

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การใช้เจลผสมบุกและเพคตินเป็นสารเคลือบน้ำมันหอมระเหยกระเพราเพื่อเสริมในอาหารสัตว์

(Use of konjac-pectin gel mixture as encapsulating wall material
for supplementation of Holy basil essential oil in animal feed)

จัดทำโดย

- | | | |
|---------------------|------------|---------------|
| 1. นางสาวชนาพร | ศิลปี | รหัส 47040808 |
| 2. นางสาวปัทมา | หอมพุ่ม | รหัส 47040812 |
| 3. นางสาวพิชชานันท์ | พลหนองหลวง | รหัส 47040815 |

ศษ.

ศ 2467

2550

อาจารย์ที่ปรึกษา

ศศ.ดร.ศศิวิมล ชื่นอ้อม อาเหม็ด

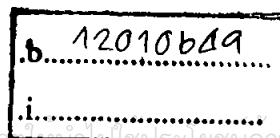
เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 85378

วัน,เดือน,ปี..... 1.1 พ.ศ. 2551

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2550



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การใช้เจลดผสมบุกและเพคตินเป็นสารเคลือบนำมันหอมระเหยกระเพราเพื่อ
เสริมในอาหารสัตว์

(Use of konjac-pectin gel mixture as encapsulating wall material for
supplementation of Holy basil essential oil in animal feed)

จัดทำโดย

นางสาวธนาพร	คิลปี	รหัส 47040808
นางสาวปัทมา	หอมฟุ้ง	รหัส 47040812
นางสาวพิชชานันท์	พลหนองหลวง	รหัส 47040815

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 3.../55.5/51..อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(ผศ.ดร. ศศิวิมล ชื่นอิม อาห์หมัด)

การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธนาพร ศิลปี, ปัทมา หอมทุ่ง และพิชชานันท์ พลหนองหลวง. 2550 : การใช้เจลผสมบุกและเพคติน เป็นสารเคลือบน้ำมันหอมระเหยกระเพราเพื่อเสริมในอาหารสัตว์ (Use of konjac – pectin gel mixture as encapsulating wall material for supplementation of Holy basil essential oil in animal feed). คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. ศศิวิมล ชื่นอ้อม อาเหม็ด

บทคัดย่อ

จากการทดลองใช้เทคนิคเอนแคปซูเลชัน เพื่อเคลือบน้ำมันหอมระเหยกระเพราไว้ใน โครงสร้างของเจลผสมบุกและเพคติน แล้วนำไปทดสอบอัตราการปลดปล่อยสารสำคัญที่สภาวะ จำลองระบบทางเดินอาหาร (0.2 M HCl-KCl pH 2 ที่ 37°C นาน 3 ชั่วโมง และ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ที่ 37°C นาน 3 ชั่วโมง) พบว่าเปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย กระเพรา ได้แก่ Eugenol, Methyl eugenol และ Caryophyllene มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 5 ในสภาวะ จำลองลำไส้ เมื่อทดลองเสริมเจลสมุนไพร(กระเพรา)ในอาหารสัตว์ในสัดส่วนเจลสมุนไพร 250 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่ากลุ่มไก่ทดลองที่ได้รับการเสริมเจลสมุนไพรในอาหารหลักมี ปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* ในลำไส้ส่วน ileo-cecum ลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ให้อาหารหลักเพียงอย่างเดียว ในขณะที่ไก่ทั้งสอง กลุ่มมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกในลำไส้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากการศึกษา อายุการเก็บรักษาเจลสมุนไพร(กระเพรา)ในสภาวะควบคุมความชื้นที่อุณหภูมิห้อง พบว่ามีปริมาณ สารสำคัญก่อนข้างคงที่ใน 2 สัปดาห์แรกของการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามในสัปดาห์ที่ 3 พบว่า ปริมาณสารสำคัญในเจลสมุนไพรลดลงเหลือ 50-60 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณเริ่มต้น

ธนาพร

ปัทมา

พิชชานันท์

นักศึกษา

(ผศ.ดร.ศศิวิมล ชื่นอ้อม อาเหม็ด)

อาจารย์ที่ปรึกษา

วัน/เดือน/ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การนำเสนอปัญหาพิเศษในหัวข้อ การใช้เจลผสมบุกและเพคตินเป็นสารเคลือบน้ำมันหอมระเหยกระเพราเพื่อเสริมในอาหารสัตว์ ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ อาจารย์ศศิวิมล ชื่นอ้อม อาเหม็ด ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษของข้าพเจ้า ที่ได้กรุณาสละเวลาอันมีค่ามาคอยให้คำปรึกษา คำแนะนำและดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างมาก รวมทั้งแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่คอยแนะนำ และช่วยให้การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ให้สำเร็จลงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ โครงการ IRPUS 50 ของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยด้วย ที่สนับสนุนการศึกษาในการทำงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้กำลังใจและกำลังทรัพย์ในการทำงานให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่เป็นกำลังใจให้ตลอดมา

ธนาพร

ศิลปี

ปีتما

หอมพุ่ม

พิชชานันท์

พลหนองหลวง

3 เมษายน 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์	3
2.1 จุลินทรีย์ก่อโรคในสัตว์	3
2.1.1 <i>Salmonella</i> spp.	3
2.1.2 <i>Escherichia coli</i>	4
2.1.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	4
2.2 การใช้สมุนไพรในการผลิตสัตว์	5
2.2.1 การนำสมุนไพรมาใช้เป็นยาสัตว์	5
2.2.2 การใช้สมุนไพรในการผลิตสัตว์	6
2.2.3 กระเพรา	8
2.2.4 ยูจีนอล	9
2.3 การเอนแคปซูลชัน (Encapsulation)	10
2.3.1 เทคนิคเอ็กซ์ทรูชัน (Extrusion)	10
2.3.2 เทคนิคอิมัลชัน (Emulsion)	10
2.4 บุก (Konjac gluconmannan, KGM)	11
2.5 เพคติน (Pectin)	12
2.6 การวิเคราะห์โดยวิธี Gas Chromatography, GC	15
2.7 การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-drying)	16
บทที่ 3 อุปกรณ์ และ วิธีการ	19

สารบัญ

	หน้า
3.1 วัตถุประสงค์	19
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี	19
3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์	19
3.4 วิธีการทดลอง	20
3.4.1 การเคลือบ/กักเก็บน้ำมันหอมระเหยกระเพราในโครงสร้างของ เจลผสมบุกและเพคติน	20
3.4.2 ศึกษาอัตราการปลดปล่อยของสารสกัดสมุนไพรที่ผ่านการเคลือบ ด้วยบุกและเพคติน ในสภาวะจำลองของระบบทางเดินอาหาร	20
3.4.3 การสกัดและการวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยกระเพรา	20
3.4.4 ศึกษาประสิทธิภาพของการเสริมเจลสมุนไพร(กระเพรา)ในอาหารสัตว์ (ไก่)ต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ไก่	21
3.4.5 ศึกษาอายุการเก็บรักษาเจลสมุนไพร (กระเพรา)	21
บทที่ 4 ผลการทดลอง	22
4.1 การศึกษาอัตราการปลดปล่อยสารสำคัญของน้ำมันหอมระเหยกระเพราใน สภาวะจำลองระบบทางเดินอาหาร	22
4.2 ศึกษาประสิทธิภาพของการเสริมเจลสมุนไพร(กระเพรา) ในอาหารสัตว์ (ไก่) ต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ไก่	23
4.3 การศึกษาอายุการเก็บรักษาเจลสมุนไพร (กระเพรา)	24
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	26
5.1 สรุปผลการทดลอง	26
5.2 ข้อเสนอแนะ	26
บรรณานุกรม	27
ภาคผนวก	30

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ความสามารถในการละลายของใยอาหารจากแหล่งต่างๆ	14
4.1 ปริมาณเชื้อ <i>E.coli</i> และแบคทีเรียแลกติกในลำไส้ส่วน ileo cecum	24



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

รูปที่	หน้า
4.1 เปรี่เซ็นต์การปลดปล่อยสารสำคัญในเจลสมุนไพรร (กระเพรา) ในสภาวะจำลองระบบทางเดินอาหาร	23
4.2 ปริมาณสารสำคัญที่คงเหลือในระหว่างการเก็บรักษาเจลสมุนไพรร(กระเพรา) ที่อุณหภูมิห้อง	25



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่สำคัญที่พบในเนื้อสัตว์ เช่น หมู ไก่ และก่อให้เกิดโรคในผู้บริโภค ได้แก่ *Escherichia coli* *Salmonella pullorum* และ *Staphylococcus aureus* เป็นต้น เชื้อโรคเหล่านี้มักตรวจพบในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ ดังนั้นวิธีการที่นิยมใช้ในกระบวนการผลิตสัตว์ให้ปลอดภัยจากเชื้อก่อโรค คือ การฉีดวัคซีนและการใช้ยาปฏิชีวนะ ซึ่งการเลี้ยงสัตว์โดยทั่วไปมักใช้ปฏิชีวนะสาร (antibiotic growth promoter) ผสมลงในอาหารสัตว์ในระดับต่ำเพื่อเร่งการเจริญเติบโตและควบคุมโรค รวมทั้งการใช้สารสังเคราะห์เสริมในอาหาร (feed additives) ซึ่งวิธีดังกล่าวได้เป็นที่ยอมรับกันอย่างแพร่หลายทั่วโลกมานานกว่า 50 ปีเพื่อประสิทธิภาพการให้ผลผลิตสูงสุด แต่ปัจจุบันพบว่า ทำให้เกิดผลเสียตามมาคือมีสารเคมีตกค้างในผลิตภัณฑ์ ส่งผลทำให้ผู้บริโภคเกิดพัฒนาการของการดื้อยา และเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง ดังนั้นจึงมีแนวโน้มของการห้ามใช้สารปฏิชีวนะทุกชนิดเพื่อเร่งการเจริญเติบโต โดยเฉพาะในกลุ่มประเทศประชาคมยุโรป ซึ่งเป็นตลาดส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย ดังนั้นในปัจจุบันการเลี้ยงสัตว์แบบอินทรีย์ เพื่อเพิ่มคุณภาพของการผลิต โดยไม่ให้เกิดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม สุขภาพสัตว์ และผู้บริโภค จึงมีความต้องการมากขึ้น (<http://www.gpo.or.th/rdi/htmls/ethnoveterinary.html>)

ปัจจุบันการใช้สมุนไพรเพื่อทดแทนการใช้สารเคมี และยาปฏิชีวนะ เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่ได้รับ ความสนใจ เพราะสมุนไพรหลายชนิดนอกจากมีสรรพคุณในการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อและต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคแล้ว ยังสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรค ช่วยย่อยอาหาร กระตุ้นการกิน เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ คัดค้านสารพิษ เป็นต้น ทำให้สามารถป้องกันการเกิดโรคทางเดินอาหารและโรคทางเดินหายใจในสัตว์ได้ โดยที่สมุนไพรไม่มีการตกค้างเพราะเป็นพืชจากธรรมชาติ อีกทั้งหาง่าย มีอยู่ทั่วไปในทุกท้องถิ่น อย่างไรก็ตามรูปแบบของสมุนไพรที่ใช้มีความสำคัญต่อประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ กล่าวคือหากใช้สมุนไพรที่ผ่านการตากแห้งและบดเป็นผง จะทำให้สารสำคัญยังคงอยู่ภายในเซลล์และถูกดูดซึมได้เป็นบางส่วนในระบบทางเดินอาหาร จึงอาจต้องใช้ในปริมาณมาก ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพและการดูดซึมอาหารของสัตว์ ดังนั้นการใช้สมุนไพรในรูปของสารสกัดที่ทราบความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ที่ต้องการร่วมกับเทคนิคเอนแคปซูเลชัน ซึ่งเป็นการเคลือบหรือกักเก็บสารสกัดสมุนไพรไว้ภายในโครงสร้างของเจล น่าจะช่วยให้การควบคุมการดูดซึมของสารออก

ฤทธิ์สู่เป้าหมายได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย และยังอาจช่วยลดผลกระทบในแง่ของกลิ่นรสของสมุนไพรต่อประสาทสัมผัสของสัตว์ นอกจากนี้การเลือกใช้ชนิดของวัสดุหีบที่เป็นสารเคลือบ (encapsulation material) ซึ่งมีองค์ประกอบของใยอาหารที่ละลายน้ำได้ เช่น บุกและเพคติน น่าจะส่งผลดีต่อระบบขับถ่ายของสัตว์ด้วย

ในการทดลองนี้สนใจที่จะศึกษาการใช้สมุนไพรในการเลี้ยงสัตว์ ซึ่งได้เลือกใช้น้ำมันหอมระเหยกระเพราเป็นสมุนไพรต้นแบบ เนื่องจากกระเพราเป็นพืชที่ปลูกได้ง่าย โคเร็ว สามารถปลูกได้ทุกภาคของประเทศไทย และการใช้เทคนิคเอนแคปซูเลชันเพื่อเคลือบหรือกักเก็บน้ำมันหอมระเหยกระเพราไว้ในโครงสร้างของเจลดผสมบุกและเพคติน แล้วนำมาศึกษาอัตราการปลดปล่อยสารสำคัญที่สภาวะจำลองระบบทางเดินอาหาร (in vitro study) และศึกษาประสิทธิภาพของการเสริมเจลดสมุนไพร (กระเพรา) ในการเลี้ยงไก่ต่อปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ของไก่ (in vitro study) รวมถึงศึกษาอายุการเก็บรักษาเจลดสมุนไพร (กระเพรา)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาอัตราการปลดปล่อยสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยกระเพราที่ผ่านการเคลือบด้วยเจลดผสมของบุกและเพคตินในสภาวะจำลองระบบทางเดินอาหาร
2. เพื่อศึกษาผลของการเสริมเจลดสมุนไพร (กระเพรา) ในอาหารสัตว์ต่อปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* และแบคทีเรียแลกติกในลำไส้ไก่
3. เพื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาเจลดสมุนไพร (กระเพรา)

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 จุลินทรีย์ก่อโรคในสัตว์

2.1.1 *Salmonella* spp. (<http://www.dld.go.th/niah>)

Salmonella spp. เป็นแบคทีเรียอยู่ในตระกูล Enterobacteriaceae รูปท่อน ดิคลีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้โดยใช้ แฟลกเจลลาที่มีอยู่รอบเซลล์ เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ เป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไป ได้แก่ ในสัตว์ปีก สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม รวมทั้งมนุษย์

โรคซัลโมเนลโลซิส (Salmonellosis) ตรวจพบทั้งในไก่เนื้อ และไก่พื้นเมือง ในไก่เนื้อมีอัตราการป่วยเท่ากับ 8.65% อัตราการตายเท่ากับ 2.81% ในไก่พื้นเมืองพบว่าเกิดร่วมกับโรคบิด, โรคกัมโบโร และโรคแอสเปอร์จิลโลซิส โดยมีอัตราการป่วยและตายเฉลี่ยเท่ากับ 10.91 % และ 7.66% ตามลำดับ โรคนี้พบได้ในไก่อายุตั้งแต่ 4 วันถึงไก่ใหญ่ การติดต่อในไก่ที่อายุน้อยมักติดจากการที่ไก่มาจากฝูงที่มีการติดเชื้อในแล้ว การป้องกันและกำจัดโรคนี้ต้องควบคุมตั้งแต่อยู่ในฟาร์มพ่อแม่พันธุ์ โดยมีการตรวจเชื้อซัลโมเนลล่าเป็นประจำ ตามระเบียบการควบคุมโรคซัลโมเนลล่าในฟาร์มไก่พันธุ์ของกรมปศุสัตว์

Salmonella ทุกสายพันธุ์ล้วนก่อให้เกิดโรค *Salmonellosis* ได้ทั้งสิ้น ยกเว้น *Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi* A, B และ C ทำให้เกิดโรค Typhoidal

S. pullorum เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ แบคทีเรียชนิดนี้เป็นสาเหตุในการทำให้เกิดโรคอุจจาระขาวในไก่ซึ่งเป็นโรคระบาดที่สำคัญ โดยการติดเชื้อของไก่จะเกิดที่อวัยวะต่างๆ โดยเฉพาะที่รังไข่ จึงเป็นเหตุให้ลูกไก่ได้รับเชื้อจากแม่โดยผ่านทางไข่ และมีอาการเป็นโรครุนแรง ลูกไก่อายุ 2-3 วันเมื่อเป็นโรคนี้จะมีอัตราการตายสูง ลูกไก่จะเริ่มสร้างความต้านทานต่อโรคได้เมื่ออายุ 5-10 วัน และความต้านทานจะมากขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น ทั้งนี้จะมีส่วนสัมพันธ์กับระบบการสร้างภูมิคุ้มกันโรคของร่างกายที่มากขึ้นตามอายุ ลูกไก่ที่ได้รับเชื้อมาแล้วจะแพร่เชื้อออกจากอุจจาระไปสู่ลูกไก่ตัวอื่นๆ ต่อมาลูกไก่จะกินอาหารที่เปื้อนอยู่กับของใช้ต่างๆ จะพาเชื้อจากฝูงหนึ่งไปยังอีกฝูงหนึ่ง นอกจากนี้เครื่องมือที่ใช้ร่วมกัน เช่น เครื่องคักปากและอื่นๆ ก็จะเป็นตัวนำเชื้อโรคได้เช่นกัน

อาการของโรคอุจจาระขาวมักจะเกิดขึ้นกับลูกไก่ที่เกิดมาจากไข่ติดเชื้อพบว่าจะมีลูกไก่แรกเกิดตายในตู้ฟักด้วย หรือตายหลังจากฟักออกมาได้ 2-3 วัน อาการที่แสดงให้เห็นได้แก่ อ่อนเพลีย ไม่กิน

อาหาร บางทีลูกไก่ไม่แสดงอาการจนกว่าจะอายุได้ 5-10 วัน ลูกไก่จะตายมากในช่วงอายุ 2-3 สัปดาห์
 ระยะนี้ลูกไก่จะแสดงอาการป่วยมากขึ้น จะนอนสุมกัน ปีกตกคอดก อุจจาระเหลวมีสีขาวหรือบางทีก็
 เป็นสีน้ำตาลสีเขียวๆ ติดอยู่รอบๆ ทวารหนัก ถ้ามีการติดเชื้อในปอดโดยการหายใจเอาเชื้อเฉพาะ
 อวัยวะใดอวัยวะหนึ่ง เช่น ขี้ขาว จะทำให้ขี้ขาวมโค มีน้ำเหลืองอยู่ภายในข้อต่อและเยื่อหุ้มข้อต่อ ทำ
 ให้ไก่เดินไม่ได้ ลูกไก่ตัวที่รอดจากโรคก็จะแคระแกรน ไก่โตมกไม่แสดงอาการ แต่จะอมโรคไว้แพร่
 ต่อไป

2.1.2 *Escherichia coli* (เกรียงศักดิ์, 2536)

Escherichia coli เป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น (normal flora) ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของ
 สัตว์เลี้ยงคอกและมนุษย์โดยไม่ทำให้เกิดโรค มีลักษณะเป็นแท่ง เป็นแบคทีเรียชนิดแกรมลบแต่มีบาง
 สายพันธุ์เรียกว่า enteropathogenic *E. coli* ที่สามารถก่อโรคได้ในสัตว์และทำให้เกิดอาการท้องเสียใน
 มนุษย์ โดยเชื้อ *E. coli* จะถูกขับถ่ายปะปนออกมากับอุจจาระ ดังนั้นจึงพบได้บ่อยในสิ่งปฏิกูล น้ำ
 อาหาร พืชผัก ทั่วไป

เชื้อ *E. coli* จะทำให้เกิดโรคโคโลบาซิลโลซิส ซึ่งจากการศึกษาพบว่าโรคนี้อาจเกิดขึ้นได้มาก
 ในไก่ช่วงอายุกำลังเจริญเติบโต คือ อายุระหว่าง 25-35 วัน ไก่ที่เป็นโรคจะสังเกตได้ง่ายว่าจะยืนซึม
 เคลื่อนไหวลำบาก บางตัวนอนหมอบ บางรายอาจสังเกตเห็นอาการท้องเสีย อาการสำคัญคือ การ
 หายใจลำบากเป็นลักษณะเฉพาะคือหายใจโดยใช้กล้ามเนื้อท้องเกือบทุกๆ ตัวที่เป็นโรคมักจะเป็นไก่ที่
 ค่อนข้างอ้วนสมบูรณ์ อัตราการตายในระยะแรกๆ ประมาณ 0.25% จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ อาจสูงถึง 10%
 อัตราการเป็นโรคอยู่ในระหว่าง 10-15% ระยะเวลาของการระบาดจะอยู่ในระหว่าง 7-12 วัน มีอยู่
 บ่อยครั้งที่อาการของโรคติดเชื้อ *E. coli* ในไก่กระทง จะพบว่าไก่เป็นโรคแสดงอาการหน้าบวม ซึ่ง
 คล้ายกับอาการของการแพ้ก๊าซแอมโมเนีย ไก่ป่วยจะแสดงอาการบวมทั้งใบหน้า เยื่อเมือกตาอักเสบ
 แดง มีน้ำตา การเกิดการติดเชื้อ *E. coli* ในตาไก่นั้นอาจจะทำให้หนองในตาได้ และจะพบรอยโรคที่
 งดงาม ถุงหุ้มหัวใจและตับ

2.1.3 *Staphylococcus aureus*

(<http://www.gogi-foods.com/index.php?lay=show&ac=article&Id=168665&Ntype=4>)

เชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายรวงงู
 หรือเป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ ไม่เคลื่อนที่ โคลินิมีสีเหลืองหรือสีทองเจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศ

ที่มีออกซิเจน ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตคือ 35-40 องศาเซลเซียส ช่วง pH หรือความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ที่ 7-7.5 ส่วนค่า Aw (ปริมาณน้ำอิสระในอาหารที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเติบโต) ค่าสุดสำหรับการเติบโตในสภาพมีออกซิเจนประมาณ 0.86 สภาพไม่มีออกซิเจน 0.90

โรคสะคืออักเสบ (OMPHALITIS) (เกรียงศักดิ์, 2536)

เป็นโรคที่พบในลูกไก่โดยแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่เป็นสาเหตุของโรคสะคืออักเสบ ได้แก่ เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Proteus spp.*, *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus spp.* เป็นคั้น อาการของโรคสะคืออักเสบ ขึ้นอยู่กับสาเหตุของเชื้อ ดังนี้

- สาเหตุจากเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* จะพบว่าโรคเป็นแบบรวดเร็วและรุนแรง ส่วนใหญ่พบในลูกไก่อายุ 1-4 วัน ระยะเวลาของการเกิดโรค 5 วัน อัตราการตายสูงสุดที่อายุ 3 วัน

- สาเหตุจากเชื้อ *E. coli* จะพบว่าโรคเป็นแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง ในกรณีเฉียบพลันจะพบก้อนไข่แดงจะคงรูปร่างปกติแต่เส้นเลือดรอบๆ ก้อนไข่แดงจะบวมโต อวัยวะภายในทุกชนิดมีการอักเสบรุนแรง บ่งบอกถึงการติดเชื้อในกระแสโลหิตพบได้บ่อยว่ามีน้ำสีเลือดหรือสีน้ำตาลเข้มขังอยู่ในช่องท้อง ส่วนการเป็นโรคแบบเรื้อรังนั้น เมื่อทำการผ่าซากจะพบว่ามียื่อหนาหุ้มหัวใจและตับรวมไปถึงอาจมีก้อนหนองเหนียวคล้ายเนยแข็งอุดอยู่ที่อวัยวะต่างๆ อวัยวะภายในแสดงอาการอักเสบรุนแรงเช่นเดียวกัน ลูกไก่แทบจะทุกตัวที่เกิดการติดเชื้อเข้าไปในช่องท้องแล้วมักจะตายส่วนตัวที่รอดก็จะแคระแกร็น เนื่องจากก้อนหนองที่เกิดจะรบกวนการทำงานของอวัยวะภายใน

สาเหตุจากเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นและเชื้อรา ส่วนใหญ่จะพบการอักเสบของอวัยวะภายในรุนแรง อายุที่พบว่าเป็นโรคตายบ่อยคือ อายุ 2-4 วัน อัตราการตายเกือบเท่ากับอัตราการเกิดโรค

2.2 การใช้สมุนไพรในการผลิตสัตว์

2.2.1 การนำสมุนไพรมาใช้เป็นยาสัตว์

(<http://www.halalthailand.com/healthy/subindex.php?page=content&category=&subcategory=&id=46>)

ผู้เลี้ยงไก่ชนใช้ขมิ้นกับสมุนไพรอื่นๆ เป็นส่วนผสมของสมุนไพรที่ใช้คั้นเป็นน้ำยาสมุนไพรอาบให้ไก่ชน ประกอบด้วย ใบมะขาม ใบส้มป่อย ไม้ฤาษีผสม ใบครุระ ขมิ้นชัน ขมิ้นอ้อย ไม้กระตุกไก่

เปลือกไม้ โอน คัมรวมกันในน้ำเดือด นำน้ำที่ต้มได้มาอาบให้ไก่ชนเพื่อให้ไก่มีหนังเหนียว ไม่ลื่นง่าย เวลาโค่นจิกหรือตี หรือสูตรแก้ไก่เป็นหวัด บิด ท้องเสีย จะใช้ขมิ้นชัน 7 กรัม ผสมฟ้าทะลายโจร 144 กรัม ไพล 29 กรัม บดผสมอาหารลูกไก่ 100 กิโลกรัม ยาถ่ายพยาธิของเสีย สูตรที่ 1 ประกอบด้วย หัวไพล 2 ส่วน ขมิ้นชัน 1 ส่วน กะเม็ง 1 ส่วน หมากคืบ 1 ส่วน กะปิ 1 ส่วน มะขามเปียก 1 ส่วน บดหรือตำให้ละเอียดผสมกันให้ไก่กินก่อนอาหารจนกว่าจะถ่ายหมด

โรคระบบทางเดินอาหาร ใช้สมุนไพรสด ได้แก่ ขมิ้นชัน ไพล ข่า เปลือกลูกมังคุด ใบฝรั่ง กลั้วน้ำหว่าคืบ สรรพคุณ แก้ท้องร่วง สมานแผล แก้บิด

2.2.2 การใช้สมุนไพรในการผลิตสัตว์ (<http://www.dld.go.th/organic/knowledge/natural.html>)

สาโรช และคณะ (2547) ได้ทดลองใช้สมุนไพรผง กระเทียม ฟ้าทะลายโจร ขมิ้นชัน ทั้งเดี่ยวและผสมกัน ทดแทนสารปฏิชีวนะเร่งการเจริญเติบโตในอาหารไก่เนื้อ ไก่ไข่ และสุกร พบว่า การใช้สมุนไพรเดี่ยวและผสมระดับต่างๆมีแนวโน้มเพิ่มสมรรถนะการเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่ากลุ่มเดิมยาปฏิชีวนะ นอกจากนี้ในการเลี้ยงไก่ของบริษัทตะนาวศรีไก่ไทย จำกัด ใช้ ฟ้าทะลายโจร ไพล ขมิ้นชัน ผสมในอาหารในระดับป้องกันโรค 1.8 กกต่อตันอาหาร ให้กินตั้งแต่แรกเกิดจนขาย เพื่อป้องกันโรคหวัด CRD หวัดเรื้อรัง โรคท้องเสียทั่วไป โรคบิดมูกเลือด สำหรับในภาวะโรคหวัดนก ระบาดได้เพิ่มสมุนไพรผสมในอาหาร อีก 3-4 เท่า เป็นเวลา 5 วัน ทำให้รอดจากการติดเชื้อโรคได้

อริชญา นาคชำนาญ (2548) ได้ทดลองใช้สมุนไพร เฮอร์บาทีอบ-มิคซ์ และมู-พลัส ในอาหารไก่กระตัง เปรียบเทียบกับการใช้ปฏิชีวนะ Avilamycin และไมเด็มปฏิชีวนะ ต่อคุณลักษณะการเจริญเติบโต ซึ่งเฮอร์บาทีอบ-มิคซ์ ประกอบด้วยสมุนไพรหลัก คือ ฟ้าทะลายโจร ขมิ้นชัน และมูพลัส ประกอบด้วย มะระขี้นกและไพล ในอัตราที่บริษัท แนะนำ พบว่าปริมาณการกิน น้ำหนักเพิ่ม และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ไม่แตกต่างกันทั้ง 3 กลุ่ม

ชัยวัฒน์ สุวรรณทัต(2547) ทดลองใช้ขมิ้นชันเป็นสารต้านออกซิเดชันต่อสถานะภาพภูมิคุ้มกัน และสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่เนื้อที่อยู่ในภาวะเครียด พบว่าการเพิ่มความหนาแน่นในการเลี้ยงไก่เนื้อที่มีแนวโน้มที่จะทำให้ไก่เกิดความเครียดสูงส่งผลให้เกิด lipid peroxidation ในพลาสมาเพิ่มขึ้น เกิดภาวะกดภูมิคุ้มกันและการฟ่อตัวของอวัยวะน้ำเหลืองเพิ่มขึ้น และให้ผลตอบสนองทางลบต่ออัตราแลกเนื้อในช่วงอายุ 22-45 วัน การเสริมขมิ้นชัน อัตรา 2 กก/ตันอาหารหรือ คิดเป็น

curcuminioid 100 ppm เพื่อเป็นสารต้านออกซิเดชันมีแนวโน้มช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต และลดภาวะการฉีกการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในไก่เนื้อที่เกิดภาวะเครียดได้

กิติมา จินคามงคล (2548) ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรต่อระบบภูมิคุ้มกัน และภาวะเครียดในไก่เนื้อ เพื่อหาแนวทางในการป้องกันโรคโดยไม่ใช้สารปฏิชีวนะ ทำการเสริมสารสกัดสมุนไพรขมิ้นชัน ย่านพาโหม และบอระเพ็ด ในสูตรอาหารไก่กระตัง ใช้ไก่กระตังละเพศ จำนวน 330 ตัว วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) แบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 11 กลุ่ม ๆ ละ 6 ซ้ำๆ ละ 5 ตัว สุ่มให้แต่ละกลุ่มได้รับอาหารสูตรต่างๆ ดังนี้ สูตร 1 กลุ่มควบคุมไม่เสริมปฏิชีวนะและสมุนไพร สูตร 2 เสริมด้วยปฏิชีวนะ สูตร 3, 4 และ 5 เสริมด้วยสารสกัดขมิ้นชัน สูตร 6, 7 และ 8 เสริมด้วยสารสกัดย่านพาโหม สูตร 9, 10 และ 11 เสริมด้วยสารสกัดบอระเพ็ด สมุนไพรแต่ละชนิดเสริมที่ระดับ 0.01, 0.03, 0.05 เปอร์เซ็นต์ ตรวจวัดระดับแอนติบอดีต่อวัคซีนนิวคาสเซิล อัตราส่วนระหว่างเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ และ สัดส่วนอวัยวะน้ำเหลืองต่อน้ำหนักตัว ผลการศึกษา พบว่า ที่อายุ 28 วัน กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขมิ้นชันที่ระดับ 0.05 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดบอระเพ็ดที่ระดับ 0.03 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีระดับแอนติบอดีสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.01$) ต่อมาที่อายุ 35 วัน กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขมิ้นชันที่ระดับ 0.05 และสารสกัดบอระเพ็ดที่ระดับ 0.03 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีระดับแอนติบอดีสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.01$) สำหรับอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลต่อลิมโฟไซต์ พบว่า กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขมิ้นชันที่ระดับ 0.01 และ 0.05 และสารสกัดบอระเพ็ดที่ระดับ 0.01 และ 0.03 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) นอกจากนี้ พบว่า สัดส่วนต่อมเบอร์ดซาค่อน้ำหนักตัว ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดย่านพาโหมที่ระดับ 0.03 และสารสกัดบอระเพ็ดที่ระดับ 0.01 และ 0.03 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.01$) เมื่อพิจารณาสัดส่วนน้ำหนักม้ามต่อน้ำหนักตัว พบว่า กลุ่มที่ได้รับปฏิชีวนะมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่ากลุ่มอื่น ($P < 0.05$) การศึกษานี้อาจเสนอแนะได้ว่าการเสริมขมิ้นชันและบอระเพ็ดในอาหารไก่เนื้อในระดับที่เหมาะสมสามารถลดความเครียดขณะที่กระตุ้นภูมิคุ้มกันในกระแสดเลือดต่อเชื้อไวรัสนิวคาสเซิลได้

2.2.3 กระเพรา

กระเพรา (http://chachoengsao.doae.go.th/knowledge/samunprai/s_krapao.htm)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ocimum sanctum*, Linn. อยู่ในวงศ์ : LABTATAE ชื่อภาษาอังกฤษ : Holy basil, Sacred basil ชื่อท้องถิ่น : กอมนกคอง, กอมนก้อ, กระเพราแดง, กระเพราขาว, ห่อกวอซู ห่อคูปู, อิมคิมหล่า

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ต้น เป็น ไม้ล้มลุก แตกกิ่งก้านสาขา สูง 30 - 60 ซม. โคนลำต้นค่อนข้างแข็ง ตามลำต้นมีขน ใบ เป็นใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม รูปรี กว้าง 1-3 ซม. ยาว 2.5-5 ซม. ปลายแหลมหรือมน โคนแหลม แผ่นใบมีขน ดอก เป็นแบบช่อฉัตร ออกบริเวณปลายยอดและปลายกิ่ง ยาว 8-10 ซม. ประกอบด้วยดอกเล็กๆ ออกเป็นวงรอบแกนช่อเป็นชั้นๆ ก้านดอกยาว 2-3 มม. และกางออกตั้งฉากกับแกนช่อ กลีบเลี้ยงโคนติดกันเป็นรูปคล้ายระฆัง ปลายแยกเป็น 2 ส่วน ส่วนบนมีกลีบเดียวค่อนข้างกลม ส่วนกลางแยกเป็น 4 แฉก ปลายแหลมเรียว ด้านในเกลี้ยง ด้านนอกมีขนตาม โคนกลีบ กลีบดอกสีขาว หรือขาวปนม่วงแดง ด้านบนมี 4 กลีบ ด้านล่างมี 1 กลีบ ขนาดยาวกว่าด้านบน ตรงกลางกลีบเว้าตื้นๆ ปลายกลีบมีขนห้อยลง ผล แห้งแล้วแตกออก เมล็ด เล็ก รูปไข่สีน้ำตาล มีจุดสีเข้มเมื่อนำไปแช่น้ำเปลือกหุ้มเมล็ดของออกเป็น เมือก

สรรพคุณ ใบ บำรุงธาตุไฟธาตุ ขับลมแก้ปวดท้อง แก้ลมคานซาง แก้กูกเสียด แก้กลิ้นเหียน อาเจียน และขับลม

ฤทธิ์ลดการอักเสบ

(<http://www.medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/..%5Cpubhealth%5Cocimten.html>)

กระเพรามีสาร eugenol มีฤทธิ์ลดการอักเสบ โดยยับยั้งการสังเคราะห์ prostaglandin สารสกัด 50% เอทานอลของใบกระเพรา ขนาด 100 มก./100 ก. น้ำมันหอมระเหย และ fixed oil จากเมล็ดกระเพรา ขนาด 0.1 มล./100 ก. ทดสอบโดยการป้อนครั้งเดียวให้หนูตะเภาที่เหนียวทำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้า ด้วยสารคาร์ราจีแนน เซราโคตินิน และฮีสเตามีน fixed oil จากเมล็ดกระเพรา ขนาด 3 มล./กก. ทดสอบในหนูขาว โดยฉีดเข้าทางช่องท้องของหนูที่เหนียวทำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าด้วยสารคาร์ราจีแนน กรดไขมันจาก fixed oil ของเมล็ดกระเพรา ได้แก่ stearic, palmitic, oleic, linoleic และ linolenic acids ทดสอบในหนูถีบจักรและหนูขาวที่เหนียวทำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าด้วยสารคาร์ราจีแนน สารสกัด

จากใบ และลำต้นของกะเพรา ได้แก่ cirsilineol, cirsimaritin, isothymonin, apigenin, rosmarinic acid และ eugenol ความเข้มข้น 1,000 ไมโครโมล ทดสอบในหลอดทดลองมีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบได้ เนื่องจากไปยับยั้งการสังเคราะห์สารที่ทำให้เกิดการอักเสบ นอกจากนี้ fixed oil จากเมล็ดกะเพรา ขนาด 3 มล./กก. เมื่อป้อนให้กับหนูขาวกินเป็นเวลา 10 วัน ก่อนที่จะฉีดสารที่ทำให้เกิดการอักเสบที่ข้อเข้าของหนู พบว่า fixed oil จากเมล็ดกะเพรา สามารถยับยั้งการอักเสบของข้อเข้าของหนูได้ โดยมีผลยับยั้งเทียบเท่ากับยา aspirin ขนาด 100 มก./กก. และตำรับยาที่มีกะเพราเป็นส่วนประกอบหนึ่ง ขนาด 300 และ 500 มก./กก. ทดสอบกับอุ้งเท้าหนูขาวที่เหนียวมาให้เกิดการอักเสบด้วยสารคาราจีแนน และฟอร์มัลลิน มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบได้ เนื่องจากไปยับยั้งการสังเคราะห์สารที่ทำให้เกิดการอักเสบ

ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดอาการท้องเสีย

(<http://www.medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/..%5Cpubhealth%5Cocimten.html>)

สารในกลุ่ม phenol, tannin และ saponin จากต้นกะเพรา และสารสกัดเอทานอล และน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราสามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย ชนิด *E.coli* และ *Shigella dysenteriae* ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการท้องเสียได้

2.2.4 ยูจีนอล (<http://th.wikipedia.org/wiki>)

ยูจีนอล (Eugenol) ($C_{10}H_{12}O_2$), ทางโครงสร้างเคมีเป็นส่วน โขอัลลิล ของกัวอะคอล (guaiacol) หรือ 2-เมททอกซี-4-(2-โพรพิล)ฟีนอล เป็นของเหลวคล้ายน้ำมันสีเหลืองอ่อน สกัดได้จาก เอสเซนเชียล ออยล์ (essential oil). โดยเฉพาะจาก น้ำมันกานพลู (clove) และซินนามอน (cinnamon) ละลายได้เล็กน้อยในน้ำ ละลายได้ดีในตัวทำละลาย อินทรีย์ มีกลิ่นคล้ายกานพลู มีประ โยชน์ดังนี้

- ใช้ทำน้ำหอม
- ใช้แต่งกลิ่น
- ในทางการแพทย์ ใช้เป็นยาฆ่าเชื้อ และระงับความรู้สึกเฉพาะที่
- ใช้ผลิต ไอโซยูจีนอล (isoeugenol) เพื่อนำไปใช้ผลิตวานิลลิน (vanillin)
- เมื่อผสมกับสังกะสี ออกไซด์ (zinc oxide) ยูจีนอลจะได้ซีเมนต์ที่ใช้ในงานทันตกรรม
- ใช้ผลิตสแตบิไลเซอร์ (stabilizers) และ แอนติออกซิแดนท์ (antioxidant) ในงานผลิตพลาสติกและยาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การเอนแคปซูลชัน (Encapsulation)

การเอนแคปซูลชัน คือ กระบวนการที่สารสำคัญถูกห่อหุ้มหรือกักเก็บไว้ภายในเนื้อหุ้ม เพื่อลดผลกระทบจากสภาวะแวดล้อม เช่น อุณหภูมิและออกซิเจน ในทางเภสัชวิทยานิยมใช้ทำการเอนแคปซูลชันเพื่อช่วยในการกักเก็บตัวยา ยึดระยะเวลาในการปลดปล่อยตัวยาในสภาวะต่างๆ ในกระเพาะอาหาร และในทางเทคโนโลยีชีวภาพได้นำเทคนิคมาประยุกต์ใช้ในการตรึงเซลล์จุลินทรีย์

แบ่งประเภทตามวิธีการที่ใช้เอนแคปซูลชันได้เป็น 2 วิธี (Krasaekoopt *et al.*, 2003) ดังนี้

2.3.1 เทคนิคเอ็กซ์ทรูชัน (Extrusion)

เทคนิคเอ็กซ์ทรูชันเป็นวิธีที่เก่าแก่ที่สุดและเป็นที่ยอมรับ วิธีนี้เป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อน ซึ่งอาศัยการฟอรั่มเจลในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) เริ่มจากมีการเตรียมสารละลายไฮโดรคอลลอยด์และเติมจุลินทรีย์ลงไป จากนั้นขับเซลล์ให้ไหลออกจากรูของเข็มฉีดยาในรูปของหยดสารละลายและทำให้แข็งตัวหรือขึ้นรูปในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ขนาดและรูปร่างของเม็ดเจลจะขึ้นอยู่กับเส้นผ่านศูนย์กลางของเข็ม และระยะห่างของหยดแต่ละหยด วิธีนี้เป็นวิธีที่ยอมรับมากที่สุด เนื่องจากง่าย สะดวก ราคาถูก และไม่มีสถานะที่เป็นอันตรายต่อเซลล์เช่น ความร้อนหรือแรงเฉือน วัสดุคิบบิที่นิยมใช้เคลือบเซลล์โพรไบโอติก ได้แก่ อัลจิเนต การฟอรั่มเจลทำได้โดยเซลล์ที่แขวนลอยอยู่ในสารละลายโซเดียมอัลจิเนต การฟอรั่มเจลทำได้โดยเซลล์ที่แขวนลอยอยู่ในสารละลายโซเดียมอัลจิเนตจะถูกหยดลงในสารละลายที่มีประจุบวกมาก (multication) โดยทั่วไปใช้แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) ในรูปของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ หยดของของผสมจะฟอรั่มเป็นเม็ดเจลในทันที การดักจับเซลล์ของอัลจิเนตจะอยู่ในรูปโครงสร้างที่สานกันเป็นร่างแหสามมิติที่มีกาวเชื่อมของพันธะไอออนิกระหว่างแคลเซียมไอออนกับโพลีเมอร์ การเคลือบเซลล์จะให้ผลดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับตัวที่ใช้ในการดักจับ (entrapped material) โดยมีราคาถูก ใช้งานง่าย และเข้ากันได้ (biocompatibility) กับสิ่งมีชีวิต อย่างไรก็ตามขั้นตอนการฟอรั่มเป็นเม็ดเจลโดยวิธีเอ็กซ์ทรูชันค่อนข้างใช้เวลานาน ทำให้การขยายขนาดการผลิตทำได้ค่อนข้างยากเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอิมัลชัน

2.3.2 เทคนิคอิมัลชัน (Emulsion)

เทคนิคนี้ของผสมระหว่างเซลล์กับโพลีเมอร์จะถูกเติมลงในน้ำมันพืช (continuous phase) เช่น น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันเมล็ดทานตะวัน น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันคาโนลา (canola oil) และทำให้เป็นเนื้อเดียวกันจนอยู่ในรูปของอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (water-in-oil emulsion) ซึ่งประกอบด้วย 2 เฟส

ได้แก่ เฟสน้ำ (internal phase) และเฟสน้ำมัน (continuous phase) โดยที่เฟสน้ำจะมีขนาดอนุภาคที่เล็กกว่าเฟสน้ำมัน ซึ่งเฟสน้ำจะประกอบด้วยวัตถุดิบที่ใช้เคลือบเซลล์และเซลล์จุลินทรีย์อยู่ในรูปของอนุภาคเม็ดเจลเล็กๆ ภายในเฟสน้ำมัน เม็ดเจลจะถูกเก็บเกี่ยวหลังจากการเติมแคลเซียมคลอไรด์ ขนาดของเม็ดเจลจะถูกควบคุมโดยความเร็วในการกวน (agitation speed) และสามารถผันแปรได้ระหว่าง 25 ไมโครเมตร และ 2 มิลลิเมตร ซึ่งเล็กกว่าเม็ดเจลที่ได้จากวิธีเอ็กซ์ทรูชัน เทคนิคนี้เหมาะกับการเคลือบเซลล์แบคทีเรียแลคติก การเติมอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) สามารถช่วยในการเกิดอิมัลชันที่ดี เพราะอิมัลซิไฟเออร์ช่วยลดแรงตึงผิวระหว่างเฟสเป็นผลทำให้ได้ทรงกลมที่มีขนาดเล็กและสม่ำเสมอ สารอิมัลซิไฟเออร์ที่ใช้กันมากที่สุด คือ Tween 80

อย่างไรก็ตามวิธีอิมัลชันอาจก่อให้เกิดแรงเฉือนจากการกวนผสม วิธีการในการฟอร์มเจลบางชนิดที่ต้องใช้ความร้อน รวมถึงการใช้เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) ซึ่งทำให้เซลล์ขาดน้ำและส่งผลให้ประสิทธิภาพในการเคลือบเซลล์ลดลงได้ ดังนั้นในการเคลือบเซลล์ด้วยวิธีอิมัลชันจึงควรศึกษาสถานะและวัตถุดิบที่เหมาะสมในการเคลือบเซลล์โพรไบโอติกแต่ละชนิดเพื่อป้องกันการเกิดปัญหาดังกล่าว

วัตถุดิบที่ใช้เคลือบเซลล์มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อประสิทธิภาพในการปกป้องเซลล์จากสภาวะแวดล้อม วัตถุดิบที่ใช้เคลือบเซลล์โพรไบโอติกส่วนใหญ่เป็นโพลีแซคคาไรด์จากธรรมชาติ ได้แก่ อัลจิเนต คาร์ราจีแนน เจลเลนกัน กัมอาราบิก แซนแทนกัน เซลลูโลส และแป้งข้าวโพดคั่วแปรรูป นอกจากนี้ยังสามารถใช้ เจลาติน เวย์โปรตีน ไขมันนม และโคโคซาน โดยอาจใช้วัตถุดิบเหล่านี้เพียงชนิดเดียวหรือหลายชนิดร่วมกันได้

2.4 บุก (Konjac glucomannan, KGM)

บุกมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Amorphophallus konjac* เป็นพืชหัวพื้นเมืองของหลายประเทศในแถบทวีปเอเชีย มีต้นกำเนิดมาจากประเทศญี่ปุ่นและจีน เป็นไม้เนื้ออ่อนมีหัวอยู่ใต้ดิน มีทั้งหมดประมาณ 90 ชนิด แต่เท่าที่พบในประเทศไทยมีไม่ต่ำกว่า 15 ชนิด (กัลยาณี, 2546)

องค์ประกอบหลักที่พบในบุก คือ กลูโคแมนแนน (glucomannan) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักประมาณ 50-60 เปอร์เซ็นต์ กลูโคแมนแนนเป็นแหล่งของเส้นใยอาหารที่สามารถละลายน้ำได้และเอนไซม์ในร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยได้ (soluble dietary fiber) กลูโคแมนแนนมีลักษณะเป็นสาย

โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ประกอบด้วยแมนโนส (mannose) และกลูโคส (glucose) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 ไกลโคซิดิก ในอัตราส่วนโมลแมนโนสต่อกลูโคส คือ 3:2 โมเลกุลเส้นตรงของกลูโคแมนแนนนี้มีหมู่อะซิทธิล (acetyl groups) กระจายอยู่อย่างไม่มีแบบแผน โดยจะพบอะซิทธิล 1 หมู่ต่อน้ำตาลกลูโคสหรือแมนโนส 19 หน่วย (Tye, 1991; Thomas, 1997)

สมบัติของผงบุกประกอบด้วย แมนโนส และกลูโคส ค่อกันเป็นสายยาว จึงทำให้ผงบุกมีคุณสมบัติต่างจากแป้งในธัญพืชหัวอื่น เนื่องจากแป้งจากธัญพืชและพืชหัวอื่นๆ ประกอบด้วย อะไมโลส (amylose) และอะไมโลเพกติน (amylopectin) ที่โครงสร้างประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส แต่กลูโคแมนแนนเป็นโครงสร้างต่อเนื่องของน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลแมนโนส จึงทำให้มีคุณสมบัติพิเศษต่างๆ กันดังนี้ (Tye, 1991)

- 1) ความข้นหนืด (Water thickening)
- 2) สมบัติในการเกิดเป็นซูโดพลาสติก
- 3) การเกิดฟิล์ม (Film formation)
- 4) ความหนืด (Viscosity)
- 5) การเกิดเจล (Gel formation)

2.5 เพคติน (Pectin)

เพคตินเป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากธรรมชาติ สกัดได้จากพืชและผลไม้ส่วนใหญ่ เช่น พืชตระกูลส้มทุกชนิด แอปเปิ้ล องุ่น แครอท ถั่วฝักยาว ถั่วและบีต (beet) เป็นต้น โดยการทรिटด้วยกรดร้อน ซึ่งจะไฮโดรไลซ์โปรโตเพคติน (protopectin) ให้เป็นเพคติน เพคตินจัดเป็นเส้นใยอาหาร (soluble dietary fiber) ที่ละลายน้ำได้ แต่ก็ไม่สามารถถูกย่อยโดยเอนไซม์ในทางเดินอาหารได้เพคตินเป็นวัตถุเจือปนอาหารที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อทำหน้าที่หลายอย่าง ได้แก่ เป็นสารทำให้เกิดเจล (gelling agent) เป็นสารเพิ่มความข้นหนืด (thickening agent) และเป็นสารให้ความคงตัว (Rolin, 1993)

เพคติน ประกอบด้วย กรดกาแลกทูโรนิก (galacturonic acid) เป็นองค์ประกอบหลักต่อกันด้วยพันธะ α -(1-4)-linked D-galacturonic acid และมีสายของโมเลกุลเชื่อมต่อกับน้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น rhamnogalacturonan ซึ่งเกิดจากกรดกาแลกทูโรนิกเชื่อมด้วย L-rhamnopyranose โดยพันธะ 1,2-D-rhamnose (Schols and Voragen, 1996)

กรดกาแลกทูโรนิกจะถูกลดเอสเทอร์ไฟด์บางส่วนด้วยหมู่เมทิลได้ และจำนวนของเมทิลเลชันนี้จะเป็นตัวบ่งชี้ของเพคติน โดยดูจากค่า DM (degree of methylation) ซึ่งคือจำนวนหมู่เมทิลออกซิเจนต่อกาแลกทูโรนิก 100 หน่วย เพคตินแต่ละชนิดจะมี degree of methylation (DM) ซึ่งหมายถึงอัตราส่วนของหมู่ methoxylated galacturonic acid ต่อ หมู่ galacturonic acid ทั้งหมดที่มีอยู่ในโมเลกุลของเพคตินจะมีผลทำให้สมบัติของเพคตินต่างกัน ซึ่งโครงสร้างของเพคตินขึ้นอยู่กับแหล่งวัตถุดิบและกระบวนการสกัด

เพคตินชนิดที่มีหมู่เมทิลออกซิสูง คือ เพคตินที่มีค่า DM มากกว่า 50% เหมาะสำหรับใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีค่าพีเอชต่ำ เพคตินชนิดนี้จะแข็งตัวได้ค่อนข้างเร็ว ส่วนเพคตินชนิดที่มีหมู่เมทิลออกซิต่ำ จะมีค่า DM น้อยกว่า 50% เพคตินชนิดที่มีหมู่เมทิลออกซิต่ำนี้สามารถใช้ในผลิตภัณฑ์ที่ค่อนข้างเป็นกลางได้ ดังนั้นเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์จึงมักจะอ่อนกว่าและยืดหยุ่นน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ที่ทำด้วยเพคตินชนิดที่มีหมู่เมทิลออกซิสูง (Rolin, 1993)

เพคตินที่มีระดับการแทนที่ด้วยหมู่เมทิลต่ำ จะเกิดเจลขึ้นได้เมื่อมีสารโควาเลนต์แคทไอออน เช่น แคลเซียมไอออน โดยเกิดการเชื่อมขวางระหว่างอิเล็กตรอนคู่อิสระของกลุ่มคาร์บอกซิลของโมเลกุลเพคติน เพคตินชนิดที่มีหมู่เมทิลต่ำจะมีลักษณะทางเคมีที่คงตัว จึงทนความร้อนและความร้อนมากกว่าเพคตินที่มีระดับการแทนที่ด้วยหมู่เมทิลสูง เพราะมีแนวโน้มที่จะสูญเสียการถูกทำให้เป็นเอสเทอร์ได้ช้าในความร้อนบรรยากาศ (Rolin, 1993)

ใยอาหาร (dietary fiber) (<http://www.ku.ac.th/e-magazine/april45/know/food.html>)

ใยอาหารเป็นส่วนประกอบของพืชที่เอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของคนไม่สามารถย่อยได้ แต่จุลินทรีย์บางชนิดถ้าได้ใหญ่สามารถย่อยสลาย ส่วนประกอบบางส่วนของใยอาหารได้ โดยเฉพาะส่วนที่เป็น pectic substance โดยทั่วไปแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ soluble dietary fiber (ใยอาหารชนิดละลายน้ำได้) ได้แก่ pectin hemicellulose บางชนิด polysaccharides อื่นๆ ส่วน Insoluble dietary fiber (ใยอาหารชนิดที่ไม่ละลายน้ำ) ได้แก่ lignin cellulose hemicellulose ใยอาหารทั้ง 2 ชนิด นี้มีผลต่อระบบสรีระ (physiological) และเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพอย่างไรนั้น สรุปให้เห็นในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ความสามารถในการละลายของใยอาหารจากแหล่งต่างๆ

Physiological					
Solubility	Whole food	Isolate	Extract	effects	Health benefits
High in soluble dietary fiber	Citrus fruit Apples Vegetables		Pectin Gums	Increases viscosity Binds bile acids Increases short-chain fatty acids	Increases glucose tolerance Decreases cholesterol
	Beans Other legumes		Hemicellulose Other polysaccharides	Increases viscosity Binds bile acids Increases short-chain fatty acids Increases fecal bulk	Increases glucose tolerance Decreases cholesterol Decreases colon cancer
High in insoluble dietary fiber	Oats Barley	Oat bran	β -glucans	Increases viscosity Increases short-chain fatty acids	Increases glucose tolerance Decreases cholesterol
	Wheat Corn	Wheat bran Corn bran	Cellulose Lignin	Increases fecal bulk Decreases transit time Binds bile acids	Increases glucose tolerance Decreases colon cancer

ที่มา : Hughes (1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 การวิเคราะห์โดยวิธี Gas Chromatography (GC)

(<http://se-ed.net/mukdahan/instrument/index.htm>)

แก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography) หรือที่นิยมเรียกว่า GC เป็นเทคนิคที่ใช้แยกสารต่างๆ โดยอาศัยความแตกต่างระหว่างการกระจายตัวของสารต่างๆ ระหว่าง วัฏภาค (phase) 2 วัฏภาค ซึ่งอาจเป็นของเหลวหรือของแข็ง และวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ซึ่งเป็นแก๊สเฉื่อยเช่น N_2 , He หรือ Ar เนื่องจาก mobile phase เป็นแก๊ส ดังนั้นสารที่ต้องการแยกจะต้องสามารถระเหยได้ ณ ภาชนะนั้นๆ จึงเหมาะที่จะใช้ในการวิเคราะห์สารที่ระเหยได้ง่าย เช่น น้ำมันหอมระเหย สารพวกเอสเทอร์ เป็นต้น ส่วน Mass spectrometry (MS) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการระบุสารอินทรีย์ต่างๆ โดยอาศัยการทำให้โมเลกุลของสารซึ่งอยู่ในรูปของระเหยเกิดการแตกตัวเป็นไอออนที่มีประจุบวกด้วยการยิงด้วยอิเล็กตรอน ซึ่งจะให้ M^+ (molecular ion) ที่มีค่า m/e เท่ากับน้ำหนักโมเลกุลของสารนั้น และโมเลกุลไอออนจะแตกตัวเป็น fragment ต่างๆ ซึ่งมักจะเป็นลักษณะเฉพาะของสารนั้นๆ

ดังนั้นเมื่อนำเทคนิคการแยกสารด้วย GC มารวมเทคนิค การระบุสารด้วย MS ก็จะทำให้สามารถวิเคราะห์ส่วนประกอบในสารตัวอย่างได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำ โดยจำเป็นต้องใช้เครื่องคอมพิวเตอร์ช่วยในการวิเคราะห์ข้อมูลและเปรียบเทียบค่า molecular ion และ fragment หลักกับค่าที่บันทึกไว้ใน reference library ก็จะทำให้ทราบถึงส่วนประกอบในสารผสมต่างๆ ได้ จึงนับว่า GC-MS เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดชนิดหนึ่งในการศึกษาและวิเคราะห์สารต่างๆ

ประโยชน์ของ GC-MS

- สามารถแยกและ identify สารอินทรีย์ที่ระเหยได้
- สามารถบอกถึงชนิด (qualitative) และปริมาณ (quantitative) ของสารต่างๆ ใน mixture ได้
- สามารถแยกแยะระหว่าง molecular conformation (structural isomers) และ stereochemistry (geometric isomers) ของสารต่างๆ ได้ด้วย detector ที่เหมาะสม
- สามารถปรับให้ใช้กับงาน routine analysis ของสารใดสารหนึ่งได้
- สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งตัวอย่างที่เป็นของแข็ง ของเหลว และแก๊ส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze – drying)

(http://www.thaiscience.com/lab_vol/p30/freeze%20dryer.asp)

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) เป็นกระบวนการเก็บรักษาสาร โดยการนำสารที่ผ่านการแช่เย็นจนแข็งมาระเหิดน้ำออกภายใต้สภาวะสุญญากาศจนกระทั่งสารแห้ง แล้วเก็บรักษาภายใต้สภาพสุญญากาศ โดยทั่วไป การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มักใช้สำหรับเก็บผลิตภัณฑ์จำพวกอาหาร ยา และวัสดุทางชีวภาพ (Biological Substance) เพราะสามารถเก็บรักษาได้โดยที่คุณสมบัติของสารเปลี่ยนแปลงน้อย เพราะว่าน้ำในสารถูกระเหิดจนกลายเป็นไอออกมาในสภาวะที่น้ำยังคงเป็นของแข็ง โดยไม่ผ่านขั้นตอนการละลาย จึงทำให้หลีกเลี่ยงการเปลี่ยนแปลงสภาพทางเคมีและชีวภาพได้ ร่วมกับการทำในสภาพสุญญากาศจึงทำให้ปราศจากความชื้น วิธีนี้จึงทำให้สารมีสภาพคงตัว สามารถเก็บไว้ได้นานที่อุณหภูมิห้อง และนำกลับมาละลายใช้งานได้ง่าย สำหรับเครื่องมือที่ใช้ในกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งนี้คือ เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dryer)

กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งประกอบไปด้วยขั้นตอนของกระบวนการ 3 ขั้นตอน คือ

1. Prefreezing

ขั้นตอนแรกเป็นการลดอุณหภูมิของสารหรือการแช่เย็น เพื่อทำให้เกิดก้อนผลึกของน้ำก่อนการทำ Primary Drying ขั้นตอนนี้จะทำภายใน sample chamber ของเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งหรืออาจทำให้แข็งตัวในภาชนะเฉพาะ เช่น อ่างน้ำแข็ง (chilling bath) ที่มีแอลกอฮอล์หรืออะซิโตนเป็นตัวควบคุมอุณหภูมิกายในอ่าง หรือแช่แข็งอย่างรวดเร็วโดยใช้ไนโตรเจนเหลว (อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส) ความหนาของสารที่เหมาะสมเพื่อให้ใช้เวลาแช่แข็งหรือการทำแห้งสั้น คือ ประมาณ 10 มิลลิเมตร และไม่ควรเกิน 15 มิลลิเมตร หรือประมาณ 3 ใน 4 ของภาชนะบรรจุประเภทหลอด อุณหภูมิที่ใช้ในการทำให้สารแข็งตัวอาจไม่เท่ากันขึ้นกับองค์ประกอบของสาร เช่น หากสารมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบมาก จุดเยือกแข็งของสารก็จะต่ำกว่าจุดเยือกแข็งของสารตามปกติ เป็นต้น

การทำให้สารแข็งตัวนี้ก็เพื่อที่จะยึดให้สารอยู่ในสภาพ solid matrix เพื่อจะได้ไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมีหรือกายภาพ ในขณะที่ระเหิดน้ำออก โดยทั่วไป จะใช้เวลาประมาณ 2-3 ชั่วโมง ในการทำให้สารแข็งตัวอย่างสมบูรณ์

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2. Primary Drying

ขั้นตอนนี้เป็นการระเหิด (sublimation) หรือการ freeze drying เพื่อคิงน้ำแข็งออกจากผลิตภัณฑ์ และเมื่อทำ primary drying เสร็จสมบูรณ์ น้ำแข็งก็จะระเหิดออกไปจนหมดแต่ยังอาจเหลือความชื้นอยู่เล็กน้อย ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จะถูกนำเข้าสู่ขั้นตอน secondary drying เพื่อเอาความชื้นออกต่อไป จุดสังเกตที่ทำให้ทราบได้ว่าขั้นตอนนี้เสร็จสมบูรณ์แล้วมีหลายอย่าง ได้แก่

- ไม่มีรอยคองของน้ำแข็ง (หากเป็นภาชนะแก้วจะเห็น ได้ชัด)
- อุณหภูมิของสารจะเพิ่มขึ้นจนใกล้เคียงกับสภาพแวดล้อม
- ความดันภายใน sample chamber ใกล้เคียงกับ condenser chamber
- ไม่มีน้ำแข็งเกาะภายในภาชนะบรรจุและถึงแม้กระบวนการจะเสร็จสมบูรณ์แล้ว แต่ก็ควรจะทำ

ทำการ drying ต่อไปอีกประมาณ 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง

3. Secondary Drying

ขั้นตอนนี้เป็นการลดความชื้นที่หลงเหลือมาจากขั้นตอน primary drying ออก หรือเรียก ขั้นตอนนี้ว่าการคาย (desorption)

กระบวนการในขั้นตอนนี้ทำเพื่อเพิ่มความคงตัวของสาร จากนั้นหลังจากลดความชื้นของผลิตภัณฑ์จนหมดแล้ว จึงปิดผนึกภาชนะที่บรรจุผลิตภัณฑ์ภายใต้สภาวะสุญญากาศ เป็นอันเสร็จกระบวนการ

ประโยชน์ของการทำแห้งเยือกแข็ง

- การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในรูปของการทำแห้งเยือกแข็ง เป็นวิธีที่ทำให้สามารถเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ได้เป็นเวลานานหลายปี โดยไม่เกิดการเสียหาย และสามารถนำกลับละลายน้ำใช้ใหม่ได้ง่าย โดยที่คุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ยังอยู่ครบถ้วน ใช้พื้นที่ในการเก็บรักษาน้อย ง่ายต่อการขนส่ง ใช้สำหรับเตรียมผลิตภัณฑ์ทางชีวภาพได้ดี รวมทั้งสามารถใช้เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ในรูปผง เพื่อเก็บรักษาเป็นห้องสมุดพันธุกรรม (Genetic library) ได้ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ใช้วิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็งในการเก็บรักษา

1. เก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร และยา เช่น การเตรียมผลิตภัณฑ์ ยาฉีดชนิดผงสำหรับละลายน้ำ การเตรียมผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร ให้อยู่ในรูปผงแห้ง การเก็บรักษาคัด ผลไม้ และเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารในรูปของแห้ง เช่น กาแฟ เป็นต้น

2. เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ทางชีวภาพ เช่น เอนไซม์ ฮอร์โมน ยาปฏิชีวนะ วิตามิน เลือด วัคซีน และแอนติไบโอติก เป็นต้น

3. เก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ เช่น การเก็บเชื้อแบคทีเรีย ราและยีสต์ ในรูปของผงเชื้อ โดยที่เชื้อยังไม่ตาย สามารถนำกลับมาเพิ่มจำนวน และเจริญเติบโตต่อไปได้ ในบางครั้งอาจเรียกการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็งว่า Lyophilization



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์ และ วิธีการ

3.1 วัตถุดิบ

1. ผงบุก (Nutrical GP 312 konjac บริษัท FMC BIOPOLYMER, USA)
2. เพคติน (GENU@pectin type JMJ บริษัท Food & Cosmetic Systems Co., Ltd)
3. น้ำมันหอมระเหยกระเพรา (บริษัทเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด)

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. โพแทสเซียมคาร์บอเนต (K_2CO_3)
2. แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)
3. เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์
4. ไฮโดรเจนคลอไรด์ (HCl)
5. โขเดียมคลอไรด์ (KCl)
6. ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)
7. โซเดียมฟอสเฟต ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$)
8. Peptone
9. 2-methyl-3- heptane
10. dichrolomethane
11. MRS (Merck)
12. McConkey Agar (Merck)

3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องตีปั่นผสม (Mixing) (Stirrer DLS)
2. ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิต่ำ (kendo Laboratory Products, Gemmany)
3. เครื่องวัด pH (LISTED 8F93 Laboratory Equipment, Germany)
4. เครื่องตีปั่นอาหาร (AES Laboratory, France)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave, Tomy SS-245, Japan)
6. ตู้เขี่ยเชื้อแบบ Laminar flow (Aspec Microflow รุ่น ADES 1002)
7. เครื่อง Freeze Dry (Labconco corporation)
8. อุปกรณ์เครื่องแก้ว

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเคลือบ/กักเก็บน้ำมันหอมระเหยกระเพราในโครงสร้างของเจลผสมบุกและเพคติน

- 1) การเตรียมบุก 1.5% ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 85°C จนได้เป็นสารละลายเจลใส
- 2) การเตรียมเพคติน 6% ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C จนให้ละลายเป็นสารละลายเจลใส
- 3) ผสมสารละลายบุก 1.5% และเพคติน 6% ในอัตราส่วน 1:2 เติม K_2CO_3 10% ของน้ำหนักบุก กวนส่วนผสมจนเป็นเนื้อเดียวกัน รอให้สารละลายผสมเย็นลงประมาณ 45 °C จึงเติมน้ำมันหอมระเหยกระเพรา (2% โดยปริมาตร) ผสมให้เข้ากันจนเป็นอิมัลชัน (200 rpm 3 นาที)
- 4) เติมแคลเซียมคลอไรด์ 0.2 M ผสมให้เข้ากันเก็บใส่ถุงเย็น แล้วนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งด้วยเครื่อง Freeze dry เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.4.2 ศึกษาอัตราการปลดปล่อยของสารสกัดสมุนไพรที่ผ่านการเคลือบด้วยบุกและเพคติน ในสถานะจำลองของระบบทางเดินอาหาร

นำสารสกัดสมุนไพรที่ผ่านการเคลือบด้วยบุกและเพคตินมาทดสอบที่สถานะจำลองในระบบทางเดินอาหาร โดยแช่ผงสมุนไพรที่ผ่านการเคลือบในสารละลาย 0.2 M HCl-KCl pH 2 ที่ 37°C นาน 3 ชั่วโมง และสารละลาย 0.2 M โซเดียมฟอสเฟต pH 7.4 ที่ 37°C นาน 3 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างที่สถานะจำลองจำลองทุกครึ่งชั่วโมงมาวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดที่ถูกปลดปล่อยออกจากผงสมุนไพรที่ผ่านการเคลือบโดยวิธี GC-MS

3.4.3 การสกัดและการวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยกระเพรา

นำตัวอย่างที่ได้จากข้อ 3.4.2 มาสกัดด้วย Dichloromethane โดยใช้อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:1 และใช้ 2-methyl 3- haptanone เป็น internal standard ทำการสกัด 3 รอบๆ ละ 30

นาที่ แยกส่วนที่สกัดได้นำไปทำให้เข้มข้น โดยการพ่นด้วยก๊าซไนโตรเจนจนเหลือปริมาตรสุดท้าย 1 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารสำคัญโดยวิธี GC-MS ซึ่งใช้คอลัมน์ DB-Wax (30 m Length x 0.25 mm i.d. x 0.25 μ m film thickness) นีคตัวอย่าง 1 ไมโครลิตร (split mode 1:200; 240°C) และตั้งอุณหภูมิโปรแกรมดังนี้: 35°C ถึง 120°C (ที่ 4°C ต่อนาที) ถึง 240°C (ที่ 20°C ต่อนาทีและคงไว้ 15 นาที) ใช้ก๊าซฮีเลียมเป็น carrier ที่อัตรา 1 มิลลิลิตรต่อนาที วิเคราะห์ปริมาณสารแต่ละชนิดโดยเปรียบเทียบกับพื้นที่ใต้กราฟของ internal standard

3.4.4 ศึกษาประสิทธิภาพของการเสริมเจลสมุนไพรมะเขือเทศในอาหารสัตว์(ไก่)ต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ไก่

ทำการทดลองกับแม่ไก่ (ไข่) ทั้งหมด 108 ตัว โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 54 ตัว ในกลุ่มแรกให้อาหารหลักตามปกติ และกลุ่มที่สองให้เจลสมุนไพรมะเขือเทศผสมลงในอาหารหลักในอัตราส่วน 250 มิลลิกรัมเจลแห้งต่ออาหาร 1 กิโลกรัม รวมระยะเวลาทั้งสิ้น 22 วัน ทำการสุ่มตัวอย่างไก่กลุ่มละ 6 ตัว ในวันที่ 9 และ 22 เพื่อตรวจนับปริมาณเชื้อ *E. coli* และแบคทีเรียแลคติกที่มีชีวิตในลำไส้ส่วน ileocecum วางแผนการทดลองแบบสุ่มธรรมดา (Simple Random Sampling) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 11 มาวิเคราะห์ความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี Marginal Homogeneity Test

3.4.5 ศึกษาอายุการเก็บรักษาเจลสมุนไพรมะเขือเทศ

นำเจลสมุนไพรมะเขือเทศมาเก็บรักษาในสภาวะควบคุมความชื้นในโถสุญญากาศ (desicator) ที่อุณหภูมิห้อง ทุกสัปดาห์นำเจลสมุนไพรมะเขือเทศที่เก็บมาสกัดโดยนำตัวอย่าง 6 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่เติม internal standard (1000 ppm 2-methyl-3-heptane) ปริมาณ 1 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลาย dichloromethane ปริมาณ 30 มิลลิลิตร ปั่นด้วยแมกเนติกบาร์เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งให้แยกชั้น ใส่น้ำมันใส่เกลือ ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง นำส่วนใสที่สกัดได้ทั้ง 3 ครั้งไปเป่าด้วยไนโตรเจนจนเหลือ 1 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS

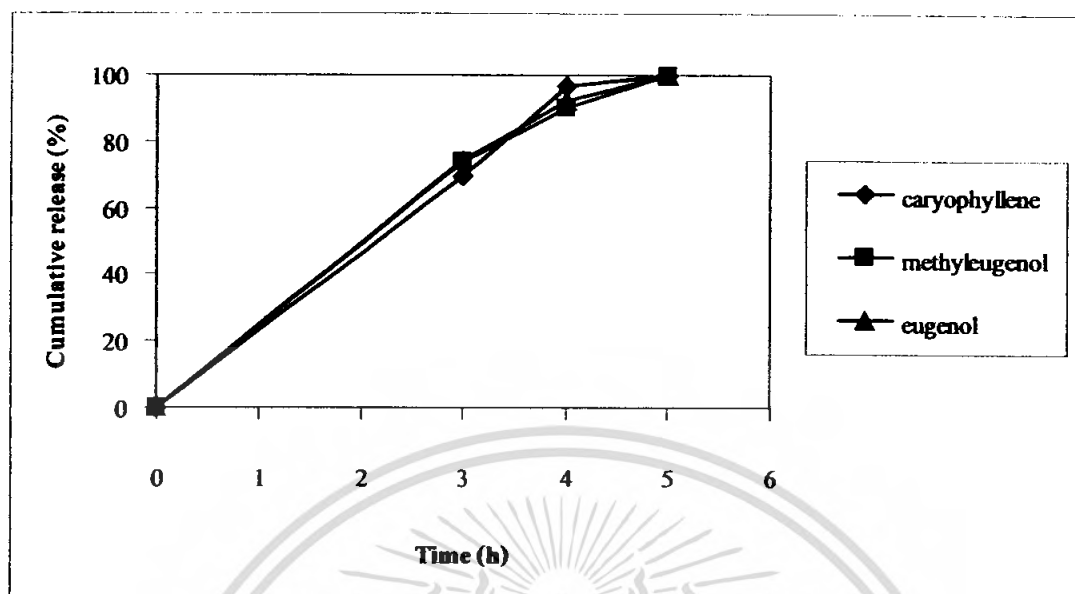
บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาอัตราการปลดปล่อยสารสำคัญของน้ำมันหอมระเหยกระเพราในสภาวะจำลองระบบทางเดินอาหาร

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบสำคัญ ที่มีฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ในน้ำมันหอมระเหยกระเพราโดยวิธี GC-MS พบว่ามีสาร Eugenol, Methyl eugenol และ Caryophyllene เป็นองค์ประกอบหลัก (รูปที่ 4.1) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Pojjanapimol (2004) ที่พบว่าในน้ำมันหอมระเหยกระเพราทางการค้ามีสาร Caryophyllene Methyl eugenol และ Eugenol เป็นองค์ประกอบหลักมากกว่า 95%

เมื่อทำการทดสอบหาเปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยสารสำคัญที่สภาวะจำลองกระเพาะอาหาร (0.2 M HCl-KCL pH 2) นาน 3 ชั่วโมง และในสภาวะจำลองลำไส้ (0.2 M โซเดียมฟอสเฟต pH 7.4 ที่ 37°C) อีก 3 ชั่วโมง พบว่า สาร Eugenol , Methyl eugenol และ Caryophyllene ถูกปลดปล่อยที่สภาวะดังกล่าวด้วยอัตราที่ใกล้เคียงกัน และมีเปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยสูงสุดในชั่วโมงที่ 5 ในสภาวะจำลองลำไส้ (รูปที่ 2) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเคลือบน้ำมันหอมระเหยกระเพราไว้ในโครงสร้างของเจลผสมบุกและเพคตินสามารถควบคุมการปลดปล่อยปริมาณสารออกฤทธิ์ได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Sriamornsak และคณะ (2004) ที่ได้ศึกษาการกักเก็บน้ำมันไว้ในโครงสร้างเจลของเพคติน (oil-entrapped calcium pectinate gel; CaPG) โดยการแอนแคปซูลชันด้วยวิธี emulsion-gelation method โดยพบว่าเม็คเจลที่เตรียมได้ สามารถลอยตัวได้ดีในกระเพาะอาหาร จึงมีศักยภาพที่จะสามารถใช้ในการระบบควบคุมการขนส่งด้วยเพื่ออีกระยะเวลาในการปลดปล่อยด้วยยาในกระเพาะอาหารได้ (Gastro-retentive dosage forms) นอกจากนี้ Wang และ He (2002) พบว่าการใช้บุกเป็นส่วนผสมในไมโครแคปซูลร่วมกับอัลจิเนตและไคโตซานในการห่อหุ้มด้วยยาเพื่อช่วยในการปลดปล่อยด้วยยา (drug release) ในระบบทางเดินอาหาร สามารถเพิ่มระยะเวลาในการปลดปล่อยด้วยยาเป็น 3 ชั่วโมง ในสภาวะจำลองกระเพาะอาหารที่เค็มสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 0.1 N



รูปที่ 4.1 เเปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยสารสำคัญในเจลสมุนไพรมะพร้าว (กระเพรา) ที่สถานะจำลองในระบบทางเดินอาหาร

4.2 ศึกษาประสิทธิภาพของการเสริมสารสกัดสมุนไพรมะพร้าวที่ผ่านการเคลือบด้วยเจลผสมบุกและเพคตินในอาหารสัตว์(ไก่)ต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ไก่

ในกลุ่มไก่ทดลองที่ให้อาหารหลักผสมเจลสมุนไพรมะพร้าว (กระเพรา) ในอัตราส่วน 250 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่าในวันที่ 9 มีปริมาณ *E.coli* ในลำไส้ไก่เท่ากับ 4.94 logCFU/g ในขณะที่กลุ่มควบคุมซึ่งให้เพียงอาหารหลักมีปริมาณเชื้อ *E.coli* ในลำไส้ไก่เท่ากับ 7.80 logCFU/g เช่นเดียวกับในวันที่ 22 ซึ่งพบปริมาณเชื้อ *E.coli* ในลำไส้ไก่เท่ากับ 5.32 logCFU/g ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีปริมาณเชื้อ *E.coli* ในลำไส้ไก่เท่ากับ 9.18 logCFU/g ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบปริมาณเชื้อ *E.coli* ในลำไส้ของไก่ทั้งสองกลุ่ม พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.1)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียแลคติก ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ พบว่าไก่ทั้งสองกลุ่มมีปริมาณแบคทีเรียแลคติก ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.1) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาณน้ำมันกระเพราที่ใช้มีผลยับยั้งเชื้อ *E.coli* ได้ดีแต่ไม่ส่งผล

กระทบต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ดีในลำไส้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Michiels และคณะ (2007) ที่ทดสอบประสิทธิภาพของสาร eugenol carvacrol และ thymol ในสถานะจำลองระบบทางเดินอาหาร พบว่า Eugenol แสดงผลการยับยั้งแบคทีเรียในกลุ่ม Lactobacilli ได้น้อยกว่า carvacrol และ thymol และพบว่า eugenol 565 mg/l สามารถลดปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มได้ 1 log CFU/ml นอกจากนี้ยังเป็นไปได้ว่าเพคตินและบุกที่ใช้เป็นสารเคลือบน้ำมันหอมระเหยนี้ น่าจะส่งผลดีต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในลำไส้ด้วย (สุวศรี, 2542; Chen และคณะ, 2006)

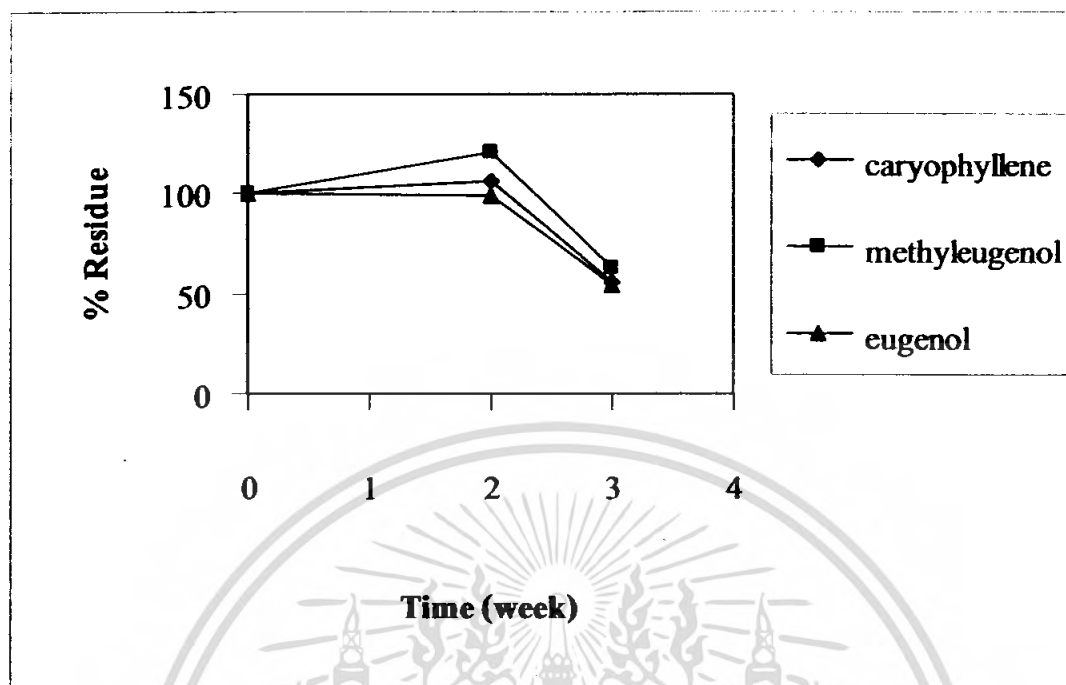
ตารางที่ 4.1 ปริมาณเชื้อ *E.coli* และแบคทีเรียแลคติกในลำไส้ส่วน ileo cecum

กลุ่มไก่ตัวอย่าง	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (logCFU/g)			
	<i>E.coli</i>		Lactic acid bacteria	
	วันที่ 9	วันที่ 22	วันที่ 9	วันที่ 22
กินอาหารปกติ	7.80 ^a	9.18 ^a	9.70 ^a	8.98 ^a
กินอาหารปกติผสมเจลสมุนไพร (กระเพรา)	4.94 ^b	5.32 ^b	9.64 ^a	9.01 ^a

* ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.3 การศึกษาอายุการเก็บรักษาสารสำคัญของเจลสมุนไพร (กระเพรา)

จากการเก็บรักษาเจลสมุนไพร (กระเพรา) ในสถานะควบคุมความชื้นที่อุณหภูมิห้อง เมื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญที่อยู่ภายในเจล พบว่าปริมาณ eugenol, methyl eugenol และ caryophyllene ไม่เปลี่ยนแปลงใน 2 สัปดาห์แรก แต่อย่างไรก็ตามพบว่าความเข้มข้นของสารสำคัญเหล่านี้ลดลงในสัปดาห์ที่ 3 โดยเหลือประมาณ 50 - 60 % ของปริมาณเริ่มต้น (รูปที่ 4.2)



รูปที่ 4.2 ปริมาณสารสำคัญที่คงเหลือในระหว่างการเก็บรักษาเจลสมุนไพร(กระเพรา)ที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การเคลือบ/กักเก็บน้ำมันหอมระเหยกระเพราในโครงสร้างของเจลผสมบุกและเพคติน ช่วยให้สามารถควบคุมการปลดปล่อยปริมาณสารสำคัญในสภาวะจำลองระบบทางเดินอาหารได้ และเมื่อนำเจลสมุนไพร(กระเพรา)มาเสริมในอาหารสัตว์พบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ในลำไส้ไก่ได้ดี โดยไม่ส่งผลกระทบต่อแบคทีเรียแลคติก จึงมีศักยภาพที่จะสามารถนำมาใช้เสริมในอาหารสัตว์เพื่อลดการใช้ยาปฏิชีวนะในกระบวนการผลิตสัตว์ได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

- ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับอัตราส่วนของสารเคลือบ เพื่อให้เจลสมุนไพร(กระเพรา) สามารถปลดปล่อยสารสำคัญในระบบทางเดินอาหารจำลองได้ดียิ่งขึ้น
- ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเจลสมุนไพร เช่น อุณหภูมิ เป็นต้น เพื่อให้สามารถมีอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น
- ควรศึกษาในส่วนของกลิ่นที่เพิ่มขึ้น เพื่อการเปลี่ยนแปลงในระยะยาวต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ของไก่

เอกสารอ้างอิง

- กิติมา จินคามงคล. 2548. “ผลของสารสกัดสมุนไพรขมิ้นชัน ข่านพาโหม และบอระเพ็ด ต่อ ภูมิคุ้มกันโรค ภาวะเครียด และคุณลักษณะทางการเจริญเติบโตในไก่กระทอง” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กัลยาณี ชาวานา. 2546. “แฮมแคโรทจากกลูโคแมนแนน” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- เกรียงศักดิ์ พูนสุข. 2536. “โรคติดเชื้อในไก่” กรุงเทพฯ : คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย : หน้า 69-53,138-139.
- ชัยวัฒน์ สุวรรณทัต. 2547. “การใช้ขมิ้นชันเป็นสารต้านออกซิเดชั่นต่อสถานภาพภูมิคุ้มกันและสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่เนื้อซึ่งอยู่ในภาวะเครียด” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สาโรช คำเจริญ, บังอร ศรีพานิชกุลชัย, เขาวมาลัย คำเจริญ, คมกริช ทิมพิทักษ์ และพิชญ์รัตน์ แสน ไชยสุริยา. 2547. “รายงานการประชุมวิชาการเรื่อง สมุนไพรไทยโอกาสและทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ ครั้งที่ 2 ณ โรงแรมสยามซิตี้ กรุงเทพมหานคร; คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ, กรมปศุสัตว์, สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ: 2547. หน้า 145-162.”
- สุวศรี เตชะภาส. 2542. บุค *Amorphophalus* sp. [บทวิทยุออกอากาศทางสถานีวิทยุกระจายเสียงแห่งประเทศไทย]. 23 มีนาคม 2542.
- อริชญา นาคชำนาญ. 2548. “ผลของสมุนไพรผสมของฟ้าทะลายโจร ขมิ้นชัน มะระขี้นก และไพล ต่อระบบภูมิคุ้มกันโรค และ คุณลักษณะทางการเจริญเติบโตในไก่กระทอง” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Chen, H.L., Cheng, H.C., Liu, Y.J., Liu, S.Y. and Wu, W.T. 2006. Konjac acts as a natural laxative by increasing stool bulk and improving colonic ecology in healthy adults. *Nutrition*. 22: 1112-1119.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Hughes J.S. 1991. Potential contribution of dry bean dietary fiber to health. *Food Technol.* 45(9):122-126
- Jang I.S., Ko Y.H., Kang S.Y., Lee C.Y., 2007. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology.* 304-315.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B, and Deeth, H, 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt, *International Dairy Journal*, 13,3-13.
- Michiels J., Missotten J., Fremaut D., De Smet S. and Dierick N. 2007. *In vitro* dose-response of carvacrol, thymol, eugenol and *trans*-cinnamaldehyde and interaction of combinations for the antimicrobial activity against the pig gut flora. 109,157-160.
- Pojjanapimol, S. (2004) Characterization of Aroma impact compounds in fresh, heated and dried holy basil (*Octimum sanctum*) leaves. Ph.D. Thesis. Kasetsart University, Thailand.
- Rolin, C. 1993. Pectin. In : Whistler, R.L., Bemiller, J.N. (Eds.), *Industrial Gums : Polysaccharides and Their Derivatives.* Academic Press, Newyork, 257-293
- Sriamornsak, P., Thirawong, N. and Puttipipatkachorn, S. 2004. Morphology and buoyancy of oiltrapped calcium pectinate gel beads. *AAPP Pharmaceutics-Sci. Technol. J.* 6: 1-7.
- Thomas, W.R. 1997. Kongac gum. In : *Thickening and gelling agents for food* (edited by A. Imeson). London : *Blackie Academic and Professional*, 169-179.
- Tye, R.J. 1991. Konjac flour : Properties and applications. *Food Technology*, 45, 82-92.
- Vernan, A.H. and Sutherland, J.P. 1994. *Milk and milk products technology, chemistry and microbiology.* 1st ed. Chapman & Hall, London.
- Wang, K. and He, Z. 2002. Alginate-konjac glucomannan-chitosan beads as controlled release matrix. *Inter J. Pharmaceutics.* 244: 117-126.

“การใช้สมุนไพรเป็นยาสัตว์” [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก :

<http://www.halalthailand.com/healthy/subindex.php?page=content&category=&subcategory=&id=46> (26 ตุลาคม 2550)

“กระบวนการสาธารณสุขชาติทดแทนการใช้เคมีภัณฑ์สังเคราะห์ในการเลี้ยงสัตว์” [ออนไลน์].

เข้าถึงได้จาก : www.dld.go.th/organic/knowledge/natural.html (26 ตุลาคม 2550)

“กระเพรา” [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก :

<http://www.medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/..%5Cpubhealth%5Cocimten.html>
(16 กุมภาพันธ์ 2551)

“กระเพรา” [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://chachoengsao.doae.go.th/knowledge/samunprai/s_krapao.htm (16 กุมภาพันธ์ 2551)

“บุกอาหารเพื่อสุขภาพ” [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.doa.go.th/botany/kabook2.html>
(26 ตุลาคม 2550)

“ยูจีนอล” [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://th.wikipedia.org/wiki> (25 มีนาคม 2551)

“โยอาหาร” [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.ku.ac.th/e-magazine/april45/know/food.html>
(25 มีนาคม 2551)

“สมุนไพรในสัตว์เศรษฐกิจ” [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก :

<http://www.gpo.or.th/rdi/htmls/ethnoveterinary.html> (26 ตุลาคม 2550)

“freeze-drying” [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก :

http://www.thaiscience.com/lab_vol/p30/freeze%20dryer.asp (26 กุมภาพันธ์ 2551)

“Gas chromatography” [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก :

<http://se-ed.net/mukdahan/instrument/index.htm> (25 พฤศจิกายน 2550)

“*Salmonella* spp.” [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.dld.go.th/niah/> (26 ตุลาคม 2550)

“*Staphylococcus aureus*” [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก :

<http://www.gogi-foods.com/index.php?lay=show&ac=article&Id=168665&Ntype=4>
(26 ตุลาคม 2550)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

1. การเตรียมอาหาร MRS Agar (Merck)

MRS	52.2 g	Agar	15 g
น้ำกลั่น	1 L		

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ถ่ายใส่ขวดที่มีจุกหรือฝาปิด นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมอาหาร McConkey agar (Merck)

McConkey agar	50 g	น้ำกลั่น	1 L
---------------	------	----------	-----

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ถ่ายใส่ขวดที่มีจุกหรือฝาปิด นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

3. การเตรียมสารละลายเปปโตน

Peptone buffer	1 g	น้ำกลั่น	1 L
----------------	-----	----------	-----

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ถ่ายใส่ขวดที่มีจุกหรือฝาปิด นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

4. การเตรียม 0.1.M HCl pH 2

1) เตรียม 0.2M KCl 200 มิลลิลิตร

ชั่ง KCl 2.5824 g ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

2) เตรียม 0.2M HCl 200 มิลลิลิตร

ปิเปต HCl เข้มข้น 37% 3.31 มิลลิลิตรผสมในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ปริมาตร 200

มิลลิลิตร

3) ผสม 0.2M KCl 50 มิลลิลิตร กับ 0.2M HCl 10.6 มิลลิลิตร ปรับด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตรให้ได้ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

5. การเตรียม phosphate buffer pH 7.4

1) เตรียม 0.2M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 200 มิลลิลิตร

ชั่ง $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 5.5196 g ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

2) เตรียม 0.2M Na_2HPO_4 200 มิลลิลิตร

ชั่ง Na_2HPO_4 5.6784 g ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

3) ผสม 0.2M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 19 มิลลิลิตร กับ 0.2M Na_2HPO_4 81 มิลลิลิตร ปรับด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตรให้ได้ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

6. การเตรียม 100 ppm 2-Methyl-3-heptane

1) ปิเปต 2 methyl-3-heptane 100 μL แล้วปรับปริมาตรโดยใช้ Dichloromethane ให้ได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ได้ 2-Methyl-3-heptane 10,000 ppm ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2) ปิเปต 2-Methyl-3-heptane 10,000 ppm 100 μL แล้วปรับปริมาตรโดยใช้ด้วย Dichloromethane ให้ได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ได้ 2-Methyl-3-heptane 100 ppm ปริมาตร 10 มิลลิลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ตารางที่ ข1 อัตราการปลดปล่อยสารสกัดสมุนไพรที่ผ่านการเคลือบด้วยขมิ้นและเทคนินในสภาวะจำลองระบบทางเดินอาหาร

เวลา (ชั่วโมง)	Caryophyllene ($\mu\text{g/g}$)	Methyl eugenol ($\mu\text{g/g}$)	Eugenol ($\mu\text{g/g}$)
3	4951.862	16208.37	6826.856
4	6894.872	19783.37	8425.173
5	7145.171	21968.29	9139.947

ตารางที่ ข2 ปริมาณเชื้อ *E.coli* ที่รอดชีวิตในลำไส้ส่วน ileo cecum ที่เวลา 9 วัน

กลุ่มไก่ทดลอง	ปริมาณเชื้อ <i>E.coli</i> ที่รอดชีวิต (CFU/g)						ค่าเฉลี่ย ปริมาณเชื้อ (CFU/g)
	ไก่ตัวที่ 1	ไก่ตัวที่ 2	ไก่ตัวที่ 3	ไก่ตัวที่ 4	ไก่ตัวที่ 5	ไก่ตัวที่ 6	
กินอาหารปกติ	1.25×10^7	2.21×10^9	3.52×10^9	2.09×10^8	2.05×10^6	1.32×10^6	1.0×10^9
กินอาหารเสริมเจลสมุนไพร (กระเพรา)	$<10^5$	5×10^4	5×10^4	5×10^4	4.5×10^5	$<10^5$	1.5×10^5

* ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางที่ ข3 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่รอดชีวิตในลำไส้ส่วน ileo cecum ที่เวลา 9 วัน

กลุ่มไก่ทดลอง	ปริมาณเชื้อ <i>E.coli</i> ที่รอดชีวิต (CFU/g)						ค่าเฉลี่ย ปริมาณเชื้อ (CFU/g)
	ไก่ตัวที่ 1	ไก่ตัวที่ 2	ไก่ตัวที่ 3	ไก่ตัวที่ 4	ไก่ตัวที่ 5	ไก่ตัวที่ 6	
กินอาหารปกติ	3.74×10^8	4.32×10^8	7.92×10^8	5.23×10^8	4.73×10^8	5.49×10^8	5.24×10^8
กินอาหารเสริมเจลสมุนไพร (กระเพรา)	4.10×10^8	5.26×10^8	3.16×10^8	4.08×10^8	5.42×10^8	4.32×10^8	4.39×10^8

* ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๔ ปริมาณเชื้อ *E.coli* ที่รอดชีวิตในลำไส้ส่วน ileo cecum ที่เวลา 22 วัน

กลุ่มไก่ทดลอง	ปริมาณเชื้อ <i>E.coli</i> ที่รอดชีวิต (CFU/g)						ค่าเฉลี่ย ปริมาณเชื้อ (CFU/g)
	ไก่ตัวที่ 1	ไก่ตัวที่ 2	ไก่ตัวที่ 3	ไก่ตัวที่ 4	ไก่ตัวที่ 5	ไก่ตัวที่ 6	
กินอาหารปกติ	3.74×10^8	4.32×10^8	7.92×10^8	5.23×10^8	4.73×10^8	5.49×10^8	5.24×10^8
กินอาหารเสริมเจลสบู่นไพร (กระเพรา)	4.10×10^8	5.26×10^8	3.16×10^8	4.08×10^8	5.42×10^8	4.32×10^8	4.39×10^8

* ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางที่ ๕ ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่รอดชีวิตในลำไส้ส่วน ileo cecum ที่เวลา 22 วัน

กลุ่มไก่ทดลอง	ปริมาณเชื้อ <i>E.coli</i> ที่รอดชีวิต (CFU/g)						ค่าเฉลี่ย ปริมาณเชื้อ (CFU/g)
	ไก่ตัวที่ 1	ไก่ตัวที่ 2	ไก่ตัวที่ 3	ไก่ตัวที่ 4	ไก่ตัวที่ 5	ไก่ตัวที่ 6	
กินอาหารปกติ	6.42×10^8	2.15×10^9	5.65×10^8	8.09×10^8	5.10×10^8	2.30×10^9	1.16×10^9
กินอาหารเสริมเจลสบู่นไพร (กระเพรา)	2.47×10^9	2.22×10^9	2.27×10^9	4.79×10^8	5.45×10^8	3.53×10^8	1.40×10^9

* ค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยข้อมูลโดยวิธี Marginal Homogeneity Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ๖ ปริมาณเชื้อ *E.coli* ที่รอดชีวิตในลำไส้ส่วน ileo cecum ที่เวลา 9 วัน

	food_normal & food_Holyoil
Distinct Values	11
Off-Diagonal Cases	7
Observed MH Statistic	6954870000.000
Mean MH Statistic	3477910000.000
Std. Deviation of MH Statistic	2139944212.964
Std. MH Statistic	1.625
Asymp. Sig. (2-tailed)	.104

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๗ ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่รอดชีวิตในลำไส้ส่วน ileo cecum ที่เวลา 9 วัน

	food_normal & food_Holyoil
Distinct Values	13
Off-Diagonal Cases	7
Observed MH Statistic	3667000000.000
Mean MH Statistic	3370000000.000
Std. Deviation of MH Statistic	262491904.637
Std. MH Statistic	1.131
Asymp. Sig. (2-tailed)	.258

ตารางที่ ๘ ปริมาณเชื้อ *E.coli* ที่รอดชีวิตในลำไส้ส่วน ileo cecum ที่เวลา 22 วัน

	food_normal & food_Holyoil
Distinct Values	14
Off-Diagonal Cases	7
Observed MH Statistic	13675000000.000
Mean MH Statistic	6838484500.000
Std. Deviation of MH Statistic	2775918574.389
Std. MH Statistic	2.463
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014

ตารางที่ ๙ ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่รอดชีวิตในลำไส้ส่วน ileo cecum ที่เวลา 22 วัน

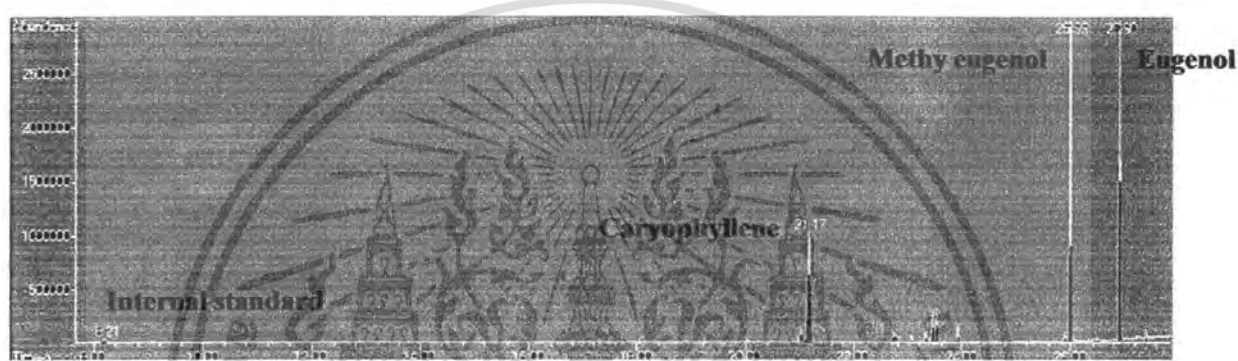
	food_normal & food_Holyoil
Distinct Values	14
Off-Diagonal Cases	7
Observed MH Statistic	8136000000.000
Mean MH Statistic	8936500000.000
Std. Deviation of MH Statistic	1597814366.565
Std. MH Statistic	-.501
Asymp. Sig. (2-tailed)	.616

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข10 ปริมาณสารสำคัญที่คงเหลือในเจลสมุนไพร (กระเพรา) ระหว่างการเก็บรักษา

เวลา (สัปดาห์)	Caryophyllene ($\mu\text{g/g}$)	Methyl eugenol ($\mu\text{g/g}$)	Eugenol ($\mu\text{g/g}$)
0	5619.963	11297.73	5087.833
2	5984.928	13628.83	5062.063
3	3147.025	7164.025	2759.518

รูป GC-MS โครมาโตแกรมของสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยกระเพรา

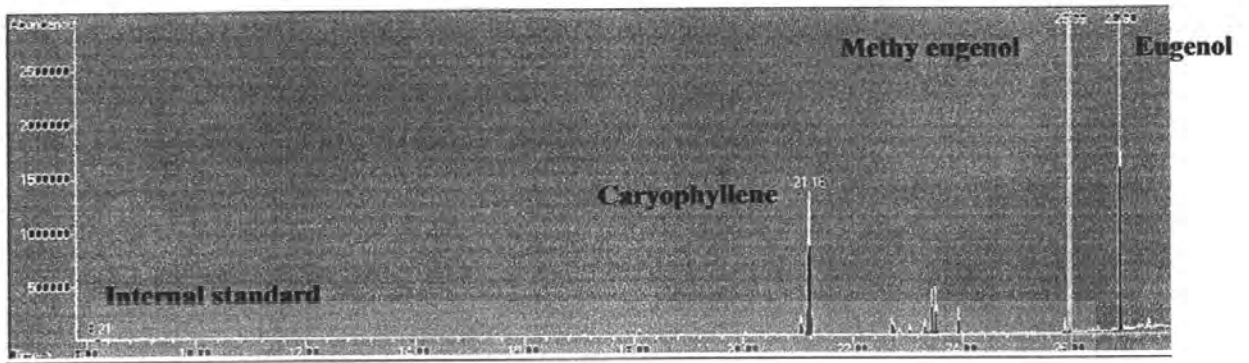


รูปที่ ข1 GC-MS โครมาโตแกรมของสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ณ ชั่วโมงที่ 3



รูปที่ ข2 GC-MS โครมาโตแกรมของสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ณ ชั่วโมงที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข3 GC-MS โครมาโตแกรมของสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ณ ชั่วโมงที่ 5



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้