สมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชต่อ *Staphylococcus aureus* และ *Listeria innocua* และการนำไปใช้ในโยเกิร์ต

ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF PLANT EXTRACTS ON *Staphylococcus aureus* AND *Listeria innocua* AND ITS APPLICATION IN YOGURT

อภิวัฒน์ วาดเขียน

APIWAT WARDKHEAN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2552

KMITL-2009-AI-M-054-034

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

สมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชต่อ *Staphylococcus aureus* และ *Listeria innocua* และการนำไปใช้ในโยเกิร์ต

Antimicrobial Properties of Plant Extracts on *Staphylococcus aureus* and *Listeria innocua* and Its Application in Yogurt

T095056

อภิวัฒน์ วาดเขียน

APIWAT WARDKHEAN

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 95056
วัน,เดือน,ปี..... 20 พ.ค. 2552

.b.....
.i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2552

KMITL-2009-AI-M-054-034

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Antimicrobial Properties of Plant Extracts on *Staphylococcus aureus* and *Listeria innocua* and Its Application in Yogurt

APIWAT WARDKHEAN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FOOD SANITATION

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2009

KMITL-2009-AI-M-054-034

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2009

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชต่อ *Staphylococcus aureus* และ *Listeria innocua* และการนำไปใช้ในโยเกิร์ต
นักศึกษา	นายอภิวัฒน์ วาดเขียน
รหัสประจำตัว	47067708
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2552
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ดร. วริพัสย์ อารีกุล

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์สมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ 11 ชนิด ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TCC12600 และ *Listeria innocua* ATCC 33090 โดยวิธี agar disc diffusion พบว่า มีสารสกัดเครื่องเทศและสมุนไพร 6 ชนิด ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้แก่ ขมิ้นชัน ผลหม่อน ใบติ้ว ย่านาง ผักเม็ก และผลพิกุล ส่วนเชื้อ *L. innocua* มีสารสกัด 3 ชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้ง คือ ขมิ้นชัน ผลหม่อน และเนื้อแก้วมังกร ผลการทดลองพบว่า สารสกัดขมิ้นชันให้ผลยับยั้งเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดจากผลหม่อน นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อ *S. aureus* มีความไวต่อสารสกัดมากกว่า *L. innocua* โดยพิจารณาจากขนาดวงใสที่ใหญ่กว่าและจำนวนของสารสกัดที่ให้ผลในการยับยั้ง ส่วนสารสกัดจากพืชจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ เปลือกแก้วมังกร ใบกระวาน ดอกคำฝอย ใบหม่อน อบเชย และหัวปลี พบว่า ไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อในทุกสายพันธุ์ ดังนั้น จึงคัดเลือกสารสกัดขมิ้นชันซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ดีที่สุดสำหรับการทดสอบในขั้นตอนต่อไป

เมื่อนำสารสกัดจากขมิ้นชันมาศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญ (minimal inhibitory concentration, MIC) ของเชื้อ *S. aureus* จากการทดสอบด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่า มีค่า MIC เท่ากับ 5.08 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในขณะที่การทดสอบด้วยวิธี broth dilution พบว่า มีค่า MIC เท่ากับ 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนการศึกษาสมบัติและวิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดขมิ้นชัน พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลาย (minimal bactericidal concentration, MBC)

ผลการเติมสารสกัดจากขมิ้นชันในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ในการผลิตโยเกิร์ต พบว่า สารสกัดจากขมิ้นชันมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในระหว่างการหมักโยเกิร์ต นอกจากนี้ยังพบว่า โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชันมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และลักษณะเนื้อสัมผัส (ความแข็ง (hardness) การเกาะผิว (adhesiveness) การรวมตัวกันของอาหาร (cohesiveness) และความคงตัว (consistency)) ไม่มีความแตกต่างจากโยเกิร์ตควบคุมอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบต่อผลิตภัณฑ์ พบว่า สีและกลิ่นของโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชันได้รับ การยอมรับสูงกว่าโยเกิร์ตควบคุม และมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งเป็นผลจากสีและกลิ่นรสของสารสกัดจากขมิ้นชัน อย่างไรก็ตาม ผู้ทดสอบให้การยอมรับในด้านรสชาติ เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวมไม่แตกต่างจากโยเกิร์ตควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Antimicrobial Properties of Plant Extracts on *Staphylococcus aureus* and *Listeria innocua* and Its Application in Yogurt
Student	Mr. Apiwat Wardkhean
Student ID	47067708
Degree	Master of Science
Programme	Food Sanitation
Year	2009
Thesis Advisor	Dr. Varipat Areekul

ABSTRACT

Antimicrobial properties of 11 ethanolic herbal extracts were examined using agar disc diffusion method against two bacteria (*Staphylococcus aureus* TCC12600 and *Listeria innocua* ATCC33090). The results showed that six of herbal extracts had antimicrobial activity against on *S. aureus* as following turmeric, mulberry (fruit), Tio (*Cratoxylum Formosum* Dyer), Ya Nang (*Tiliacora triandra Diels*), Phak Mek (*Kanchanaburi gratum*) and *Mimusops elengi* Linn. (fruit). Only three extracts had antimicrobial against *L. innocua* which included turmeric, mulberry and dragon fruits (flesh). Tumeric extract showed the most inhibitory efficient against both tested bacteria and followed by mulberry extract. In addition, it found that *S. aureus* was more sensitive than *L. innocua* considering from larger clear zone and the number of plant extracts. Six herbal extract; dragon fruits (skin), *Amomum krervanh* , *Carthamus tinctorius* Linn (flower), mulberry (leaves), *Cinnamomum zeylanicum* Breyn, *Musa sapientum* Linn. could not inhibit on all of bacteria. Thus, turmeric extract with the best inhibitory against *S. aureus* was chosen for the next study.

Further studies were done for determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of turmeric extract for *S. aureus*. It found that, the MIC of this extract using agar disc diffusion technique was 5.08 % (w/v) while MIC of 80 mg/ml was obtained by using broth dilution method. The mode of actions in turmeric extract was determined. It found that the best inhibitions were found in the extracts with minimal bactericidal concentration (MBC) value of 100 mg/ml. for *S. aureus*.

In addition, the study on antibacterial properties of turmeric extract in yogurt against *S. aureus* was conducted. The result showed turmeric extract inhibited *S. aureus* during

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

fermentation. In addition, the result indicated that pH, acidity and texture analysis (hardness, adhesiveness, cohesiveness and consistency) of yogurt adding tumeric extract was statistically indifferent compared to those of control ($p<0.05$). The sensory evaluation reviewed that the color and flavor in yogurt with turmeric extract showed higher significant difference that those in control ($p<0.05$) resulting from color and flavor of turmeric extract. However, no statistical difference in taste, texture and total acceptability were observed at 95%.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ดร. วริพัสย์ อารีกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาเสนอแนะแนวทางการวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ผู้จัดทำรู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ และ ดร.ประมวล ศรีกาหลง ที่กรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติมในการทำงานวิจัย ตลอดจนตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ คุณธนารัตน์ คุณนันน์ภัส คุณธีระศักดิ์ ที่ได้ให้กำลังใจและส่งเสริมการศึกษาของข้าพเจ้าด้วยดีตลอดมา ขอขอบพระคุณพระปลัดวัชรินทร์ คุณชีวาพร คุณสิริวรรณ พละจิตต์ คุณนราพร พรหมไกรวร คุณนิพัทธา ชาติสุวรรณ สำหรับกำลังใจและความช่วยเหลือ ในการทำงานวิจัย วิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์

ขอขอบคุณ พี่เมย์ พี่ฝน พี่ดา พี่เก๋ พี่แจ๋ว พี่ท๊อป พี่ต้อม พี่กัง พี่ปู่ เพื่อนกู้ เพื่อนไก่ เพื่อนเอก น้องแพนเค้ก เพื่อนตา เพื่อนวรรณ เพื่อนเอ็ก เพื่อนเอ็ม น้องปุ๊ก น้องปอและเพื่อนๆนักศึกษาปริญญาโทสาขาสุขาภิบาลอาหาร ตลอดจนเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ควบคุมห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ให้คำปรึกษา และอำนวยความสะดวกในการศึกษาเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชมงคลอีสานที่ให้สถานที่ทำการทดลอง ตลอดจน เจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ควบคุมห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ให้คำปรึกษาและอำนวยความสะดวกในการศึกษาเป็นอย่างดี

คุณค่าและประโยชน์อันเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่ คุณพ่อ คุณแม่ ดร. วริพัสย์ อารีกุล และผู้มีพระคุณทุกท่าน

อภิวัฒน์ วาดเขียน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III

กิตติกรรมประกาศ.....V

สารบัญ.....VI

สารบัญตาราง.....VIII

สารบัญภาพ.....IX

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความสำคัญและที่มา.....1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....1

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....2

บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....3

2.1 โยเกิร์ต.....3

2.2 การแบ่งชนิดของโยเกิร์ต.....5

2.3 เชื้อจุลินทรีย์ในโยเกิร์ต.....7

2.4 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในโยเกิร์ต.....7

2.5 สมุนไพรและเครื่องเทศ.....9

2.6 สารประกอบเคมีในสมุนไพรและเครื่องเทศ.....14

2.7 การใช้สารสกัดจากสมุนไพรและเครื่องเทศต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์.....17

2.8 กลไกการการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารต้านจุลินทรีย์.....20

2.9 การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลินทรีย์.....21

2.10 การหาความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (minimal inhibitory concentration, MIC) โดยเทคนิคการเจือจางในอาหารเหลว.....22

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....24

3.1 วัตถุดิบ.....24

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์.....25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

3.3 สถานที่ดำเนินงาน.....25
3.4 วิธีการทดลอง.....25
3.5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....31

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....32
4.1 การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์.....32
4.2 ความเข้มข้นต่ำสุด (minimal inhibitory concentration, MIC) ต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus*.....38
4.3 การศึกษาสมบัติและวิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดขมิ้นชันในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus*.....41
4.4 ผลของสารสกัดจากขมิ้นชันในการยับยั้งเชื้อ *S.aureus* ในการผลิตโยเกิร์ต.....42
4.5 คุณภาพและการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน.....44

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....48
5.1 สรุปผลการทดลอง.....48
5.2 ข้อเสนอแนะ.....49

บรรณานุกรม.....50

ภาคผนวก.....55
ภาคผนวก ก.....55
ภาคผนวก ข.....57
ภาคผนวก ค.....58
ภาคผนวก ง.....61
ภาคผนวก จ.....63
ภาคผนวก ฉ.....64

ประวัติผู้เขียน.....67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสมุนไพรไทยและเครื่องเทศ	15
2.2	โครงสร้างหลักของสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มต่าง ๆ ในพืช	16
3.1	องค์ประกอบของโยเกิร์ต	30
4.1	ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดพืชสมุนไพรและเครื่องเทศชนิดต่างๆ ด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์	33
4.2	ผลการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากขมิ้นชันที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี agar disc diffusion	38
4.3	ผลความการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่ความความเข้มข้นต่างๆ	42
4.4	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างการบ่มโยเกิร์ต	43
4.5	ค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณกรดในโยเกิร์ต	44
4.6	ผลของการเติมสารสกัดจากขมิ้นชันต่อลักษณะทางเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ต	45
4.7	ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตที่มีการเติมสารสกัดจากขมิ้นชัน	46
ฉ 1	ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการเติมสารสกัดจากขมิ้นชันต่อลักษณะทางด้านเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ต	64
ฉ 2	ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบด้านสีของโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน	64
ฉ 3	ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบด้านกลิ่นของโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน	65
ฉ 4	ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบด้านรสชาติของโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน	65
ฉ 5	ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบด้านลักษณะเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน	66
ฉ 6	ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบด้านการยอมรับโดยรวมของโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน	66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	กระบวนการผลิต set yoghurt และ stirred yoghurt	6
2.2	โครงสร้างทางเคมีของสาร Curcumin	9
3.1	แผนภูมิภาพวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียลงในอาหารแข็งด้วยวิธี double layer ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี agar disc diffusion	27
3.2	แผนภูมิภาพวิธีการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยวิธี broth dilution method	29
4.1	ผลการยับยั้ง *S. aureus* ของสารสกัดขมิ้นชันที่ระดับความเข้มข้น 3.125-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	39
4.2	ผลการยับยั้ง *S. aureus* ของสารสกัดขมิ้นชันที่ระดับความเข้มข้น 50-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	41
ก 1	กราฟการวิเคราะห์ค่า texture profile analysis	56
ข 1	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S. aureus* กับค่าความขุ่น (OD)	57
ข 2	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *L.innocua* กับค่าความขุ่น (OD)	57
ค 1	ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์	58
ค 2	ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.aureus* ของสารสกัดพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์	59
ค 3	ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์	59
ค 4	ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สมุนไพรหรือเครื่องเทศมีองค์ประกอบหลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (antimicrobial) เช่น สารประกอบกลุ่มแอลกอฮอล์ เอสเทอร์ ฟีนอลิก แอลคาลอยด์ และกรดอินทรีย์ เป็นต้น แต่เนื่องจากองค์ประกอบเหล่านี้มีปริมาณเพียงเล็กน้อย จึงให้คุณสมบัติการยับยั้งมากกว่าการทำลาย (ชัยวัฒน์, 2520) สารประกอบพฤกษเคมีเหล่านี้ พบได้ในเซลล์เนื้อเยื่อในส่วนต่างๆ ของพืช และสามารถสกัดเป็นสารเคมีบริสุทธิ์ได้ (ขจรศักดิ์, 2539) ปัจจุบันมนุษย์ได้ให้ความสำคัญและใส่ใจสุขภาพมากขึ้น อีกทั้งได้ตระหนักถึงความเสี่ยงของการสะสมสารเคมีสังเคราะห์ที่ใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร อันก่อให้เกิดโรคเรื้อรังต่างๆ จึงหันมาให้ความสนใจกับสารที่ได้จากธรรมชาติมากขึ้น และการศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดจากพืชที่มีความสามารถในการยืดอายุการเก็บรักษา เพื่อทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน (Duffy และ Power, 2001)

โยเกิร์ต จัดเป็นอาหารสุขภาพชนิดหนึ่งที่ผู้บริโภคนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายมาเป็นเวลานาน โยเกิร์ตมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะโปรตีนที่พบในโยเกิร์ตจะช่วยในระบบย่อยอาหาร แก้ท้องผูก หยุดอาการท้องร่วง เนื่องจากสามารถย่อยได้ง่ายกว่าโปรตีนที่พบในนมสด ทั้งนี้เป็นผลจากแบคทีเรียที่ใช้ในกระบวนการหมักจะย่อยโปรตีนเคซีนบางส่วน ทำให้โปรตีนอยู่ในสภาพที่ย่อยได้ง่าย และถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค (Dave และ Shah, 1997) อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมักพบการปนเปื้อนของเชื้อที่ทำให้เกิดโรค เช่น *Staphyloccocus aureus*, *Escherichia coli* และ *Listeria monocytogenase* เป็นต้น ที่อาจทำให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของผู้บริโภค ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการศึกษาสมบัติของสารสกัดพืชสมุนไพรและเครื่องเทศในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรค ที่มีโอกาสปนเปื้อนในโยเกิร์ต และเป็นข้อมูลพื้นฐานในการประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารอื่นๆ ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาสมบัติการต้าน *Staphyloccocus aureus* และ *Listeria innocua* ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรหรือเครื่องเทศ

1.2.2 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และศึกษาวิถีการออกฤทธิ์ต่อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.3 ศึกษาผลของการใช้สารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตโยเกิร์ต

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ 11 ชนิดและปริมาณความเข้มข้นของสารในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Listeria innocua* ที่ใช้เป็นตัวแทนของ *Listeria monocytogenase* ด้วยวิธี agar disc diffusion เพื่อคัดเลือกพืชสมุนไพรและเครื่องเทศที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ดีที่สุด จากนั้นศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (minimal inhibitory concentration, MIC) ของพืชสมุนไพรและเครื่องเทศในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วย agar disc diffusion และ broth dilution method ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ จะนำไปทดสอบผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวในกระบวนการผลิตโยเกิร์ต รวมทั้งผลต่อการเจริญของกล้าเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นจะทดสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้ทางด้านลักษณะทางกายภาพ และการยอมรับทางประสาทสัมผัสเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 โยเกิร์ต

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่ได้จากการใช้กล้าเชื้อแลคติกในหมักนม และใช้เป็นวิธีหนึ่งในการยืดอายุการเก็บรักษานม ผลิตภัณฑ์นี้สามารถเตรียมได้จากนมอุดมไขมันหรือพร่องไขมัน นมเข้มข้น นมคืนรูปจากนมผงขาดไขมัน หรือพร่องไขมันหรือส่วนผสมของนมต่างๆ แล้วอาจนำไปผ่านกระบวนการโฮโมจีไนซ์ จากนั้นทำการฆ่าเชื้อด้วยวิธีการสเตอริไลซ์หรือพาสเจอร์ไรซ์ แล้วจึงทำการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์เฉพาะ และบ่มตามอุณหภูมิที่กำหนด เมื่อสิ้นสุดการบ่มแล้วจึงทำให้เย็นและบรรจุเพื่อรอการจำหน่าย เดิมโยเกิร์ตนั้นจะมีการเติมเกลือ แป้งสาลีหรือการให้ความร้อนอีกครั้งเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิห้อง แต่ในปัจจุบัน นิยมใช้การลดอุณหภูมิหรือการแช่เย็น ทำให้สามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ยาวนานขึ้น (สุมณฑา, 2545)

2.1.1 ผลิตภัณฑ์นมหมัก

นมหมักจำแนกชนิดตามแบคทีเรียแลคติกที่ใช้เป็นกล้าเชื้อออกเป็น 4 ชนิด (สุมณฑา, 2545) ดังนี้

2.1.1.1 นมหมักจากบัตเตอร์มิลค์ (Butter milk) เป็นการนำของเหลวที่เหลือจากการตกตะกอนแยกครีมในการทำเนยเหลว แล้วนำมาปรับปริมาณไขมันให้ได้ 1.7 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากการพาสเจอร์ไรซ์ จะลดอุณหภูมิลงเป็น 22 องศาเซลเซียส แล้วจึงเติมกล้าเชื้อหมัก 1 เปอร์เซ็นต์ เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก คือ แบคทีเรียแลคโตคอคไคชนิดชอบอุณหภูมิปานกลาง (mesophillic lactococci) และบางครั้งจะเติมแบคทีเรียลิวโคนอสตอค (Leuconostoc) ด้วย ในทางการค้านิยมใช้กล้าเชื้อ *Lactococcus lactis* sp. *lactis*, *Lc. lactis* sp. c*remoris*, และ *Leuconostoc mesenteroides* sp. *cremoris* นอกจากนี้ อาจเติม *Lc. lactis* sp. *lactis* var. *diacatylactis* บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 21 - 24 องศาเซลเซียส หากอุณหภูมิสูงกว่านี้แบคทีเรียกลุ่มที่สร้างกรดจะเจริญได้เร็วกว่ากลุ่มที่ให้กลิ่นรสทำให้บัตเตอร์มิลค์ที่ได้มีรสเปรี้ยว แต่ขาดกลิ่นรสเฉพาะของไดอะเซทติล นอกจากนี้ อาจเติมกรดซิตริกหรือโซเดียมซิเตรท สารช่วยให้เกิดการคงตัว (stabilizers) สารให้ความหวานจากคาร์โบไฮเดรตและหางนม ภายหลังจากบ่มเชื้อนาน 14 – 16 ชั่วโมง แล้วจะพบการตกตะกอนเป็นลิ่มของนมที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.6 – 4.7 และมีปริมาณกรด 0.8 เปอร์เซ็นต์ ผลิตภัณฑ์บัตเตอร์มิลค์ที่ดีต้องมีลักษณะเป็นก้อนหนา มีเนื้อเนียนเรียบ มีความหนืดพอสมควร และไม่มีหางนมแยกออกมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1.2 นมหมักจากเชื้อแลคโตบาซิลลัส (lactobacillus) ได้แก่

1) นมหมักของชาวบัลกาเรีย เป็นนมเปรี้ยวชนิดหนึ่งในตระกูลโยเกิร์ต ทำโดยการพาสเจอร์ไรซ์นมที่ 85 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เมื่อเย็นแล้ว จึงเติมกล้าเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* อย่างเดียวหรืออาจผสมเชื้อ *Streptococcus thermophilus* ลงไปด้วย ปริมาณเชื้อที่เติมประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นกรด 1.4 เปอร์เซ็นต์ หรือสูงถึง 4 เปอร์เซ็นต์ แล้วจึงเก็บนมเปรี้ยวที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส

2) ยาคูลท์ เป็นนมหมักอีกชนิดของชาวญี่ปุ่น ที่ใช้กล้าเชื้อ *Lb. casei* ทำโดยใช้หางนมที่เติมน้ำตาลกลูโคสและสาหร่าย Chlorella ละลายในน้ำร้อน กรอง ฆ่าเชื้อ จากนั้นจึงเติมกล้าเชื้อ *Lb. casei* หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน จนเกิดกรด 2.7 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณของแข็งในนมหมักชนิดนี้จะต่ำกว่านมทั่วไป คือ ประกอบด้วยโปรตีน 1.2 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลแลคโตส 1.1 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 1.1 เปอร์เซ็นต์ จึงมีการเติมแซคคาไรด์จนทำให้ปริมาณของแข็งเพิ่มขึ้นเป็น 14.1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีสมบัติทางด้านประสาทสัมผัสที่ดีขึ้น แบคทีเรียที่เติมลงไปจะผลิตสารอื่นๆ ได้แก่ กรดซิตริก กรดซัคซินิก กรดมาลิก กรดอะซิติก อะเซทตัลดีไฮด์ ไดอะเซทติล และอะซีโตอินในปริมาณเล็กน้อยด้วย สำหรับผู้ที่ดื่มยาคูลท์ที่ประกอบด้วย *Lb. casei* จะลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ในลำไส้ลง และมีความต้านทานโรคทางเดินอาหารดีกว่าผู้ที่ไม่ดื่มอีกด้วย

2.1.1.3 นมหมักที่อาศัยเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ชอบอุณหภูมิสูง ได้แก่ กล้าเชื้อ *Lb. bulgaricus* และ *Strep. thermophilus* แบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้แตกต่างกันในด้านสมบัติทางกายภาพและกิจกรรมการเมตาบอลิซึมที่ทำให้นมมีคุณค่าทางอาหารและผลต่อสุขภาพแตกต่างกัน เช่นเดียวกับความแตกต่างในด้านสมบัติทางประสาทสัมผัส ปริมาณกรดแลคติกที่ *Lc. thermophilus* ผลิตได้อาจสูงถึง 2 - 2.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ *Strep. thermophilus* ผลิตได้เพียง 0.6 - 0.8 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ *Strep. thermophilus* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 38 - 45 องศาเซลเซียส ส่วน *Lb. bulgaricus* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 42 - 45 องศาเซลเซียส นมหมักชนิดนี้ที่รู้จักกันมากที่สุดได้แก่ โยเกิร์ต

โยเกิร์ตนิยมใช้เชื้อ *Strep. thermophilus* และ *Lb. bulgaricus* บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 40 - 45 องศาเซลเซียส จนผลิตภัณฑ์มีค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 4.2 - 4.3 เชื้อผสมนี้เป็นการหมักแบบ homofermentative จำนวนแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกจะเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้น การเก็บโยเกิร์ตไว้เป็นระยะเวลานาน จะลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกลง

2.1.1.4 นมหมักจากแบคทีเรียแลคติกและยีสต์ ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลางถึงอุณหภูมิสูง ส่วนยีสต์นั้นได้แก่ *Kluyveromyces sp.* นอกจากนี้ อาจมี *Candida sp.* และ *Saccharomyces sp.* ผลิตภัณฑ์ที่รู้จักกันแพร่หลาย ได้แก่ คีเฟอร์ ซึ่งเป็นนมเปรี้ยวพื้นเมืองของรัสเซียที่ผลิตขายในระดับอุตสาหกรรมในประเทศรัสเซีย ยุโรป และอเมริกา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีลักษณะเป็นลิ่ม เรียบ สม่ำเสมอ มีสีครีม รสเปรี้ยว ประกอบด้วยกรดแลคติก 0.8 - 0.9 เปอร์เซ็นต์ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 0.08 - 0.2 เปอร์เซ็นต์ เอทธิลแอลกอฮอล์ 0.5 - 0.2 เปอร์เซ็นต์

2.2 การแบ่งชนิดของโยเกิร์ต (Spreer, 1998) อาศัยหลักการต่อไปนี้

2.2.1 มาตรฐานกฎหมาย (Legal standards)

มาตรฐานกฎหมายของโยเกิร์ต ขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์เชื้อจุลินทรีย์ เปอร์เซ็นต์ไขมัน ปริมาณของแข็งที่ไม่ใช่ไขมัน (solid-non-fat หรือ SNF) หรือปริมาณของแข็งทั้งหมด ตามมาตรฐานของ FAO/WHO กำหนดให้แบ่งชนิดของโยเกิร์ตตามปริมาณไขมัน ดังนี้ "full" (สูงกว่า 3.0 เปอร์เซ็นต์) "medium" (ประมาณ 3.0 - 0.5 เปอร์เซ็นต์) และ "low" (ต่ำกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์)

2.2.2 แบ่งตามกรรมวิธีการผลิต (Method of production)

การผลิตโยเกิร์ตในอุตสาหกรรมแบ่งเป็น 2 ลักษณะใหญ่ๆ คือ set yogurt และ stirred yogurt

1) Set yogurt เป็นผลิตภัณฑ์ที่การหมักเกิดขึ้นในภาชนะบรรจุ ลักษณะ coagulum ที่ได้เป็นมวลเนื้อเดียวกันที่ต่อเนื่องและมีลักษณะเป็นของแข็งกึ่งเหลว

2) Stirred yogurt เป็นผลิตภัณฑ์ที่จะได้หลังจากการหมักเกิดขึ้นในถังหมักเรียบร้อยแล้วลักษณะของ coagulum ที่ได้จะแตกหรือแยกจากกัน ก่อนที่จะนำไปผ่านการให้ความเย็นหรือบรรจุ ตัวอย่างของโยเกิร์ตประเภทนี้ ได้แก่ นมเปรี้ยว หรือ fluid yogurt ซึ่งมีปริมาณของแข็งเพียง 11 เปอร์เซ็นต์ หรือน้อยกว่า

2.2.3 แบ่งตามกลิ่นรส (Flavor)

โยเกิร์ตแบ่งตามการให้กลิ่นรสได้ 2 ชนิด คือ

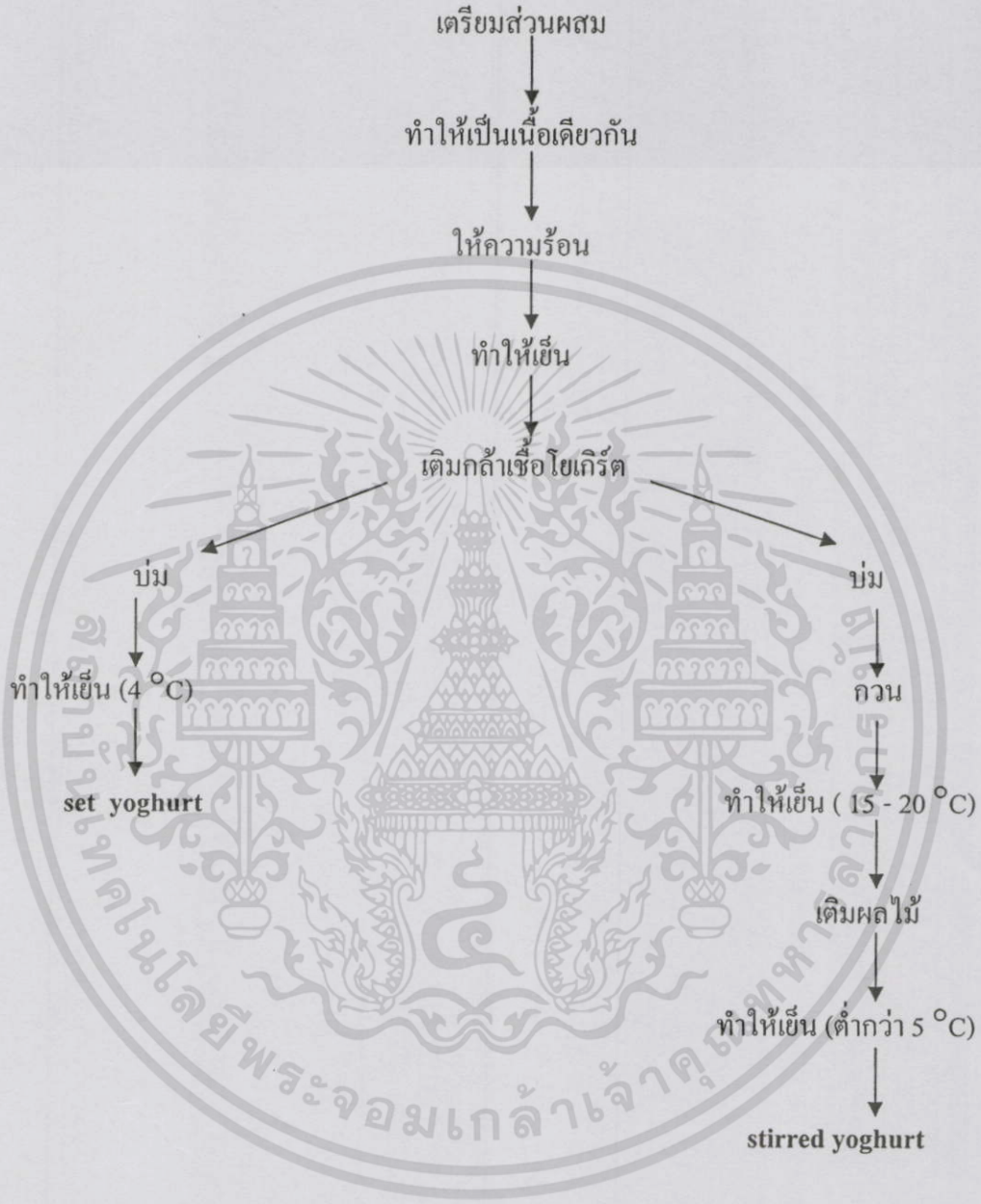
1) โยเกิร์ตรสธรรมชาติ (natural หรือ plain yoghurt) มีรสชาติเปรี้ยวแหลม ส่วนโยเกิร์ตผสมผลไม้ (fruit yogurt) เป็นการเติมผลไม้และสารให้ความหวานในโยเกิร์ตรสธรรมชาติ

2) Flavoured yoghurt ได้จากการเติมกลิ่นรส และสีที่ไม่ใช้ผลไม้

2.2.4 แบ่งตามกระบวนการหลังการหมัก

ภายหลักการหมักเสร็จสิ้นแล้ว โยเกิร์ตที่ได้อาจนำไปผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การใช้ความร้อน การแช่แข็ง การทำให้เข้มข้นขึ้น ซึ่งจะเห็นได้ว่า สารให้กลิ่นรส สารให้ความหวาน สารให้ความคงตัว และสี สามารถเติมลงในผลิตภัณฑ์ใดก็ได้ และในกรณีของนมเปรี้ยวจะผลิตจากนมขาดไขมันที่มีปริมาณของแข็งตามที่ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.1 กระบวนการผลิต set yoghurt และ stirred yoghurt

ที่มา : Robinson (1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 เชื้อจุลินทรีย์ในโยเกิร์ต

2.3.1 *Streptococcus thermophilus*

เป็นแบคทีเรียแลคติกรูปร่างกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่า 2 ไมครอน มักพบเรียงตัวเป็นคู่หรือเรียงต่อกันเป็นสาย ติดสีแกรมบวก สามารถทนความร้อนและเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 49 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญ คือ 40 องศาเซลเซียส ไม่เจริญที่ 10 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ ยังสามารถเจริญได้ดีที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.5 และจะหยุดการเจริญที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.2 - 4.4 เชื้อชนิดนี้จะสร้างกรดทำให้โปรตีนในน้ำนมตกตะกอนได้ดี แต่ปริมาณกรดที่สร้างขึ้นนั้น จะค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับ แบคทีเรียแลคติกชนิดอื่น โดยในระหว่างการหมักน้ำนม *Strep. thermophilus* จะผลิตเอนไซม์ lactase และเอนไซม์ ß –galactosidase ย่อยแลคโตสให้เป็นกลูโคสกับกาแลคโตส และสามารถผลิตเอนไซม์ยูรีเอสในการย่อยสลายยูเรียในน้ำนม ทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และแอมโมเนีย นอกจากนี้ *Strep. thermophilus* ยังผลิตแคปซูล และผลิตเมือกออกนอกเซลล์ซึ่งเป็นพอลิแซคคาไรด์ ช่วยให้โยเกิร์ตที่ผลิตได้ มีลักษณะเนื้อที่เนียน ข้น อีกทั้งยังทำให้ผลไม้กระจายตัวได้ดีในโยเกิร์ต (Vedamuthu, 1991)

2.3.2 *Lactobacillus bulgaricus*

เป็นแบคทีเรียรูปแท่ง ติดสีแกรมบวก อาจเปลี่ยนเป็นแกรมลบเมื่ออายุมากขึ้น พบอยู่เป็นคู่หรือต่อกันเป็นสาย สามารถทนความร้อนได้ดี อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญประมาณ 45 องศาเซลเซียส จึงอาจพบเหลือรอดภายหลังจากการพาสเจอร์ไรส์หรือการให้ความร้อนอื่นๆ แบคทีเรียชนิดนี้จะหมักน้ำตาลแลคโตสให้เป็นกรดแลคติกจึงนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์นมหมัก และแบคทีเรียชนิดนี้สามารถทนกรด เจริญได้ดีที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.5 และหยุดการเจริญที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.5 - 3.8 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตกรดประมาณ 43 - 46 องศาเซลเซียส เจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนเล็กน้อย หรือในสภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ดังนั้น ในช่วงแรกของการหมัก *Lb. bulgaricus* จะเจริญอย่างช้าๆจนกว่าออกซิเจนจะถูกใช้ไปจนหมดโดยแบคทีเรียชนิดอื่น และแบคทีเรียชนิดนี้สามารถผลิตเมือกภายนอกเซลล์ ซึ่งเป็นพอลิแซคคาไรด์เช่นเดียวกับ *Strep. thermophilus* ช่วยให้โยเกิร์ตมีเนื้อเนียนและข้น (Vedamuthu, 1991)

2.4 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในโยเกิร์ต

2.4.1 การปนเปื้อนของเชื้อ *Escherichia coli*

สถาบัน Notiziario dell ' lstituto Superioru di Sanita แห่งประเทศอิตาลี รายงานว่าแบคทีเรีย *E. coli* O157:H7 สามารถมีชีวิตรอดได้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีความเป็นกรดสูง (high-acid food) เช่น โยเกิร์ต โดยสาเหตุการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* (VTEC) O157:H7 อาจพบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การปนเปื้อนของเชื้อภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ และระบบการทำความสะอาดที่ไม่ถูกสุขลักษณะที่ดี การระบาดของ *E. coli* (VTEC) O157:H7 พบในห้องปฏิบัติการสาธารณสุขบริการของศูนย์วิจัย Communicable Disease Surveillance Centre แห่งประเทศอังกฤษ พบผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษ Verotoxin จากการปนเปื้อนของ *E. coli* (VTEC) O157:H7 ในโยเกิร์ต จำนวน 16 คน ในระหว่างวันที่ 1 กันยายน ถึงวันที่ 1 พฤศจิกายน พ.ศ. 2534 (www.iss.it, 2008)

2.4.2 การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella*

การระบาดของเชื้อ *Salmonella* ในเดือนกรกฎาคม 2538 Department of Public Health Medicine , South Glamorgan Health Authority , Cardiff แห่งสหราชอาณาจักร ได้พบการระบาดของเชื้อ *Salmonella typhimurium* definitive type (DT) 170 โดยสาเหตุการปนเปื้อน พบว่า เกิดจากการปิดผนึกปากถ้วยโยเกิร์ตที่ไม่ดี และร้านขายส่งได้นำผลิตภัณฑ์ไปวางไว้ในชั้นวาง ที่ชั้นด้านบนได้วางเนื้อแกะดิบอยู่ จึงเป็นสาเหตุให้เกิดการปนเปื้อนข้าม (cross contamination) (www.ncbi.nlm.gov, 2008)

2.4.3 การปนเปื้อนของเชื้อ *Staphylococcus aureus*

การระบาดของเชื้อ *S. aureus* ในประเทศนิวซีแลนด์ เมื่อเดือนพฤษภาคม 2544 กระทรวงสาธารณสุขของประเทศนิวซีแลนด์ได้รายงานว่า พบการระบาดของ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ซึ่งเกิดจากสาเหตุการปนเปื้อนจากบุคลากรที่ทำหน้าที่การผลิตโยเกิร์ต ทำให้เชื้อ *S. aureus* เกิดการเจริญเติบโต นอกจากนี้ ยังเกิดจากอัตราการเจริญเติบโตของกล้าเชื้อโยเกิร์ตลดลง เนื่องจากอุณหภูมิที่ใช้บ่มไม่เหมาะสม ส่งผลให้พีเอชของอาหารลดลดช้ากว่าที่ควรจะเป็น ทำให้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ทัน เชื้อ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนจึงเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนขึ้น ส่งผลให้เกิดการระบาดในประเทศนิวซีแลนด์ (www.nzfsa.govt.nz, 2008)

2.4.4 การปนเปื้อนของเชื้อ *Listeria monocytogenes*

การระบาดของเชื้อ *L. monocytogenes* ในประเทศสหรัฐอเมริกาในปี พ.ศ. 2528 ในการรายงานผลของ Medic & Family Health Guider พบว่า ประชากรเจ็บป่วยจากเชื้อ *L. monocytogenes* มากกว่า 1,000 คน และเสียชีวิต 250 คน ทั้งนี้เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนเชื้อเข้าไป ได้แก่ เนยแข็งชนิดต่างๆและโยเกิร์ต (http://www.medic8.com/healthguide/articles/listeria.html, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

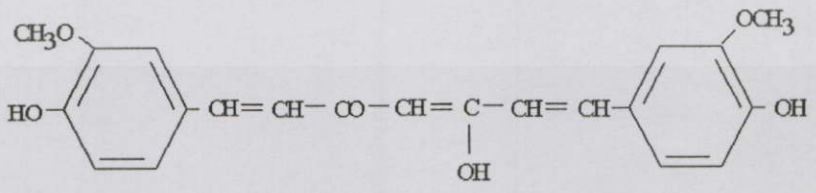
2.5 สมุนไพรและเครื่องเทศ

สมุนไพร หมายถึง พืช สัตว์ จุลินทรีย์และแร่ธาตุ ที่สามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคได้ ในปัจจุบัน กระแสการใช้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติของประชาชนในประเทศตะวันตกเพื่อทดแทน สารสังเคราะห์ทางเคมีเพิ่มมากขึ้น ในขณะเดียวกันความนิยมและทัศนคติต่อสมุนไพรไทยของคนไทยก็เพิ่มมากขึ้นด้วยเช่นกัน เนื่องจากสมุนไพรมีผลข้างเคียงน้อยกว่ายาแผนปัจจุบัน โดยสมุนไพรสามารถใช้เป็นยาช่วยรักษา บรรเทาอาการ ตลอดจน ใช้เป็นอาหารเสริมในการป้องกันการเกิดโรคต่างๆได้ การพัฒนาทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ทำให้สามารถสกัดและแยกสารเคมีบริสุทธิ์ที่มีคุณประโยชน์ทางยาในพืชสมุนไพร และได้สารพฤกษเคมีที่สำคัญ คือ คาร์โบไฮเดรต น้ำมันหอมระเหย แอลคาลอยด์ และ ไกลโคไซด์ (พรสวรรค์ และ คณะ, 2543)

2.5.1 ขมิ้นชัน (สุพจน์,2543)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Curcuma longa* Linn. อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae ลักษณะเป็นพืชล้มลุก มีลำต้นใต้ดินหรือเหง้า เนื้อภายในเหง้ามีสีเหลืองจนถึงสีแสด มีกลิ่นหอม ใบเป็นใบเดี่ยวออกสลับกันอยู่รวมกันเป็นกอ ซึ่งขึ้นมาจากเหง้า ออกดอกเป็นช่อ พบทุกภาคของประเทศไทย พบมากทางภาคใต้ตอนบน โดยเฉพาะจังหวัดประจวบคีรีขันธ์

สารพฤกษเคมีที่สำคัญในเหง้าขมิ้นชัน จะพบในส่วนของน้ำมันหอมระเหยเป็นสำคัญ โดยทั่วไปแล้วขมิ้น จะมีน้ำมันหอมระเหยตั้งแต่ 2 - 6 เปอร์เซ็นต์ ที่มีสีเหลืองและเรืองแสงได้เล็กน้อยสารเคมีที่พบมากที่สุดคือ เทอร์มีโรน (termerone) ประมาณ 58 - 59 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ ซิงจิเบอรีน (zingiberene) 25 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ ยังพบสารต่างๆ อีกหลายชนิด ได้แก่ ซาบินีน (sabinene) บอร์นีออล (borneol) ซินีออล (cineol) เทอร์พีรอล (termerol) เดอร์คูโมน (curcumone) และฟิลแลนดรีน (phellandrene) นอกจากนี้ ยังพบสารที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง คือ เดอร์คูมิน (curcumin) ซึ่งมีประมาณ 1.8 - 5.4 เปอร์เซ็นต์ สารนี้มีสีเหลืองส้ม หรือสีเหลืองแดง ซึ่งเป็นสีของขมิ้น สารนี้ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ และกรดอะซิติก (www.elib-online.com/doctors2/herb_curcuma, 2009)



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของสาร Curcumin

ที่มา: www.gpo.or.th/rdi/html/turmeric.html (2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณน้ำมันหอมระเหยและเคอร์คูมินในขมิ้นจะแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับอายุของพืช กล่าวคือ ขมิ้นที่มีการเจริญเต็มที่แล้วจะมีปริมาณของเคอร์คูมินเปลี่ยนแปลงไป ในช่วงระยะการเจริญตั้งแต่เดือนที่ 5 ถึงเดือนที่ 8 เพียง 7 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ส่วนน้ำมันหอมระเหยในขมิ้นที่มีการเจริญเต็มที่จะมีปริมาณลดลงและการลดลงจะมีมากที่สุดในเดือนที่ 8 นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่าในการปลูกขมิ้นนั้น ถ้าใส่ปุ๋ยไนโตรเจนหรือฟอสฟอรัสหรือโปตัสเซียมหรือทั้งสามชนิด จะทำให้ได้ผลผลิตของขมิ้นเพิ่มมากขึ้น แต่ปริมาณของเคอร์คูมินจะลดลง (www.elib-online.com/ doctors2/ herb_curcuma, 2009)

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา พบว่า ขมิ้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium botulism* ที่ทำให้เกิดโรคโบทูลิซึม และโรคในระบบทางเดินอาหาร (เช่น *Salmonella* spp.) นอกจากนี้ ยังยับยั้งการเจริญของราที่ทำให้อาหารเน่าเสีย เช่น *Rhizopus*, *Penicillium* และ *Aspergillus* ได้อีกด้วย (www.elib-online.com/doctors2/herb_curcuma, 2009) อีกทั้งยังมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อรา ลดอาการอักเสบ มีฤทธิ์ในการขับน้ำได้ดี น้ำมันหอมระเหยในขมิ้นมีสรรพคุณ รักษาอาการปวดท้องเสียด ท้องอืด แน่นจุกเสียด กระตุ้นระบบย่อยอาหาร อีกทั้งยังสามารถใช้เป็นยากำจัดแมลง (สุพจน์, 2543)

2.5.2 ดอกคำฝอย

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Carthamus tinctorius* Linn.อยู่ในวงศ์ Compositae ลักษณะเป็นพืชล้มลุก มีลักษณะเป็นพุ่ม ลำต้นเป็นสัน ผิวเรียบแข็ง โคนต้นมีขนาดใหญ่ แต่ปลายกิ่งเรียวเล็ก ใบเดี่ยว ไม่มีก้านใบ ออกดอกเป็นช่อบริเวณปลายกิ่ง ประกอบด้วยดอกย่อยขนาดเล็กจำนวนมาก ลักษณะคล้ายดอกบานชื่น กลีบดอกสีเหลืองเข้ม และจะเปลี่ยนเป็นสีส้มและแดง พบมากทางภาคเหนือ โดยเฉพาะที่อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ (พิสุทธิพร, 2537)

สารพฤกษเคมีที่สำคัญในกลีบดอกคำฝอย ได้แก่ safflower yellow ซึ่งเป็นสารสีเหลือง ส่วนสารสีแดง คือ carthamin ในเมล็ดมีน้ำมันซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันที่สำคัญ คือ กรดไลโนเลอิคซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว และมีในปริมาณสูง นอกจากนี้ ยังมีกรดปาล์มมิติกและกรดเมอริสติก (ดวงกมล, 2440)

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ดอกคำฝอยเป็นยาบำรุงโลหิต บำรุงประสาท แก้โรคผิวหนัง ลดไขมันในเส้นเลือด และช่วยป้องกันไขมันอุดตัน น้ำมันของดอกคำฝอยมีส่วนประกอบของกรดไลโนเลอิก ซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวในประมาณสูง (ประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์) จึงเชื่อว่าจะทำให้ปริมาณโคเลสเตอรอลในเลือดต่ำลง และจากผลการวิจัยในสัตว์ทดลองและในคน พบว่า เมล็ดน้ำมันดอกคำฝอยช่วยทำให้ปริมาณโคเลสเตอรอลในเลือดลดลงได้จริง ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะกรดไลโนเลอิกจะไปทำปฏิกิริยากับโคเลสเตอรอลในเลือดได้เป็นโคเลสเตอรอลไลโนเลเอท (choloesterol linoleate) และยังมีรายงานว่า น้ำมันดอกคำฝอย ทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฤทธิ์ของเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์กรดไขมันลดลงอีกด้วย จากผลการวิจัยในสัตว์ทดลองและในคนพบว่า น้ำมันดอกคำฝอย จะช่วยให้การอุดตันของไขมันในหลอดเลือดลดลง และช่วยป้องกันการอุดตันของไขมันในเลือดได้ ทั้งนี้ อาจเป็นผลมาจากน้ำมันดอกคำฝอยมีฤทธิ์ลดการจับตัวของเกล็ดเลือด (พิสุทธิพร, 2537)

2.5.3 แก้วมังกร

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Hylocercus undatus* อยู่ในวงศ์ Cactaceae ลักษณะเป็นพืชอวบน้ำ ลักษณะทั่วไป เป็นพืชอวบน้ำมาก บางชนิดเป็นไม้ล้มลุก บางชนิดเป็นไม้พุ่ม อายุหลายปี ทนต่อสภาพแห้งแล้งได้ดี ลำต้นเป็นท่อนกลม บางชนิดเป็นเหลี่ยมพูมีเนื้อมาก ผิวลำต้นสีเขียว และมักคอดกิ่วเป็นระยะๆ ใบลดรูปลงเป็นหนามหรือเป็นขน มีปุ่มแท่นรองรับหนามหรือขนนั้น ดอกเป็นดอกเดี่ยวสีสด บางชนิดออกเป็นพวงเกิดที่ข้างลำต้น กลีบดอกมีจำนวนมาก เรียงเวียนเป็นวงแบบก้นหอยหลายชั้น บางชนิดมีกลิ่นหอมอ่อนๆ ผลเนื้อนิ่ม ผิวมักเป็นหนามหรือขนแข็ง เมล็ดมีจำนวนมาก เมล็ดไม่มีอาหารสะสม (ดวงกมล, 2540)

แก้วมังกรจัดเป็นพืชตระกูลกระบองเพชร ที่มีสารมิวซิเล็จ (mucilage) เป็นสารสำคัญที่มีอยู่เป็นจำนวนมาก สารกลุ่มนี้ คือ สารพอลิแซคคาไรด์เชิงซ้อน (complex polysaccharides) ลักษณะคล้ายวุ้นเหลว มีคุณสมบัติในการดูดน้ำ แก้วมังกรบางชนิดพบสารชนิดนี้ประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร (นฤมล, 2537)

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา มีการใช้ลำต้น ดอก และผลในการบริโภค พบว่าช่วยปรับปรุงการควบคุมน้ำตาลกลูโคสในผู้ป่วยโรคเบาหวานโดยไม่ต้องใช้อินซูลินทั้งนี้สามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคส และเพิ่มฤทธิ์ของอินซูลินภายใต้สภาวะน้ำตาลในเลือดสูง สามารถลดระดับไตรกลีเซอไรด์และโคเลสเตอรอลทั้งหมด โดยเน้นการลดไลโปโปรทีน-โคเลสเตอรอลชนิดความหนาแน่นต่ำในเลือดได้ (Mizrahi และคณะ, 1997) นอกจากนี้ การทานเนื้อแก้วมังกรเพื่อเพิ่มธาตุเหล็กยังสามารถช่วยบรรเทาโรคโลหิตจาง ผลแก้วมังกรบางชนิดมีสาร Captine ซึ่งมีผลในการบำรุงหัวใจอีกด้วย (Jacobs, 1999)

2.5.4 ใบกระวาน

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Amomum krervanh* อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae ลักษณะเป็นไม้ล้มลุก มีลำต้นใต้ดินที่เรียกว่าเหง้า ใบเดี่ยว เรียงแบบสลับและรูปใบขอบขนานปลายแหลม ไม่มีก้านใบ ดอกเป็นช่อแทงจากเหง้า กลีบดอกสีขาวปนเหลือง ผลกลม เมื่อแก่ผลจะแห้งและเล็ก ขึ้นในป่าชื้น มีมากทางภาคตะวันออกของประเทศไทย (สุพจน์, 2543)

สารสำคัญในเมล็ดกระวานจะให้น้ำมันหอมระเหยประมาณ 2.8 - 6.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็น terpinyl acetate และ cineol นอกจากนี้ ยังพบสารในกลุ่ม terpenes, terpene alcohols และ esters ได้แก่ linonene d- α terpineol, borneol, sabinene และ pinene (สุพจน์, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา รักษาโรคท้องเดิน ท้องอืด ท้องเฟ้อ แน่นจุกเสียด แก้ไข้เซื่องซึม แก้รำมะนาด แก้ลมและช่วยขับลมในกระเพาะอาหาร นอกจากนี้ ยังมีฤทธิ์ ขับลม ช่วยลดการบีบตัวของลำไส้ มีความปลอดภัยและไม่มีฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ (ทรงโปรด และคณะ, 2529) นอกจากนี้ยังพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากผลกระวานมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ได้อีกด้วย (Aunphak และ คณะ, 1998)

2.5.5 ใบย่านาง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Tiliacora triandra* Diels. อยู่ในวงศ์ Menispermaceae ลักษณะเป็นไม้เลื้อย พาดพันสิ่งที่ยึดเกาะ ลำต้นสีเขียวสด อวบน้ำ ภายในลำต้นมี น้ำเมือกเหนียวมาก ลำต้นเรียวเล็ก แยกเป็นต้นตัวผู้และต้นตัวเมีย กิ่งอ่อน มีขนทั่วไป เมื่อแก่ผิวค่อนข้างเรียบ มีรากใหญ่มาก ใบเป็นใบเดี่ยว สีเขียวเข้ม รูปรีหรือไข่ ปลายใบแหลม โคนใบมน ขอบใบเรียบ ผิวใบเป็นมัน ดอกออกเป็นช่อขนาดเล็กตามซอกโคน ก้านใบสีเหลือง ช่อหนึ่งๆ มี 3-5 ดอก ผลกลมรีขนาดเล็กๆออกเป็นพวง ผลอ่อนสีเขียว ผลแก่สีแดงคล้ายผลมะแว้ง (กมลทิพย์, 2543)

สารสำคัญในย่านาง คือ isoquinolone alkaloid ได้แก่ tiliacorine, tiliacorinine nortiliacorinine และ tiliandrine สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา แก้ไข้ทุกชนิด แก้พิษ แก้เมาเรือ แก้เมาสุรา ถอนพิษผิดสำแดง แก้โรคหัวใจ แก้ลม แก้ตานขโมย และฝีดาษ (กมลทิพย์, 2543)

2.5.6 ใบหม่อน

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Morus alba* L. อยู่ในวงศ์ Moraceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดกลาง ใบเดี่ยว ออกดอกเป็นช่อรูปทรงกระบอกอยู่ที่ซอกใบ ผลเป็นผลรวมรูปทรงกระบอก ผลอ่อนสีเขียว ลูกสีแดง รสหวานอมเปรี้ยว (ศูนย์พัฒนาตำราการแพทย์แผนไทย, 2547)

สารสำคัญในใบ ได้แก่ กลุ่มของสารประกอบฟลาโวนอยด์ ไฟโตสเตียรอล ไตรเทอร์ปีน แอลคาลอยด์ เซราไมด์ และน้ำมันหอมระเหย นอกจากนี้ ยังประกอบด้วยสารอาหารต่างๆ ในปริมาณสูง เช่น คาร์โบไฮเดรต เพคติน โปรตีน เส้นใยอาหาร รวมทั้งวิตามินบี ซี และแคโรทีนด้วย ส่วนรากและเปลือกรากมีสารแอลคาลอยด์ คูมาริน เทอร์ปีน สติลปีน ฟลาโวนอยด์ เบนซินอยด์ นอกจากนี้ กิ่งอ่อนยังมีสารมอริน (morin) มัลเบอริน (mulberrin) มัลเบอโรโครมีน (mulberrochromene) ในส่วนผลมีน้ำมันหอมระเหย ฟลาโวนอยด์ น้ำตาลและวิตามินซี (ณรงค์, 2543)

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (ณรงค์, 2543)

1) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ น้ำคั้นและสารสกัดจากใบมีสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดและมีสารสำคัญที่ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) ฤทธิ์ยับยั้งการสร้างเมลานิน (melanin) สาร 2-oxyresveratrol จากกิ่งหม่อน และสาร mulberroside F จากใบ และสารสกัดจากเปลือกรากมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ tyrosinase ซึ่งเกี่ยวข้องในขบวนการสร้างเม็ดสีที่ผิวหนัง จึงมีการนำสารสกัดรากหม่อนมาใช้เป็น whitening agent ในเครื่องสำอาง

3) ฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด สารสกัดด้วยน้ำและสาร 2-O-D-galactopyranosyl-1-deoxynojirimycin (GAL-DNJ) จากใบหม่อน มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในสัตว์ทดลองที่เป็นเบาหวาน และสาร 1-deoxynojirimycin มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ glucosidase ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จึงช่วยยับยั้งการย่อยแป้งในอาหารช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด ทำให้ใบหม่อนมีศักยภาพในการนำมาใช้ในผู้ป่วยเบาหวานหรือใช้ควบคุมน้ำหนัก

4) ฤทธิ์ลดความดันโลหิต สารสกัดเอทานอลจากใบและบิวทานอลจากเปลือกราก มีสารฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ลดความดันโลหิตในหนู

5) ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอื่น ๆ เมื่อศึกษาในหลอดทดลองสารสกัดและสารสำคัญจากเปลือกรากหม่อนมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ของเชื้อเอชไอวี ฤทธิ์ต้านเชื้อรา และต้านเชื้อไวรัสที่ก่อโรคเริมที่อวัยวะเพศ ส่วนการศึกษาในสัตว์ทดลอง พบฤทธิ์แก้ไอ ขับปัสสาวะ ลดอาการบวม และฤทธิ์สงบประสาท

2.5.7 ใบติ้ว (ศูนย์พัฒนาตำราการแพทย์แผนไทย, 2547)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cratoxylum formosum* Dyer อยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae ลักษณะเป็น ไม้ยืนต้นขนาดกลางเรือนยอดเป็นพุ่มกลม กิ่งอ่อนมีขนนุ่มทั่วไป เปลือกสีน้ำตาลไหม้ แตกเป็นสะเก็ด ใบมนแกมรูปไข่กลับและรูปขอบขนาดกว้าง ดอกสีชมพูถึงแดง กลิ่นหอมอ่อนๆ ผลรูปร่างรีมีนวลขาวติดตามผิว สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา แก้ไข้ ช่วยระบบการย่อยอาหาร ยางมีสรรพคุณฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

2.5.8 ผักเม็ก (ศูนย์พัฒนาตำราการแพทย์แผนไทย, 2547)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Kanchanaburi gratum* (Wight) อยู่ในวงศ์ Lauraceae ลักษณะเป็นพืชยืนต้นลำต้นสีน้ำตาลแดง เปลือกบาง ใบประกอบแบบขนนก ยอดอ่อน สีชมพูอ่อน รสฝาด ดอกเป็นช่อเล็กๆ ผลลูกสีขาวขนาดเล็ก ทรงกลม ก้นผลมีลักษณะนูนออกมา สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา แก้ปวดท้อง

2.5.9 พิกุล (ณรงค์, 2543)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Mimusops elengi* Linn. อยู่ในวงศ์ Sapotaceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง มียางสีขาว ดอกออกเป็นช่อ ผลกลมโตสีแดงแสดรับประทานได้ มีรสฝาด หวานมัน เป็นไม้ปลูกกันทั่วไป ดอกสีนวล ใบสีเขียว หนามัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เปลือกต้มเอาน้ำกลั้วล้างปาก ใช้รักษาไข้ ปวดหัว เจ็บคอ รักษาเหงือกและฟัน ดอกแห้งใช้รักษาไข้ ปวดหัว เจ็บคอ เมล็ดตำให้ละเอียดทำเป็นยาเม็ด สำหรับสวนเวลาท้องผูก ผลสุกใช้รับประทานได้ บำรุงหัวใจ แก้เจ็บคอ น้ำมันหอมระเหยจากดอก ใช้ทาแก้ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ กลั้วคอ แก้โรคเหงือกอักเสบ ใช้บำรุงตับ ปอด หัวใจ และบำรุงครรภ์

2.5.10 กล้วย (หัวปลี) (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Musa sapientum* Linn. อยู่ในวงศ์ Musaceae ลักษณะเป็นพืชล้มลุกที่มีลำต้นตั้งตรงสูง ส่วนที่อยู่เหนือดินรูปร่างกลมมีกาบใบ ผิวใบด้านบนเรียบเป็นมัน ท้องใบสีนวล ก้านใบยาว ดอกออกเป็นช่อที่ปลายยอดลักษณะห้อยหัวลงสีแดงคล้ำ เรียกว่า ปลี

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา แก้โรคกระเพาะอาหาร ลำไส้ ลดน้ำตาลในเลือด รักษาเบาหวาน บำรุงเลือด สามารถต้านเชื้อราและแบคทีเรีย ประกอบด้วย tannin pectin มีฤทธิ์ในการรักษาอาการท้องเดิน มี sarotonin norepinephrine depamin และ catecholomine นอกจากนี้ยังมี sitoindoside สามารถป้องกันแผลในกระเพาะได้

2.5.11 อบเชย (พรทิพย์และธารจิต, 2543)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cinnamomum bejolghota Sweet* อยู่ในวงศ์ Laueaceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้น เรือนยอดเป็นพุ่มกลมรูปเจดีย์ต่ำทึบ เปลือกเรียบสีเทาแก่หรือเทาปนน้ำตาล เป็นใบเดี่ยวรูปขอบขนาน เนื้อใบหนา แข็งและกรอบ มีเส้นแขนงจากโคน ใบ 3 เส้น ดอกเล็กสีเหลืองอ่อน หรือเขียวอ่อน ออกรวมกันเป็นช่อโตตามปลายกิ่ง ผลเล็ก แข็ง รูปไข่กลับ ผลมีเมล็ดเดียว

สารสำคัญที่พบในเปลือกอบเชยเทศ เมื่อนำมากลั่นด้วยไอน้ำจะได้น้ำมันอบเชยเทศประมาณ 0.5 – 1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อกลั่นใหม่ ๆ จะมีสีเหลืองและเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่อเก็บไว้เป็นเวลานาน ในน้ำมันอบเชยเทศจะประกอบด้วยสารหลายชนิด เช่น ซินนามาลดีไฮด์ ยูจีนอล เบนซาลดีไฮด์ เฟลแลนดรีน ไพนีน และ ไลซาลดีไฮด์ เป็นต้น (http://staff.buu.ac.th/~wongduen/sour. html, 2009)

สรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ในน้ำมันหอมระเหย cinnamic aldehyde มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย กระตุ้นน้ำย่อย ลดการปวดเกร็งของกล้ามเนื้อ ช่วยในการขับลม แก้อ่อนเพลีย บำรุงธาตุ แก้จุกเสียดแน่นท้อง

2.6 สารประกอบเคมีในสมุนไพรและเครื่องเทศ

สมุนไพรและเครื่องเทศที่ใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร นอกจากจะช่วยแต่งกลิ่นหอมและเพิ่มรสชาติแล้ว ยังพบว่า เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกที่มีปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แตกต่างกันไปในแต่ละชนิด (ตารางที่ 2.1) โดยพบว่า ขมิ้นมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าพืชชนิดอื่นๆ สารประกอบฟีนอลิกนั้นเป็นสารที่พืชสังเคราะห์ขึ้นมา สารกลุ่มนี้มีจำนวนมากถึง 4,000 ชนิด บางชนิดที่มนุษย์นำมาใช้ประโยชน์คือ สารให้สีพวกแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน ข้าวเหนียวดำ ผลไม้ต่างๆ หรือสารเคอร์คูมินจากขมิ้น กลิ่นวานิลา สารต้านอนุมูลอิสระจากชาเขียว สารต้านอนุมูลอิสระจากผลไม้และพืชผักสมุนไพร รวมทั้งไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลือง เป็นต้น (http://www.healthtoday.net/thailand/nutrition/ nutrition _90. html , 2008)

ตารางที่ 2.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสมุนไพรไทยและเครื่องเทศ

สมุนไพร เครื่องเทศ	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (มก. กรดแกลลิกเปรียบเทียบต่ออาหาร 100 กรัม)
กระเทียม	21.31
พริกไทยอ่อน	247.67
หอมแดง	67.73
ใบมะกรูด	518.60
ตะไคร้	114.15
ข่า	153.68
กระชาย	131.40
ขมิ้น	1,340.70
ขิง	222.38
ยี่หร่า(ดั่ว)	266.57
ลูกผักชี(ดั่ว)	136.63
ผิวมะกรูด	476.16

ที่มา : http://www.healthtoday.net/thailand/nutrition/nutrition_90.html (2008)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารในกลุ่ม secondary metabolite ที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโต และการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด ดังนั้น รูปแบบของสารประกอบฟีนอลิกในพืชแต่ละชนิด จึงมีความแตกต่างกันออกไป ปัจจุบันพบว่ามีสารประกอบฟีนอลิกในพืชที่ทราบโครงสร้างอย่างง่ายไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ ในธรรมชาติสารประกอบฟีนอลิกจะมีโครงสร้างจับอยู่กับโมเลกุลน้ำตาลตั้งแต่ 1 โมเลกุลขึ้นไปที่หมู่ไฮดรอกซิล โดยน้ำตาลดังกล่าวอาจจะเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว น้ำตาลโมเลกุลคู่ สารประกอบฟีนอลิก คือ กลูโคส นอกจากนี้ ยังพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบฟีนอลิกด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบอื่นๆ ตัวอย่างลักษณะโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มต่าง ๆ ในพืชที่พบโดยทั่วไป สามารถแสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 โครงสร้างหลักของสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มต่าง ๆ ในพืช

Number of Carbon atoms	Basic skeleton	Class	Examples
6	C6	Simple phenols Benzoquinones	Catechol, hydoquinone 2,6-Dimetoxybenzoquinone
7	C6-C1	Phenolic acids	Gallic, salicylic
8	C6-C2	Acetophenones Tyrosine derivatives Phenylacetic acids	3-Acetyl-6-methoxybenzaldehyde Tyrosol *p*-Hydroxyphenylacetic
9	C6-C3	Hydroxycinnamic acids Phenylpropenes Coumariun Isocoumarins Chromones	Caffeic, ferulic Myristicin , eugenol Umbelliferone, aesculetin Bergenon Eugenin
10	C6-C4	Naphthoquinones	Juglone, plumbagin
13	C6-C1-C6	Xanthones	Mangiferin
14	C6-C2-C6	Stilbenes Anthraquinones	Resveratrol Emodin
15	C6-C3-C6	Flavonoids Isoflavonoids	Quercetin , cyanidin Genistein
18	(C6-C3)2	Lignans Neolignans	Pinoresinpl Eusiderin
30	(C6-C3-C6)2	Biflavonoids	Amentoflavone
N	(C6-C3)n (C6)n (C6-C3-C6)n	Lignins Catechol melanins Flavolans (Condensed Tannins)	

ที่มา : Harborne (1980)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

Chi – Tang และ คณะ (1992) ได้แบ่งสารประกอบฟีนอลิกออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่

2.6.1 สารประกอบฟีนอลและกรดฟีนอลิก (simple phenols and phenolic acids)

สารประกอบฟีนอล (simple phenols) ประกอบไปด้วยโมโนฟีนอล (mono phenols) ได้แก่ พารา-คีซอล (*p*-cresol) ซึ่งพบทั่วไปในผลไม้ เช่น ราสเบอรี่ (raspberry) แบล็คเบอรี่ (blackberry) นอกจากนี้ยังพบ ไดฟีนอล (diphenols) ได้แก่ ไฮโดรควิโนน (hydroquinone) และอนุพันธ์ไตรฟีนอล (triphenols) เช่น กรดแกลลิก (gallic acid)

2.6.2 กรดไฮดรอกซีซินนามิก และอนุพันธุ์ (hydroxycinnamic acid and derivatives)

กรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acid) ได้แก่ กรดพารา – คูมาริก (*p*-cumaric acid) กรดคาเฟอิก (caffeic acid) กรดเฟอรูลิก (ferulic acid) กรดไซแนปิก (sinapic acid)

2.6.3 ฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากที่สุดในพืช ได้แก่ คาทิชิน (catechins) โปรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidins) แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) ฟาลโวน (flavones)

2.7 การใช้สารสกัดจากสมุนไพรและเครื่องเทศต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

ศรีกาญจนา (2541) ได้ทำการทดสอบสารสกัดหยาบด้วยสมุนไพร 39 ชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria monocytogenes* และ *Listeria innocua* ด้วยวิธี Well assay พบว่ามีสมุนไพรเพียง 8 ชนิด ได้แก่ กระชาย แกนขนุน ดอกจันทร์เทศ เจตมูลเพลิงแดง ชะเอมเทศ ฝาง ฟ้าทะลายโจร และมะขามแขกที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ โดยแกนขนุนมีผลยับยั้งที่ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเท่ากับ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ดอกจันทร์เทศและชะเอมเทศมีความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเท่ากับ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อมา วัชรี (2543) ได้ทดสอบสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 9 สายพันธุ์ ในสมุนไพร 12 ชนิดได้แก่ ขมิ้นชัน ผักคาวตอง เสลดพังพอนตัวเมีย มะระขี้นก กระชาย กระเทียม ฟ้าทะลายโจร กล้วยน้ำว้า ชุมเห็ดเทศ ทองพันชั่ง บัวบก และ บอระเพ็ด ด้วยสารสกัดเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และไดคลอโรมีเทน พบว่า ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบแต่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ คือ *S. aureus* 2 สายพันธุ์ และ *Streptococcus pneumonia*

นอกจากนี้ ในต่างประเทศก็มีรายงานวิจัยที่ได้ทำการทดสอบเกี่ยวกับสารสกัดจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เช่นกัน โดย Cvetnic และ Knezevic (2004) ศึกษาผลของการสกัดผสมระหว่างเมล็ดและเนื้อของส้มโอ (*Citrus paradise* Macf , Rutacea) ในอัตราส่วนเมล็ดต่อเนื้อส้มโอเท่ากับ 1:4 ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
95056

20 สายพันธุ์และยีสต์ 10 สายพันธุ์ ด้วยการทดสอบด้วยวิธีการแพร่ในอาหารวุ้น (agar diffusion method) และหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญ (MIC) พบว่า สารสกัดจากเมล็ดและเนื้อของส้มโอสามารถยับยั้ง *Salmonella enteritidis* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 2.06 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร สำหรับแบคทีเรียและยีสต์สายพันธุ์อื่นๆ พบว่า สามารถยับยั้งได้ที่ระดับความเข้มข้น 4.13 - 16.50 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenols) ของสารสกัดผสมระหว่างเมล็ดและเนื้อของส้มโอที่อัตราส่วนเมล็ดต่อเนื้อส้มโอ (1:4) ส่วน พบว่า มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด 3.92 เปอร์เซ็นต์และฟลาโวนอยด์เท่ากับ 0.11 เปอร์เซ็นต์ เทียบกับชุดควบคุมที่อุณหภูมิและเวลาเดียวกัน ส่วน Sakanaka และ คณะ (2000) ศึกษาของผลสารประกอบโพลีฟีนอลจากชาเขียวต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย 2 ชนิดที่สร้างสปอร์ ได้แก่ *Bacillus stearothermophilus* และ *Clostridium thermoaceticum* พบว่า สารประกอบโพลีฟีนอลจากชาเขียวที่ระดับความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ร่วมกับการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที สามารถทำลายสปอร์ *B. stearothermophilus* ให้ลดลงเหลือน้อยกว่า 10 CFU /ml

Lu และ คณะ (2004) ศึกษาผลของการสกัดจากโพรโพลิสด้วยเอทานอล (ethanolic extract of propolis; EEP) จาก 3 แหล่งในประเทศไต้หวัน ได้แก่ ไทเป (Taipei, ตอนเหนือ), มิงเกเฮียน (Mingehien, ตอนกลาง) และ แฟงเลีย (Fanglia, ตอนใต้) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. aureus* พบว่า สารสกัดจากผลิตภัณฑ์จากผึ้งทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. aureus* ได้ โดยความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) อยู่ในช่วงระหว่าง 3.75 - 120 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายจุลินทรีย์ (MBC) อยู่ในช่วงระหว่าง 7.5 - 120 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเมื่อศึกษาผลของการสกัดต่อกราฟการเจริญเติบโต (growth curve) พบว่า มีผลต่อเซลล์ของ *S. aureus* ในช่วงสุดท้ายของระยะที่ 2 (late exponential phase)

ต่อมา Lin และ คณะ (2005) ศึกษาสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ของสารประกอบฟีนอลิกจากผงโอริกาโน่ (oregano) และผงแคนเบอร์รี่ (cranberry) ที่ผลิตโดยบริษัท Barrington Chemicals แห่งมลรัฐนิวยอร์กและ Decaas Cranberry products แห่งมลรัฐเมน ตามลำดับ ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Vibrio parahaemolyticus* ในอัตราส่วนต่างๆ ด้วยวิธีการให้สารทดสอบแพร่ในอาหารวุ้น (agar diffusion method) พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดทั้ง 2 ชนิด ปริมาตร 0.1 มิลลิกรัมต่อแผ่นกระดาษซับกลม คือ ปริมาณที่เหมาะสมต่อการยับยั้ง *V. parahaemolyticus* โดยอัตราส่วนของสารสกัดโอริกาโนต่อแคนเบอร์รี่ที่อัตราส่วน 1: 1 จะให้วงใสขนาด 20 มิลลิเมตร ส่วน Karou และ คณะ (2005) ได้ทดสอบผลของพืชสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ *Combretum micranthum, Khaya senegalensis,* และ *Sida acuta* ในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค พบว่า สารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด แบบทำแห้งเยือกแข็ง (lyophilized extract) ประกอบด้วยสารประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพลีฟีนอลทั้งหมดระหว่าง 10 - 37 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค โดยความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง *S. aureus* ของ *Sida acuta* คือ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ *Khaya senegalensis* 240 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ *Combretum micranthum* 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

นอกจากพืชทั่วไปแล้ว ยังพบรายงานวิจัยเกี่ยวกับสมุนไพรและเครื่องเทศได้ที่คัดเลือก มาทำการทดสอบทั้งในและต่างประเทศ เช่น Guenther (1952) ได้ทำการทดลองใช้น้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชัน เมล็ดทานตะวัน และดอกคำฝอยในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus, Enterococcus faecalis* และ *V. parahemolyticus* โดยใช้ความเข้มข้นต่ำสุด 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งเชื้อดังกล่าวทั้ง 3 ชนิด พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชันเพียงชนิดเดียวที่สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้ ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดทานตะวัน และดอกคำฝอยไม่มีผลต่อการยับยั้ง และในปี 1983 Martha ได้ทดสอบน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง การเจริญเติบโตของ *S. aureus, Klebsiella pneumoniae, Bacillus subtilis* และ *Pseudomonas solacearem* จากการทดสอบพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *B. subtilis* ได้ ต่อมา Farag และคณะ (1989) ได้นำน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศในประเทศอียิปต์มาทดสอบประสิทธิภาพ ได้แก่ ขมิ้น กานพลู เสจ โรสแมรี คาราเวย์ และไทม์ ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก 4 สายพันธุ์ แบคทีเรียแกรมลบ 3 สายพันธุ์ แบคทีเรีย acid fast 1 สายพันธุ์ และยีสต์ 1 สายพันธุ์ พบว่า แบคทีเรียแกรมลบทนการยับยั้งได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก น้ำมันหอมระเหยจากไทม์และขมิ้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ดีกว่าพืชชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ ยังพบว่าองค์ประกอบทางเคมีของไทม์และขมิ้นมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งจุลินทรีย์

Chang และ คณะ (2001) ได้ทำการทดลองน้ำมันหอมระเหยจากต้นอบเชยซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย 9 สายพันธุ์ ได้แก่ *E. faecalis, Ps. aeruginosa, S. aureus* 2 สายพันธุ์, *Staphyloccocus epidermidis, K. pneumoniae, Salmonella* spp., *E. coli* และ*V. parahemolyticus* โดยใช้ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในการยับยั้ง *E. faecalis, S. aureus* 2 สายพันธุ์ และ *V. parahemolyticus* สามารถยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้ ส่วนเชื้ออื่นๆจะใช้ความเข้มข้นที่ระดับ 500 หรือ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในการยับยั้งการเจริญ ในปีเดียวกัน Hsieh และคณะ (2001) ยังพบว่า สารสกัดจาก Corni fructus, อบเชย และกุยช่าย มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อาหาร ได้แก่ *B. subtilis, E. coli* และ *L. monocytogenes* นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดทั้ง 3 ชนิดยังให้ประสิทธิภาพคงตัวต่อความร้อนและค่าความเป็นกรด-ด่างในการเก็บรักษา

ส่วนรายงานวิจัยในประเทศไทยพบว่า อัมพร (2540) ได้ทำการทดลองสารสกัดจากเปลือกผลไม้ 16 ชนิดในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และเชื้อรา *Aspergillus niger* โดยใช้วิธีสกัดหยาบด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองพบว่า เปลือกส้มเขียวหวาน และ เปลือกส้มโอ มีผลต่อการยับยั้ง *S. aureus* มีผลยับยั้งที่ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเท่ากับ 500 ไมโครกรัมต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตร ส่วนเปลือกมังคุดและเปลือกแก้วมังกรมีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา *A. niger* มีผลยับยั้งที่ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเท่ากับ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อมา ปิยวรรณ (2545) ได้ทำการทดลองสารสกัดหยาบของสมุนไพร 9 ชนิดได้แก่ ผักเม็ก ใบติ้ว ย่านาง ใบหม่อน ผลหม่อน ใบกระวาน กล้วยน้ำว้าดิบ หัวปลี และลูกเหนียงในการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่ผิวหนัง คือ *S. aureus* และ *Streptococcus pyogenes* ด้วยวิธี disc diffusion method พบว่า สารสกัดหยาบจากสมุนไพรทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ ผักเม็ก ใบติ้ว ย่านาง ผลหม่อน ใบหม่อน กล้วยน้ำว้าดิบและลูกเหนียงให้ผลในการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 ชนิดโดยลูกเหนียงให้ผลยับยั้งที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สมุนไพรอีก 6 ชนิดมีความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในการยับยั้ง ส่วนหัวปลีและใบกระวานไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์

2.8 กลไกการการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารต้านจุลินทรีย์

สารต้านแบคทีเรียมีคุณสมบัติ ขอบข่าย และการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ในการยับยั้งหรือทำลายแบคทีเรีย ได้แก่ การขัดขวางการสร้างส่วนต่างๆของเซลล์ ไม่ว่าจะเป็นการออกฤทธิ์ที่ระดับผนังเซลล์ ระดับเยื่อหุ้มเซลล์และระดับการสังเคราะห์ไซโตพลาสซึม (มาลิน, 2540)

กลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านแบคทีเรียที่สำคัญ (มาลิน, 2542) มีดังนี้

2.8.1 การยับยั้งการสร้างผนังเซลล์

แบคทีเรียมีผนังเซลล์เป็นส่วนที่อยู่นอกสุด ซึ่งเป็นชั้นที่แข็งแรงคงทนเพื่อทำหน้าที่ป้องกันเซลล์จากสภาพแวดล้อมภายนอก ผนังเซลล์แบคทีเรียมีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) ซึ่งประกอบด้วย N-acetyl muranmic acid และ N-acetyl glucosamine รวมตัวกัน สารต้านแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง จะออกฤทธิ์โดยการขัดขวางการสังเคราะห์องค์ประกอบเหล่านี้ ให้แบคทีเรียไม่สามารถสร้างผนังเซลล์ขึ้นมาได้และตายในที่สุด

2.8.2 การรบกวนหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์

เยื่อหุ้มเซลล์ เป็นส่วนที่ถัดจากผนังเซลล์เข้ามา มีหน้าที่ขัดขวางและป้องกันไม่ให้สารต่างๆ เข้าหรือออกจากเซลล์ง่ายเกินไป อีกทั้งมีหน้าที่ขนส่งเพื่อเลือกการนำสารเข้าหรือออกจากเซลล์ สารต้านแบคทีเรียนั้นจะเข้าไปรบกวนกระบวนการขนถ่ายอิเล็คตรอน ทำให้การสร้างพลังงานในเซลล์ลดลง ส่งผลกระทบต่อการทำงานภายในเซลล์ อีกทั้งยังทำลายสิ่งขวางกั้นของเยื่อหุ้มเซลล์ การออกฤทธิ์ในลักษณะนี้มีวิถีการออกฤทธิ์แบบฆ่าทำลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.3 การยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิค

กรดนิวคลีอิคที่สำคัญมี 2 ชนิด คือ กรดดิอีอกซิไรโบนิวคลีอิค หรือ ดีเอ็นเอ (deoxyribonucleic acid, DNA) และกรดไรโบนิวคลีอิค (ribonucleic acid, RNA) ซึ่งมีหน้าที่สำคัญในการเจริญและแบ่งตัวของเซลล์ เนื่องจากดีเอ็นเอเป็นสารพันธุกรรม ส่วนอาร์เอ็นเอเป็นแม่พิมพ์เพื่อใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนและเอนไซม์ ดังนั้น สารต้านแบคทีเรียที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างนิวคลีโอไทด์ ดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ จึงเป็นพวกที่ยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกซึ่งมีการออกฤทธิ์แบบฆ่าทำลาย ส่วนสารที่ออกฤทธิ์แบบยับยั้งมักเป็นพวกที่ยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิซึมที่มีส่วนเกี่ยวพันกับการสร้างกรดนิวคลีอิคเท่านั้น

2.8.4 การยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน

สารต้านจุลชีพที่มีฤทธิ์แบบยับยั้ง จะไปรบกวนการแปลรหัสอาร์เอ็นเอ (RNA) และ เอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) แต่กระบวนการสังเคราะห์โปรตีนเหล่านี้จะกลับสู่สภาพเดิม เมื่อความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ลดลงหรือหมดฤทธิ์ ส่วนสารที่ออกฤทธิ์แบบฆ่าทำลายจะเป็นพวกที่ทำให้เกิดการสร้างโปรตีนผิดปกติ โดยยับยั้งขั้นตอนเริ่มต้นของการสังเคราะห์โปรตีน ทำให้เกิด สารเชิงซ้อนที่บิดเบี้ยว และยังยับยั้งการสร้างพันธะเปปไทด์ ส่งผลให้โปรตีนที่สร้างมีความผิดปกติในเชิงหน้าที่ในเซลล์ และถ้าเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่สำคัญ หรือมีความผิดปกติมากก็จะทำให้เซลล์ตายได้

2.8.5 การรบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึม

สารต้านแบคทีเรียที่มีวิถีการออกฤทธิ์แบบนี้ ส่วนใหญ่มีโครงสร้างคล้ายสารที่ใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม จึงแย่งจับกับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องแทนสารที่ใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมดังกล่าวได้ การยับยั้งนี้สามารถคืนกลับสู่สภาพเดิม เมื่อปริมาณสารออกฤทธิ์ลดลงหรือหมดฤทธิ์ สารต้านแบคทีเรียที่มีกลไกแบบนี้จึงมักมีฤทธิ์เป็นแบบยับยั้ง

2.9 การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลินทรีย์ (Sensitivity test) (Mims และคณะ, 2004)

การสกัดและการศึกษาฤทธิ์ในการต้านจุลชีพ (antimicrobial activities) ของสมุนไพรมีข้อควรคำนึงถึง คือ วิธีการสกัด ชนิดและแหล่งของเชื้อที่ใช้ อายุและปริมาณของเชื้อที่ใช้ทดสอบและชนิดของวิธีการทดสอบ

การประเมินประสิทธิภาพของสารต้านจุลินทรีย์ทำได้หลายวิธี การทดสอบความไวของจุลินทรีย์ต่อสารต้านจุลินทรีย์ก็เป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถทดสอบได้ ซึ่งได้รับความนิยมหลังจากมีการผลิตยาต้านจุลินทรีย์ขึ้นเพื่อใช้ทางการค้าอย่างกว้างขวาง การทดสอบความไวของเชื้อต่อสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้านจุลินทรีย์มีหลายวิธีที่นิยมกัน ได้แก่ การทดสอบด้วยการให้สารแพร่ในอาหารวุ้น (agar diffusion method)

การทดสอบด้วยการให้สารแพร่ในอาหารวุ้นนี้ อาศัยหลักการแพร่ซึม (diffusion) โดยสารละลายที่ต้องการทดสอบ จะแพร่จากจุดเริ่มต้นออกไปในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้การวิเคราะห์ ความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์จะเป็นสัดส่วนกับระยะทางที่แพร่ออกไป ดังนั้นในความเข้มข้นหนึ่งจะพบว่า เชื้อจุลินทรีย์สามารถถูกยับยั้งการเจริญเติบโตได้ โดยปรากฏเป็นโซนใส (inhibition zone) ภายหลังจากบ่มครบเวลาที่กำหนด จึงอาจกล่าวได้ว่า ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสเป็นหน่วยมิลลิเมตรนี้ จะแสดงถึงความสามารถยับยั้งเชื้อได้มากน้อยเพียงใด ถ้าไม่เกิดโซนใสหรือโซนขนาดเล็กกว่ากำหนด จะถือว่าเชื้อต้านทาน (resistance) หรือกล่าวได้ว่าสารนั้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์น้อยหรือไม่มีฤทธิ์เลย ซึ่งขนาดของโซนใสจะขึ้นกับสมบัติทางเคมีกายภาพ (physicochemical properties) ของสารแต่ละชนิดที่มีผลให้อัตราการซึมผ่านวุ้น (diffusion rate) ต่างกัน

วิธีนี้ทำได้หลายรูปแบบขึ้นกับชนิดของสิ่งรองรับสารทดสอบ จึงมักเรียกชื่อวิธีตาม สิ่งรองรับที่ใช้ เช่น ถ้าสิ่งรองรับเป็นหลุมจากการเจาะอาหารวุ้น เรียกว่า วิธี agar-well diffusion method ถ้าสิ่งรองรับเป็นกระดาษซับกลมเรียกว่า วิธี agar-disc diffusion method เป็นต้น โดยทั่วไป การใช้สิ่งรองรับที่เป็นกระดาษซับกลมจะเป็นที่นิยมมากที่สุด แต่การตรวจสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดใช้สิ่งรองรับที่เป็นหลุมเจาะหรือถ้วยจะให้ผลเด่นชัดกว่า

ในขั้นต้นของการตรวจสอบศักยภาพการต้านจุลชีพของสารสกัด การใช้วิธีใช้สิ่งรองรับที่เป็นกระดาษซับกลม จะสะดวกและง่ายที่สุด ในการใช้เชื้อทดสอบสายพันธุ์ที่อ้างอิงในห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ดีสำหรับสารประกอบออกฤทธิ์ต้านเชื้อที่มีโมเลกุลใหญ่หรือแพร่ซึมยาก อาจตรวจสอบไม่พบการออกฤทธิ์ เพราะไม่มีบริเวณใสเกิดขึ้นให้เห็น ควรใช้วิธีการเจือจางโดยนำสารสกัดที่ทดสอบมาเจือจางในอาหารเหลว (broth dilution method) หรือการเจือจางในอาหารแข็ง (agar dilution method) ซึ่งจะกล่าวถึงการเจือจางในอาหารเหลวอย่างเดียวในหัวข้อถัดไป หลังจากได้ข้อมูลการต้านข้อมูลเชื้อของสารสกัดด้วยวิธีนี้แล้ว ควรดำเนินการตรวจหาค่า MIC หรือ MBC ของสารสกัดด้วยเพื่อใช้ประโยชน์ของค่าดังกล่าวในการตรวจสอบขั้นต่อไป

2.10 การหาความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (minimal inhibitory concentration, MIC) โดยเทคนิคการเจือจางในอาหารเหลว

เทคนิคการเจือจางในอาหารเหลว เป็นวิธีแรกที่นำมาใช้ในการหาค่าความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) และยังคงใช้อยู่ในปัจจุบัน วิธีนี้อาศัยหลักการติดตามการเจริญของจุลินทรีย์ปริมาณคงที่ในสารละลายต้านจุลินทรีย์ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ โดยทำ 2-fold

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

dilution ตามลำดับ มีหลอดควบคุม (control) เป็นอาหารเหลวที่ไม่มีสารต้านจุลินทรีย์ แล้วนำเชื้อที่ทดสอบในปริมาณที่เหมาะสม ใส่ลงสารละลายที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในปริมาณที่เท่ากัน ไปบ่มที่อุณหภูมิในเวลาที่กำหนด นำมาสังเกตความขุ่นที่เกิดขึ้น โดยใช้จุดตัดสิน (break point) คือ ระหว่างความเข้มข้นของสารที่แสดงผลเป็นสารละลายใส กับความเข้มข้นของสารที่แสดงผลเป็นสารละลายขุ่น เรียกความเข้มข้น ณ จุดดังกล่าวว่า MIC ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในหลอดทดลอง (*In vitro*) ได้ ถ้าเป็นการทดสอบกับยาจะรายงานผลเป็นหน่วยไมโครกรัมต่อมิลิลิตร เมื่อได้ค่า MIC มาแล้วให้นำความเข้มข้นของสารที่แสดงผลเป็นสารละลายใสในระดับสุดท้ายที่สูงกว่า MIC มาหยดในสารละลายที่เตรียมไว้ เพื่อทดสอบการเจริญของเชื้อ และวิเคราะห์หาความเข้มข้นต่ำสุดที่เชื้อไม่สามารถเจริญ หรือลดจำนวนลง 99.9 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นที่ได้จะเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ และในกรณีที่เป็นเชื้อแบคทีเรียจะใช้คำว่า minimal bactericidal concentration (MBC) ซึ่งค่านี้จะถูกเปรียบเทียบกับค่า MIC ถ้าค่าทั้งสองเท่ากันหรือไม่เกินสองความเข้มข้น แสดงว่า สารสกัดมีศักยภาพฆ่าเชื้อ แต่ถ้าต่างกันหลายความเข้มข้นแสดงว่า สารสกัดมีศักยภาพเฉพาะที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Mims และคณะ, 2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 สมุนไพรและเครื่องเทศ

ตัวอย่างพืชได้จากตลาดสดประทายสะเร็น จังหวัดสุรินทร์

- ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.)
- ผักเม็ก (*Kanchanaburi gratum* (Wight))
- ดอกคำฝอย (*Carthamus tinctorius* Linn.)
- ติ้ว (*Cratoxylum formosum* Dyer)
- หม่อน (*Morus alba* L.)
- แก้วมังกร (*Hylocercus undatus*)
- กระวาน (*Amomum krervanh*)
- ลูกพิกุล (*Mimusops elengi* Linn.)
- ย่านาง (*Tiliacora triandra* Diels)
- กล้วย (หัวปลี) (*Musa sapientum* Linn.)
- อบเชย (เปลือก) (*Cinnamomum zeylanicum* Breyn)

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์

- *Staphylococcus aureus* ATCC 12600
- *Listeria innocua* ATCC 33090
- เชื้อโยเกิร์ตสำเร็จรูป YC-370

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- Trypticase soy broth (TSB) (Merck, Germany)
- Trypticase soy ager (TSA) (Merck, Germany)
- Yeast extracts (Scharlau, Germany)
- Agar (Merck, Germany)
- M-17 agar (Merck, Germany)
- MRS agar (Merck, Germany)
- MRS broth (Merck, Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Baird-parker medium (Merck, Germany)

3.1.4 สารเคมี

- เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์
- Chloramphenicol (Oxoid, England)

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- Autopipette (Eppendorf Research, USA.)
- ตู้บ่มเชื้อ (Memmert, Germany)
- เครื่องระเหยสุญญากาศ (Buchi Rotavapor, Switzerland)
- เครื่องบดหยาบ (BMX-T120N, Japan)
- เครื่องชั่งชนิดละเอียด (M-3000, Switzerland)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (B-480, Switzerland)
- เครื่องเขย่า (Gerhardt, Germany)
- เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (TAXT Plus, Germany)
- กระดาษซับกลมขนาด 6 มิลลิลิตร

3.3 สถานที่ดำเนินงาน

คณะเกษตรและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมตัวอย่างพืชและเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

3.4.1.1 การเตรียมตัวอย่างพืช ดัดแปลงจากวิธีของ Toshihide และคณะ (2000)

นำพืชสด มาล้างน้ำด้วยน้ำกรองให้สะอาด ผึ่งจนแห้ง หั่นเป็นชิ้นขนาดเล็ก และนำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงบดพืชด้วยเครื่องบดแห้งให้เป็นผง

ชั่งตัวอย่างผงพืช 10 กรัมใส่ขวดลูกชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วนพืชต่อเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 1 : 4 คนผสมให้เข้ากัน ปิดปากขวดให้สนิทแล้วหุ้มฟอยล์ให้รอบขวด นำเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ณ อุณหภูมิห้อง นำสารสกัดที่ได้กรองผ่านกรวยกรองบุชเนอร์ด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และทำให้ปลอดเชื้อ โดยกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมครอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เก็บตัวอย่างสารที่สกัดได้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส และแบ่งสารสกัดบางส่วนหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้

3.4.1.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* และ *L. innocua* ที่ใช้ทดสอบในอาหารเหลว

นำหลอดเก็บเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ (stock culture) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มาเขี่ยด้วยห่วงเขี่ยเชื้อ (loop) จำนวน 1 ลูป ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB-YE ปริมาณ 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18 - 24 ชั่วโมง จะได้สารแขวนลอยของเซลล์ (cell suspension)

นำสารแขวนลอยของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ไปเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน ด้วยอาหารเหลว TSB-YE จากนั้นแบ่งสารละลายแขวนลอยที่ได้เป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำไปวัดค่าความขุ่น (OD) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ส่วนที่ 2 นำไปตรวจสอบจำนวนเชื้อโดยวิธีเกลี่ยบนผิวหน้าอาหารแข็ง (spread plate) โดยใช้อาหารแข็ง TSA-YE บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และนับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร แล้วจึงนำผลการทดลองที่ได้มาเขียนกราฟมาตรฐาน (standard curve) ระหว่างค่าความขุ่นกับจำนวนของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ (log CFU / ml) แต่ละชนิด เพื่อใช้ในการคำนวณหาระดับการเจือจางสารแขวนลอยของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ในการทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ ที่กำหนดให้มีความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้นประมาณ10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ผลการทดลองแสดงดังภาคผนวก ข

3.4.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเครื่องเทศหรือสมุนไพรด้วยวิธี agar disc diffusion

นำสารสกัดจากพืชที่สกัดด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ที่ได้จากข้อ 3.4.1.1 มาทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี agar disc diffusion (ดัดแปลงจากวิธีการของ แสงระวี, 2543)

การทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ทำโดย เพาะเลี้ยงเชื้อลงในอาหารแข็งด้วยวิธี Double layer (ดัดแปลงจากวิธีของ Oonmetta-aree และคณะ, 2006) โดยชั้นที่ 1 จะเทอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA-YE เตรียมไว้ 15 มิลลิลิตรต่อจานเพาะเลี้ยงเชื้อ ตั้งทิ้งไว้จนแข็ง จากนั้นจะเตรียมเทอาหารแข็งชั้นที่ 2 โดยการปิเปตสารแขวนลอยของเซลล์เชื้อ10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 50 ไมโครลิตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA-YE ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ที่ยังไม่แข็งตัว ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ผสมให้เข้ากัน จะได้จำนวนเชื้อในการทดสอบเริ่มต้นเท่ากับ 10^6เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นจึงเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงบนผิวหน้าอาหารชั้นที่ 1 และหมุนจานอาหารให้อาหารชั้นบนกระจายทั่วจานอาหารและรอให้อาหารชั้นที่ 2 แข็งตัว

หยดสารสกัดจากพืช ปริมาณ 80 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษซับกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรที่ปราศจากเชื้อ รอให้ตัวทำละลายระเหยจนแห้ง จากนั้นคีบกระดาษซับกลมไปวางลงบนผิวหน้าอาหารข้างต้น ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นาน 24 ชั่วโมง แปลผลการทดลองโดยใช้เวอร์เนียมิเตอร์วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (inhibition zone) รอบกระดาษซับกลมและรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยของโซนใสโดยมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

การควบคุมทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *L. innocua* จะใช้เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นชุดควบคุมที่ให้ผลเชิงลบ (negative control) และใช้ยาปฏิชีวนะคลอแรมฟินิคอล (chloramphenicol) ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมที่ให้ผลเชิงบวก (positive control) โดยการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์สามารถแสดงดังภาพที่ 3.1

ภาพที่ 3.1 แผนภูมิภาพวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียลงในอาหารแข็งด้วยวิธี double layer ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี agar disc diffusion

3.4.3 การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (minimal inhibitory concentration, MIC)

3.4.3.1 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ด้วยวิธี agar disc diffusion

คัดเลือกสารสกัดพืชที่ให้ผลการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์สูงที่สุดจากผลการทดลองในข้อ 3.4.2 นำมาหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยทำการเจือจางสารสกัดจากพืชที่ได้จากข้อ 3.4.1.1 ด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ลงไปอีก 5 ลำดับในอัตราส่วน 1:2 (two-fold dilution) แล้วจึงนำสารละลายที่ความเข้มข้นต่างๆ ทั้ง 6 ระดับ ความเข้มข้นไปทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการเดียวกับข้อ 3.4.2 เพื่อหาปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยับยั้งให้เกิดโซนใสของจุลินทรีย์รอบๆกระดาษซับกลม โดยความเข้มข้นลำดับต่ำสุดของสารสกัดพืชที่ทำให้เกิดโซนใสรอบกระดาษซับกลม จะเป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) ของสารสกัดจากพืชที่มีต่อจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆ

3.4.3.2 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ด้วยวิธี broth dilution method

นำพืชที่ให้ผลการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เชิงบวก (positive control) จากข้อ 3.4.2 นำมาทำการทดสอบด้วยวิธีเจือจางในอาหารเหลว (ตามวิธีการของ Sahin และคณะ, 2003) โดยวิธีการเตรียมตัวอย่างและขั้นตอนมีดังต่อไปนี้

1) การเตรียมสารสกัดจากพืช

ชั่งตัวอย่างพืชบดละเอียด 50 กรัม และเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ใส่ขวดลูกชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปิดฟอยล์ให้รอบขวด แล้วนำเข้าเครื่องเขย่าเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ณ อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้กรองผ่านกรวยบุชเนอร์ด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จะได้สารสกัดจากพืชในส่วนที่ 1 ซึ่งจะเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำกากพืชมาทำการสกัดซ้ำอีกครั้ง โดยเติมตัวทำละลาย 200 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องเขย่าเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ณ อุณหภูมิห้อง แล้วจึงกรองเช่นเดียวกัน

นำสารสกัดที่ได้ไปผสมกับสารสกัดส่วนที่ 1 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศที่ 200 มิลลิบาร์ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารสกัดเข้มข้น มาทำแห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (lyophilization) โดยนำสารสกัดเข้มข้นใส่ในบีกเกอร์แล้วทำให้สารสกัดแข็งตัวด้วยการแช่ลงในน้ำแข็งแห้ง แล้วจึงนำเข้าเครื่อง Lyophilizer นำผงสารสกัดแห้งที่ได้เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส เมื่อทดสอบจะละลายด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำไปกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมครอน เพื่อทำให้สารสกัดปราศจากเชื้ออีกครั้ง

2) การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

ใช้วิธีการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการเดียวกับข้อ 3.4.2 โดยกำหนดให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีปริมาณจุลินทรีย์ทดสอบที่ความเข้มข้น 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

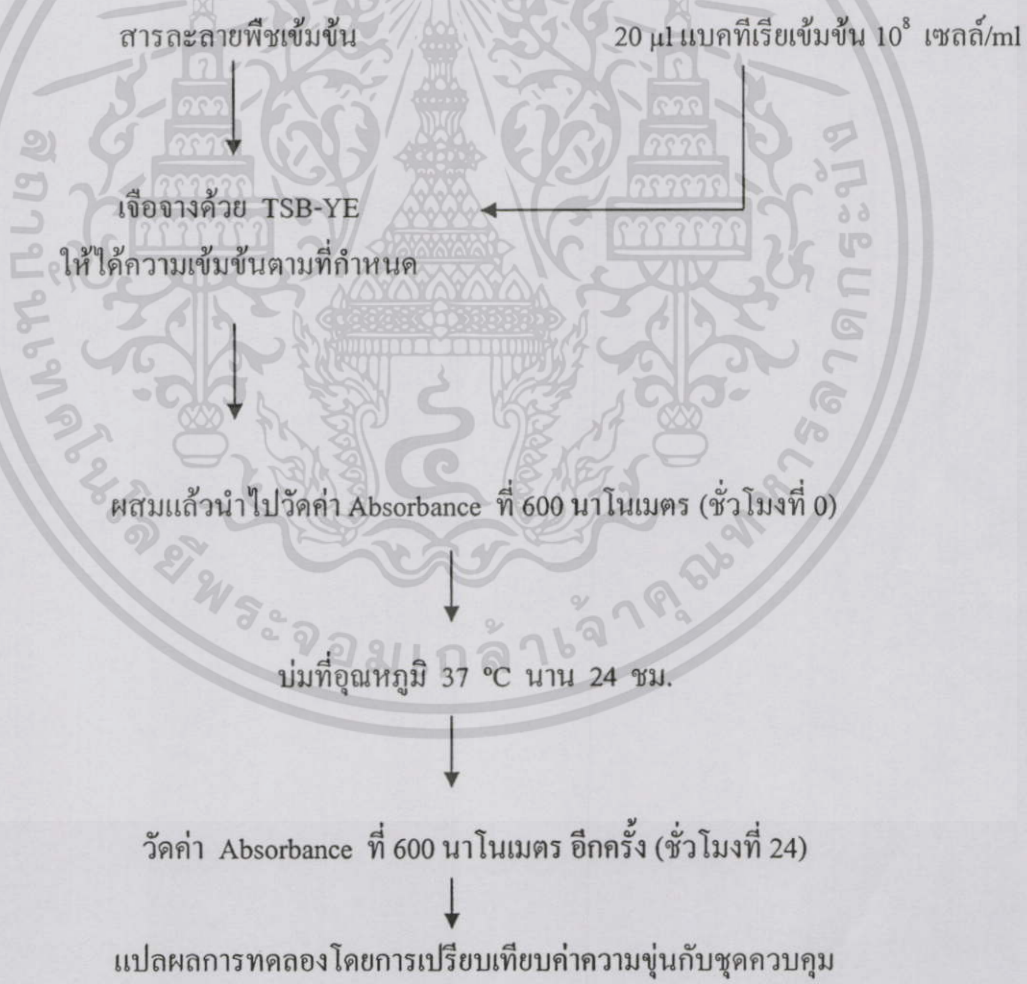
3) การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ปิเปต 5 มิลลิลิตรของสารสกัดพืชเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ลงใน 5 มิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB-YE ที่มีความเข้มข้นสองเท่า ผสมให้เข้ากัน จะได้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดพืชเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้น ทำการเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดพืชด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB-YE ที่มีความเข้มข้นตามปกติลงไปอีก 5 ลำดับ ในอัตราส่วน 1:2 (two-fold dilution)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปิเปต 2 มิลลิลิตร ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดพืชลงในหลอดปราศจากเชื้อ ทำเช่นเดียว กันในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดพืชเข้มข้นอื่นๆ จากนั้นเติมสารแขวนลอยจุลินทรีย์ลงในแต่ละหลอด ๆ ละ 20 ไมโครลิตร แล้วจึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจผลโดยใช้วิธีการนับจำนวนเชื้อที่เกลี่ยบนผิวหน้าอาหารแข็ง (log CFU/ml) เนื่องจาก อาหารที่มีสารสกัดพืชมีสีเข้ม ทำให้ไม่สามารถสังเกตเห็นการเจริญของเชื้อได้ ดังนั้น ค่า MIC ของสารสกัดที่มีต่อเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆ วิเคราะห์จากความเข้มข้นของสารสกัดพืชที่จำนวนเชื้อ ณ เวลา 24 ชั่วโมงไม่แตกต่างทางสถิติจากจำนวนเชื้อที่เติมลงหรือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง การวิเคราะห์หา MIC ใช้วิธีที่ดัดแปลงจากวิธีการของ Sydney และ Ellen (1986) สามารถแสดงดังภาพที่ 3.2

การทดลองนี้ กำหนดชุดควบคุม (control) คือ อาหารเหลว TSB-YE (negative control), อาหารเหลวผสมสารแขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์ (positive control) และ อาหารเหลวผสมสารสกัดแต่ละระดับความเจือจาง (color control)



ภาพที่ 3.2 แผนภูมิภาพวิธีการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยวิธี broth dilution method

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองหาค่า MIC ด้วยการลดความเข้มข้นในอัตราส่วน1:2 (two-fold dilution) นำผลการทดลองมาหาค่า MIC ให้มีค่าที่แน่นอนด้วยวิธีการเช่นเดียวกัน แต่ปรับเปลี่ยนความเข้มข้นให้อยู่ในช่วงที่ต้องการ

3.4.4 ผลของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในกระบวนการผลิตโยเกิร์ต

นำนมสดจากโรงนมราชมงคลสุรินทร์ 900 กรัม มาวัดปริมาณของแข็งทั้งหมด โดยวิธีการอบแห้ง จากนั้นจึงปรับปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid) ให้เป็น 18 เปอร์เซ็นต์โดยการคำนวณตามวิธี Person's square และคำนวณหาปริมาณหางนมผง (ตรามิชชัน) ที่ต้องใช้ในการปรับปริมาณของแข็งทั้งหมด ซึ่งเท่ากับ 7.86 กรัม และ เติมสเตบิไลเซอร์ 6.78 กรัม

นำส่วนผสมที่ได้ไปทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ (homogenizer) โดยใช้ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที และทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส แล้วจึงปิเปตน้ำนมด้วยวิธีปลอดเชื้อใส่ลงในหลอดๆ ละ 10 มิลลิลิตร โดยแบ่งการทดลองออก 5 การทดลอง แต่ละการทดลองจะเติมองค์ประกอบที่แตกต่างกันดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบของโยเกิร์ต

การทดลอง	เชื้อโยเกิร์ต (กรัม)	*S. aureus* (ไมโครลิตร)	สารสกัดขมิ้นชัน (มิลลิลิตร)
1	0.002	-	-
2	0.002	-	1
3	-	20	-
4	0.002	20	-
5	0.002	20	1

หมายเหตุ : *S. aureus* (ปริมาณของเชื้อในนมเท่ากับ10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดขมิ้นชันเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

นำส่วนผสมที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วทำการตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีเกลี่ยเชื้อบนอาหารแข็งทุกๆ 2 ชั่วโมง โดยการทดลองที่ 1 และ 2 จะนับจำนวนเชื้อโยเกิร์ตด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ M17 และทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน แล้วจึงนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น ส่วนการทดลองที่ 3, 4 และ 5 จะเกลี่ยเชื้อบน อาหารแข็ง Baird-parker medium และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วจึงนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5 การยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบต่อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตผสมสารสกัดจากขมิ้นชัน

เตรียมส่วนผสมสำหรับทำโยเกิร์ตเช่นเดียวกันกับข้อ 3.4.4 โดยเพิ่มอัตราส่วนให้ได้โยเกิร์ตจำนวน 4.5 ลิตร ภายหลังจากการฆ่าเชื้อด้วยวิธีพาสเจอร์ไรซ์ และลดอุณหภูมิลงแล้วจึงเติมสารสกัดจากขมิ้นชัน 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเชื้อโยเกิร์ต 0.96 กรัม จากนั้นแบ่งบรรจุลงในถ้วยปลอดเชื้อ ถ้วยละ 150 มิลลิลิตร ปิดฝาและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง สำหรับโยเกิร์ตควบคุมจะทำเช่นเดียวกันแต่ไม่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน

นำโยเกิร์ตที่ได้ไปวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ การยอมรับทางประสาทสัมผัส และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติกับโยเกิร์ตควบคุม ดังนี้

1) การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture) ด้วยเครื่อง Texture analyzer

ทำการวิเคราะห์คุณภาพลักษณะเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตด้วยเครื่อง Texture analyzer โดยใช้หัววัด Back Extrusion Cell (A/BE) 35 มิลลิเมตร นำโยเกิร์ตสูตรควบคุมและสูตรทดสอบมาวัดค่าความแข็ง (hardness), การเกาะผิว (adhesiveness), การรวมตัวกันของอาหาร (cohesiveness) และความคงตัว (consistency) (ภาคผนวก ก)

2) การวิเคราะห์หาปริมาณกรด (Titratable Acidity) (AOAC , 1995) (ภาคผนวก ก)

3) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH meter)

4) การยอมรับทางประสาทสัมผัส

ทำการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบต่อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 40 คน ด้วยการประเมินคุณภาพทางด้าน สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม ด้วยวิธี 7 points Hedonic scale โดยแบ่งคะแนนดังนี้ 1 คือ ไม่ชอบมากที่สุด 2 คือ ไม่ชอบมาก 3 คือ ไม่ชอบ 4 คือ เฉยๆ 5 คือ ชอบ 6 คือ ชอบมาก และ 7 คือ ชอบมากที่สุด

3.5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองตามวิธีการข้อ 3.4.2 และ 3.4.5 โดยการวางแผนการทดลองแบบ CRD นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยโปรแกรมสำเร็จรูป (SPSS Version 16) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยข้อมูลโดยวิธี T- test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ผลการศึกษาสารสกัดจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ทั้งหมด 11 ชนิด ได้แก่ อบเชย ผักติ้ว คำฝอย แก้วมังกร กระวาน หม่อน ขมิ้นชัน ย่านาง พิกุล หัวปลี และผักเม็ก จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ของสมุนไพรและเครื่องเทศ มีความเข้มข้นระหว่าง 4.35 - 10.24 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยสารสกัดจากผลหม่อน มีเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารสกัดสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 10.24 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) รองลงมาได้แก่ ขมิ้นชัน มีความเข้มข้น 10.15 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ส่วนสารสกัดจากหัวปลี มีความเข้มข้นของสารสกัดต่ำที่สุดมีค่าเท่ากับ 4.35 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) แสดงว่า สมุนไพรและเครื่องเทศแต่ละชนิด มีปริมาณของสารประกอบที่สามารถละลายได้แตกต่างกัน ผลหม่อนซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดสูงสุดแสดงว่า สารที่มีอยู่ในผลหม่อนสามารถละลายในเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ได้ดี ดังนั้น การเลือกชนิดตัวทำละลายและวิธีที่ใช้ในการสกัดจึงมีผลต่อปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดด้วย นอกจากนั้น ยังพบว่าสารสกัดจากผลหม่อนจะมีความเข้มข้นสูงกว่าใบหม่อน ส่วนสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรจะมีความเข้มข้นมากกว่าเนื้อแก้วมังกร แสดงว่า แต่ละส่วนของพืชจะมีความสามารถในการละลายได้ไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับปริมาณของสารที่มีอยู่ในส่วนนั้นๆ สมุนไพรและเครื่องเทศชนิดเดียวกันยังให้ความเข้มข้นไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบแต่ละส่วนของปริมาณสารที่ละลายออกมา (บัวบาน, 2541)

ผลการศึกษาสารสกัดจากพืช ได้แก่ อบเชย ผักติ้ว ดอกคำฝอย แก้วมังกร ใบกระวาน ใบหม่อน ขมิ้น ลูกหม่อน และผักเม็ก ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Listeria innocua* ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่า พืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ *S. aureus* มี 6 ชนิด คือ ขมิ้นชัน ผลหม่อน ใบติ้ว ย่านาง ผักเม็ก และผลพิกุล ส่วนพืชที่สามารถยับยั้ง การเจริญของเชื้อ *L. innocua* มี 3 ชนิด คือ ขมิ้นชัน ผลหม่อน และเนื้อแก้วมังกร โดยสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญจะต้องทำให้เกิดโซนใสรอบกระดาษซับกลม (paper disc) ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 6 มิลลิเมตร จากผลการทดสอบพบว่า สารสกัดแต่ละชนิดให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกันออกไป เนื่องจากพืชแต่ละชนิดจะมีปริมาณสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งไม่เท่ากัน นอกจากนั้น ชนิดของสารและกลไกการออกฤทธิ์ต่อเชื้อจุลินทรีย์แต่สายพันธุ์ยังแตกต่างกันด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนพืชที่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ *S. aureus* คือ เปลือกและเนื้อแก้วมังกร ใบกระวาน ดอกคำฝอย ใบหม่อน อบเชย และหัวปลี สำหรับพืชที่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ *L. innocua* คือ เปลือกแก้วมังกร ใบติ้ว ใบกระวาน ผักเม็ก ดอกคำฝอย ย่านาง ใบหม่อน ดอกอบเชย หัวปลี และพิกุล

ตารางที่ 4.1 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดพืชสมุนไพรและเครื่องเทศชนิดต่างๆ ด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์

ตัวอย่างพืช	ส่วนของพืช	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (น้ำหนักต่อปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)*	
			S. aureus	*L. innocua*
แก้วมังกร	เปลือก	9.96	-	-
	เนื้อ	5.23	-	7.22 ± 0.30^{a}
หม่อน	ผล	10.24	11.66 ± 0.45^{b}	7.42 ± 0.25^{a}
	ใบ	5.43	-	-
ติ้ว	ใบ	5.37	9.83 ± 0.30^{c}	-
กระวาน	ใบ	5.79	-	-
ผักเม็ก	ใบ	8.55	8.83 ± 0.55^{c}	-
คำฝอย	ดอก	8.78	-	-
ย่านาง	ใบ	5.96	9.36 ± 0.10^{c}	-
อบเชย	ดอก	9.36	-	-
หัวปลี	หัวปลี	4.35	-	-
พิกุล	ผล	9.19	9.20 ± 0.10^{c}	-
ขมิ้นชัน	หัว	10.15	16.23 ± 0.25^{a}	7.46 ± 0.34^{a}

หมายเหตุ: (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

สารสกัดจากสมุนไพรและเครื่องเทศที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด คือ ขมิ้นชัน (ตารางที่ 4.1) โดยสารสกัดมีความเข้มข้น 10.15 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทั้งสอง 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. aureus* และ *L. innocua* อีกทั้งยังมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีขนาดวงใสเท่ากับ 16.23 ± 0.25 มิลลิเมตร ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าวงใสของสารสกัดจากพืชชนิดอื่นๆ ผลการทดลองสอดคล้องกับ Guenther (1952)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ทดลองใช้น้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชัน ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยมีความเข้มข้นต่ำสุด 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในการยับยั้งเชื้อดังกล่าว พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชันสามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้ ต่อมา Martha (1983) ทำการทดลองสารสกัดจากขมิ้น ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* พบว่า ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้ ซึ่งผลเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการทดลองของ Farag และคณะ(1989) ได้ทดลองประสิทธิภาพเครื่องเทศในประเทศอียิปต์ 6 ชนิด พบว่า ขมิ้นมีประสิทธิภาพสูงกว่าเครื่องเทศชนิดอื่นๆในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก

สำหรับเชื้อ *L. innocua* พบว่า สารสกัดจากขมิ้นชันความเข้มข้น 10.15 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) มีผลในการยับยั้งเชื้อโดยมีขนาดวงใสเท่ากับ 7.46 ± 0.34 มิลลิเมตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสารสกัดจากพืชชนิดอื่นๆ ที่ให้ผลในการยับยั้ง (ตารางที่ 4.1) ทั้งที่มีความเข้มข้นของสารสกัดไม่เท่ากัน แสดงว่า ความเข้มข้นของสารสกัดไม่สามารถบ่งบอกถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิด ปริมาณ และกลไกในการยับยั้งเชื้อของสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในสารสกัดนั้นๆ สารสำคัญที่พบในเหง้าขมิ้นชันมีน้ำมันหอมระเหยซึ่งเป็นน้ำมันสีเหลือง sesquiterpene ketone โดยส่วนใหญ่เป็น tumerone นอกจากนี้ ยังมีสาร Ar-tumerone, α-atlantone, zingiberene, borneol และสารสีเหลืองส้ม curcumin (รุ่งรัตน์, 2540) สาร curcumin นี้ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ (www.elib-online.com/doctors2/herb_curcuma, 2009) ดังนั้น การสกัดด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ในการทดลองนี้ จึงทำให้สารชนิดนี้สามารถละลายออกมาในสารสกัดในปริมาณมาก ซึ่งสาร curcumin นี้มีรายงานถึงฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* (Dahl และ คณะ, 1989) สอดคล้องกับผลการทดลองที่สารสกัดจากขมิ้นชันสามารถยับยั้ง *S. aureus* อีกทั้งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อชนิดนี้สูง เนื่องจากเกิดวงใสที่มีขนาดใหญ่กว่าสารสกัดจากพืชชนิดอื่นๆ

สารสกัดจากผลหม่อนความเข้มข้น 10.24 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียรองลงมาจากสารสกัดจากขมิ้นชัน โดยสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *L. innocua* ได้ทั้งสองชนิดเช่นเดียวกัน แต่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้น้อยกว่าขมิ้นชัน โดยสารสกัดจากผลหม่อนให้ขนาดวงใสเท่ากับ 11.66 ± 0.45 มิลลิเมตร ในขณะที่ขมิ้นชัน ให้ขนาดวงใสเท่ากับ 16.23 ± 0.25 มิลลิเมตร ส่วนการยับยั้งเชื้อ *L. innocua* ของสารสกัดจากผลหม่อน มีขนาดวงใสเท่ากับ 7.42 ± 0.25 มิลลิเมตร ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลของสารสกัดจากขมิ้นชันที่ให้ผลในการยับยั้งเชื้อเช่นเดียวกัน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1)

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า ความเข้มข้นสารสกัดของผลหม่อนและขมิ้นชันมีค่าใกล้เคียงกัน คือ 10.15 และ 10.24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่สารสกัดทั้งสองให้ผลในการยับยั้งในเชื้อที่แตกต่างกัน โดยให้ผลแตกต่างในเชื้อ *S. aureus* และให้ผลใกล้เคียงกันในเชื้อ *L. innocua* แสดงว่า สารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในสารสกัดทั้งสองชนิดอาจมีกลไกในการออกฤทธิ์ต่อเชื้อ *L. innocua*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่คล้ายคลึงกันหรือแตกต่างกันก็ได้ แต่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อดังกล่าวได้อย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่สารออกฤทธิ์ในสารสกัดทั้ง 2 มีผลการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันในเชื้อ *S. aureus* แสดงว่า เชื้อ *S. aureus* มีความไวต่อสารสกัดจากขมิ้นชันมากกว่า สารสกัดจากผลหม่อน

นอกจากนั้นยังพบว่า สารสกัดจากส่วนของใบหม่อนซึ่งมีความเข้มข้นของสารสกัด 5.43 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) และมีค่าต่ำกว่าสารสกัดจากผลหม่อน ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบทั้งสองชนิดได้ แสดงให้เห็นว่า สารออกฤทธิ์บางชนิดอาจมีอยู่ในเฉพาะส่วนของพืช หรืออาจมีในปริมาณน้อย จึงทำให้สารสกัดจากพืชชนิดเดียวกันจากในแต่ละส่วนมีฤทธิ์ต่อการยับยั้งเชื้อที่ต่างกันได้ ส่วนของพืช อาทิ เปลือก ใบ ราก มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดได้ไม่เท่ากัน (Schionor และ คณะ, 2007) อย่างไรก็ตาม ณรงค์ (2543) รายงานว่า ในส่วนใบหม่อน ประกอบด้วยสารสำคัญได้แก่ กลุ่มสารประกอบฟลาโวนอยด์ ไฟโตสเตียรอล ไตรเทอร์ปีน แอลคาลอยด์ เซราไมด์ และน้ำมันหอมระเหย ซึ่งอาจมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย แต่จากผลการทดลองพบว่า ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ ดังนั้น จึงอาจเนื่องจากวิธีการสกัด แหล่งของพืช และการเพาะปลูก ที่ทำให้สารสำคัญในสารสกัดมีความเข้มข้นต่ำ จึงไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย หรือสารเหล่านี้สามารถละลายในเอทานอลได้ต่ำ

ผลการทดลองมีบางส่วนสอดคล้องกับการทดลองของ ปิยวรรณ (2545) ซึ่งทดสอบสารสกัดหยาบของสมุนไพร 12 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่ผิวหนัง ได้แก่ *S. aureus* ด้วยวิธี disc diffusion method พบว่า สารสกัดหยาบจากสมุนไพรจำนวน 10 ชนิด รวมถึง ผลหม่อน และใบหม่อนให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ โดยมีความเข้มข้นต่ำที่สุดเท่ากับ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ ในการทดลองนี้พบว่า สารสกัดจากใบหม่อนไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง ทั้งนี้การที่ผลการทดลองของสารสกัดจากใบหม่อนขัดแย้งกันนั้น อาจเนื่องมาจากสายพันธุ์ของใบหม่อน ชนิดของใบ อายุ และสถานที่ปลูกทำให้ได้ผลที่แตกต่างกัน

สารสกัดจากพืชบางชนิดมีความเข้มข้นไม่เท่ากัน แต่ให้ผลในการยับยั้งเชื้อไม่ต่างกัน โดยสารสกัดจากใบติ้ว ย่านาง ผักเม็ก และผลพิกุล (ความเข้มข้น 5.37, 5.96, 8.55 และ 9.19 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อ *L. innocua* แต่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* เช่นกัน และมีขนาดวงใสที่ใกล้เคียงกัน คือ 9.83 ± 0.30, 9.36 ± 0.10, 8.83 ± 0.55 และ 9.20 ± 0.10 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแล้วพบว่า สารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด (ใบติ้ว ย่านาง ผักเม็ก และผลพิกุล) ให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารสำคัญที่พบในย่านาง คือ isoquinolone alkaloid ซึ่งอาจมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (กมลทิพย์, 2543) ส่วนในใบติ้ว ผักเม็ก และผลพิกุล นิยมใช้เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้าน (ศูนย์พัฒนาตำราการแพทย์แผนไทย, 2547) ดังนั้น อาจมีสารสำคัญบางชนิดที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถยับยั้งเชื้อได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวิธีการสกัด และตัวทำละลายที่ใช้ซึ่งมีผลต่อการละลายของสารออกฤทธิ์จากพืชเหล่านี้ด้วย

สารสกัดจากเนื้อแก้วมังกรความเข้มข้น 5.23 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ให้ผลในการยับยั้งเชื้อเพียงชนิดเดียวคือ *L. innocua* โดยมีขนาดวงใสเท่ากับ 7.22 ± 0.30 มิลลิเมตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับขนาดวงใสของสารสกัดจากขมิ้นชันและผลหม่อน (7.46 ± 0.34 และ 7.42 ± 0.25 มิลลิเมตร) แสดงว่า ความเข้มข้นที่ต่างกันของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิด อาจมีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดเดียวกันได้ใกล้เคียงกัน ขึ้นอยู่กับชนิดและการออกฤทธิ์ของสารสกัด นอกจากนั้นยังพบว่า สารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรให้ผลการยับยั้งที่แตกต่างจากเนื้อแก้วมังกรและไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองชนิด ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลของสารสกัดจากผลและใบหม่อนซึ่งให้ผลในการยับยั้งเชื้อแตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากแต่ละส่วนของพืชชนิดเดียวกัน อาจมีผลในการยับยั้งเชื้อต่างกันได้ ผลของสารสกัดจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้สอดคล้องกับการทดลองของอัมพร (2540) ที่ได้ทำการทดลองสารสกัดจากเปลือกผลไม้ 16 ชนิด รวมถึง เปลือกแก้วมังกร ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยใช้วิธีสกัดหยาบด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เปลือกแก้วมังกรไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

ส่วนสารสกัดจากใบกระวาน ดอกคำฝอย อบเชย และหัวปลี ที่ความเข้มข้น 5.79, 8.78, 9.36 และ 4.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่า ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *L.innocua* ผลการทดลองสอดคล้องกับปิยวรรณ (2545) ได้ทำการทดลองสารสกัดหยาบของสมุนไพร 12 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่ผิวหนัง คือ *S. aureus* ด้วยวิธี disc diffusion method พบว่า หัวปลีและใบกระวาน ไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิด อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่า เมล็ดกระวานประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยประมาณ 2.8-6.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีสารสำคัญส่วนใหญ่เป็น terpinyl acetate และ cineol (สุพจน์, 2543) และสารเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ (Aunphak และคณะ, 1998) ดังนั้น จะเห็นว่ารายงานนี้มีความขัดแย้งกับผลการทดลอง ทั้งนี้อาจเนื่องจากส่วนของพืชมีความแตกต่างกัน โดยในส่วนของเมล็ดกระวานอาจมีสารที่ออกฤทธิ์ ที่แตกต่าง หรือมีปริมาณมากกว่าส่วนใบ ส่วนผลการทดลองของสารสกัดจากดอกคำฝอย พบว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ ซึ่งสอดคล้องกับ Guenther (1952) ที่ได้ทำการทดลอง ใช้น้ำมันหอมระเหยจากดอกคำฝอยในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยใช้ความเข้มข้นต่ำสุด 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากดอกคำฝอยไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อดังกล่าว ซึ่งสารพฤกษเคมีที่สำคัญในดอกคำฝอย ได้แก่ safflower yellow และ carthamin (ดวงกมล, 2540) แต่สารเหล่านี้อาจไม่มีผลในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกลไกในการยับยั้งและ สายพันธุ์ของแบคทีเรีย

ผลการทดลองของสารสกัดอบเชยพบว่า ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ ซึ่งขัดแย้งกับรายงานของ Chang และคณะ (2001) ที่ได้ทำการทดลองน้ำมันหอมระเหยจากต้นอบเชยซึ่งมีฤทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการยับยั้งแบคทีเรีย 9 สายพันธุ์ โดยที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ 2 สายพันธุ์ ความแตกต่างของผลการทดลองอาจเนื่องมาจากองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหย มีปริมาณและชนิดของสารที่มีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียมากกว่าสารสกัดจากเอทานอล จึงส่งผลให้ผลการทดลองมีความแตกต่างกัน นอกจากนั้น วิธีที่ใช้ในการสกัดหรือส่วนของพืชที่ใช้สกัด พันธุ์ของอบเชย อายุการเก็บเกี่ยว และสถานที่ปลูก อาจมีผลต่อการทดลองได้เช่นกัน มีรายงานว่า น้ำมันจากเปลือกอบเชยจากการสกัดด้วยวิธีกลั่นด้วยไอน้ำ มีองค์ประกอบของสารสำคัญหลายชนิด เช่น ซินนามาลดีไฮด์, ยูจีนอล, เบนซาลดีไฮด์, เฟลแลนดรีน, ไพนีน และไลซาลดีไฮด์ เป็นต้น (http://staff.buu.ac.th/~wongduen/sour.html, 2009) และสารเหล่านี้มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (พรทิพย์และธารจิต, 2543) ซึ่งขัดแย้งกับ ผลการทดลองครั้งนี้อันอาจเนื่องมาจากวิธีที่ใช้สกัดสารมีความแตกต่างกัน สารที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียอาจอยู่ในลักษณะของน้ำมันหอมระเหยมากกว่าสารสกัดจากเอทานอล และส่วนของพืชที่ใช้ในการสกัดก็มีความแตกต่างกันด้วย ปัจจัยเหล่านี้จึงอาจเป็นสาเหตุให้ผลการทดลองมีความขัดแย้งกันด้วย

จากผลการทดลองสารสกัดจากเครื่องเทศและสมุนไพรที่ใช้เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.1) พบว่า มีสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ทั้งหมด 6 ชนิด (ขมิ้นชัน ผลหม่อน ใบติ้ว ย่านาง ผักเม็ก และผลพิกุล) โดยมีขนาดวงใสอยู่ระหว่าง 8.83 ± 0.55 ถึง 16.23±0.25 มิลลิเมตร ในขณะที่เชื้อ *L. innocua* มีเพียงเครื่องเทศและสมุนไพร 3 ชนิดที่ให้ผลยับยั้ง (ขมิ้นชัน เนื้อแก้วมังกร และผลหม่อน) และมีขนาดวงใสอยู่ระหว่าง 7.22 ± 0.30 ถึง 7.46±0.34 มิลลิเมตร ซึ่งเห็นได้ว่า สารสกัดจากพืชส่วนใหญ่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าเชื้อ *L. innocua* โดยพิจารณาจากจำนวนชนิดพืชที่ให้ผลในการยับยั้งและขนาดวงใสในเชื้อ แสดงว่าเชื้อ *L. innocua* มีความต้านทานต่อสารสกัดมากกว่าเชื้อ *S. aureus* ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างและสัณฐานวิทยาของเชื้อ *L. innocua* มีลักษณะที่ทนต่อการออกฤทธิ์ของยาและสารเคมีได้มากกว่าเชื้อ *S. aureus* (ปรีชา, 2537) จึงส่งผลให้เชื้อ *S. aureus* มีความไวต่อสารสกัดมากกว่าเชื้อ *L. innocua*

เนื่องจากมีสารสกัดจากเครื่องเทศและสมุนไพรเพียง 3 ชนิด ที่ให้ผลยับยั้งเชื้อ *L. innocua* และมีวงใสขนาดเล็ก (7.22 ± 0.30 ถึง 7.46 ± 0.34 มิลลิเมตร) เมื่อนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติร่วมกับขนาดของกระดาษซับกลม (paper disc) ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น สารสกัดจากเครื่องเทศและสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อ *L. innocua* จึงไม่นำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป และเลือกศึกษาเพียงเชื้อ *S. aureus* ในขั้นตอนต่อไปเท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ความเข้มข้นต่ำสุด (minimal inhibitory concentration, MIC) ต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus*

4.2.1 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี agar disc diffusion

การทดสอบความไวของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น สารสกัดจากขมิ้นชันด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธี agar disc diffusion ทำโดยการเจือจางสารสกัดในอัตราส่วน 1:2 (Two-fold dilution) ด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ให้มีสารสกัด 5 ลำดับ ดังต่อไปนี้ 10.15 (undiluted), 5.08 (1:2) , 2.54 (1:4) , 1.27 (1:8) , 0.63 (1:16) และ 0.31 (1:32) เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นทำการทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* บนอาหารแข็ง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ผลการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากขมิ้นชันที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี agar disc diffusion

เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น (น้ำหนักต่อปริมาตร)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)*
10.15	16.04 ± 0.35^{a}
5.08	9.56 ± 0.25^{b}
2.54	-
1.27	-
0.63	-
0.31	-
เอทานอล 80 %	-
Chloramphenicol	20.54 ± 0.51

หมายเหตุ: (*) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc มีค่าเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

(-) ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

พิจารณาอักษร a, b, c ตามแนวคอลัมภ์แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

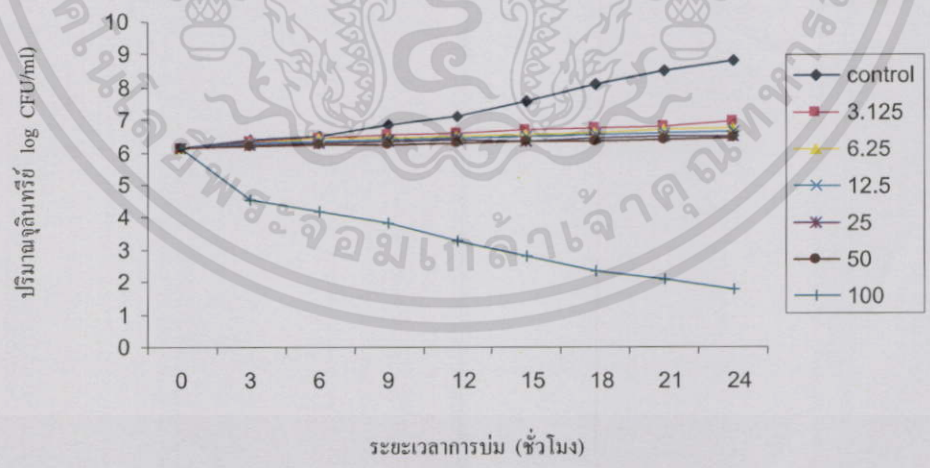
จากผลการทดลอง เมื่อพิจารณาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากขมิ้นชันที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า การลดความเข้มข้นของสารสกัดลงทุกๆ 2 เท่า จะทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสลดลงตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.2) เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดขมิ้นชันเท่ากับ 2.54 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็น 5.08 และ 10.15 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้โดยมีขนาดวงใสเท่ากับ 9.56 ± 0.25 และ 16.04 ± 0.35 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ขนาดวงใสของทั้งสองความเข้มข้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากขมิ้นชันในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี agar disc diffusion มีค่าเท่ากับ 5.08 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) (ตารางที่ 4.2)

4.2.2 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี broth diffusion method

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดขมิ้นชัน ทำโดยการเจือจางผงสกัดจากขมิ้นชันด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อให้มีความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวในอัตราส่วน 1:2 จนได้ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ทำการทดสอบ ตรวจผลการออกฤทธิ์หลังการบ่ม 24 ชั่วโมงด้วยการตรวจเชื้อบนผิวหน้าอาหารแข็ง เนื่องจากสารสกัดจากขมิ้นชันหลังการเจือจางมีสีเหลืองเข้ม และภายหลังจากการบ่มจะตกตะกอนสีเข้มที่ก้นหลอด จึงไม่สามารถตรวจผลการเจริญของเชื้อด้วยสายตา หรือวัดความขุ่นการเจริญของเชื้อได้ ดังนั้น ค่า MIC ของสารสกัดขมิ้นชัน คือ ค่าความเข้มข้นใดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อบนผิวหน้าอาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อเริ่มต้น ณ เวลาที่ 0 ชั่วโมง (control) และเป็นค่าที่ต่ำสุดเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นอื่นๆ ดังภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 ผลการยับยั้ง *S. aureus* ของสารสกัดขมิ้นชันที่ระดับความเข้มข้น 3.125-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

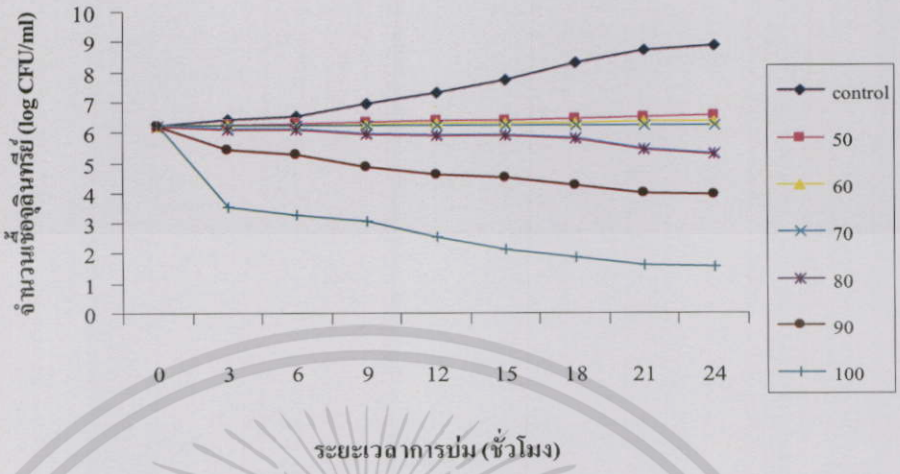
หมายเหตุ : ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ เริ่มต้นเท่ากับ 6.13 ± 0.06 log CFU/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *S. aureus* เริ่มต้น ณ เวลา 0 ชั่วโมงเฉลี่ยเท่ากับ 6.13 ± 0.06 log CFU/ml และภายหลังการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 8.79 ± 0.03 log CFU/ml โดยเมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดขมิ้นชันเป็น 3.125 , 6.25 , 12.5 , 25 , 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ช่วงระหว่าง 3.125 - 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ระหว่าง 6.9 ถึง 6.44 log CFU/ml ซึ่งมีค่ามากกว่า เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเชื้อ ณ เวลาเริ่มต้น แสดงว่าไม่สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.1) ส่วนความเข้มข้นของสารสกัดขมิ้นชันที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า มีจุลินทรีย์เหลือรอด 1.75 ± 0.06 log CFU/ml ซึ่งต่ำกว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับหลอดควบคุม ดังนั้น ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากขมิ้นชันที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ได้จึงมีค่ามากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ดังนั้น จึงทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อของสารสกัดอีกครั้งเพื่อหาค่า MIC ที่แน่นอน โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดขมิ้นชันเท่ากับ 50 , 60 , 70 , 80 , 90 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณเชื้อ *S. aureus* เริ่มต้น ณ เวลา 0 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.22 ± 0.80 log CFU/ml และภายหลังจากการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวนเชื้อในหลอดควบคุม หรือไม่ได้เติมสารสกัดมีค่าเท่ากับ 8.84 ± 0.20 log CFU/ml (ภาพที่ 4.2) จากการทดลองพบว่า ช่วงความเข้มข้นของสารสกัดขมิ้นชันระหว่าง 50- 70 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณเชื้อระหว่าง 6.58 ถึง 6.23 log CFU/ml ซึ่งมีค่ามากกว่าเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อ *S. aureus* เริ่มต้น ณ เวลา 0 ชั่วโมง แสดงว่า ความเข้มข้นของสารสกัดในระดับนี้ไม่สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.2) ในขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 80, 90 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีจุลินทรีย์เหลือรอดเท่ากับ 5.27, 3.93 และ 1.54 log CFU/ml ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากขมิ้นชันที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ได้จึงมีค่ามากกว่า 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 ผลการยับยั้ง *S. aureus* ของสารสกัดขมิ้นชันที่ระดับความเข้มข้น 50-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ : ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ เริ่มต้นเท่ากับ 6.22 ± 0.35 log CFU/ml

4.3 การศึกษาสมบัติและวิถีการออกฤทธิ์ของสารสกัดขมิ้นชันในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus*

จากการศึกษาข้อ 4.2.2 ทำให้ทราบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดขมิ้นชันที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* จึงตรวจสอบสมบัติการออกฤทธิ์ของสารสกัดว่า เป็นชนิดยับยั้ง (bacteriostatic) หรือฆ่าทำลาย (bactericidal) และทำการประเมินค่าต่ำสุดที่สามารถทำลาย จุลินทรีย์ โดยพิจารณาจาก จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลือรอด (log CFU/ml) กับระยะเวลา (ชั่วโมง) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.3 ซึ่งจากตารางแสดงให้เห็นว่า จำนวนจุลินทรีย์จะเริ่มลดลงจากจำนวนเชื้อเริ่มต้นที่ความเข้มข้นของสารสกัดขมิ้นชันตั้งแต่ 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการฆ่าทำลาย (MBC) เชื้อ *S. aureus* ให้มีจำนวนลดลง 99.9 เปอร์เซ็นต์ หรือ 3 log CFU มีค่าเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เนื่องจากการทดลองในขั้นตอนต่อไป เป็นการทดลองในการผลิตโยเกิร์ต ที่ใช้ระยะเวลาในการบ่มกล้าเชื้อโยเกิร์ตเพียง 6 ชั่วโมง ดังนั้น เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากขมิ้นชันเท่ากับ 80, 90 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ณ เวลา 6 ชั่วโมง พบว่า มีจำนวนเชื้อเท่ากับ 6.09, 5.27 และ 3.28 log CFU/ml ตามลำดับ ซึ่งจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ทราบว่า ปริมาณเชื้อที่ความเข้มข้นของสารสกัดขมิ้นชัน 80 และ 90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แต่มีความแตกต่างกับสารสกัดขมิ้นชัน 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้น จึงศึกษาความเข้มข้นของสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดขมิ้นชันระหว่าง 90 ถึง 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายจุลินทรีย์ภายในระยะเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในขั้นตอนต่อไป ผลการทดลองสามารถแสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลความการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่ความความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/ml) ในระหว่างการบ่ม		
	2 ชม.	4 ช.ม.	6 ช.ม.
90	5.93	5.47	5.22
92	5.61	5.33	5.07
94	5.05	4.80	4.23
96	4.95	4.61	4.10
98	4.82	4.48	3.95
100	4.58	3.87	3.17
control	6.24	6.47	6.53

หมายเหตุ : เชื้อ *S. aureus* เริ่มต้น 6.18 ± 0.20 log CFU/ml

จากตารางที่ 4.3 พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดขมิ้นชัน จะสามารถลดจำนวนเชื้อ *S. aureus* ได้เพิ่มขึ้นเช่นกัน โดยที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถทำลายเชื้อ *S. aureus* จนมีจำนวนเชื้อเหลือรอดเท่ากับ 3.17 log CFU/ml เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อเริ่มต้นซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.18 ± 0.20 log CFU/ ml ดังนั้น ความเข้มข้นดังกล่าวจึงสามารถลดจำนวนเชื้อลงได้ 3.01 log CFU/ml ในขณะที่ความเข้มข้นที่ต่ำกว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อลงได้ 3 log CFU ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้น100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรไปใช้ในการศึกษาฤทธิ์การยับยั้ง *S. aureus* ของสารสกัดจากขมิ้นชันในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตในขั้นตอนต่อไป

4.4 ผลของสารสกัดจากขมิ้นชันในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในการผลิตโยเกิร์ต

การเติมสารสกัดขมิ้นชันอาจส่งผลต่อการเจริญของกล้าเชื้อโยเกิร์ตที่ทำการศึกษา ได้แก่ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophillus* ดังนั้น ระหว่างการบ่มโยเกิร์ตจึงได้ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ในอาหาร M17 เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (ไม่เติมสารสกัด) พบว่าโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชันมีจำนวนจุลินทรีย์แลคติกเพิ่มขึ้นในระหว่างการบ่มเชื้อ และมีจำนวนน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมเล็กน้อย โดยโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจะมีจำนวนเชื้อเพิ่มขึ้นจาก 6.52 เป็น 7.38 log CFU/ml (สภาวะที่ 2) ในขณะที่ตัวอย่างควบคุมเพิ่มขึ้นเป็น 7.43 log CFU/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(สภาวะที่ 1) อย่างไรก็ตาม ผลการทดสอบทางสถิติพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากตัวอย่างควบคุมในแต่ระยะเวลาในการบ่มทั้ง 6 ชั่วโมง (ตารางที่ 4.4) นอกจากนี้ยังพบว่า การลดลงเพียงเล็กน้อยของจำนวนเชื้อโยเกิร์ตไม่ส่งผลต่อคุณภาพของโยเกิร์ต เนื่องจาก โยเกิร์ตยังคงเซตตัวได้ดีซึ่งสอดคล้องกับ Tamime และ Robinson (1999) ที่รายงานว่า โยเกิร์ตที่มีเชื้อมากกว่า 7.05 log CFU/ml จะทำให้โยเกิร์ตเซ็ตตัวดี เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นแบคทีเรียแลคติกประเภท homofermentative lactic acid bacteria ซึ่งสามารถผลิตกรดแลคติกได้อย่างรวดเร็ว จึงทำให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อเจลที่ดี

ตารางที่ 4.4 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ในระหว่างการบ่มโยเกิร์ต

สภาวะ	สภาวะ	จำนวนจุลินทรีย์ (log CFU/ml) ในระหว่างการบ่มโยเกิร์ต (ชั่วโมง)			
		0	2	4	6
1	เชื้อโยเกิร์ต	6.52	6.86	7.05	7.43
2	เชื้อโยเกิร์ต+สารสกัด	6.52	6.71	6.97	7.38
3	*S. aureus*	6.24	6.30	6.49	6.61[a]
4	*S. aureus* + เชื้อโยเกิร์ต	6.24	6.27	6.45	6.57[a]
5	*S. aureus*+ เชื้อโยเกิร์ต+ สารสกัด	6.24	5.82	5.21	4.87[c]

หมายเหตุ สภาวะที่ 1 และ 2 เป็นการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียแลคติกในอาหาร M17

สภาวะที่ 3, 4 และ 5 เป็นการนับจำนวนเชื้อ *S. aureus* ในอาหาร Baird-parker agar

การทดสอบผลการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ในโยเกิร์ตที่ไม่มีสารสกัดจากขมิ้นชัน พบว่าเชื้อ *S. aureus* มีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างช้าๆ คือ จาก 6.24 เป็น 6.61 log CFU/ml (สภาวะที่ 3) แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *S. aureus* สามารถเพิ่มจำนวนระหว่างการหมักโยเกิร์ตได้ ในขณะที่สภาวะ ที่ 4 ที่เติม *S. aureus* และกล้าเชื้อโยเกิร์ต จะทำให้จำนวนเชื้อ *S. aureus* ทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 6.24 เป็น 6.57 log CFU/ml และพบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ระหว่างโยเกิร์ตที่เติม *S. aureus* หรือโยเกิร์ตที่เติม *S. aureus* ผสมกล้าเชื้อโยเกิร์ต แสดงว่ากล้าเชื้อโยเกิร์ตไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ในระหว่างการบ่มโยเกิร์ต

การเติม *S. aureus* ลงในโยเกิร์ตที่มีสารสกัดจากขมิ้นชันและกล้าเชื้อโยเกิร์ต (สภาวะที่ 5) พบว่า จำนวนเชื้อ *S. aureus* จากการตรวจสอบด้วยอาหาร Baird-parker agar จะลดจำนวนลงเรื่อยๆ และภายหลังการบ่ม 6 ชั่วโมง จำนวนเชื้อ *S. aureus* ลดลงจาก 6.24 เป็น 4.87 log CFU/ ml แสดงว่า สารสกัดจากขมิ้นชันสามารถลดเชื้อ *S. aureus* ในขั้นตอนการหมักโยเกิร์ตได้ อย่างไรก็ตาม การลดลงของเชื้อ *S. aureus* ในโยเกิร์ตให้ผลแตกต่างจากการทดลองในข้อ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB-YE ที่สามารถลดจำนวนเชื้อลงได้ 3.01 log CFU/ml เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากขมิ้นชันที่เท่ากัน ในขณะที่ในการหมักโยเกิร์ตจะลดลงเพียง 1.37 log CFU/ml ทั้งนี้อาจเนื่องจากอันตรกิริยา (interaction) ระหว่างสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในขมิ้นชัน กับองค์ประกอบของนม เช่น โปรตีนในนมอาจทำปฏิกิริยากับสารสำคัญดังกล่าว ทำให้ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในนมต่ำกว่าในการทดสอบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB-YE นอกจากนี้ สภาวะในการทดสอบก็มีความแตกต่างกัน เช่น อุณหภูมิในการหมักโยเกิร์ต เท่ากับ 45 องศาเซลเซียส ในขณะที่การทดสอบค่า MBC ทำที่ 37 องศาเซลเซียส การบ่มที่อุณหภูมิที่สูงขึ้นอาจเร่งอัตราการสลายตัวหรือมีผลต่อความเสถียรของสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ของขมิ้นชัน นอกจากนี้ การเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดยังอาจส่งผลต่อความเสถียร หรือประสิทธิภาพของสารสำคัญอีกเช่นกัน

4.5 คุณภาพและการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน

การศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากขมิ้นชันที่มีต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต จากการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณกรด และเนื้อสัมผัส แล้วนำมาทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 7 points Hedonic scale โดยใช้ผู้ทดสอบ 40 คน ให้ผลดังนี้

4.5.1 คุณภาพของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณกรดภายหลังผ่านกระบวนการหมักโยเกิร์ต ให้ผลดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณกรดในโยเกิร์ต

ชนิดโยเกิร์ต	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)		ปริมาณกรด (%)	
	ก่อนหมัก	หลังหมัก	ก่อนหมัก	หลังหมัก
ควบคุม*	6.71	4.28	0.17	1.02
ชุดทดสอบ**	6.72	4.30	0.16	1.02

หมายเหตุ * หมายถึง โยเกิร์ต (ควบคุม)

** หมายถึง โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน

กระบวนการหมักโยเกิร์ต มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณกรดของน้ำนมที่ใช้ในการทำโยเกิร์ต จากผลการทดลองพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างจะลดลง เมื่อผ่านกระบวนการหมัก และ การเติมสารสกัดจากขมิ้นชันลงในโยเกิร์ต จะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยค่าความเป็นกรด-ด่างของโยเกิร์ตชุดควบคุม และโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชันก่อนการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมักมีค่าเท่ากับ 6.71 และ 6.72 ตามลำดับ ภายหลังผ่านกระบวนการหมักโยเกิร์ต เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ลดลงเป็น 4.28 และ 4.30 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5) การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในระหว่างกระบวนการหมักเป็นผลมาจาก จุลินทรีย์โยเกิร์ต หรือแบคทีเรียแลคติกที่ใช้เป็นกล้าเชื้อ สามารถผลิตกรดแลคติกจากการใช้น้ำตาลแลคโตส จึงส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ลดลง นอกจากนี้ ผลของค่าความเป็นกรด-ด่าง สามารถยืนยันได้ว่า โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน ไม่มีผลต่อความสามารถในการผลิตกรดของกล้าเชื้อแบคทีเรียเปลี่ยนแปลง หรืออาจไม่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก อย่างไรก็ตาม กล้าเชื้อที่ใช้ประกอบด้วย *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophillus* จึงไม่สามารถระบุได้ว่า ไม่มีผลต่อการเจริญของกล้าเชื้อทั้งสอง สารสกัดจากขมิ้นชันอาจไม่มีผลต่อการเจริญของกล้าเชื้อทั้งสอง หรือ มีผลต่อการเจริญของกล้าเชื้อตัวใดตัวหนึ่ง ทั้งนี้เนื่องจากพบว่า ปริมาณเชื้อแบคทีเรียไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน ดังนั้น ถ้าต้องการทราบผลจึงจำเป็นต้องทดสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อยืนยันต่อไป

การวิเคราะห์ปริมาณกรดด้วยวิธีไตเตรท พบว่า ภายหลังการหมักโยเกิร์ต ผลิตภัณฑ์จะมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงขึ้น และการเติมสารสกัดจากขมิ้นชันลงในโยเกิร์ตจะไม่มีผลต่อการผลิตกรดในระหว่างกระบวนการหมัก เมื่อเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตควบคุม โดยปริมาณกรดก่อนการหมักเริ่มต้นของโยเกิร์ตชุดควบคุมและโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชันมีค่าระหว่าง 0.16 และ 0.17 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการหมักโยเกิร์ตเป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 1.02 และ 1.02 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดนั้น สอดคล้องกับการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง กล่าวคือ การเพิ่มปริมาณกรดจะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารลดลง เนื่องจาก กรดจะแตกตัวให้ไฮโดรเจนอิออน จึงส่งผลให้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออนเพิ่มสูงขึ้น ค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารจึงลดลง

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางด้านเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชันด้วยเครื่อง Texture analyzer ให้ผลดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ผลของการเติมสารสกัดจากขมิ้นชันต่อลักษณะทางเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ต

ชนิดโยเกิร์ต	ความแข็ง^{ns} (g)	การเกาะผิว^{ns} (g.s)	การรวมตัวกันของอาหาร^{ns}	ความคงตัว^{ns} (g)
ควบคุม*	48.43 ± 7.94	-53.06 ± 8.98	0.52 ± 0.05	38.03 ± 5.57
สารสกัดขมิ้นชัน	49.54 ± 4.02	-49.18 ± 6.25	0.51 ± 0.02	39.22 ± 3.50

หมายเหตุ : อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$)

* หมายถึง โยเกิร์ตสูตรปกติที่ไม่มีการเติมสารสกัดจากขมิ้นชัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการวัดเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ต (ตารางที่ 4.6) ในลักษณะด้านความแข็ง (hardness) การเกาะผิว (adhesiveness) การรวมตัวกันของอาหาร (cohesiveness) และความคงตัว (consistency) พบว่า การเติมสารสกัดจากขมิ้นชันลงในโยเกิร์ตไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง เนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตเมื่อเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อาจเนื่องจาก การเติมสารสกัดจากขมิ้นชันไม่มีผลต่อการเจริญ และสร้างกรดของแบคทีเรียแลกติกจึงทำให้คุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ต ไม่มีความแตกต่างจากโยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัด

4.5.2 การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบ

การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบต่อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชันโดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 40 คน ด้วยวิธี 7 points Hedonic scale ในการให้คะแนนความชอบ จากชอบมากที่สุด (7 คะแนน) ถึงไม่ชอบมากที่สุด (1 คะแนน) ทางด้านสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม ให้ผลดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตที่มีการเติมสารสกัดจากขมิ้นชัน

ชนิดโยเกิร์ต	สี	กลิ่น	รสชาติ^{ns}	ลักษณะเนื้อสัมผัส^{ns}	การยอมรับโดยรวม^{ns}
ควบคุม*	4.17 ±1.10 ^{a}	4.10±0.95 ^{a}	5.08±1.02	5.1±0.98	5.20±0.79
ชุดทดสอบ**	4.97± 0.73 ^{b}	5.12±0.93 ^{b}	5.15±1.09	4.95±0.64	5.20±0.65

หมายเหตุ : อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$)

* หมายถึง โยเกิร์ตสูตรปกติที่ไม่มีการเติมสารสกัดจากขมิ้นชัน

** หมายถึง โยเกิร์ตที่มีการเติมสารสกัดจากขมิ้นชัน

การยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบที่มีต่อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนด้านสีของผลิตภัณฑ์ที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชันมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.97 ± 0.73 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าโยเกิร์ตชุดควบคุมหรือที่ไม่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน (4.17±1.10) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ เนื่องจากการเติมสารสกัดจากขมิ้นชันจะทำให้โยเกิร์ตมีสีเหลืองอ่อน ผู้ทดสอบจึงให้คะแนนความชอบสูงกว่าโยเกิร์ตชุดควบคุมที่มีสีขาวขุ่น นอกจากนี้ยังพบว่า การเติมสารสกัดจากขมิ้นชัน จะส่งผลให้เกิดกลิ่นเฉพาะของขมิ้นชันในผลิตภัณฑ์ จึงได้รับคะแนนความชอบสูงกว่าโยเกิร์ตชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยมีคะแนนเท่ากับ 5.12 ± 0.93 และ 4.10 ± 0.95 ตามลำดับ ส่วนคะแนนด้านรสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม ไม่แตกต่างจากโยเกิร์ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การเติมสารสกัดจากขมิ้นชันไม่ส่งผลต่อการยอมรับ ทางประสาทสัมผัสด้านเนื้อสัมผัส ซึ่งการเติมสารสกัดจากขมิ้นชัน มีส่วนช่วยในการปรับปรุงสีและกลิ่นของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตให้ดีขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม คะแนนการยอมรับโดยรวม และรสชาติไม่แตกต่างจากโยเกิร์ตชุดควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศจำนวน 11 ชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* และ *L. innocua* ในตัวทำละลายเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่า มีสารสกัดจากเครื่องเทศและสมุนไพร 6 ชนิด ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้แก่ ขมิ้นชัน ผลหม่อน ใบติ้ว ย่านาง ผักเม็ก และผลพิกุล ส่วนเชื้อ *L. innocua* มีสารสกัด 3 ชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้ง คือ ขมิ้นชัน ผลหม่อน และเนื้อแก้วมังกร จากการทดลองพบว่า ขมิ้นชันให้ผลยับยั้งที่ดีที่สุด รองลงมา คือ ผลหม่อน ซึ่งสารสกัดจากพืชทั้งสองชนิดนี้ สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งสองสายพันธุ์ ส่วนใบติ้ว ย่านาง ผักเม็ก และผลพิกุล ให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เพียงชนิดเดียว และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดส่วนใหญ่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าเชื้อ *L. innocua* โดยมีขนาดวงใสใหญ่กว่าและมีชนิดของสารสกัดที่ให้ผลยับยั้งมากกว่า ส่วนสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ใบกระวาน ดอกคำฝอย ใบหม่อน อบเชย และหัวปลี พบว่า ไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อในทุกสายพันธุ์

การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (minimal inhibitory concentration, MIC) ของสารสกัดจากขมิ้นชันต่อการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่า มีค่า MIC ต่อเชื้อ *S. aureus* เท่ากับ 5.08 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ส่วน MIC ด้วยวิธี broth dilution method ของสารละลายขมิ้นชันด้วยน้ำ พบว่า ความเข้มข้นระหว่าง 3.125- 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ เชื้อ *S. aureus* ได้ แต่ที่ความเข้มข้นของสารสกัดขมิ้นชัน 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีจุลินทรีย์เหลือรอดต่ำกว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้น เมื่อวิเคราะห์ หา MIC ที่ความเข้มข้นระหว่าง 50 - 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ค่า MIC มีค่ามากกว่า 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อของสารสกัดขมิ้นชัน (MBC) ที่ 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ ในการทดสอบ 6 ชั่วโมง พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ลงได้ 3 log CFU/ml ที่ความเข้มข้นเดียวกับค่า MBC ที่ 24 ชั่วโมง

ผลของสารสกัดจากขมิ้นชันต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ในโยเกิร์ต พบว่า เชื้อโยเกิร์ตไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* แต่การใช้สารสกัดจากขมิ้นชันในกระบวนการผลิตสามารถลดจำนวนเชื้อ *S. aureus* ในระหว่างการบ่มโยเกิร์ตได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดจากขมิ้นชันไม่มีผลต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนเชื้อโยเกิร์ต เมื่อเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตชุดควบคุม หรือที่ไม่เติมสารสกัดจากขมิ้นชันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

คุณภาพของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ผสมสารสกัดจากขมิ้นชัน ทั้งค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรด และเนื้อสัมผัส ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับโยเกิร์ตชุดควบคุม ส่วนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบต่อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต พบว่า ด้านรสชาติ เนื้อสัมผัส และ การยอมรับโดยรวม พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แต่การเติมสารสกัดจากขมิ้นชันจะส่งผลต่อสีและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ ทำให้มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น การเติมสารสกัดจากขมิ้นชันลงในผลิตภัณฑ์ โยเกิร์ตจะช่วยลดโอกาสการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ที่อาจปนเปื้อนในกระบวนการผลิตโยเกิร์ตได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

การเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบควรเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อ และไม่ทำปฏิกิริยากับสารทดสอบและไม่เกิดการตกตะกอนกับสารทดสอบ เพื่อให้สามารถตรวจสอบวงใสในการยับยั้งเชื้อได้ชัดเจน หรืออาจนำสารสกัดที่ทดสอบและไม่สามารถสังเกตวงใสได้ชัดเจน มาตรวจสอบยืนยันผลการทดลองซ้ำด้วยวิธี broth dilution และตรวจสอบการยับยั้งเชื้อได้บนผิวหน้าอาหารแข็ง

ควรมีการตรวจสอบความปลอดภัยด้านความเป็นพิษของสารสกัด หรือปริมาณการใช้ที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดความปลอดภัยก่อนการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กมลทิพย์ กสิภาร์. 2543. **พืชผักพรรณไม้อีสาน.** กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์มติชน. 108 หน้า.

ขจรศักดิ์ ตระกูลพัว. 2539. **ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรแปดชนิดต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุของโรคพืชและโรคผิวหนัง.** วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 217 หน้า.

เครื่องเทศและสมุนไพร. [Online], Available: http://staff.buu.ac.th/~wongduen/sour.html (Accessed 15 January 2009).

ชฎา พิศาลพงศ์. 2552. **วิจัยอุตสาหกรรมเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ.** [Online], Available: http:// www.gpo.or.th/rdi/html/turmeric.html (Accessed 11 January 2009).

ชัยวัฒน์ จาติเสถียร. 2520. **การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราและยีสต์ในลูกแป้งข้าวหมาก.**วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณรงค์ โฉมเฉลว. 2543. **พืชมหัศจรรย์.** วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร. 4(4) : 319-330.

ดวงกมล รัตนกุลชัย. 2540. **สมุนไพร108.** กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์. 163 หน้า.

ทรงโปรด ธนะพันธุ์ และ คณะ. 2539. **เภสัชพฤกษ์.** ภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร.278 หน้า.

นฤมล มานิพพาน. 2537. **แก้วมังกร.** กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์เพรชกะรัต . หน้า 71-72 .

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2552. **ขมิ้น.** [Online], Available: http://www.elib-online.com/ doctors2/ herb_curcuma01.html (Accessed 13 January 2009).

บัวบาน ฮกง้วน. 2541. **สมุนไพรควรรู้.**คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 117 หน้า

ปรีชา จึงสมานุกูล. 2537. **สัณฐานวิทยา, นิเวศวิทยา, ระบาดวิทยา, พยาธิวิทยา และการตรวจวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรีย.**ในเอกสารประกอบการสัมมนาเชื้อแบคทีเรีย วันที่ 24 สิงหาคม 2537 โดยบริษัทเมอร์ค จำกัด,โรงแรมฮิวตัน กรุงเทพฯ. 28 หน้า.

ปิยวรรณ มาหมื่น. 2545. **สารสกัดต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่ผิวหนัง.** วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.ขอนแก่น. 72 หน้า.

พรทิพย์ แก้วเชื้อเมือง และ ธารจิต ศรลัมพ์. 2543. **สมุนไพรและยาที่ควรรู้.** ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์.มหาวิทยาลัยมหิดล.พิมพ์ครั้งที่2. หน้า 56-72.

พรสวรรค์ ดิษยบุตร และ คณะ. 2543. **สมุนไพรการใช้อย่างถูกวิธี.** กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์คัมปาย อิมเมจจิ้ง. หน้า 13-16.

พิสุทธิพร ฉ่ำใจ. 2537. **สมุนไพรสรรพคุณและประโยชน์เพื่อการนำไปใช้.** กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ต้นธรรม .207 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาลิน จุลศิริ. 2540. **ยาต้านจุลชีพ: ความรู้พื้นฐานและการประยุกต์.** ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพฯ. 209 หน้า.

_____. 2542. **ยาต้านจุลชีพ: ความรู้พื้นฐานและการประยุกต์.** นครปฐม : โรงพิมพ์สถาบันพัฒนาการสาธารณสุขอาเซียน.ไม่เรียงลำดับหน้า.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2540. **พืชเครื่องเทศและสมุนไพรไทย.** กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์. 200 หน้า.

ศรีกาญจนา คล้ายเรือง.2541. **การคัดเลือกสมุนไพรไทยเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Listeria monocytogenes*.** วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 116 หน้า.

ศูนย์พัฒนาตำราการแพทย์แผนไทย. 2547. **ผักพื้นบ้านภาคอีสาน.** กรุงเทพฯ :โรงพิมพ์สามเจริญพาณิช.357หน้า.

สถาบันการแพทย์แผนไทย. 2542. **สมุนไพรกับวัฒนธรรมไทยตอนที่ 2 ไม้ริมรั้ว.** กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ทหารผ่านศึก. 286 หน้า.

สุพจน์ ดิลานเภสัช. 2543. **สมุนไพรเครื่องเทศและพืชปรุงแต่งกลิ่นรส.** กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ประพันธ์สาส์น. 189 หน้า

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. **จุลชีววิทยาทางอาหาร.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

แสงระวี แก้วเมืองฝาง. 2543. **การตรวจหาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราในสมุนไพร 12 ชนิด.** วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 58 หน้า

อัมพร โฮกอ่อน. 2540. **การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยเปลือกผลไม้.** วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น. 65 หน้า.

AOAC. 1995. Official method of analysis of association of official analytical chemists.15th ed. Gaithersburg. Maryland.

Aunphak, J., Sriubolmas, N., De-Eknamkul, W., Ruangrungsi, N. 1998. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from the fruits of *Amomum krervanh* and *A uliginosum*. Thai. J. Pharm. Sci. 22(3):S45.

Chang, K.-T., Thomasson, W.R. and Wu-Yuan, C.D. 2001. Growth inhibition of selected food-borne bacteria, particularly *Listeria monocytogenes*, by plant extracts. J. Applied. Bacteriol. 69: 498-503.

Chi – Tang, H., Chang, Y.L. and Mou-Tuan, H. 1992. Phenolic compounds in food and their effects on health I. New York: Maple Press: 65-72.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cvetnic, Z. and Knezevic, V.S. 2004. Antimicrobial activity of grapefruit seed and pulp ethanolic extract. Acta. Pharmacologica. Sinica. 54: 243-250.

Dahl, T.A., McGowan., W.M., Shand, M.A. and Srinivasan, V.S. 1989. Photokilling of bacteria by the natural dye curcumin. Arch. Microbiol. 151(2):183-5.

Dave, R.I. and Shah, N.P. 1997. Viability of Yoghurt and Probiotic Bacteria in Yoghurt Made from Commercial Starter Culture. Int. Dairy. J. 7: 31-41.

Duffy, C.F., and Power , R.F. 2001. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. Letter. Inter. J. Antimic. Agen. 17(6): 527-529.

ESR Ltd. 2001. *Staphylococcus aureus*. [Online], Available : http :// www.nzfsa.govt.nz. (Accessed 23 May 2008).

Evans, M.R., Salmon, R.L., Mably, S., Wafford, L., Nolan-Farrell, M.Z., Gardner, D. and Riberiro, C.D. 2005. An Outbreak of *Salmonella Typhimurium DT 170* Associated with Kebab Meat and Yoghurt Relish [Online], Available: http:// www.ncbi,nlm.gov. (Accessed 27 June 2008).

Farag, R.S., Daw, Z.Y., Hewedi, F.M. and EI-Baroty, G.S.A. 1989. Antimicrobial activity spice essential oils. J. Food. Protect. 52: 665-667.

Guenther, E. 1952. The essential oils. Vol. 4. D.Van Nostrand Co., Inc., New York. 737 p.

Harborne, J.B. 1980. Plant phenolics.In Encyclopedie of Plant Physiology, Volume 8 Secondary Plant Products.New York:springer-Verlag,Berlin Heidelberg.

Hsieh, G.A. and Neaves, P. 2001. The antimicrobial activity of some medicinal plants. J. Ethnopharmacol.56: 223 - 226.

Jacobs, D. 1999. Pitaya (*Hyiocereus undatus*),a potential new crop for Australia. The Australian New Crops Newsletter No.11 .

Karou, D., Dicko, M.H., Simpore, J. and Traore, A.S. 2005. Antioxidant and antibacterial activity of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. J. Biotechnol. 4: 823 - 828.

Lin, Y.T., Labbe, R.G. and Shetty, K. 2005. Inhibition of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood systems using oregano and cranberry phytochemical synerdies and lactic acid. Innov. Food. Sci. Emerg. Technol. 6: 453-458.

Listeria – a patient's guide. 2008. [Online], Available: http://www.medic8.com/healthguide/articles/listeria.html (Accessed 27 October 2008).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lu, L.-C., Chen, Y.-W. and Chou, C.-C. 2004. Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*. J. Food. Microbiol. 102: 213 -220.

Martha, W. 1983. Merck Index 10th ed. New York.

Mims, C.A., Dockrell, H.M., Goering, R.V., Roitt, I., Wakelin, D., and Zuckerman, M. 2004. Medical microbiology. Philadelphia: Mosby. pp. 497-499.

Mizrahi, Y., Nead, A. and Noble, P.S. 1997. Cacti as crops. Hort.Rev. (18): 291-320.

Nutrition. [Online], Available: http://www.healthtoday.net/thailand/nutrition/nutrition_90.html (Accessed 29 October 2008).

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

Robinson, R.K. and Tamime, A.Y. 1993. Microbiology of Fermented Milks. In: Robinson, R.K.(ed). Dairy Microbiology. Vol.2.2d ed. Elsevier Science Publisher Ltd. London.

Sahin, F., Karaman, I., Gulluce, M., Ogutcu, H., Sengul, M., Adisuzel, A., Ozturk, S. and Kotan, R. 2003. Evaluation of antibacterial activities of *Satureja hortensis* L. Journal of Ethnopharmacology. 87: 61-65.

Sakanaka, S., Juneja, L.R. and Taniguchi, M. 2000. Antimicrobial effect of green tea polyphenols on thermopilic spore-forming bacteria. J. Biosci. Bioeng. 90: 8 -85.

Schinor, E.C., Salvador, M.J., Pral, E.M.F., Alfieri, S.C., Albuquerque, S. and Diones, D.A. 2007. Effect of extracts and isolated compounds from Chresta scapigera on viability of *Leishmania amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. RBCF. Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas.43:295-300.

Spreer, E. 1998. Milk and Dairy Product Technology. Translated from Technologie der milchverabeitung. By mixa Axel. Marcel Dekker. New York.

Sydney, M.F. and Ellen, J.B.1986.Bailey and Scott's diagnostic microbiology.7th ed. St.Louis: C.V. Mosby Co.

Tamime,A.Y. and Robinson, R.K.1999. Yoghurt: Science and Technology, second edition. Cambridge: Woodhead Publishing.

Toshihide, K., Hadjime, N., Megumi, A., Shigeko, U., Yoshiharu, K. and Shum'Ichi, D. 2000. Characterization of Novel Antimicrobial Compounds from Mango Kernel Seeds. Food. Chem.71: 61-66.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tozzi, E.A. 1997. Survival of *E. coli* in yoghurt. [Online], Available: http:// www.iss.it. (Accessed 21 December 2008).

Vedamuthu, E.R. 1991. The Yoghurt Story-Past, Present and Future part 3. Dairy, Food and Environ. Sani. 11(6): 310-311.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์ปริมาณกรด (Titratable acidity) (AOAC, 1995)

นำตัวอย่าง 10 กรัม ผสมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ (เตรียมจากน้ำกลั่นต้ม 20 นาที) 20 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1% ไตเตรทจนถึงจุดยุติ ปริมาณกรดคำนวณจาก (ใช้กรดแลคติกเป็นกรดมาตรฐาน)

$$\text{กรดทั้งหมด (กรัมต่อ100 กรัม)} = \frac{N \times V \times 90.08 \times 100}{1000 \times 10}$$

กำหนดให้ N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH

V = มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH

2. การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture)

ตรวจวัดคุณภาพลักษณะเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ต ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture analyzer) โดยใช้หัววัด Back Extrusion Cell (A/BE) 35 มิลลิเมตร นำโยเกิร์ตสูตรควบคุมและสูตรทดสอบมาวัดค่าความแข็ง (hardness), การเกาะผิว (adhesiveness), การรวมตัวกันของอาหาร (cohesiveness) และ ความคงตัว (consistency)

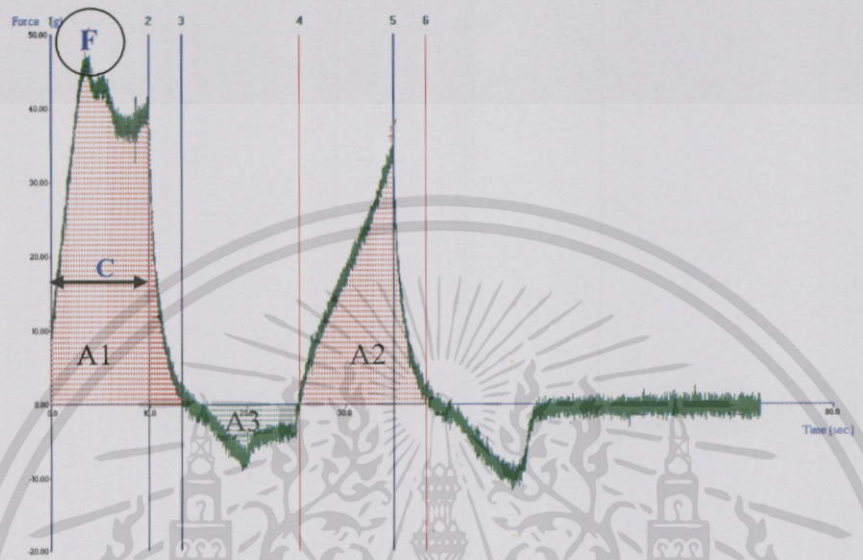
2.1 วิธีการทดลอง

1. ทำการ Calibrate Force ก่อนการวัดทุกครั้ง
2. ประกอบชุดเครื่องมือกด ใช้หัววัด Back Extrusion Cell (A/BE) 35 มิลลิเมตร
3. ทำการCalibrate Probe ก่อนการวัด
4. เลือกรูปแบบหัววัดเป็น Back Extrusion Cell (A/BE)
5. เลือกรูปแบบการวัดดังนี้

Test Mode and Option	:	Texture Profile Analysis (TPA)
Pre Test Speed	:	1.0 mm/s
Test Speed	:	1.0 mm/s
Post Test Speed	:	1.0 mm/
Distance	:	10 mm
Time	:	5 second
Trigger Type	:	10 g
Data Acquisition Rate	:	200 pps
Detect	:	Off

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. วางถ้วยโยเกิร์ตบนฐานเรียบ เมื่อเริ่มการวัดเครื่องคอมพิวเตอร์จะแสดงกราฟที่วัด



ภาพที่ ก 1 กราฟการวิเคราะห์ค่า texture profile analysis

2.2 การคำนวณหาค่า TPA

1. ทำการวิเคราะห์กราฟดังภาพที่ ก 1 โดยให้โปรแกรมทำการคำนวณหาค่า TPA
2. คำนวณหาค่าต่างๆ ดังต่อไปนี้

2.1 ค่าความแข็ง : F (peak Force) (g)

2.2 การเกาะผิว : A3 (area force-time 3:4) (g.s)

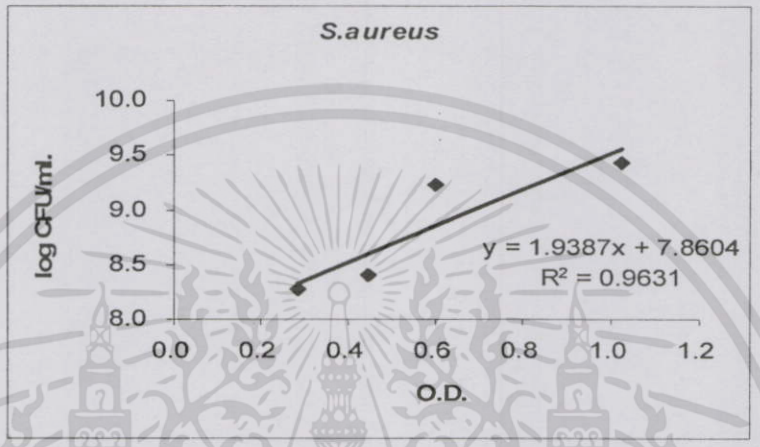
2.3 การรวมตัวกันของอาหาร: A2/A1(area force-time 4:6/area force-time 1:3)

2.4 ความคงตัว : C (Mean Force 1:2) (g)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

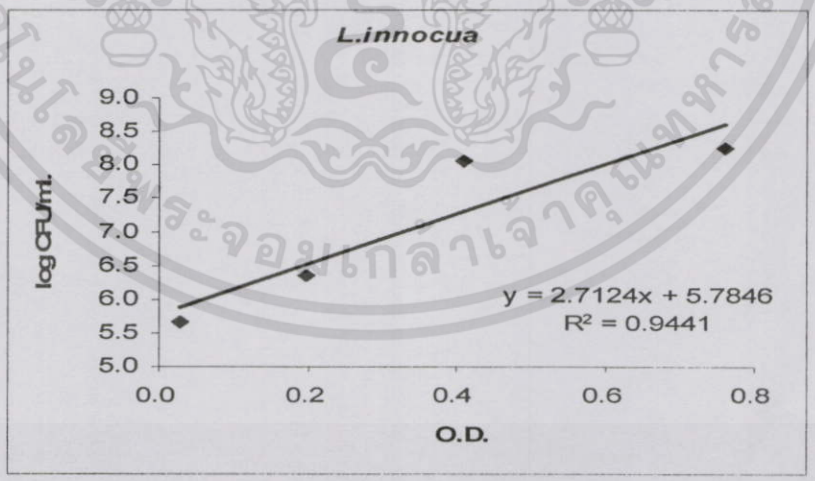
ภาคผนวก ข
กราฟการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ กับค่าความขุ่น (optical density, OD) ที่ค่าดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร



ภาพที่ ข 1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S. aureus* กับค่าความขุ่น (OD)
สมการความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อ *S. aureus* เป็นสมการเส้นตรง ดังนี้

$$y = 1.9387+7.8604$$



ภาพที่ ข 2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *L. innocua* กับค่าความขุ่น (OD)
สมการความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อ *L. innocua* เป็นสมการเส้นตรง ดังนี้

$$y = 2.7124+5.7846$$

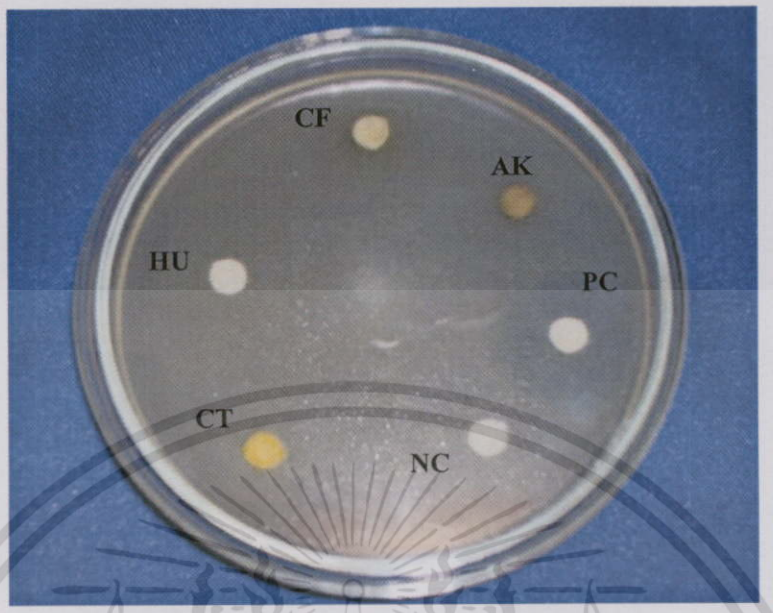
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดพืช

ภาพที่ ค 1 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ KG = เม็ก, ML = ใบหม่อน, HY = เปลือกแก้วมังกร, MA = ผลหม่อน, PC = Positive control (คลอแรมฟินิคอล), NC = Solvent control (เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์))

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



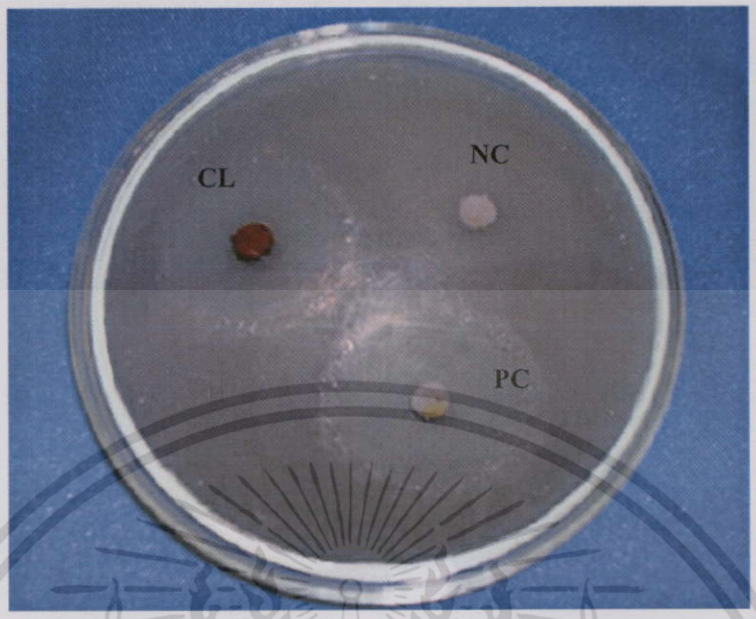
ภาพที่ ค 2 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ AK = กระวาน, CF = ติ้ว, HU = เนื้อแก้วมังกร, CT = ดอกคำฝอย, PC = Positive Control (คลอแรมฟีนิคอล),NC = Solvent control (เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์)

ภาพที่ ค 3 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ ME = ผลพิกุล, CZ = อบเชย, MS = หัวปลี, TT = ย่านาง, PC = Positive control (คลอแรมฟีนิคอล), NC = Solvent control (เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค 4 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดพืชด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ CL = ขมิ้นชัน, PC = Positive control (คลอแรมฟีนิกอล), NC = Solvent control (เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์))

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Trypticase soy broth – yeast extract (TSB-YE)

Trypticase soy broth	30	g
yeast extract	6	g
น้ำกลั่น	1,000	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. Trypticase soy agar -yeast extract (TSA-YE)

Trypticase soy agar	40	g
yeast extract	6	g
น้ำกลั่น	1,000	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ต้มให้เดือดจนวุ้นละลาย นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. MRS agar

MRS broth	52	g
Agar	10	g
น้ำกลั่น	1000	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ต้มให้เดือดจนวุ้นละลาย นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. M17

Peptone from soymeal	5.0	g
Peptone from meat	2.5	g
Peptone from casein	2.5	g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yeast extract	2.5	g
Meat extract	5.0	g
D(+) Lactose	5.0	g
Ascorbic acid	0.5	g
Na-β-glycerophosphate	19.0	g
Magnesium sulfate	0.25	g
Agar	12.75	g
น้ำกลั่น	1,000	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ต้มให้เดือดจนวุ้นละลาย นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

5. Baird-parker medium

Tryptone	10	g
Beef extract	5	g
Yeast extract	1	g
Sodium pyruvate	10	g
Glycine	12	g
Lithium chloride.$6H_2O$	5	g
Agar	20	g
น้ำกลั่น	950	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ต้มให้เดือดจนวุ้นละลาย นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ชื่อผู้ทดสอบ.....**วันที่ทดสอบ**.....

หมายเลข.....

ชื่อผลิตภัณฑ์ โยเกิร์ต

คำชี้แจง โปรดทดสอบตัวอย่างต่อไปนี้ โดยเรียงลำดับที่เสนอ และให้คะแนนระดับความชอบและไม่ชอบต่อผลิตภัณฑ์แต่ละตัวอย่าง โดยใช้สเกลที่เหมาะสมเพื่ออธิบายความรู้สึกชอบ และไม่ชอบที่ท่านมีต่อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ตามความรู้สึกที่แท้จริงของท่าน

ระดับคะแนน 1 ไม่ชอบมากที่สุด
ระดับคะแนน 2 ไม่ชอบมาก
ระดับคะแนน 3 ไม่ชอบ
ระดับคะแนน 4 เฉย ๆ
ระดับคะแนน 5 ชอบ
ระดับคะแนน 6 ชอบมาก
ระดับคะแนน 7 ชอบมากที่สุด

ลักษณะผลิตภัณฑ์	รหัสผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง		
	.....	.....	.....
สี	.....	.....	.....
กลิ่น	.....	.....	.....
รสชาติ	.....	.....	.....
เนื้อสัมผัส	.....	.....	.....
การยอมรับโดยรวม	.....	.....	.....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

ตารางวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางที่ ฉ 1 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการเติมสารสกัดจากขมิ้นชันต่อลักษณะทางทางด้านเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ต

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
Hardness	Equal variances assumed	7.074	.029	.302	8	.770
	Equal variances not assumed			.302	4.683	.776
Adhesiveness	Equal variances assumed	10.714	.011	-2.071	8	.072
	Equal variances not assumed			-2.071	4.267	.103
Cohesiveness	Equal variances assumed	2.921	.126	-.667	8	.524
	Equal variances not assumed			-.667	5.538	.532
consistencies	Equal variances assumed	3.285	.108	.428	8	.680
	Equal variances not assumed			.428	6.683	.682

ตารางที่ ฉ 2 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบสีของโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: color

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	47.350[a]	40	1.184	1.350	.175
Intercept	1674.450	1	1674.450	1909.461	.000
treatment	12.800	1	12.800	14.596	.000
block	34.550	39	.886	1.010	.487
Error	34.200	39	.877		
Total	1756.000	80			
Corrected Total	81.550	79			

a. R Squared = .581 (Adjusted R Squared = .150)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ฉ 3 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบด้านกลิ่นของโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ordor

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	53.500[a]	40	1.337	1.391	.152
Intercept	1702.012	1	1702.012	1770.683	.000
treatment	21.013	1	21.013	21.860	.000
block	32.487	39	.833	.867	.671
Error	37.488	39	.961		
Total	1793.000	80			
Corrected Total	90.988	79			

a. R Squared = .588 (Adjusted R Squared = .165)

ตารางที่ ฉ 4 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบด้านรสชาติของโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: taste

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	41.600[a]	40	1.040	.874	.663
Intercept	2091.012	1	2091.012	1758.006	.000
treatment	.113	1	.113	.095	.760
block	41.487	39	1.064	.894	.635
Error	46.388	39	1.189		
Total	2179.000	80			
Corrected Total	87.988	79			

a. R Squared = .473 (Adjusted R Squared = -.068)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ฉ 5 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบด้านลักษณะเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: texture

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	28.400[a]	40	.710	1.084	.401
Intercept	2020.050	1	2020.050	3083.442	.000
treatment	.450	1	.450	.687	.412
block	27.950	39	.717	1.094	.390
Error	25.550	39	.655		
Total	2074.000	80			
Corrected Total	53.950	79			

a. R Squared = .526 (Adjusted R Squared = .041)

ตารางที่ ฉ 6 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนความชอบด้านการยอมรับโดยรวมของโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากขมิ้นชัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: total

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	20.800[a]	40	.520	1.014	.483
Intercept	2163.200	1	2163.200	4218.240	.000
treatment	.000	1	.000	.000	1.000
block	20.800	39	.533	1.040	.452
Error	20.000	39	.513		
Total	2204.000	80			
Corrected Total	40.800	79			

a. R Squared = .510 (Adjusted R Squared = .007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ – นามสกุล	นายอภิวัฒน์ วาดเขียน
วัน เดือน ปีเกิด	28 เมษายน พ.ศ. 2524
ที่อยู่	1 หมู่ 6 ตำบลสวนพริกไทย อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000
ประวัติการศึกษา	2547 วิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)
	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้