รายงานการวิจัย

ผลของสารสกัดจากเครื่องเทศต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในช่องปากและในระบบทางเดินอาหาร

Effect of spice extracts on growth inhibition of oral and gastrointestinal pathogenic bacteria

นางสาวสุรีย์ นานาสมบัติ

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2560

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัย

ผลของสารสกัดจากเครื่องเทศต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในช่องปาก และในระบบทางเดินอาหาร

Effect of spice extracts on growth inhibition of oral and gastrointestinal pathogenic bacteria

นางสาวสุรีย์ นานาสมบัติ

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....149356
วัน, เดือน, ปี 13 ก.พ. 2561

b.....00265928.....
i.....

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2560

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย III

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ V

กิตติกรรมประกาศ VII

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 13

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 23

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 40

เอกสารอ้างอิง 41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย)	ผลของสารสกัดจากเครื่องเทศต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในช่องปากและในระบบทางเดินอาหาร
แหล่งเงิน	เงินรายได้
ประจำปีงบประมาณ 2557	จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 50,000 บาท
ระยะเวลาดำเนินการวิจัย 1 ปี	ตั้งแต่ ตุลาคม พ.ศ. 2559 ถึง กันยายน พ.ศ. 2560
หัวหน้าโครงการวิจัย:	รศ .ดร .สุรีย์ นานาสมบัติ
หน่วยงานต้นสังกัด:	ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สจล.

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 ค่อนข้างต้านทานต่อสารสกัดต่างๆ (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) สารสกัดหยาบจากกานพลูมีปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด (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)

คำสำคัญ : กิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรีย สารต้านอนุมูลอิสระ สารพฤกษเคมี สารสกัดจากเครื่องเทศ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Effect of spice extracts on growth inhibition of oral and gastrointestinal pathogenic bacteria

Researcher: Associate Professor Dr. Suree Nanasombat

Faculty of Science, Department of Biology, KMITL

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 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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.

Keywords : Antibacterial activity, Antioxidant, Phytochemicals, Spice extracts

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยเรื่องนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 (Adams และ Moss, 1995) และนอกจากนี้ยังมีเชื้อจุลินทรีย์อีกหลายชนิดที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารได้ เช่น *Clostridium perfringens, Escherichia coli, Bacillus cereus, Yersinia enterocolitica, Listeria monocytogenes* เป็นต้น (Adams และ Moss, 1995) ส่วนใหญ่โรคทางเดินอาหารที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์มักใช้ยาสังเคราะห์หรือยาปฏิชีวนะในการรักษา ซึ่งการใช้ยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหล่านี้มักมีผลข้างเคียงต่อร่างกายเช่น 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 ขมิ้นชิง 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 ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการหืนพบได้ในสัตว์บ่อยกว่า hydrolytic rancidity ปฏิกิริยาการหืนแบบนี้เป็นปฏิกิริยา auto-oxidation ที่เกิดขึ้นในสภาพที่มีออกซิเจนในบรรยากาศโดยออกซิเจนจะเข้าทำปฏิกิริยาที่พันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและในที่สุดจะทำให้กลิ่นและรสที่ผิดปกติในเนื้อสัตว์ (Hamilton, 1994) และเกิดสารไฮดรอกซิลเปอร์ออกไซด์ (hydroxyl peroxides) ที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ ดังนั้นจึงควรป้องกันการเกิดออกซิเดชันโดยใช้สารยับยั้งปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันโดยสารที่ยับยั้งออกซิเดชันทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระจะเรียกว่าสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Kolakowska, 2003; Yanishlieva-Maslarova และคณะ, 2001) โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะทำหน้าที่ให้หรือรับอิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ เพื่อให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรมากขึ้นหรือลดการก่อตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของอนุมูลอิสระโดยการยับยั้งกิจกรรมหรือการแสดงออกของเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ รวมทั้งส่งเสริมกิจกรรมและการแสดงออกของเอนไซม์ที่สร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (Lu และคณะ, 2010) ดังนั้นจึงได้มีการใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์ ได้แก่ สารบิวทีเลเตตไฮดรอกซีอะนีโซล (BHA (butylated hydroxyanisole)) สารบิวทีเลตเตตไฮดรอกซีโทลูอีน (BHT (butylated hydroxytoluene)) และสารโพรพิล-แกลเลต (PG (propyl gallate)) เติมลงในอาหารเพื่อป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร (Maisuthisakul และคณะ, 2007; Yamazaki และคณะ, 2007) อย่างไรก็ตามการบริโภค BHT ในปริมาณที่สูงจะเป็นพิษต่อระบบประสาทและกระเพาะอาหาร (Nieva-Echevarría และคณะ, 2015) ดังนั้นการใช้เครื่องเทศซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ จึงมีความปลอดภัยกว่าสารที่สังเคราะห์จากเคมี ดังนั้นถ้าสามารถค้นหาเครื่องเทศที่มีคุณสมบัติในการต้านกิจกรรมของจุลินทรีย์ คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ จะทำให้เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการคัดเลือกเครื่องเทศของไทย ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้แทนสารเคมีในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารประเภทต่างๆ เพื่อช่วยป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหาร

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ
2. เพื่อศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของเครื่องเทศ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียและก่อโรคทางเดินอาหารของสารสกัดจากเครื่องเทศ ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและกิจกรรมทางพฤกษเคมีอื่นๆของเครื่องเทศหลายชนิดเพื่อคัดเลือกเครื่องเทศที่มีกิจกรรมดังกล่าวที่สูงมาเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงชนิดของสารสกัดเครื่องเทศที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียและก่อโรคทางเดินอาหารได้ดี
2. ทำให้ทราบถึงคุณสมบัติทางด้านพฤกษเคมีของเครื่องเทศ เช่น เป็นสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เครื่องเทศ

2.1.1 ความหมายของเครื่องเทศ

ความหมายและความสำคัญของเครื่องเทศ ในพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถาน พ.ศ. 2525 ได้ให้ความหมายของเครื่องเทศไว้ว่า เครื่องเทศคือของหอมฉุนและเผ็ดร้อนที่ได้จากต้นไม้สำหรับใช้ทำยาและปรุงอาหาร 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)

2.1.2 ประโยชน์ของเครื่องเทศ

1. ช่วยเพิ่มกลิ่นและรสชาติของอาหาร เครื่องเทศจะทำให้อาหารมีกลิ่นหอมและรสชาตินำรับประทานมากยิ่งขึ้น ซึ่งกลิ่นของเครื่องเทศเกิดจากน้ำมันหอมระเหย ส่วนรสที่ได้จากเครื่องเทศส่วนใหญ่เป็นรสเผ็ดร้อน (รุ่งรัตน์, 2540)

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 สารประกอบทางเคมีของเครื่องเทศชนิดต่างๆ (ต่อ)

เครื่องเทศ	ชื่อวิทยาศาสตร์	สารประกอบทางเคมี
พริกไทย	*Piper nigrum* Linn.	α-Pinene, ß-damascenone, eugenol, guaiacol, piperonal Piperidine, piperine, limonene, α-pinene และ ß-pinene (Kaefer และ Milner, 2008)
มะกรูด	*Citrus hystrix* DC.	l-citronellal, citronellol, citronellol acetate, sabinene, α-pinene, ß-pinene (สุทธิชัย, 2553)
กระวาน	*Amomum krervanh Pierre, A. cardamomun Linn.*	Limonene, caffeic acid (Kaefer, 2008), terpinyl acetate, limonene, borneol, methyleugenol, α-pinene, ß-pinene, sabinene, myrcene, aphellandrene, g-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, ß-carotene, ß-pinene, ß-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, ß-carotene, limonene, quercetin, benzoic acid, ß-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)

2.2 สมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของเครื่องเทศ

กระเจี๊ยบแดง รายงานของ Da-Costa-Rocha และคณะ (2014) กล่าวว่า protocatechuic acid ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นสารประกอบทางเคมีในดอกกระเจี๊ยบแดงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa* และ *Acinetobacter baumannii* และการสกัดกระเจี๊ยบแห้งโดยเมทานอล ให้ผลการ

เอกสารนี้อนุญาตให้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์เช่น *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 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 สมบัติทางพฤกษเคมีของเครื่องเทศ

2.3.1 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)

2.3.2 ตัวอย่างสารพฤกษเคมีที่พบในธรรมชาติ

2.3.2.1 ฟีนอลิก (Phenolic)

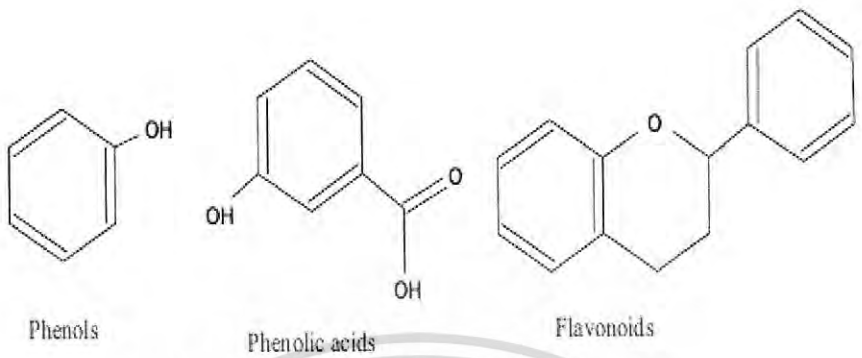
สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่วเมล็ดแห้ง เมล็ดธัญพืช ซึ่งมีบทบาทในการป้องกันการเจ็บป่วยและการเกิดโรค สามารถนำมาใช้กับอาหาร เพื่อเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถละลายได้ในน้ำ (วิวัฒน์, 2545)

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 อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอล

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

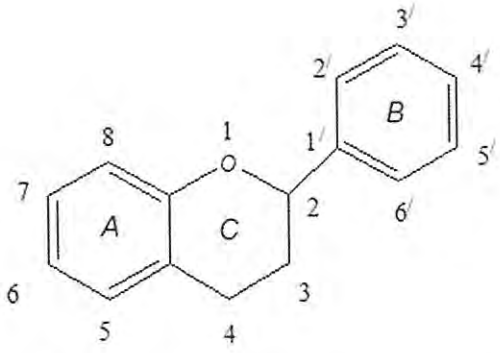
2.3.2.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

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 อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์
ที่มา: http://teainstitutemfu.com/main/blog/องค์ประกอบทางเคมี

2.3.3 คุณสมบัติของพฤกษเคมี

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

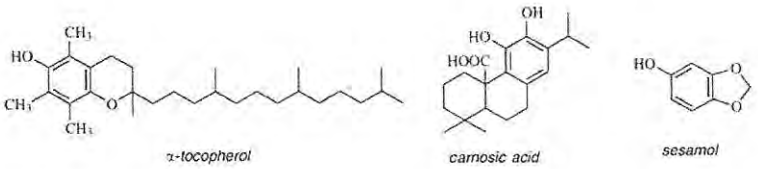
สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ได้ดังนี้

1. สารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ (Natural antioxidant) มี 4 ประเภท (Frankel และ 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

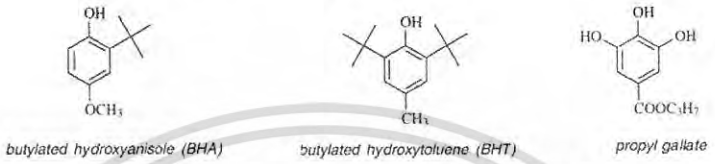
สารต้านอนุมูลอิสระจากการสังเคราะห์ได้แก่ บิวทีเลเตตไฮดรอกซีอะนีโซล (BHA (butylated hydroxyanisole)) บิวทีเลเตตไฮดรอกซีโทลูอีน (BHT (butylated hydroxytoluene)) โพรพิล-แกลเลต (PG (propyl gallate)) ใช้เติมลงในอาหารเพื่อป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร (Maisuthisakul และคณะ, 2007; Yamazaki และคณะ, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ



สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์



ภาพที่ 2.3 สารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติและสังเคราะห์ขึ้น

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

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

2.4 ดัชนีชี้วัดความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total Antioxidant Capacity)

จากการที่ร่างกายและเซลล์มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้หลายชนิด จึงมีระบบควบคุมป้องกันไม่ให้มีอนุมูลอิสระเกินสมดุลทำให้เกิดอันตราย ซึ่งมีหลักการสำคัญในการวิเคราะห์คือ

1. การวิเคราะห์จากการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน (hydrogen atom transfer, HAT)
2. การวิเคราะห์จากการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (electron transfer, ET หรือ SET)

วิธีวิเคราะห์โดยใช้หลักการ HAT จะวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในเลือดหรือพลาสมาในการขจัดอนุมูลอิสระโดยวิธีการให้อะตอมไฮโดรเจน

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

วิธี ABTS

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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) อ่างควบคุมอุณหภูมิ (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)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 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)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

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)

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 ที่ได้เตรียมไว้แล้วปริมาตร 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 หลังจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
149356

เติมเชื้อลงบนอาหารแล้วให้ทำการเกลี่ยเชื้อแบคทีเรียด้วยไม้พันสำลีปราศจากเชื้อแล้วคีบแผ่นกระดาษกรองปลอดเชื้อที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 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

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 จากนั้นทำการถ่ายเชื้อจากสารแขวนลอยเซลล์ของจุลินทรีย์แต่ละชนิดลงบน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผิวหน้าอาหารที่มีความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละระดับลงไป 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 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 การศึกษาคุณสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ

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 อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดย $[DPPH^{\bullet}]_T$ หมายถึงความเข้มข้นของ DPPH• ที่เวลาใดๆ และ $[DPPH^{\bullet}]_{0-T}$ 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, 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 นำค่าการดูดกลืนแสงมาพล๊อตกราฟมาตรฐานของความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโทรล็อกซ์กับค่าการดูดกลืนแสงของโทรล็อกซ์ จะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง 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 ทำการทดลองเหมือนวิธีข้างต้นแต่ใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นต่างๆแทนสารสกัดจากเครื่องเทศ ส่วนแบลงค์ให้ใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงมาพล๊อตกราฟมาตรฐานของความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิก จะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อนำมาใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในตัวอย่างวิเคราะห์

3.2.3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ได้ทำตามวิธีของ Kathirvel และ Sujatha (2012) โดยมีขั้นตอนดังนี้ นำสารสกัดเครื่องเทศ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายเม-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทานอลความเข้มข้นร้อยละ 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 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)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 โรสแมรี่และชะเอมมากที่สุด (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 ลูกจันทน์และชะเอมมากที่สุด (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) โดยที่สารสกัดหยาบจากขิงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ทุกชนิดที่ทดสอบ 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*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 จากการศึกษาปริมาณของกรดอินทรีย์ในกระเจี๊ยบแดงพันธุ์ hibiscus flos พบว่ามีกรดฮิบิคัส (hibiscus acid) ร้อยละ 13–24, กรดซิตริก (citric acid) ร้อยละ 12–20, กรดมาลิก (malic acid) ร้อยละ 2–9, กรดทาร์ทาริก (tartaric 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) ได้รายงานว่าสารสกัดจากกานพลูที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *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 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ 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, 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(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) ได้รายงานว่าสกัดสารจากข่า (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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ร้อยละ 9.72) เป็นส่วนประกอบหลัก และยังพบสาร terpinen-4-ol (ร้อยละ 5.80), myristicin (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 ได้ถึงหกเส้นใย บางครั้งจะพบเซลล์ของ *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 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (Mehmood และคณะ, 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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) ให้เปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอรัส (Fe^{2+}-TPTZ) ที่มีสีน้ำเงิน ซึ่งเกิดจากอะตอมของเหล็กในสาร Fe^{3+}-TPTZ จะถูกรีดิวซ์ให้ได้เป็น Fe^{2+}-TPTZ เทียบกับสารมาตรฐานคือแอลฟา-โทโคเฟอรอล นั่นหมายถึงถ้าค่าความสามารถในการรีดิวซ์ยิ่งสูง แสดงถึงกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดก็จะยิ่งสูงเช่นกัน จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ได้ดีที่สุดคือ กานพลู มีค่าในความสามารถการรีดิวซ์ 3.63 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 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 รองลงมาคือสารสกัดจากโรสแมรี่และใบไทม์ 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) และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หอมแดง (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

4.3.2 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศ

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศทั้งหมด 21 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุดได้แก่ โรสแมรี่และกานพลู โดยมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 214.94 และ 209.52 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ สารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีปริมาณสูงรองลงมาคือ ใบไทม์ ขิง และลูกจันทน์ โดยมีปริมาณสารประกอบฟลาโว-นอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 199.03, 126.76 และ 123.39 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ สารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดปานกลางได้แก่ ยี่หร่า มะกรูด ดอกกระเจี๊ยบแดง กระชาย พริกหอมและโป๊ยกั๊ก ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโว-นอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 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 และสารสกัดหยาบจากเครื่องเทศที่มีปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดต่ำได้แก่ 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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการทดลองครั้งนี้สารสกัดหยาบจากโรสแมรี่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุด สารสกัดหยาบที่มีสารประกอบฟลาโวนอยด์รองลงมาคือ สารสกัดหยาบกานพลูและสารสกัดหยาบใบไทม์ 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 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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 โดยเฉพาะสารสกัดหยาบจากโป๊ยกั๊ก ลูกจันทน์และกานพลู (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

จากการทดลองนี้ มีข้อเสนอแนะคือเป็นไปได้ที่จะวิจัยต่อโดยนำสารสกัดจากเครื่องเทศที่มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์สูง เช่นกานพลู โรสแมรี่และใบไทม์ มาช่วยชะลอการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์เนื้อสดต่างๆ เพื่อช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษา เนื่องจากเครื่องเทศเหล่านี้มีสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. (2540). พืชเครื่องเทศและพืชสมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์โอ.เอส.บริ้นติ้เฮ้าส์

วิวัฒน์ หวังเจริญ. (2545). บทบาทของสารประกอบฟีนอลต่อสุขภาพ. อาหาร. 32(4): 245-253.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. (2540). สารานุกรมสมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอ-เดียนสโตร์

สุทธิชัย ปทุมล่องทอง. (2543). เคล็ดลับสมุนไพรไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. นนทบุรี: สำนักพิมพ์ธารบัวแก้ว

อนันต์ สกุลกิม. (2551). อนุมูลอิสระ สารอันตรายต่อสุขภาพและร่างกาย. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์ 8(1): 28-33

โอภา วัชระคุปต์. (2550). สารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพมหานคร: พี. เอส. พริ้นท์.

Adams, M.R. & Moss, M.O. (1995). *Food Microbiology*. Cambridge: The Royal society of chemistry, (Chapter 4-11).

Adebolu, T. T., & Oladimeji, S.A. (2005). Antimicrobial activity of leaf extracts of *Ocimum gratissimum* on selected diarrhoea causing bacteria in southwestern Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 4, 682-684.

Agbor, G. A., Vinson, J. A., Oben, J. E., & Ngogang, J. Y. (2006). Comparative analysis of the in vitro antioxidant activity of white and black pepper. *Nutrition Research*, 26, 659-663.

Aguiar, J.J.S., Sousa, C.P.B., Araruna, M.K.A., Silva, M.K.N., Portelo, J.C., Lopes, J.C., Carvalho, V.R.A., Figueredo, F.G., Bitu, V.C.N., Coutinho, H.D.M., Miranda, T.A.S., & Matias, E.F.F. (2014). Antibacterial and modifying-antibiotic activities of the essential oils of *Ocimum gratissimum* L. and *Plectranthus amboinicus* L. *European Journal of Integrative Medicine*, 6, 1-6.

Al-Bayati, F. A. (2008). Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 403-406.

Ali, B.H., Al-Wabel, N., & Blunden, G. (2005). Phytochemical pharmacologicaland toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa L.*: a review. Phytother Res, 19, 369–375.

Amengialue, O. O., Edobor, O., & Egharevba, A. P. (2013). Antibacterial activity of extracts of *Ocimum gratissimum* on bacteria associated with diarrhoea. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 6, 143 – 145.

Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M., & Debevere, J. (2004). Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and *p*-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology*, 21, 33-42.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bao, J., Cai, Y., Sun, M., Wang, G. Y., & Corke, H. (2005). Anthocyanins, flavonols and free radical scavenging activity of Chinese bayberry (*Myrica rubra*) extracts and their color properties and stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2327–2332.

Barik, B.R., Kundu, A.B., & Dey, A.K. (1987). Two phenolic constituents from *Alpinia galanga* rhizomes. *Phytochemistry*, 26, 2126–2127.

Benitez, N.P., León1, E. M. M., & Stashenko, E. E. (2009). Eugenol and methyl eugenol chemotypes of essential oil of species *Ocimum gratissimum* L. and *Ocimum campechianum* Mill. from Colombia. *Journal of Chromatographic Science*, 47, 800-803.

Betoni, J.E.C., Mantovani, R.R., Barbosa, L.N., stasi, L.C.D., & Junior, A.F. (2006). Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcos aureus* diseases. *Antimicrobial druge and plants synergism, 101, 387-390.*

Blackburn, C. de. W. (2006). *Food spoilage microorganisms*. New York: Washington DC.

Botsoglou, N., & Botsoglou, E. (2010). *Oxidation and protection of poultry and eggs*. In A. Decker, J. Ryan, & D.J. McClements. (Eds.). *Oxidation in food and beverages and antioxidation application*.Great Abington UK: Woodhead Publishing Limited. (Chapter 2), PP. 50-90

Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Bersert, E. C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittle Wissenschaft and Technologie*, 28, 25-30.

Cai, L., & Wu, C.D. (1996). Compounds *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. *American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy*, 59, 987-990.

Chao, C.-Y., & Yin, M.-C. (2008). Antibacterial effects of *Roselle Calyx* extractsand protocatechuic acid in ground beef and apple juice. *Foodborne Pathogens and Disease*, 6, 201-206.

Collins, C. H., Lyne, P. M., & Grange, J. M. (2001). *Collin and Lyne's microbiology methods*. New York: Oxford University Press Inc.

Craig, W.J. (1999). Phytochemicals: guardians of our health. *Journal of the American Dietetic Association*, 97, 199-204.

Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., & Heinrich, M. (2014). *Hibiscus sabdariffa* L. a phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*, 165, 424-443.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dog, T.L. (2006). A reason to season: The therrapeutic benefits of spices and culinary herbs. *Diet and Nutrition*, 2, 446-450.

El-Nekeety, A. A., Mohamed, S. R., Hathout, A. S., Hassan, N. S., Aly, S. E., & Abdel-Wahhab, M. A. (2011). Antioxidant properties of *Thymus vulgaris* oil against aflatoxin-induce oxidative stress in male rats. *Toxicon*, 57, 984-991.

Embuscado, M. E. (2015). Spices and herbs: Natural sources of antioxidants-a mini review. *Journal of Functional Foods*, 3, 1-9.

Farrel, K.T. (1990). *Spice cindiments and seasonings*. America: United states

Fernández, J., Pérez-Álvarez, J. A., & Fernández-Lɑpez J. A. (1997). Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, 59, 3, 345-353.

Frankel, E.N., & Meyer, A.S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunction food and biological antioxidants. *Journal Sciences Food Agriculture*, 80, 1925-1941

Guarda, A., Rubilar, J. F., Miltz, J., & Galotto, M. J. (2011). The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol. *International Journal of Food Microbiology*, 146, 144-150.

Gupta, A.D., Bansal, V.K., Babu, V., & Maithil, N. (2013). Chemistry, antioxidant and antimicrobial potential of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 11, 25–31.

Hamilton, R. J. (1994). The chemistry of rancidity in foods. In J. C. Allen, & R. J. Hamilton (Eds.), *Rancidity in Foods* (pp. 3-21). New York: NY

Hirasa, K., & Takemasa, M. (1998). *Spice Science and Technology*. New York: Marcel Dekker.

Hussain, M. B., Brunton, N. P., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A. B., & Wilkinson, M. (2008). Antioxidant activity of spice extracts and phenolics in comparison tosynthetic antioxidants. *Rasayan Journal of Chemistry*, 1, 751-756

Ivanovic, J., Dimitrijevic-Brankovic, S., Misic. D., Ristic, M., & Zizovic, I. (2013). Evaluation and improvement of antioxidant and bacterial activities of supercritical extract from clove buds. *Journal of Functional Foods*, 5, 416-423.

Janssen, A.M., & Scheffer, J.J.C. (1985). Acetoxychavicol acetate, an antifungalcomponent of *Alpinia galanga*. *Planta Medica,* 6, 507–511.

Jay, J.M., Loessner, M.J., & Golden, D. A., (2005). *Modern Food Microbiology*. (7th ed.). New York: Science+business Media.

Kaefer, Ch. M., & Milner, J. A. (2008). The role of herbs and spices prevention. *Journalof Nutritional Biochemistry*, 19, 347-361.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kathirvel, A., & Sujatha, V. (2012). In vitro assessment of antioxidant and antibacterial properties of *Terminalia chebula* Retz. Leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 788-795

Khalaphallah, R., & Soliman, W.S. (2014). Effect of henna and roselle extracts on pathogenic bacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4, 292-296.

Kirk, R.S., & Sawyer R. (1991). *Pearson's Composition and Analysis*. (9th ed.). England : Longman, (Chapter 16).

Kolakowska, A. (2003). *Lipid Oxidation in Food Systems in Chemical and Functional Properties of Food Lipids*. CRC Press LLC (Chapter 8).

Krishnan, K.R., Babuskin, S., Babu, P.A.S., Sasikala, M., Sabina, K., Archnan, G., Sivarigan, M., & Sukumar, M. (2014). Antimicrobial and antioxidant effects of spice extract on the shelf life extension of raw chicken meat. *International Journal of food Microbiology,* 171, 32-40.

Lado, C., Then, M., Varga, I., Szőke, É., & Szentmihályi, K. (2004). Antioxidant property of volatile oils determined by theferric reducing ability. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung*, 56c, 354-358.

Latha, C., Shriram, V.D., Jahagirdar, S.S., Dhakephalkar, P.K., & Rojatkar, S.R. (2009). Antiplasmid activity of 1-acetoxychavicol acetate from *Alpinia galanga* against multi-drug resistant bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 123, 522–525.

Lee, K.-G., & Shibamoto, T. (2001). Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum (L.)* Merr. et Perry]. *Food Chemistry*, 74, 443–448.

Leite, A.M., Lima, E.de.O., de Souza, E.L., M.de., F.F.M., Trajano, V.N., & de Medeiros, I.A. (2007). Inhibitory effect of β -pinene, α -pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria. *Bazilian Journal of Pharmaceutical Sciences,* 43, *121-126.*

Li, W., Chen, H., He, Z., Han, C., Liu, S., & Li, Y. (2015). Influence of surfactant and oil composition on the stability and antibacterial activity of eugenol nanomulsions. *LWT-Food Science and Technology*, 62, 39-47.

Liu, W.-H., Hsu, C.-C., & Yin, M. C. (2008) In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of diallyl sulphides and protocatechuic acid. *Phytother Research*, 22, 53-57

Lü, J. M., Lin, P. H., Yao, Q., & Chen, C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Foundation for Cellular and Molecular Medicine*. 14. 840-860.

Mahmoud, B.S.M., Yamazaki, K., Miyashita, K., Il-Shikc S., Dong-Suk, C., & Suzuki, T. (2004). Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *Food Microbiology*, 21, 657–666

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Maisuthisakul, P., Pongsawatmanit, R., & Gordon, M.H. (2007). Characterization of the phytochemicals and antioxidant properties of extracts from Teaw (*Cratoxylum formosum* Dyer). *Food chemistry*, 100, 1620-1629.

Mayachiew, P., & Devahastin, S. (2008). Antimicrobial and antioxidant activity of Indian gooseberry and galangal extracts. *LWT-Food Science and Technology*, 41, 1153-1159.

Mehmood, A., Akram, M., Usmanghani, K., Hannan, A., Mohiuddin, E., & Asif M. (2010). *Helicobacter pylori*: An indtoduction. *International Journal of Applide Biology and Pharmaceutical Technollogy*, 1, 1337-1351

Monahan, F. J. (2000). Oxidation of lipids in muscle foods: Fundamental and applied concerns. In E. A. Decker, C. Faustman, & C. J. Lopez-Bote (Eds.), *Antioxidants in muscle foods* (pp. 3-17). New York: NY.

Nabavi, S. M., Marchese, A., Izadi, M., Curti, V., Daglia, M., & Nabavi, S. F. (2015). Plants belonging to the genus *Thymus* as antibacterial agents: From farm to pharmacy. *Food Chemistry*, 173, 339-347

Nezhadali, A., Nabavi, M., Rajabian, M., Akbarpour, M., Pourali, P., & Amini, F. (2014). Chemical variation of leaf essential oil at different stages of plant growth and in vitro antibacterial activity of *Thymus vulgaris Lamiaceae*, from Iran. *Journal of Basic and Applied Sciences*, 3, 87-92

Nieva-Echevarría, B., Manzanos, M. J., Goicoechea, E., & Guillén, M. D. (2015). 2,6-Di-Tert-Butyl-Hydroxytoluene and its metabolites in foods. *Food Science and Food Safety*, 14, 67-80.

Olaleye, M.T. (2007). Cytotoxicity and antibacterial activity of methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 1, 009-013.

Oonmetta-aree, J., Suzuki, T., Gasaluck, P., & Eumkeb, G. (2006). Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. *LWT-Food Science and Technology*, 39, 1214–1220.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. A. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolourization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.

Sethi, S., Dutta, A., Gupta, B.L., & Gupta, S. (2013). Antimicrobial activity of spices against isolated food borne pathogens. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5, 260-262.

Shan, B., Cai,Y.-Z., Brooks, J.D., & Corke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of Dietary spice and medicinal herd extract. *International Journal of Food Microbiolgy*, 117, 112-119.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Steven, J., & Sainsbury, M.D. (1991). Fatal salicylate toxicity from bismuth subsalicylate. *The Western Journal of Medicine,* 155, 637-639

Sulaiman, S.F., & Ooi, K.L. (2012). Antioxidant and antifood-borne bacterial activities of extracts from leaf and different fruit parts of *Myristica fragrans* Houtt. *Food Control*, 25, 533-536.

Thong-Ngam, D., & Chatsuwan, T. (2007). Antibacterial activity of Aloe vera, curcumin, garlic and plau-noi against *Helicobacter pylori. Thai Journal of Gastroenterology*, 8(1), 5-11

VallverdÚ-Queralt , A., Regueiro, J., Merlínez, M., Alrarenga, J.F.R., Leal, L.N., & Lamuela-Raventos, R.M., (2014). A comprehensive study on the phenolic profile of widely used culinary herbs and spices: rosemary, thyme, oregano, cinnamon, cumin and Bay. *Food Chemistry*, 154, 299-307.

Verma, R. S., Bish, P. S., Chandra, P. R., Saikia D., & Chauhan, A. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from two *Ocimum* spp. grown in sub-tropical India during spring-summer cropping season. *Journal of Traditional Medicines*, 6, 211-217.

Wittschier, N., Faller, G., & Hensel, A. (2009). Aqueous extracts and polysaccharides from liquorice roots (*Glycyrrhizaglabra L.*) inhibit adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric mucosa. *Journal of Ethnopharmacology*, 125, 218–223.

Wojdylo, A., Oszmianski, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selceted herds. *Food Chemistry*, 105, 940-949.

Yamazaki, E., Inagaki, M., Kurita, O., & Inous, T. (2007). Antioxidant activity of Japanese pepper (*Zanthoxylum piperitum* DC.) fruit. *Food Chemistry*, 100, 171-177.

Yanishlieva-Maslarova, P. N. V. (2001). Inhibiting oxidation. In J. Pokorny, N. Yanishlieva, & M. Gordon (Eds.), *Antioxidant in Food* (pp. 3-42). New York: Washington DC.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

T149356

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้