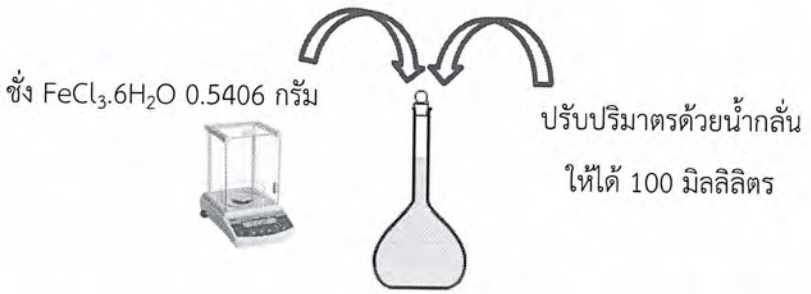
มวลโมเลกุลของ $FeCl_3.6H_2O$ เท่ากับ 270.30 กรัมต่อโมล

สารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ 1000 มิลลิโมลาร์ จะมี $FeCl_3.6H_2O$ เท่ากับ 270.30 กรัม

ถ้าสารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ 20 มิลลิโมลาร์ จะมี $FeCl_3.6H_2O$ เท่ากับ 5.4060 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ้าต้องการเตรียมสารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตรจะต้องชั่ง $FeCl_3.6H_2O$ เท่ากับ 0.5406 กรัม



รูปที่ 16 (ข) การเตรียมสารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

9.4 สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต ทำได้โดยเตรียมสารละลายเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆดังนี้ 10, 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.188, 0.094 และ 0.047 มิลลิโมลต่อลิตร โดยทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ดังนี้

จากมวลโมเลกุลของเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) เท่ากับ 278.01 กรัมต่อโมล

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมล ต้องชั่ง $FeSO_4.7H_2O$ เท่ากับ 278.01 กรัมต่อลิตร

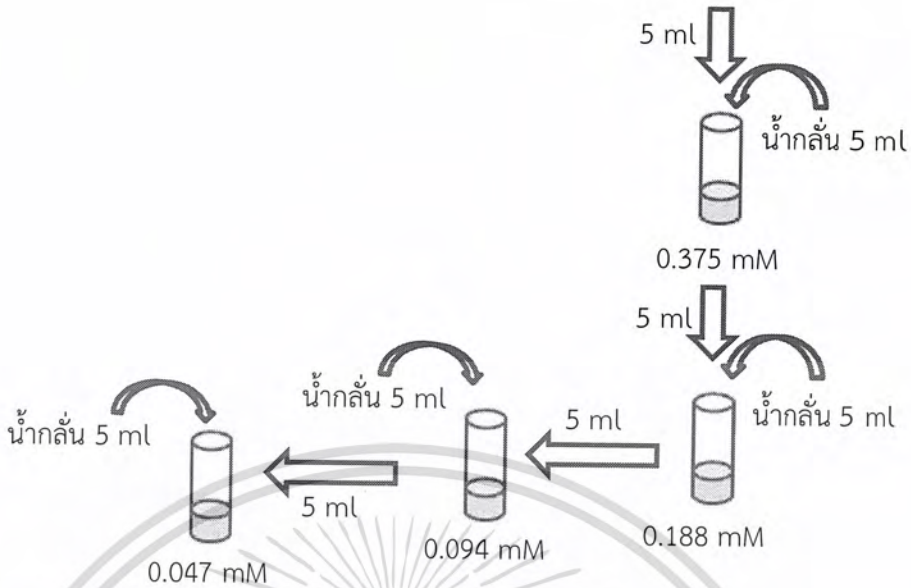
เตรียมสารละลายความเข้มข้น 10×10^{-3} โมล ต้องชั่ง $FeSO_4.7H_2O$ เท่ากับ 2.7801 กรัมต่อลิตร

ดังนั้นเตรียมสารละลายปริมาตร1000 มิลลิลิตร ต้องชั่ง $FeSO_4.7H_2O$ เท่ากับ 2.7801กรัม

ถ้าต้องการเตรียมสารละลายปริมาตร100 มิลลิลิตร ต้องชั่ง $FeSO_4.7H_2O$ เท่ากับ 0.2780 กรัม

ดังแสดงในรูปต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 17 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)

10. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS radical cation decolorization assay

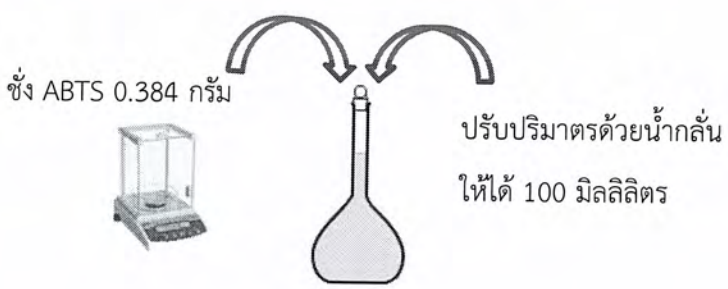
10.1 เตรียมสารละลาย 2-2′-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์

มวลโมเลกุลของ ABTS เท่ากับ 548.68 กรัมต่อโมล

สารละลาย ABTS 1000 มิลลิโมลาร์ จะมี ABTS เท่ากับ 548.68 กรัม

ถ้าสารละลาย ABTS 7 มิลลิโมลาร์ จะมี ABTS เท่ากับ 3.8408 กรัม

ถ้าต้องการเตรียมสารละลาย ABTS 7 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตรจะต้องชั่ง ABTS เท่ากับ 0.384 กรัม



รูปที่ 18 (ข) การเตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10.2 เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) ความเข้มข้น 4.9 มิลลิโมลาร์

มวลโมเลกุลของ $K_2S_2O_8$ เท่ากับ 270.32 กรัมต่อโมล

สารละลาย $K_2S_2O_8$ 1000 มิลลิโมลาร์ จะมี $K_2S_2O_8$ เท่ากับ 270.32 กรัม

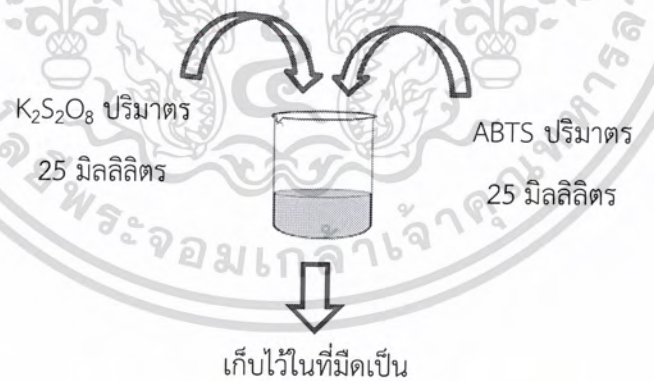
ถ้าสารละลาย $K_2S_2O_8$ 4.9 มิลลิโมลาร์ จะมี $K_2S_2O_8$ เท่ากับ 1.3246 กรัม

ถ้าต้องการเตรียมสารละลาย $K_2S_2O_8$ 4.9 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตรจะต้องชั่ง $K_2S_2O_8$ เท่ากับ 0.1325 กรัม

รูปที่ 19 (ข) การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตความเข้มข้น 4.9 มิลลิโมลาร์

10.3 การเตรียมสารละลาย $ABTS^+$

เตรียมโดยการนำสารละลาย ABTS และ $K_2S_2O_8$ ผสมกันในอัตราส่วน 1:1

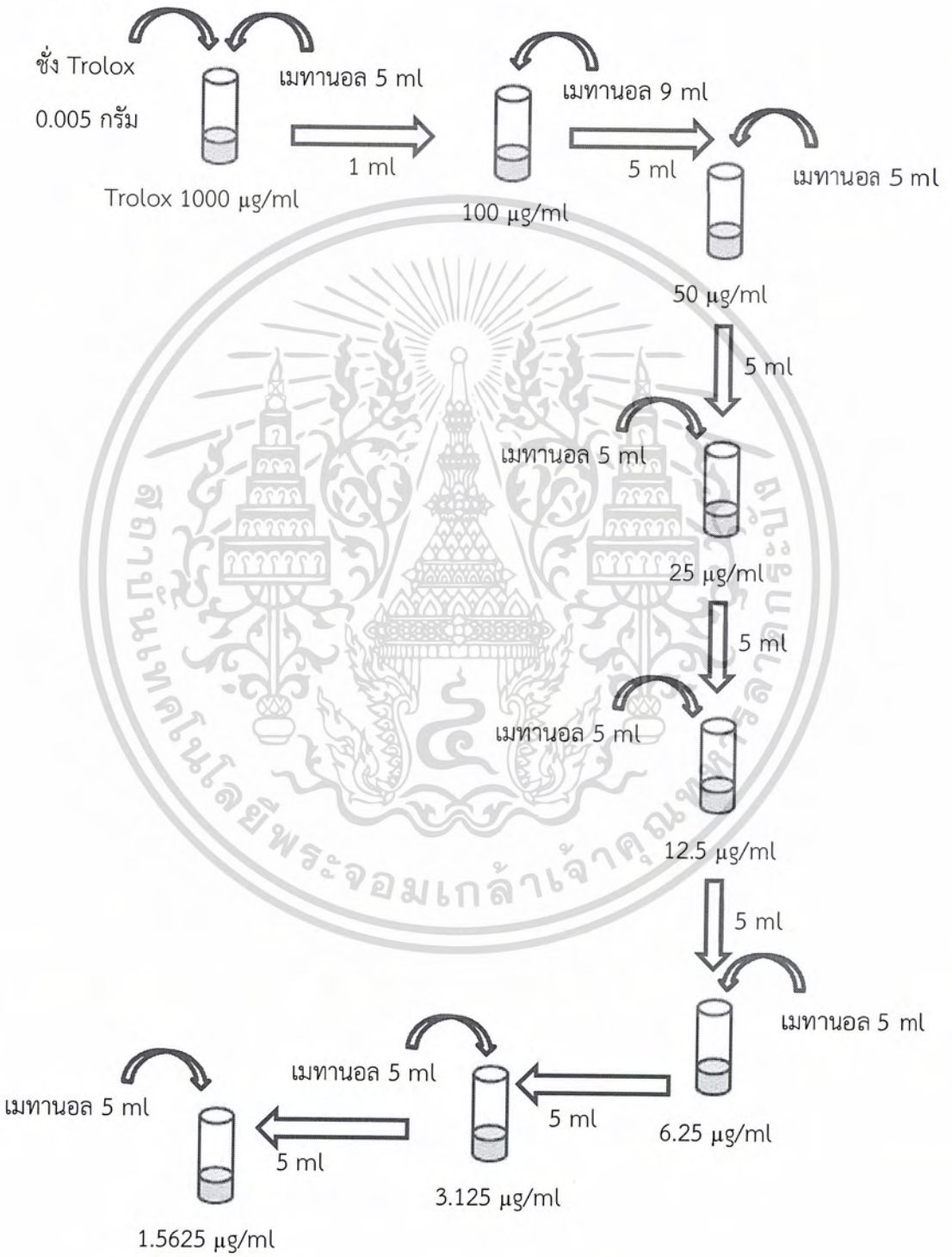


รูปที่ 20 (ข) การเตรียมสารละลาย $ABTS^+$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10.4 สารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายโทรล็อกซ์ ทำได้โดยเตรียมสารละลายโทรล็อกซ์ที่ความเข้มข้น 1,000, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.5625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในรูปต่อไปนี้



รูปที่ 21 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ (Trolox)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากเครื่องเทศ

11.1 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20

ทำการเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 น้ำหนักโดยปริมาตร (20% (w/v) Na_2Co_3) คิดได้ดังนี้

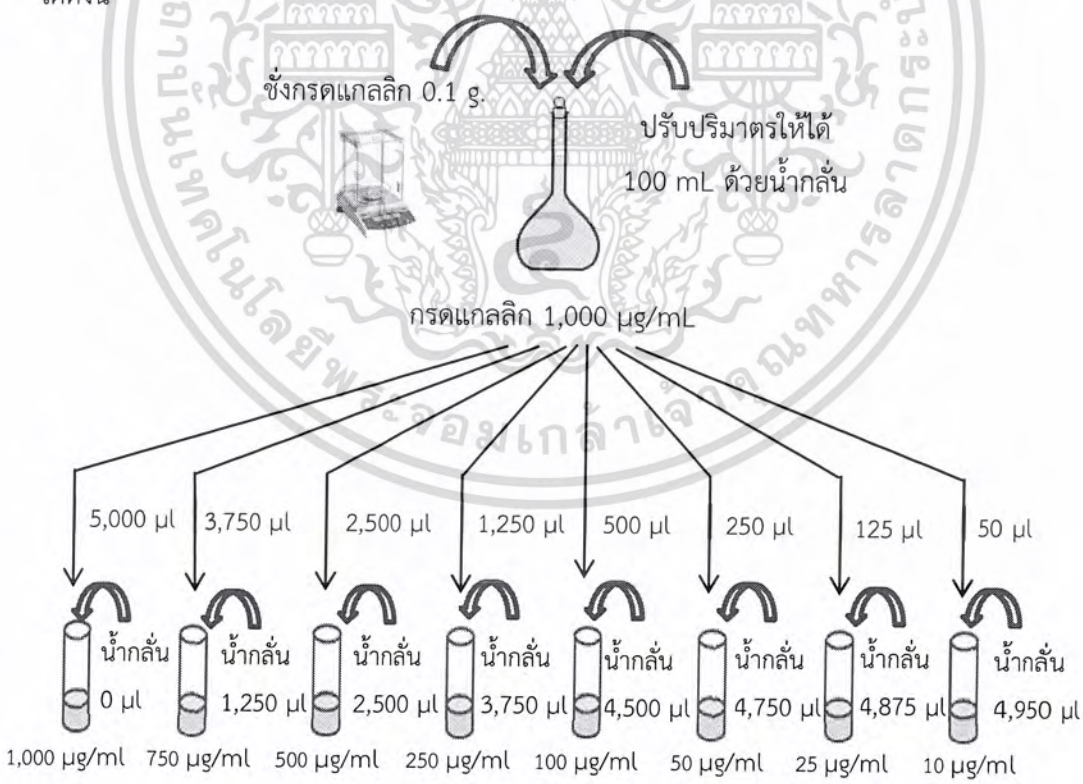
จากในสารละลาย ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 20 กรัม

ถ้าเตรียมสารละลายปริมาตร 500 มิลลิลิตร จะใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 100 กรัม

ดังนั้น ในการเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 500 มิลลิลิตรนั้นจะต้องชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 100 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร

11.2 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ดังนี้



รูปที่ 22 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

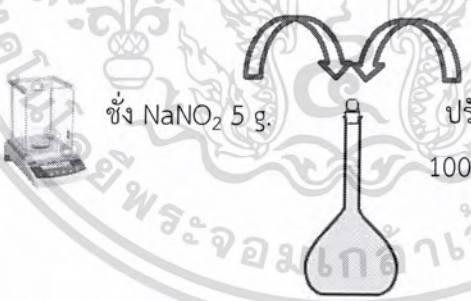
ตารางที่ 4 (ข) การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของกรดแกลลิก (µg/mL)	ปริมาตรของกรดแกลลิก (µl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (µl)	ความเข้มข้นสุดท้ายของกรดแกลลิกในหลอดทดลอง (µg/mL)
1,000	5,000	0	1,000
1,000	3,750	1,250	750
1,000	2,500	2,500	500
1,000	1,250	3,750	250
1,000	500	4,500	100
1,000	250	4,750	50
1,000	125	4,875	25
1,000	50	4,950	10

12. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากเครื่องเทศ

12.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

จากในสารละลาย ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้สารโซเดียมไนไตรท์เท่ากับ 5 กรัม

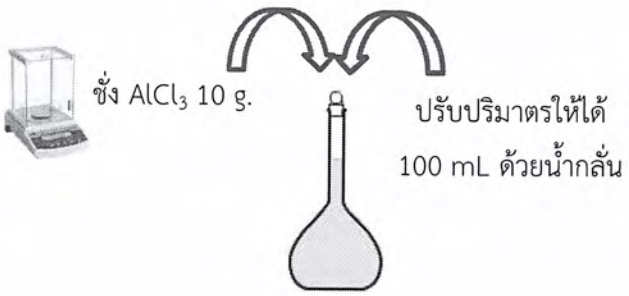


รูปที่ 23 (ข) การเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

12.2 การเตรียมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

จากสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้สารอะลูมิเนียมคลอไรด์เท่ากับ 10 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



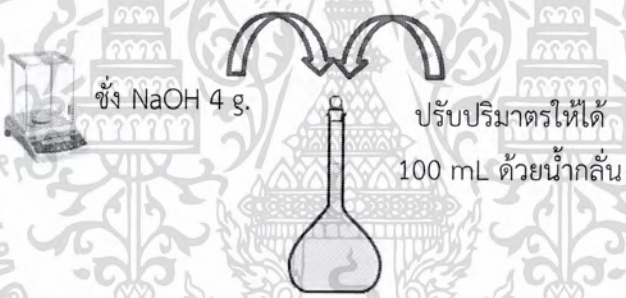
รูปที่ 24 (ข) การเตรียมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

12.3 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์

จากมวลโมเลกุลของสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ เท่ากับ 40 กรัมต่อโมล

ถ้าเตรียมสารละลายปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ต้องชั่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 40 กรัม

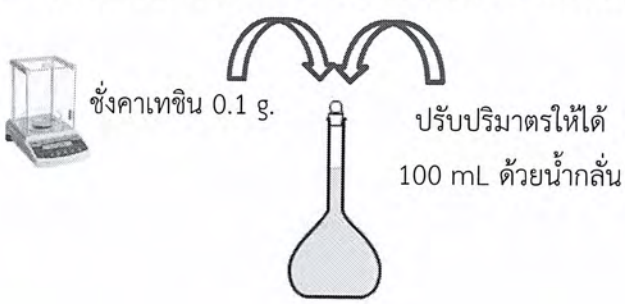
ถ้าเตรียมสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 4 กรัม



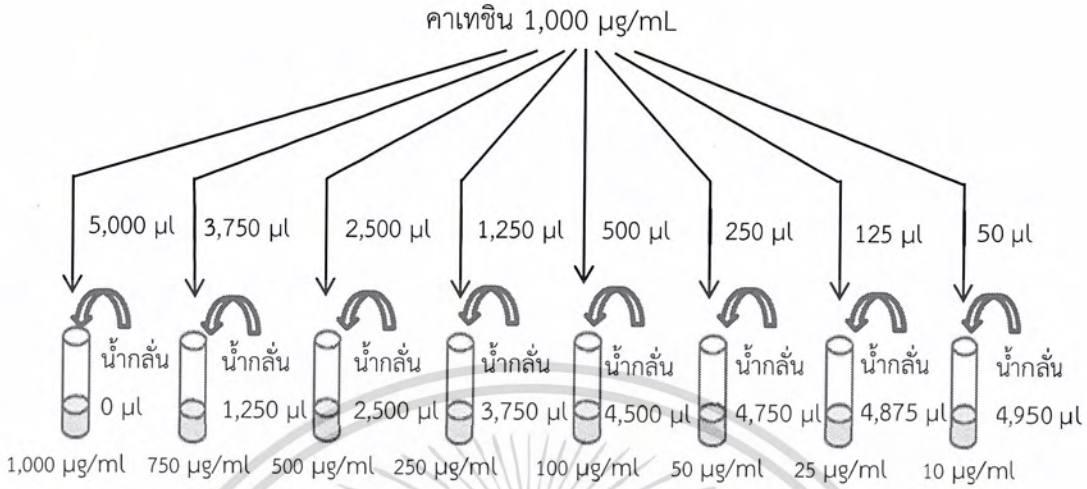
รูปที่ 25 (ข) การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์

12.4 สารละลายมาตรฐานคาเทชิน

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายคาเทชินทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรได้ดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 26 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานคาเทชิน

ตารางที่ 5 (ข) การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานคาเทชินความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของคาเทชิน (µg/mL)	ปริมาตรของคาเทชิน (µl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (µl)	ความเข้มข้นสุดท้ายของคาเทชินในหลอดทดลอง (µg/mL)
1,000	5,000	0	1,000
1,000	3,750	1,250	750
1,000	2,500	2,500	500
1,000	1,250	3,750	250
1,000	500	4,500	100
1,000	250	4,750	50
1,000	125	4,875	25
1,000	50	4,950	10

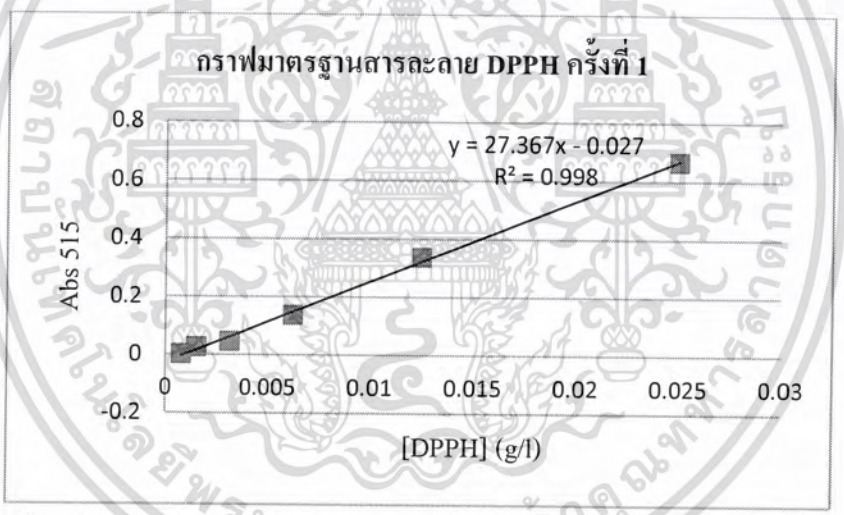
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การคำนวณ

1. การคำนวณหาความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical

การวิเคราะห์หาความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical โดยใช้สารละลายมาตรฐาน DPPH ทำการเจือจางสารละลายมาตรฐาน DPPH ให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ ดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015265 และ0.00078125 กรัมต่อลิตรตามลำดับ นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และนำมาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรและความเข้มข้นของ DPPH ดังนี้



รูปที่ 1 (ค) กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรกับความเข้มข้นของสารละลาย DPPHในหน่วยกรัมต่อลิตร สำหรับการวิเคราะห์หาความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical (ซ้ำ1)

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH การหาความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือสามารถหาได้จากสูตรการคำนวณ ดังนี้

$$[\%DPPH_{REM}] = ([DPPH^{\cdot}]_T / [DPPH^{\cdot}]_{T=0}) \times 100$$

เมื่อ $[DPPH^{\cdot}]_T$ คือ ความเข้มข้นของ DPPH ที่เวลาใดๆ

$[DPPH^{\cdot}]_{T=0}$ คือ ความเข้มข้นของ DPPH ที่เวลา 0 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่าง 1 การคำนวณหาความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical ของสารสกัดหยาบกานพลู โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบกานพลู แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH

ความเข้มข้นของสารสกัด (µg/ml)	กานพลู ที่ 0 นาที $O.D._{515}$	[DPPH]
1000	0.464	0.015968
500	0.486	0.016772
100	0.532	0.018453
10	0.601	0.020974
1	0.623	0.021778

สารสกัดจากกานพลูที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml มีค่า $O.D._{515}$ เท่ากับ 0.464

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน DPPH

$$y = 27.367x - 0.027$$

เมื่อ x คือ ความเข้มข้นของ DPPH

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

แทนค่า

$$x = \frac{0.464-0.027}{27.367}$$

$$= 0.015968 \text{ mg}$$

ความเข้มข้นของสารสกัด (µg/ml)	กานพลู ที่ 30 นาที $O.D._{515}$	[DPPH]
1000	0.243	0.007893
500	0.252	0.008222
100	0.362	0.012241
10	0.386	0.013118
1	0.445	0.015274

สารสกัดจากกานพลูที่ความเข้มข้น 1000 µg/ml มีค่า $O.D._{515}$ เท่ากับ 0.243

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน DPPH

$$y = 27.367x - 0.027$$

เมื่อ x คือ ความเข้มข้นของ DPPH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

แทนค่า $x = \frac{0.243-0.027}{27.367}$

$= 0.007893$ mg

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH การหาความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือ ณ เวลา 30 นาที สามารถหาได้จากสูตรการคำนวณ ดังนี้

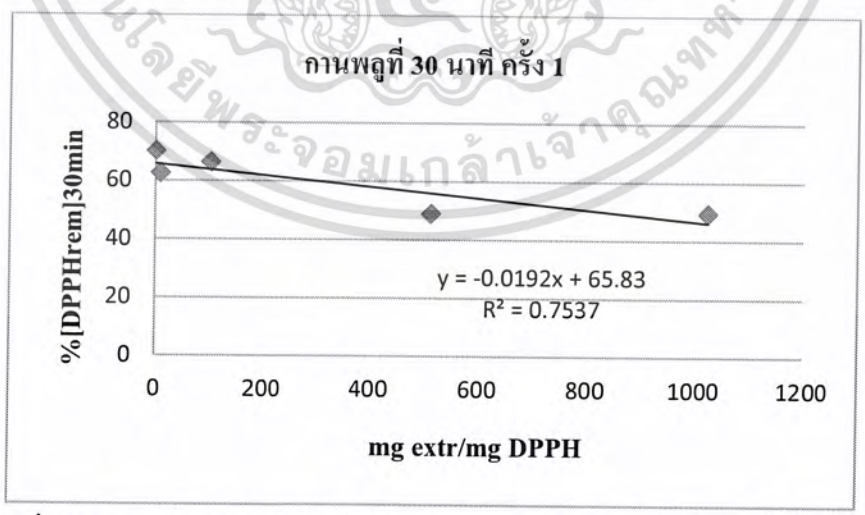
$$[\%DPPH_{REM}] = ([DPPH^{\cdot}]_T / [DPPH^{\cdot}]_{T=0}) \times 100$$

µg extract/mg DPPH	[DPPH]
1025.641	49.42792
512.8205	49.01961
102.5641	66.33663
10.2564	62.543554
1.0256	70.13423

$[[\%DPPH_{REM}] = (0.007893/0.015968) \times 100$

$= 49.42792$ mg

จากนั้นเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือ ณ เวลา 30 นาที กับอัตราส่วนของความเข้มข้นของสารสกัดหยาบต่อความเข้มข้นของ DPPH เพื่อคำนวณหาค่า EC_{50} และ AE ซึ่งเท่ากับ $1/EC_{50}$ จากกราฟสมการเส้นตรง



รูปที่ 2 (ค) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือ ณ เวลา 30 นาที กับอัตราส่วนของความเข้มข้นของสารสกัดหยาบต่อความเข้มข้นของ DPPH (ซ้ำ 1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณหาค่า EC_{50} เท่ากับ 50

จากสมการเส้นตรงของกราฟค่าความเข้มข้นของ DPPH ณ 30 นาที

$$y = -0.0192x + 65.83$$

เมื่อ x คือ ความเข้มข้นของ DPPH

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

แทนค่า $$x = \frac{50-65.83}{-0.0192}$$

$$= 824.4792 \text{ µg extract/ mg DPPH}$$

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบกานพลูมีความสามารถกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical มีค่า EC_{50} เท่ากับ 824.4792 ไมโครกรัมสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH

2. การคำนวณสำหรับวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

ในการเตรียมกราฟมาตรฐานของสารเฟอรัสซัลเฟตทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดจากเครื่องเทศ ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตที่มีความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต ดังนี้

2.1 สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร อยู่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ

สารละลายปริมาตร 1000 ml มีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟต 3 mmol

ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.1 ml มีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟต $\frac{0.1 \text{ ml} \times 3 \text{ mmol}}{1000 \text{ ml}}$

เท่ากับ = 0.0003 mmol

2.2 สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลต่อลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลต่อลิตร อยู่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ

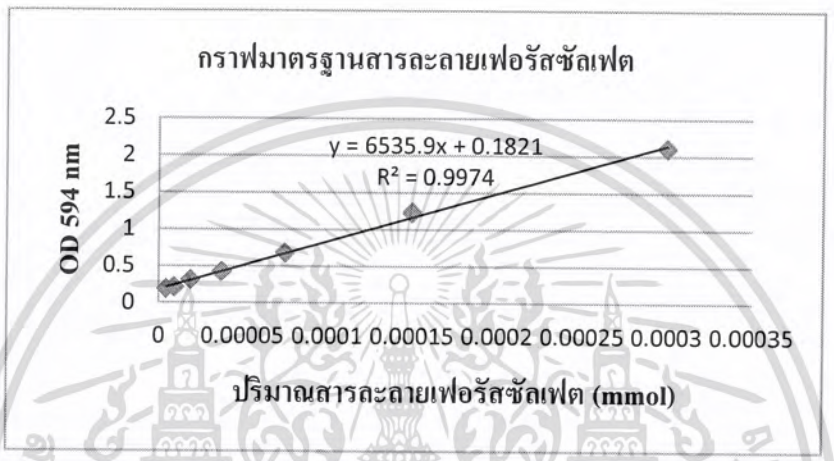
สารละลายปริมาตร 1000 ml มีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟต 1.5 mmol

ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.1 ml มีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟต $\frac{0.1 \text{ ml} \times 1.5 \text{ mmol}}{1000 \text{ ml}}$

เท่ากับ = 0.0001.5 mmol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้น 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร ใช้ในการทดลองปริมาตร 100 ไมโครลิตร จะมีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตอยู่ในหลอดเท่ากับ 0.0003, 0.00015, 0.000075, 0.000375, 0.000188, 0.0000094 และ 0.0000047 มิลลิโมล ตามลำดับ ทำการพล็อตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตในหน่วยมิลลิโมลได้ดังนี้



รูปที่ 3 (ค) กราฟมาตรฐานสารละลายเฟอรัสซัลเฟตสำหรับวิเคราะห์คำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟต ในหน่วยมิลลิโมล (ซ้ำ1)

ตัวอย่างที่ 2 การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดจากเครื่องเทศ ได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร ของสารสกัดเครื่องเทศแทนค่าลงในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต

สารสกัดจากกานพลูมีค่า $O.D_{549}$ เท่ากับ 2.552 (ซ้ำ1)

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของเฟอรัสซัลเฟต

$$y = 6535.9x + 0.1821$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของสารละลายมาตรฐานของเฟอรัสซัลเฟต (มิลลิโมล)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร

แทนค่า $2.552 = 6535.9x + 0.1821$

$X = (2.552 - 0.1821) / 6535.9$

$= 3.63 \times 10^{-4}$ มิลลิโมล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยในการทดลองได้ใช้สารสกัดจากเกานพลูที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ในปริมาตร 0.1 มิลลิกรัม (100 ไมโครลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดอยู่เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ดังนั้น

ในสารสกัด 0.1 mg มีปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟต เท่ากับ 3.63×10^{-4} mmol

ถ้าสารสกัด 1 mg มีปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟต เท่ากับ $\frac{3.63 \times 0.0001}{0.1}$ mmol

ถ้าสารสกัด 1,000 mg มีปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ $\frac{3.63 \times 0.0001 \times 1000}{0.1}$ mmol

เพราะฉะนั้น สารสกัดจากกานพลูมีปริมาณสารเฟอรัสซัลเฟต เท่ากับ 3.63 มิลลิโมลของเฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด

3. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเครื่องเทศด้วยวิธี ABTS method

การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด โดยสารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ สารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ที่มีความเข้มข้น 1,000 , 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.5625 µg/ml ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดจากเครื่องเทศ แต่ในการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ที่มีความเข้มข้นต่างๆแทนสารสกัดหยาบปริมาตร 0.03 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองของสารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารโทรล็อกซ์ดังนี้

3.1 สารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโคกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.03 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของโทรล็อกซ์เท่ากับ

$$\frac{1{,}000\ \mu g \times 0.03\ mL}{1\ mL} = 30\ \mu g$$

3.2 สารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ที่ความเข้มข้น 100 ไมโคกรัมต่อมิลลิลิตร

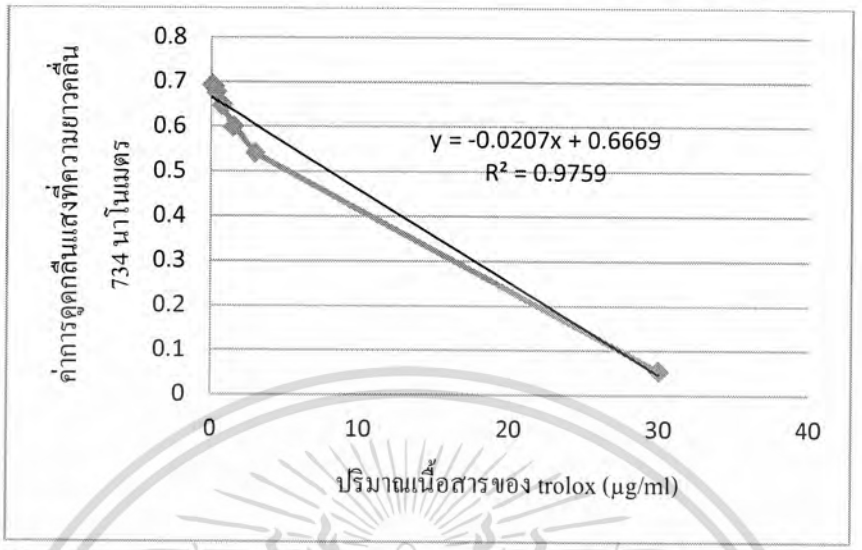
ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.03 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของโทรล็อกซ์เท่ากับ

$$\frac{100\ \mu g \times 0.03\ mL}{1\ mL} = 3\ \mu g$$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ที่ความเข้มข้น 1,000 , 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.5625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ในการทดลองปริมาตร 0.03 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของโทรล็อกซ์เท่ากับ 30, 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 ไมโครกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามลำดับ นำมาทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของโทรล็อกซ์ในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้



รูปที่ 4 (ค) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของโทรล็อกซ์ในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเครื่องเทศ

ตัวอย่างที่ 3 การคำนวณหาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากกานพลู คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากกานพลูแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานของโทรล็อกซ์ดังนี้

สารสกัดหยาบจากกานพลูมีค่า $O.D_{734}$ เท่ากับ 0.055

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์

$$y = -0.0207x + 0.6669$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของโทรล็อกซ์ (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

แทนค่า $0.055 = -0.0207x + 0.6669$

$x = (0.055 - 0.6669) / -0.0207$

$x = 29.56$ ไมโครกรัมของโทรล็อกซ์

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ปริมาตร 0.03 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณของเนื้อสารสกัดเท่ากับ 0.03 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบ 0.03 มิลลิลิตร เทียบกับปริมาณเนื้อสารของโทรล็อกซ์เท่ากับ 29.56 ไมโครกรัม

สารสกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของโทรล็อกซ์ เท่ากับ $\frac{29.56\ \mu g \times 1 mg}{0.03\ mg}$

เท่ากับ 985.33 µg

สารสกัด 1,000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารโทรล็อกซ์ เท่ากับ 985.33 × 1,000

เท่ากับ 985330 µg

หรือ เท่ากับ 985330 µg / 1,000 เท่ากับ 985.33 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากกานพลูมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 985.33 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของสารสกัด

4. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยสารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 1,000 , 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 µg/ml ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดจากเครื่องเทศ แต่ในการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้นต่างๆแทนสารสกัดหยาบปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารกรดแกลลิกดังนี้

4.1 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโคกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ

$$\frac{1{,}000\ \mu g \times 0.1\ mL}{1\ mL} = 100\ \mu g$$

4.2 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 750 ไมโคกรัมต่อมิลลิลิตร

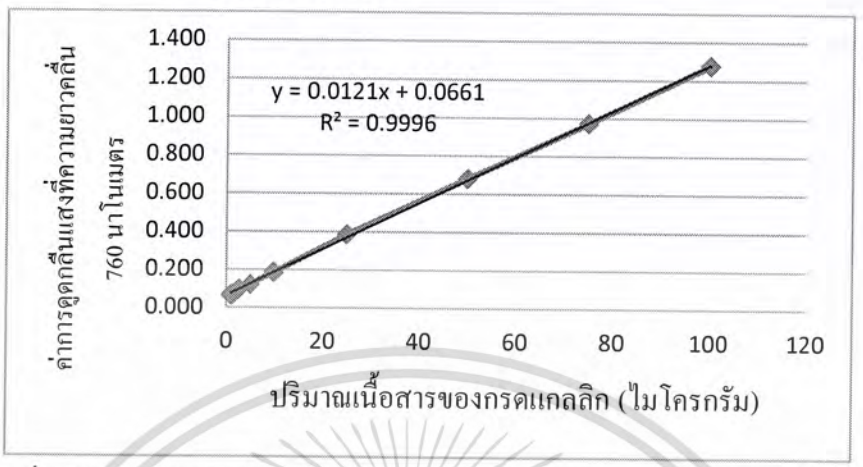
ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ

$$\frac{750\ \mu g \times 0.1\ mL}{1\ mL} = 75\ \mu g$$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ในการทดลองปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ 100, 75, 50, 25, 10, 5, 2.5 และ 1 ไมโครกรัมตามลำดับ นำมาทำการพล็อตกราฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้



รูปที่ 5 (ค) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ตัวอย่างที่ 4 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากกานพลู คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากกานพลูแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิก ดังนี้

สารสกัดหยาบจากกานพลูมีค่า $O.D_{760}$ เท่ากับ 0.588

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

$$y = 0.0121x + 0.0661$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

แทนค่า $0.588 = 0.0121x + 0.0661$

$x = (0.588 - 0.0661) / 0.0121$

$x = 48.53$ ไมโครกรัมของกรดแกลลิก

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบจากเครื่องเทศความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณของเนื้อสารสกัดเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบ 0.1 มิลลิลิตร เทียบกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ 48.53 ไมโครกรัม

สารสกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ $\frac{48.53\ \mu g \times 1 mg}{0.1\ mg}$

เท่ากับ 485.3 µg

สารสกัด 1,000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารกรดแกลลิก เท่ากับ 485.3 × 1,000

เท่ากับ 485300 µg

หรือ เท่ากับ 485300 µg / 1,000 เท่ากับ 485.3 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากกานพลูมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 485.3 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

5. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอดย์ทั้งหมด โดยสารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือสารละลายมาตรฐานคาเทชินที่มีความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25, และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดจากเครื่องเทศ ซึ่งในการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานคาเทชินที่มีความเข้มข้นต่างๆปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทอลองของสารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้นต่างๆจะมีเนื้อสารคาเทชินดังนี้

5.1 สารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโคกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานคาเทชินความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองนี้ จะมีเนื้อสารของคาเทชิน เท่ากับ

$$\frac{1{,}000\ \mu g \times 0.25\ mL}{1\ mL} = 250\ \mu g$$

5.2 สารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้น 750 ไมโคกรัมต่อมิลลิลิตร

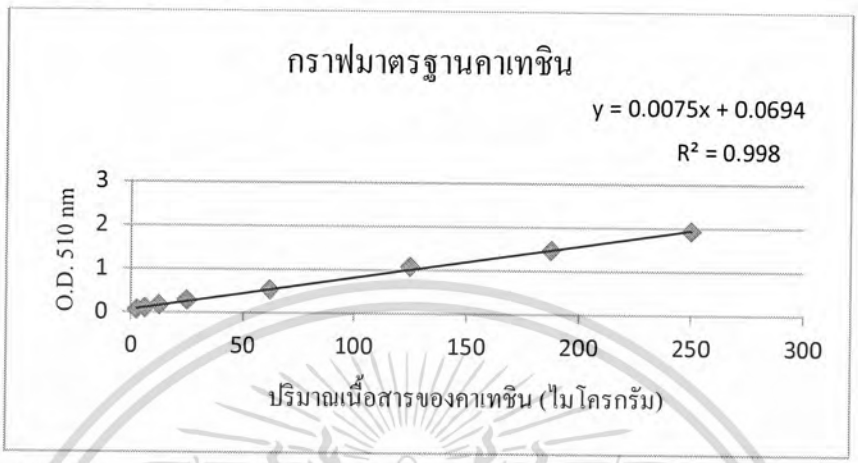
ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานคาเทชินความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองนี้ จะมีเนื้อสารของคาเทชิน เท่ากับ

$$\frac{750\ \mu g \times 0.25\ mL}{1\ mL} = 187.5\ \mu g$$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ในการทดลองปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของคาเทชิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ 250, 187.5, 125, 62.5, 25, 12.5, 6.25 และ 2.5 ไมโครกรัมตามลำดับ นำมาทำการพล็อตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของคาเทชินในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้



รูปที่ 6 (ค) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของคาเทชินในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (ซ้ำ 1)

ตัวอย่างที่ 5 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากกานพลูคิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากกานพลูแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานคาเทชิน ดังนี้

สารสกัดหยาบจากกานพลูมีค่า $O.D_{510}$ เท่ากับ 0.456 (ซ้ำ1)

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานคาเทชิน

$$y = 0.0075x + 0.0694$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของคาเทชิน (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

แทนค่า

$$0.456 = 0.0075x + 0.0694$$

$$x = (0.456 - 0.0694) / 0.0075$$

$$x = 51.56 \text{ ไมโครกรัมของคาเทชิน}$$

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณของเนื้อสารสกัดเท่ากับ 0.25 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบ 0.25 มิลลิลิตร เทียบกับปริมาณเนื้อสารของคาเทชินเท่ากับ 51.60 ไมโครกรัม

สารสกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของคาเทชิน เท่ากับ $\frac{51.56\ \mu g \times 1 mg}{0.25\ mg}$

เท่ากับ 206.24 µg CE

สารสกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารคาเทชิน เท่ากับ $\frac{206.24}{1000}$ mg CE

สารสกัด 1000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารคาเทชิน เท่ากับ $\frac{206.24}{1000} \times 1000$ mg CE

เท่ากับ 206.24 mg CE

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากกานพลูมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 206.24 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกั

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ตารางผลการทดลองทั้งหมด

ตารางที่ 4.1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศด้วยวิธีการแพร่อาหารวุ้น (Disc diffusion method)

ชนิดเชื้อจุลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลางโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน							
	หอมแดง	กระเทียม	ข่า	เม็ดกระวาน	พริกขี้ฟ้า	มะกรูด	เม็ดผักชี	ตะไคร้
Bacillus cereus	–	–	15.75±1.04	–	10.99±0.74	–	–	–
Clostridium perfringens	–	–	27.32±1.14	–	–	–	–	–
Escherichia coli	–	–	–	–	–	–	–	–
Helicobacter pylori	–	–	–	–	–	–	–	–
Listeria monocytogenes	–	–	21.50±0.93	–	9.08±1.21	–	13.99±1.25	–
Porpyromonas gingivalis	9.30±1.07	–	23.38±4.65	9.52±0.70	13.32±0.56	9.85±1.68	9.70±0.41	10.76±2.23
Pseudomonas fluorescens	–	–	7.44±0.58	–	–	–	–	–
Salmonella Enteritidis	–	–	8.17±1.58	–	–	–	–	–
Salmonella Weltevreden	–	–	–	–	–	–	–	–
Staphylococcus aureus	–	–	22.59±1.65	–	9.05±1.96	–	–	–
Yersinia enterocolitica	9.04±1.47	–	21.18±6.10	9.75±1.32	12.09±1.16	9.00±2.59	–	10.25±1.57

[a] ค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งหมด 3 ซ้ำ ; [b] ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซน < 6 มม.) ; [c] ไม่ได้ทำการทดสอบ เนื่องจาก *S. aureus* ต้านทานต่อยา Ampicillin

หมายเหตุ : สารสกัดหยาบทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/mL ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL

ตารางที่ 4.1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศด้วยวิธีการแพร่อาหารวุ้น (Disc diffusion method) ต่อ

ชนิดเชื้อจุลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลางโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน							
	กระชาย	ชะเอม	กระเจี๊ยบแดง	โป๊ยกั๊ก	ลูกจันทน์	ยี่หร่า	พริกไทยขาว	พริกไทยดำ
Bacillus cereus	–[b]	17.71±1.07	12.18±0.64	11.31±0.65	6.88±0.25	9.86±1.68	–	–
Clostridium perfringens	–	12.28±1.15	12.42±1.03	8.47±0.19	–	–	–	–
Escherichia coli	–	–	8.05±0.26	–	–	–	–	–
Helicobacter pylori	–	–	12.26±0.98	–	–	9.42±0.59	–	–
Listeria monocytogenes	8.53±0.69	17.53±2.41	8.59±0.30	9.12±0.63	10.12±0.77	14.96±1.42	–	9.86±0.52
Porpyromonas gingivalis	10.12±0.06	10.65±0.72	12.70±1.57	9.57±2.69	9.87±1.08	10.02±0.20	–	–
Pseudomonas fluorescens	–	–	13.35±2.40	9.11±1.85	–	6.69±0.11	–	–
Salmonella Enteritidis	–	–	7.88±0.64	7.25±0.17	10.85±4.99	–	–	–
Salmonella Weltevreden	–	–	7.99±0.78	7.18±0.17	–	–	–	–
Staphylococcus aureus	7.27±0.44	13.09±0.60	8,57±0.44	11.49±1.49	10.41±0.71	14.74±0.70	–	–
Yersinia enterocolitica	15.55±2.47	9.80±1.07	10.33±1.18	11.47±0.98	8.13±1.41	12.57±3.77	–	11.93±2.93

[a] ค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งหมด 3 ซ้ำ ; [b] ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซน < 6 มม.) ; [c] ไม่ได้ทำการทดสอบ เนื่องจาก *S. aureus* ต้านทานต่อยา Ampicillin

หมายเหตุ : สารสกัดหยาบทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/mL ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL

ตารางที่ 4.1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศด้วยวิธีการแพร่อาหารวุ้น (Disc diffusion method) ต่อ

ชนิดเชื้อจุลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลางโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
	โรสแมรี่	กานพลู	ใบไทม์	พริกหอม	ขิง	Ampicillin
Bacillus cereus	15.55±1.83	21.12±1.45	19.75±1.73	–	–	11.25±0.69
Clostridium perfringens	16.72±3.86	18.18±1.96	14.17±4.63	9.96±0.36	–	28.56±0.47
Escherichia coli	–	9.75±0.86	8.36±0.59	–	–	13.1±0.61
Helicobacter pylori	–	–	8.84±0.66	–	–	29.12±0.65
Listeria monocytogenes	12.81±1.91	20.91±4.36	11.16±1.34	8.93±0.63	8.39±0.45	11.05±0.39
Porpyromonas gingivalis	9.98±2.28	32.51±3.97	12.28±1.97	8.90±1.75	30.26±4.95	29.06±0.32
Pseudomonas fluorescens	–	21.41±0.71	9.55±1.36	–	–	18.80±0.90
Salmonella Enteritidis	–	8.90±1.14	8.18±0.37	–	–	31.04±0.75
Salmonella Weltevreden	–	10.14±2.19	7.84±0.72	–	–	31.03±0.72
Staphylococcus aureus	13.39±0.70	19.98±3.47	12.49±1.24	8.93±0.63	8.82±2.46	– [c]
Yersinia enterocolitica	9.38±1.27	11.82±0.73	11.37±2.17	8.31±1.16	–	31.92±0.95

[a] ค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งหมด 3 ซ้ำ ; [b] ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซน < 6 มม.) ; [c] ไม่ได้ทำการทดสอบ เนื่องจาก *S. aureus* ต้านทานต่อยา Ampicillin

หมายเหตุ : สารสกัดหยาบทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/mL ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL

ตารางที่ 4.2 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่ความเข้มข้นต่ำสุดด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)

ชนิดของจุลินทรีย์	ค่า minimum inhibitiory concentration (mg/ml)							
	กระชาย	กระเจี๊ยบแดง	กานพลู	ข่า	ขิง	ชะเอม	ใบไทม์	โป๊ยกั๊ก
Bacillus cereus	>6.4	3.2	1.6	3.2	>6.4	0.4	6.4	3.2
Clostridium perfringens	>6.4	1.6	1.6	6.4	>6.4	1.6	6.4	>6.4
Escherichia coli	>6.4	>6.4	6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4
Helicobacter pylori	>6.4	3.2	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4
Listeria monocytogenes	>6.4	6.4	0.8	3.2	>6.4	6.4	6.4	3.2
Porphyromonas gingivalis	>6.4	>6.4	3.2	6.4	>6.4	6.4	6.4	3.2
Pseudomonas fluorescens	>6.4	6.4	3.2	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4
Salmonella Enteritidis	>6.4	6.4	6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4
Salmonella Weltevreden	>6.4	>6.4	3.2	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4
Staphylococcus aureus	>6.4	>6.4	1.6	>6.4	>6.4	0.8	6.4	3.2
Yersinia enterocolitica	6.4	6.4	1.6	3.2	>6.4	0.8	6.4	3.2

[b] ความเข้มข้นของ Penicillin G (unit/mL)

ตารางที่ 4.2 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่ความเข้มข้นต่ำสุดด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution) (ต่อ)

ชนิดของจุลินทรีย์	ค่า minimum inhibitiory concentration (mg/ml)						
	พริกชี้ฟ้า	เม็ดผักชี	ยี่หร่า	โรสแมรี่	ลูกจันทน์	Ampicillin	Penicillin G [b]
Bacillus cereus	>6.4	>6.4	0.8	0.2	0.2	– [a]	8
Clostridium perfringens	>6.4	>6.4	>6.4	0.4	>6.4	0.05	–
Escherichia coli	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	0.05	–
Helicobacter pylori	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	5	–
Listeria monocytogenes	>6.4	>6.4	3.2	0.8	0.4	–	8
Porphyromonas gingivalis	>6.4	>6.4	6.4	6.4	3.2	0.05	–
Pseudomonas fluorescens	>6.4	>6.4	>6.4	3.2	>6.4	0.05	–
Salmonella Enteritidis	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	0.05	–
Salmonella Weltevreden	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	>6.4	0.05	–
Staphylococcus aureus	>6.4	>6.4	3.2	0.4	0.8	–	–
Yersinia enterocolitica	6.4	6.4	1.6	0.4	0.2	0.05	–

[b] ความเข้มข้นของ Penicillin G (unit/mL)

หมายเหตุ : สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ถูกยับยั้งโดยยาปฏิชีวนะ Gentamicin ที่ความเข้มข้น 0.03 mg/mL แต่ต้านทานต่อยาปฏิชีวนะอื่นที่ทดสอบ

ตารางที่ 4.4 ผลของการชะล้างน่องไก่สดด้วยน้ำกลั่น สารสกัดจากกานพลูและสารสกัดจากใบ-ไทม์ ต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรฟและจำนวน *Pseudomonas* spp. ที่ผิวน่องไก่สด

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนจุลินทรีย์บนผิวน่องไก่สด (log CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร)[a]				
	น้ำกลั่น	กานพลู 1%	กานพลู 2%	ใบไทม์ 1%	ใบไทม์ 2%
Total viable count					
ก่อนการชะล้าง	7.61±0.1^{a}	6.61±0.04^{b}	6.41±0.08^{cd}	6.54±0.06^{bc}	6.26±0.05^{d}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	6.92±0.16^{a}	6.52±0.05^{b}	5.85±0.15^{c}	6.36±0.11^{b}	5.76±0.08^{c}
วันที่ 7 (4°C)	7.52±0.07^{a}	7.46±0.11^{a}	7.38±0.1^{ab}	7.27±0.06^{bc}	7.17±0.05^{c}
Total psychrotroph					
ก่อนการชะล้าง	6.92±0.1^{a}	6.56±0.11^{ab}	6.07±0.12^{b}	6.63±0.05^{ab}	6.27±0.18^{ab}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	6.90±0.08^{a}	6.50±0.08^{ab}	6.02±0.11^{b}	6.79±0.06^{a}	6.56±0.06^{ab}
วันที่ 7 (4°C)	7.62±0.14^{a}	6.76±0.09^{bc}	6.69±0.06^{c}	6.89±0.11^{b}	6.61±0.07^{c}
Total *Pseudomonas*					
ก่อนการชะล้าง	6.26±0.02^{a}	5.95±0.1^{ab}	5.72±0.07^{bc}	5.72±0.08^{c}	5.45±0.12^{c}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	6.83±0.08^{a}	6.27±0.11^{b}	5.44±0.07^{c}	5.69±0.05^{bc}	5.63±0.03^{bc}
วันที่ 7 (4°C)	7.00±0.08^{a}	5.76±0.09^{b}	5.19±0.09^{c}	6.68±0.13^{d}	6.43±0.14^{e}
Total *Salmonella*					
ก่อนการชะล้าง	6.10±0.1^{a}	5.74±0.06^{a}	5.36±0.04^{a}	5.87±0.13^{a}	5.49±0.07^{a}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	6.42±0.15^{a}	6.31±0.14^{a}	5.71±0.08^{a}	5.63±0.07^{a}	4.81±0.06^{b}
วันที่ 7 (4°C)	6.71±0.11^{a}	6.46±0.08^{b}	6.14±0.1^{c}	6.52±0.13^{ab}	6.33±0.12^{bc}

หมายเหตุ : a ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ, อักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.1 ผลของการชะล้างน่องไก่สดด้วยน้ำกลั่น สารสกัดจากกานพลูและสารสกัดจากใบ-ไทม์ ต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรฟและจำนวน *Pseudomonas* spp. ที่ผิวน่องไก่สด (ครั้งที่ 1)

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนจุลินทรีย์บนผิวน่องไก่สด (CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร)				
	น้ำกลั่น	กานพลู 1%	กานพลู 2%	ใบไทม์ 1%	ใบไทม์ 2%
Total viable count					
ก่อนการชะล้าง	5×10^{7}	4.5×10^{6}	2.14×10^{6}	3.1×10^{6}	2.1×10^{6}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	6.03×10^{6}	3.68×10^{6}	5.24×10^{5}	1.9×10^{6}	4.68×10^{5}
วันที่ 7 (4°C)	4×10^{7}	3.94×10^{7}	3.09×10^{7}	1.67×10^{7}	1.66×10^{7}
Total psychrotroph					
ก่อนการชะล้าง	1.10×10^{7}	4.79×10^{6}	1.12×10^{6}	4.85×10^{6}	1.21×10^{6}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	8.51×10^{6}	2.54×10^{6}	9.55×10^{5}	6.92×10^{6}	3.82×10^{6}
วันที่ 7 (4°C)	5.34×10^{7}	6.76×10^{6}	5.01×10^{6}	7.08×10^{6}	3.63×10^{6}
Total *Pseudomonas*					
ก่อนการชะล้าง	1.84×10^{6}	1.16×10^{6}	6.35×10^{5}	5.37×10^{5}	2.1×10^{5}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	8×10^{6}	2.4×10^{6}	2.88×10^{4}	4.5×10^{5}	4.4×10^{5}
วันที่ 7 (4°C)	1.07×10^{7}	4.73×10^{5}	1.26×10^{5}	6.31×10^{6}	3.61×10^{6}
Total *Salmonella*					
ก่อนการชะล้าง	1×10^{6}	5×10^{5}	2.04×10^{5}	5.89×10^{5}	3.55×10^{5}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	2.57×10^{6}	1.82×10^{6}	5.37×10^{5}	3.63×10^{5}	6.76×10^{4}
วันที่ 7 (4°C)	6.05×10^{6}	3.38×10^{6}	1.78×10^{6}	4.34×10^{6}	2.88×10^{6}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.2 ผลของการชะล้างน่องไก่สดด้วยน้ำกลั่น สารสกัดจากกานพลูและสารสกัดจากใบ-ไทม์ ต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรฟและจำนวน *Pseudomonas* spp. ที่ผิวน่องไก่สด (ครั้งที่ 2)

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนจุลินทรีย์บนผิวน่องไก่สด (CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร)[a]				
	น้ำกลั่น	กานพลู 1%	กานพลู 2%	ใบไทม์ 1%	ใบไทม์ 2%
Total viable count					
ก่อนการชะล้าง	3.21×10^{7}	3.8×10^{6}	3.02×10^{6}	3.99×10^{6}	1.68×10^{6}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	1.23×10^{7}	2.95×10^{6}	1.01×10^{6}	3.03×10^{6}	6.79×10^{5}
วันที่ 7 (4°C)	2.9×10^{7}	2.57×10^{7}	2.34×10^{7}	2.13×10^{7}	1.35×10^{7}
Total psychrotroph					
ก่อนการชะล้าง	6.92×10^{6}	3.16×10^{6}	9.12×10^{5}	3.97×10^{6}	2.78×10^{6}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	6.46×10^{6}	3.16×10^{5}	1.38×10^{6}	5.37×10^{6}	3.98×10^{5}
วันที่ 7 (4°C)	4.57×10^{7}	6.02×10^{6}	5.49×10^{6}	6.46×10^{6}	3.8×10^{6}
Total *Pseudomonas*					
ก่อนการชะล้าง	1.9×10^{6}	7.3×10^{5}	4.68×10^{5}	6.29×10^{5}	3.24×10^{5}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	5.59×10^{6}	1.86×10^{6}	3.16×10^{5}	5.52×10^{5}	3.97×10^{5}
วันที่ 7 (4°C)	8.13×10^{6}	6.9×10^{5}	1.9×10^{5}	3.55×10^{6}	1.89×10^{6}
Total *Salmonella*					
ก่อนการชะล้าง	1.29×10^{6}	6.46×10^{5}	2.45×10^{5}	1.05×10^{6}	3.16×10^{5}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	3.7×10^{6}	2.94×10^{6}	5.89×10^{5}	4.9×10^{5}	7.05×10^{4}
วันที่ 7 (4°C)	5.89×10^{6}	2.39×10^{6}	1.26×10^{6}	3.47×10^{6}	2.04×10^{6}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.3 ผลของการชะล้างน่องไก่สดด้วยน้ำกลั่น สารสกัดจากกานพลูและสารสกัดจากใบ-ไทม์ ต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรฟและจำนวน *Pseudomonas* spp. ที่ผิวน่องไก่สด (ครั้งที่ 3)

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนจุลินทรีย์บนผิวน่องไก่สด (CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร)[a]				
	น้ำกลั่น	กานพลู 1%	กานพลู 2%	ใบไทม์ 1%	ใบไทม์ 2%
Total viable count					
ก่อนการชะล้าง	4.31×10^{7}	4.1×10^{6}	2.7×10^{6}	3.45×10^{6}	1.72×10^{6}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	8.16×10^{6}	3.22×10^{6}	6.83×10^{5}	2.06×10^{6}	6.09×10^{5}
วันที่ 7 (4°C)	3.53×10^{7}	3.46×10^{7}	1.47×10^{7}	1.79×10^{7}	1.45×10^{7}
Total psychrotroph					
ก่อนการชะล้าง	7.85×10^{6}	3.06×10^{6}	1.58×10^{6}	4.11×10^{6}	1.94×10^{6}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	8.84×10^{6}	3.45×10^{6}	8.58×10^{5}	6.12×10^{6}	3.11×10^{6}
วันที่ 7 (4°C)	2.5×10^{7}	4.46×10^{6}	4.23×10^{6}	1.01×10^{7}	4.79×10^{6}
Total *Pseudomonas*					
ก่อนการชะล้าง	1.73×10^{6}	8.45×10^{5}	5.0×10^{5}	4.35×10^{5}	3.39×10^{5}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	6.91×10^{6}	1.44×10^{6}	2.34×10^{5}	4.81×10^{5}	4.54×10^{5}
วันที่ 7 (4°C)	1.02×10^{7}	5.77×10^{5}	1.68×10^{5}	6.14×10^{6}	2.35×10^{6}
Total *Salmonella*					
ก่อนการชะล้าง	1.58×10^{6}	5.25×10^{5}	2.4×10^{5}	6.61×10^{5}	2.63×10^{5}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	1.89×10^{6}	1.6×10^{6}	4.14×10^{5}	4.25×10^{5}	5.53×10^{4}
วันที่ 7 (4°C)	3.82×10^{6}	3.01×10^{6}	1.15×10^{6}	2.38×10^{6}	1.71×10^{6}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4.4 ผลของการชะล้างน่องไก่สดด้วยน้ำกลั่น สารสกัดจากกานพลูและสารสกัดจากใบ-ไทม์ ต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จุลินทรีย์กลุ่มไซโครโทรฟและจำนวน *Pseudomonas* spp. ที่ผิวน่องไก่สด (เฉลี่ย)

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนจุลินทรีย์บนผิวน่องไก่สด (CFU ต่อ 25 ตารางเซนติเมตร)[a]				
	น้ำกลั่น	กานพลู 1%	กานพลู 2%	ใบไทม์ 1%	ใบไทม์ 2%
Total viable count					
ก่อนการชะล้าง	4.17×10^{7}	4.13×10^{6}	2.62×10^{6}	3.51×10^{6}	1.83×10^{6}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	8.83×10^{6}	3.28×10^{6}	7.39×10^{5}	2.33×10^{6}	5.85×10^{5}
วันที่ 7 (4°C)	3.48×10^{7}	3.32×10^{7}	2.3×10^{7}	1.86×10^{7}	1.49×10^{7}
Total psychrotroph					
ก่อนการชะล้าง	8.59×10^{6}	3.67×10^{6}	1.2×10^{6}	4.31×10^{6}	1.98×10^{6}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	7.94×10^{6}	2.1×10^{6}	1.06×10^{6}	6.14×10^{6}	2.44×10^{6}
วันที่ 7 (4°C)	4.14×10^{7}	5.75×10^{6}	4.91×10^{6}	7.88×10^{6}	4.07×10^{6}
Total *Pseudomonas*					
ก่อนการชะล้าง	1.82×10^{6}	9.12×10^{5}	5.34×10^{5}	5.34×10^{5}	2.91×10^{5}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	6.83×10^{6}	1.9×10^{6}	1.93×10^{5}	4.94×10^{5}	4.3×10^{5}
วันที่ 7 (4°C)	9.68×10^{6}	5.8×10^{5}	1.61×10^{5}	5.33×10^{6}	2.62×10^{6}
Total *Salmonella*					
ก่อนการชะล้าง	1.29×10^{6}	5.57×10^{5}	2.3×10^{5}	7.67×10^{5}	3.11×10^{5}
หลังการชะล้าง					
วันที่ 0	2.72×10^{6}	2.12×10^{6}	5.13×10^{5}	4.26×10^{5}	6.45×10^{4}
วันที่ 7 (4°C)	5.25×10^{6}	2.93×10^{6}	1.4×10^{6}	3.4×10^{6}	2.21×10^{6}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5.1 การเปลี่ยนแปลงของค่า TBARS (Thiobabituric acid number) ของเนื้อน่องไก่สด ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ครั้งที่1)

	วันที่0	
ตัวอย่าง	OD. 538	TBA(mg malonaldehyde/kg exract)
น้ำเปล่า	0.08	0.62
กานพลู1%	0.07	0.57
กานพลู2%	0.07	0.58
ใบไทม์1%	0.07	0.57
ใบไทม์2%	0.07	0.56

	วันที่7	
ตัวอย่าง	OD. 538	TBA(mg malonaldehyde/kg exract)
น้ำเปล่า	0.08	0.59
กานพลู1%	0.07	0.54
กานพลู2%	0.07	0.51
ใบไทม์1%	0.07	0.53
ใบไทม์2%	0.07	0.52

ตารางที่ 4.5.2 การเปลี่ยนแปลงของค่า TBARS (Thiobabituric acid number) ของเนื้อน่องไก่สด ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ครั้งที่2)

	วันที่0	
ตัวอย่าง	OD. 538	TBA(mg malonaldehyde/kg exract)
น้ำเปล่า	0.07	0.55
กานพลู1%	0.08	0.60
กานพลู2%	0.07	0.55
ใบไทม์1%	0.07	0.55
ใบไทม์2%	0.07	0.58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5.2 การเปลี่ยนแปลงของค่า TBARS (Thiobabituric acid number) ของเนื้อน่องไก่สด ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ครั้งที่2 ต่อ)

	วันที่7	
ตัวอย่าง	OD. 538	TBA (mg malonaldehyde/kg exract)
น้ำเปล่า	0.07	0.54
กานพลู1%	0.08	0.59
กานพลู2%	0.07	0.52
ใบไทม์1%	0.07	0.54
ใบไทม์2%	0.07	0.55

ตารางที่ 4.5.3 การเปลี่ยนแปลงของค่า TBARS (Thiobabituric acid number) ของเนื้อน่องไก่สด ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ครั้งที่3)

	วันที่0	
ตัวอย่าง	OD. 538	TBA (mg malonaldehyde/kg exract)
น้ำเปล่า	0.08	0.59
กานพลู1%	0.07	0.58
กานพลู2%	0.07	0.56
ใบไทม์1%	0.07	0.56
ใบไทม์2%	0.07	0.57

	วันที่7	
ตัวอย่าง	OD. 538	TBA (mg malonaldehyde/kg exract)
น้ำเปล่า	0.07	0.58
กานพลู1%	0.07	0.56
กานพลู2%	0.07	0.53
ใบไทม์1%	0.07	0.55
ใบไทม์2%	0.07	0.53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5.4 การเปลี่ยนแปลงของค่า TBARS (Thiobabituric acid number) ของเนื้อน่องไก่สด ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ค่าเฉลี่ย)

วันที่0

ตัวอย่าง	TBA (mg malonaldehyde/kg exract) (3ซ้ำ)			เฉลี่ย	SD
น้ำเปล่า	0.62	0.55	0.59	0.58	0.03
กานพลู1%	0.57	0.60	0.58	0.58	0.01
กานพลู2%	0.58	0.55	0.56	0.56	0.01
ใบไทม์1%	0.57	0.55	0.56	0.56	0.01
ใบไทม์2%	0.56	0.58	0.57	0.57	0.01

วันที่7

ตัวอย่าง	TBA (mg malonaldehyde/kg exract) (3ซ้ำ)			เฉลี่ย	SD
น้ำเปล่า	0.59	0.54	0.58	0.57	0.02
กานพลู1%	0.54	0.59	0.56	0.56	0.02
กานพลู2%	0.51	0.52	0.53	0.52	0.01
ใบไทม์1%	0.53	0.54	0.55	0.54	0.01
ใบไทม์2%	0.52	0.55	0.53	0.53	0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ค่าการวิเคราะห์ทางสถิติ

1. ค่าการวิเคราะห์ทางสถิติการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนน่องไก่สดโดยใช้สารสกัดหยาบจากกานพลูและสารสกัดหยาบจากใบไทม์

1.1. ค่าการวิเคราะห์ทางสถิติของน่องไก่สดก่อนชะล้าง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ95

จุลินทรีย์ทั้งหมด

TRT		N	Subset 1	2	3	4
Duncan[a,b]	5.00	3	6.2733			
	3.00	3	6.3733	6.3733		
	4.00	3		6.5467	6.5467	
	2.00	3			6.6167	
	1.00	3				7.6067
	Sig.		.315	.096	.476	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .013.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

จุลินทรีย์ที่ชอบเจริญที่อุณหภูมิต่ำ

TRT		N	Subset 1	2
Duncan[a,b]	3.00	3	6.1500	
	5.00	3	6.2733	6.2733
	2.00	3	6.4800	6.4800
	4.00	3	6.6433	6.6433
	1.00	3		6.8500
	Sig.		.088	.051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .089.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pseudomonas spp.

TRT		N	Subset		
			1	2	3
Duncan[a,b]	5.00	3	5.5800		
	4.00	3	5.6267		
	3.00	3	5.6900	5.6900	
	2.00	3		5.9633	5.9633
	1.00	3			6.1733
	Sig.		.435	.060	.135

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .025.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

Salmonella spp.

TRT		N	Subset
			1
Duncan[a,b]	5.00	3	5.9500
	3.00	3	6.1333
	2.00	3	6.4800
	4.00	3	6.5400
	1.00	3	6.9133
	Sig.		.142

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .463.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2. ค่าการวิเคราะห์ทางสถิติของน่องไก่สดหลังชะล้างในวันที่ 0 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จุลินทรีย์ทั้งหมด

Duncan[a,b]

	N	Subset		
TRT		1	2	3
3.00	3	5.6567		
5.00	3	5.6867		
4.00	3		6.3900	
2.00	3		6.5200	
1.00	3			6.9433
Sig.		.868	.477	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .046.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

จุลินทรีย์ที่ชอบเจริญที่อุณหภูมิต่ำ

Duncan[a,b]

		Subset	
TRT	N	1	2
3.00	3	5.2533	
2.00	3	6.0367	6.0367
5.00	3	6.1700	6.1700
4.00	3		6.6533
1.00	3		6.8433
Sig.		.068	.110

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .277.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pseudomonas spp.

Duncan[a,b]

TRT	N	Subset 1	Subset 2	Subset 3
3.00	3	5.1300		
5.00	3	5.6200	5.6200	
4.00	3	5.6967	5.6967	
2.00	3		5.8900	
1.00	3			6.8267
Sig.		.079	.373	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .115.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

Salmonella spp.

Duncan[a,b]

TRT	N	Subset 1	Subset 2
5.00	3	4.6033	
4.00	3		5.5500
3.00	3		5.6233
2.00	3		5.9733
1.00	3		6.0933
Sig.		1.000	.207

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .212.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3. ค่าการวิเคราะห์ทางสถิติของน่องไก่สดหลังชะล้างแล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จุลินทรีย์ทั้งหมด

TRT		N	Subset 1	Subset 2	Subset 3
Duncan[a,b]	5.00	3	7.1733		
	4.00	3	7.2733	7.2733	
	3.00	3		7.3833	7.3833
	2.00	3			7.4633
	1.00	3			7.5267
	Sig.		.158	.124	.063

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .006.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

จุลินทรีย์ที่ชอบเจริญที่อุณหภูมิต่ำ

TRT		N	Subset 1	Subset 2	Subset 3
Duncan[a,b]	5.00	3	6.6100		
	3.00	3	6.6900		
	2.00	3	6.7567	6.7567	
	4.00	3		6.8900	
	1.00	3			7.6167
	Sig.		.105	.121	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .009.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pseudomonas spp.

TRT		N	Subset 1	2	3	4	5
Duncan[a,b]	3.00	3	5.1933				
	2.00	3		5.7567			
	5.00	3			6.4267		
	4.00	3				6.6833	
	1.00	3					7.0033
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .012.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

Salmonella spp.

TRT		N	Subset 1	2	3
Duncan[a,b]	3.00	3	6.1367		
	5.00	3	6.3333	6.3333	
	2.00	3		6.4633	
	4.00	3		6.5200	6.5200
	1.00	3			6.7100
	Sig.		.052	.073	.059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .012.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ค่าการวิเคราะห์ทางสถิติการเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ในน่องไก่สดที่ชะล้างด้วยน้ำกลั่น น้ำกลั่นผสมสารสกัดจากกานพลูและน้ำกลั่นผสมสารสกัดจากใบไทม์

2.1. ค่าการวิเคราะห์ทางสถิติการเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ในน่องไก่สดหลังชะล้างในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่า TBARS ของน่องไก่สดวันที่ 0

TRT		N	Subset 1
Duncan[a,b]	4.00	3	.5616
	3.00	3	.5616
	5.00	3	.5694
	1.00	3	.5824
	2.00	3	.5824
	Sig.		.252

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .000.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = 0.05.

ค่า TBARS ของน่องไก่สดวันที่ 7

TRT		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Duncan[a]	3.00	3	.5200	
	5.00	3	.5330	.5330
	4.00	3	.5382	.5382
	2.00	3		.5616
	1.00	3		.5668
	Sig.		.250	.051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้