การศึกษาเปรียบเทียบสารสกัดสมุนไพรจาก จิงจ้อ หมากเมีย และแห้วหมู สำหรับเคลือบผ้าปอกระเจา

นายธนาคาร ชาติดำ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2558
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

COMPARATIVE STUDY OF HERBAL EXTRACTS FROM OPERCULINA TURPETHUM, ACOURUS CALAMUS AND CYPERUS ROTUNDUD FOR JUTE FABRICS COATING

Mr. Thanakarn Chatdum

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering
Department of Chemical Engineering
Faculty of Engineering
Chulalongkorn University
Academic Year 2015

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาเปรียบเทียบสารสกัดสมุนไพรจาก จิงจ้อ หมากเมีย และแห้วหมู สำหรับเคลือบผ้าปอกระเจา
โดย	นายธนาคาร ชาติดำ
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ ดร.ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ เตชวรสินสกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.กษิดิศ หนูทอง)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ ดร.ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ สุรเทพ เขียวหอม)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรีเมฆ ชาวโพงพาง)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ธนาคาร ชาติดำ : การศึกษาเปรียบเทียบสารสกัดสมุนไพรจาก จิงจ้อ หมากเมีย และแห้วหมู สำหรับเคลือบผ้าปอกระเจา (COMPARATIVE STUDY OF HERBAL EXTRACTS FROM *OPERCULINA TURPETHUM*, *ACOURUS CALAMUS* AND *CYPERUS ROTUNDUD* FOR JUTE FABRICS COATING) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อ. ดร. ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล, 78 หน้า.

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย คือ จิงจ้อ หมากเมียและแห้วหมู ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis* และ *S. aureus*) และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) ด้วยวิธี Disc diffusion method โดยใช้ตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วที่แตกต่างกัน พบว่าสารสกัดจากเอทานอลสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทุกสายพันธุ์ที่ทำการทดสอบ สารสกัดหยาบของแห้วหมูแสดงผลยับยั้งจุลินทรีย์ได้สูงสุด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยที่วัดได้จากสารสกัดแห้วหมูมีค่าตั้งแต่ 7.00 ถึง 8.33 มิลลิเมตร ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อของสารสกัดมีค่าตั้งแต่ 0.1 ถึง 0.003125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และยังพบว่าแห้วหมูยังมีปริมาณฟีนอลิกและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดคือ 8.024 มิลลิกรัมสมมูลแกลลิกต่อกรัมและ 0.49 มิลลิโมลต่อกรัม ตามลำดับ การศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดแสดงภาพของการสูญเสียโดยสมบรูณ์ของผิวเซลล์และการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ทดสอบทั้งหมดโดยสารสกัดของแห้วหมู

การศึกษาการเคลือบผ้าปอกระเจาด้วยสารสกัดจากสมุนไพร โดยใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อมิลลิลิตรที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ จากผลการทดลองพบว่า เพิ่มคุณสมบัติในการต้านแบคทีเรีย ผ้าปอกระเจาที่เคลือบด้วยสารสกัดสมุนไพรแห้วหมูสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ดีที่สุด การเคลือบปอกระเจาด้วยสารสกัดแห้วหมูที่ความเข้ม 5-10 เปอร์เซ็นต์พบว่า มีผลต่อการต้านแรงดึงขาดและการยืดตัวของผ้าปอกระเจา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาควิชา วิศวกรรมเคมี ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ปีการศึกษา 2558

5570225221 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEYWORDS: CRUDE EXTRACTS / TRADITIONAL THAI HERBS / *OPERCULINA TURPETHUM* / *ACORUS CALAMUS* / *CYPERUS ROTUNDUS*

THANAKARN CHATDUM: COMPARATIVE STUDY OF HERBAL EXTRACTS FROM *OPERCULINA TURPETHUM*, *ACOURUS CALAMUS* AND *CYPERUS ROTUNDUD* FOR JUTE FABRICS COATING. ADVISOR: CHUTIMON SATIRAPIPATHKUL, Ph.D., 78 pp.

This study evaluated the antimicrobial actiivities of crude extracts of traditional Thai herbs i.e *Operculina turpethum* (L) *Acorus calamus* L., and *Cyperus rotundus* L. against both gram-positive bacteria *(Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*) and gram-negative bacteria (*Escherichia coli*) by Disc diffusion method using solvents of different polarities. The results showed that the ethanolic extracts can inhibit all the tested microbial strains. The crude extracts of *Cyperus rotundus L*. exhibited the highest antimicrobial activity. The average clear zone of the inhibition of *Cyperus rotundus L*. ranged from 7.00 to 8.33 mm. The minimum inhibition concentration values of the extracts ranged from 0.1 mg/L to 0.003125 mg/mL. Total phenolic compounds and antioxidant activity of this crude extract were 8.024 mg calculated as gallic acid and 0.49 milimole per gram. Scanning electron microscopy illustrated a complete loss of cell surface and morphological changes of all the test microbial strains by the extracts of *Cyperus rotundus L.*

Treatment of jute sheet with the extract of Thai herbs (0.5 g/ml) at room temperature for 60 min was studied. The results showed that treated sheet can inhibit all the tested microbial strains. The jute sheet treated with extracts of *Cyperus rotundus L.* exhibited the highest antimicrobial activity. The effects of Cyperus rotundus L extract in concentration of 5-10% w.f. on physical properties of jute sheet were investigated. It revealed that adding of the crude extract has effect on tensile strength and elongation efficiency of treated jute sheets.

Department: Chemical Engineering Student's Signature .....

Field of Study: Chemical Engineering Advisor's Signature .....

Academic Year: 2015

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ การศึกษาเปรียบเทียบสารสกัดสมุนไพรจาก จิงจ้อ หมากเมียและแห้วหมู สำหรับเคลือบผ้าปอกระเจา สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีโดยได้รับความอนุเคราะห์ ช่วยเหลือที่ดีจากบุคคลต่างๆ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อ.ดร.ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางการวิจัย และให้ข้อคิดเห็นในการแก้ไขปัญหาต่างๆ ตลอดจนช่วยแก้ไขและเพิ่มเติมวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตั้งแต่ต้นจนสำเร็จเป็นรูปเล่ม

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ซึ่งประกอบด้วย รศ.ดร.กษิดิศ หนูทอง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รศ.ดร. สุรเทพ เขียวหอม และ ผศ.ดร.ศรีเมฆ ชาวโพงพาง กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ท้ายที่สุด ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ทุกคนในครอบครัว และท่านผู้มีพระคุณทุกท่าน ที่ได้ให้ความสนับสนุนและเป็นกำลังใจแก่ข้าพเจ้าในการศึกษามาโดยตลอด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญรูปภาพ ..... ญ

สารบัญตาราง ..... ฏ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 1

1.3 ขอบเขตการวิจัย 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

2.1. จิงจ้อ 4

2.2 หมากเมีย 5

2.3 แห้วหมู 6

2.4 อนุมูลอิสระ 7

2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ 9

2.6 การตรวจหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ 10

2.6.1 HAT-based assays 10

2.6.2 ET-based assays 11

2.7 ทฤษฎีการสกัด 13

2.7.1 Solid/Liquid extraction 14

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

2.7.2 Liquid/liquid extraction 15
2.7.3 Acid/Base Extraction 16
2.7.4 หลักการเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสม 16
2.7.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด 18
2.8 ผ้าปอกระเจา 19
2.9 การทดสอบสมบัติของผ้าปอกระเจา 22
2.10 จุลินทรีย์ชนิดต่างๆที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรค 23
2.10.1 แบคทีเรีย 23
2.10.2 ยีสต์ 25
2.10.3 รา 26
บทที่ 3 อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย 31
3.1 อุปกรณ์ 31
3.2 เคมีภัณฑ์ 32
3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ 32
3.4 วิธีดำเนินงานวิจัย 32
บทที่ 4 ผลการทดลอง วิเคราะห์ผลการทดลอง 38
4.1 ผลการศึกษาปริมาณสารสกัดหยาบของสมุนไพรไทย 38
4.2 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสมุนไพรไทย 41
4.3 ผลการศึกษาสารสกัดเพื่อทดสอบหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ 43
4.4 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย 45
4.4.1 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc diffusion method 45
4.4.2 ผลการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย 51

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

4.5 ผลของสารสกัดจากสุมนไพรต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์..... 54
4.6 ผลของตัวทำละลายต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของพืชสมุนไพร 56
4.7 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของตัวอย่างผ้าปอกระเจาที่เคลือบสารสกัดสมุนไพร 60
4.8 ผลการเปรียบเทียบสมบัติเชิงกลของผ้าปอกระเจา 65
4.9 ผลการตรวจสอบลักษณะของเส้นใยปอกระเจาที่เคลือบด้วยด้วยสารสกัดสมุนไพรด้วย กล้องส่องกราด 66
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย..... 67
รายการอ้างอิง 69
ภาคผนวก ก..... 72
การคำนวณการวิเคราะห์ข้อมูล..... 72
ภาคผนวก ข..... 73
ข้อมูลทางการทดลองและกราฟมาตรฐาน..... 73
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 78

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 2 1 ลักษณะของจิงจ้อ 4

รูปที่ 2 2 ลักษณะของหมากเมีย 5

รูปที่ 2 3 ลักษณะของแห้วหมู 6

รูปที่ 2 4 เครื่องสกัดซ็อกเล็ต (Soxhlet) 15

รูปที่ 2 5 ลักษณะแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* 24

รูปที่ 2 6 ลักษณะแบคทีเรียกลุ่ม *Pseudomonas* 24

รูปที่ 2 7 ลักษณะยีสต์ *Saccharomyces* 25

รูปที่ 2 8 ลักษณะรากลุ่ม *Aspergillus* 26

รูปที่ 2 9 ลักษณะรากลุ่ม *Penicillium* 26

รูปที่ 4.1 ลักษณะสมุนไพรแห้งที่ผ่านการบด 39

รูปที่ 4.2 ผลได้ที่ได้จากการสกัด หมากเมีย จิงจ้อ และ แห้วหมู ด้วยตัวทำละลายต่างๆ ได้แก่ เอทานอล 50% เอทานอล 90% อะซิโตน คลอโรฟอร์ม และ เฮกเซน 40

รูปที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัด หมากเมีย จิงจ้อ และ แห้วหมู จากจิงจ้อ โดยรายงานผลเป็น GAE/g Herb หรือ Gallic Acid Equivalent 42

รูปที่ 4.4 ปริมาณต้านอนุมูลอิสะในสารสกัดจาก หมากเมีย จิงจ้อ และ แห้วหมู จากจิงจ้อ โดยรายงานผลเป็น mmol/g DW 44

รูปที่ 4.5 ฤทธิ์เชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหมากเมียจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 0.5 กรัมต่อมิลลิลิตร *E. coli B. subtilis* และ *S. aureus* 47

รูปที่ 4.6 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจิงจ้อจากตัวทำละลายชนิดที่ความเข้มข้นของสารสกัด 0.5 กรัมต่อมิลลิลิตร *E. coli B. subtilis* และ *S. aureus* 48

รูปที่ 4.7 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดแห้วหมูจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 0.5 กรัมต่อมิลลิลิตร *E. coli B. subtilis* และ *S. aureus* 49

รูปที่ 4.8 เชื้อ *E. coli* ก่อนและหลังได้รับสารสกัดได้รับสารสกัด 54

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 4.9 เชื้อ *B. subtilis* ก่อนและหลังได้รับสารสกัดได้รับสารสกัด 54

รูปที่ 4.10 เชื้อ *S. aureus* ก่อนและหลังได้รับสารสกัดได้รับสารสกัด 55

รูปที่ 4.11 แห้วหมูก่อนสกัด..... 56

รูปที่ 4.12 แห้วหมูหลังสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 %..... 57

รูปที่ 4.13 แห้วหมูหลังสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 90 %..... 57

รูปที่ 4.14 แห้วหมูหลังสกัดด้วยเฮกเซน 58

รูปที่ 4.15 แห้วหมูหลังสกัดด้วยอะซิโตน 59

รูปที่ 4.16 แห้วหมูหลังสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม..... 59

รูปที่ 4.17 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าปอกระเจาที่เคลือบด้วยสารสกัดสมุนไพร ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 0.5 กรัมต่อมิลลิลิตร *E. coli B. subtilis* และ *S. aureus*..... 62

รูปที่ 4.18 แสดงภาพถ่ายผ้าปอกระเจาที่สภาวะต่างๆ ด้วยกล้องส่องกราด ผ้าปอกระเจาที่ไม่ได้ผ่านการชุเคลือบสารสกัด ผ้าปอกระเจาที่ผ่านการเคลือบสารสกัด 5 เปอร์เซ็นต์ และผ้าปอกระเจาที่ผ่านการเคลือบสารสกัด 10 เปอร์เซ็นต์..... 66

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

ตารางที่ 2.1 แสดงวิธีตรวจวัดอนุมูลอิสระ 13

ตารางที่ 2.2 คุณสมบัติของตัวทำละลายบางชนิดที่ใช้ในการสกัดสมุนไพร 17

ตารางที่ 2.3 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับวัสดุต้านจุลินทรีย์ 20

ตารางที่ 2.4 จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในอาหาร 27

ตารางที่ 4 1 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อเชื้อ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus* 50

ตารางที่ 4 2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดแห้วหมูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 % ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 52

ตารางที่ 4 3 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจิงจ้อที่สกัดด้วยเอทานอล 50 % ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 53

ตารางที่ 4 4 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหมากเมียที่สกัดด้วยเอทานอล 50% ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 53

ตารางที่ 4 5 ผลการยับผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของผ้าปอกระเจาที่เคลือบสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ที่สกัดด้วยเอทานอล 50% 61

ตารางที่ 4 6 ผลการยับยั้งแบคทีเรียของผ้าปอกระเจาที่ประกอบด้วยสารสกัดแห้วหมูและสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต เมื่อสังเกตุผล ที่เวลา 24 ชั่วโมง 63

ตารางที่ 4 7 เปรียบเทียบคุณสมบัติทางเชิงกลของผ้าปอกระเจาก่อนและหลังการเคลือบด้วยสาร 65

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ผ้าปอกระเจา หรือผ้ากระสอบ เป็นวัสดุสิ่งทอที่นิยมนำมาใช้ผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์เนื่องจากผ้าปอกระเจา เป็นวัสดุจากธรรมชาติ สามารถย่อยสลายได้ ส่งผลให้ผลกระทบที่อาจเกิดกับสิ่งแวดล้อมมีน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุสังเคราะห์ชนิดอื่น พบว่าผ้าปอกระเจา ถูกใช้ในการทำเป็นบรรจุภัณฑ์ต่างๆทั่วโลก อย่างไรก็ตาม บรรจุภัณฑ์ที่ถูกบรรจุในผ้าปอกระเจา มีโอกาสที่จะปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ส่งผลให้เกิดการเน่าเสีย ติดเชื้อ ทำให้ผู้บริโภคหรือสัมผัสกับบรรจุภัณฑ์ เกิดอาการเจ็บป่วยได้ บรรจุภัณฑ์ประเภทแอคทีฟที่มีคุณสมบัติต้านการเจริญของจุลินทรีย์จึงถูกพัฒนาขึ้น เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว (Rodrigues และคณะ. 2007) และในปัจจุบันมีการตื่นตัวกับการนำวัตถุดิบทางธรรมชาติมาใช้ประโยชน์เพื่อสุขภาพและหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีหรือสารสังเคราะห์ในบรรจุภัณฑ์ จึงได้มีการพัฒนาบรรจุภัณฑ์ที่ผลิตจากวัตถุดิบทางธรรมชาติให้มีสมบัติในการป้องกันและยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย คือ การนำสารสกัดจากธรรมชาติที่ได้จากพืชมาใช้ทดแทนสารเคมีสำหรับป้องกันเชื้อแบคทีเรียซึ่งถือว่าเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

จากข้อมูลข้างต้น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรจิงจ้อ หมากเมียและแห้วหมู เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากผ้าปอกระเจา ที่เคลือบด้วยสารสกัดสมุนไพร รวมถึงศึกษาความสามารถของปริมาณสารที่ทำการยับยั้งอนุมูลอิสระและหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ จิงจ้อ หมากเมียและแห้วหมู เพื่อเป็นข้อมูลในการใช้เป็นวัตถุดิบทางสมุนไพรและเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับสมุนไพรอีกทางหนึ่งด้วย นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้ยังมีการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของเส้นปอ ว่า การเคลือบมีผลต่อสมบัติในแง่ความเพิ่มความแข็งแรงต่อการดึงหรือการฉีกขาด การยืดตัวและความคงทนต่อการขัดถูของเส้นปอในผ้าผ้าปอกระเจา

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาการสกัดสารสมุนไพรจากจิงจ้อ หมากเมียและแห้วหมู รวมทั้งวิเคราะห์หาปริมาณสารกัดหยาบและสารฟีนอลิกรวม

1.2.2 ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบที่ได้

1.2.3.ศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียและคุณสมบัติทางกายภาพของผ้าปอกระเจา ก่อนและหลังการเคลือบด้วยสารสกัดสมุนไพร

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1. ทำสกัดสารจากสมุนไพรไทย 3ชนิดได้แก่ จิงจิอ หมากเมียและแห้วหมูโดยการแปรผันชนิดของตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ เฮกเซน, อะซีโตน , คลอโรฟอร์ม, สารละลายเอทานอลร้อยละ 90% และสารละลายเอทานอลร้อยละ 50 ในอัตราส่วนสมุนไพรต่อตัวทำละลาย 1 ต่อ 20 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

2. ทำการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดสมุนไพรที่สกัดที่ได้ด้วยวิธี Folin-Ciocalteau assay โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิค

3. ศึกษาปริมาณสารแอนติออกซิแดนในสารสกัดสมุนไพรที่สกัดที่ได้ด้วยวิธี Ferric Reducing Ability of Plasma โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต (ferrous sulfate)

4. ศึกษาฤทธิ์ยังยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จากสารสกัดของสมุนไพร โดยใช้แบคทีเรียแกรมบวก คือ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* แบคทีเรียแกรมลบ คือ *Escherichia coli* พร้อมทั้งทดสอบความไวของเชื้อแต่ละชนิดต่อสารสกัดชนิดต่างๆ ด้วยวิธี Disc diffusion method และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibition Concentration, MIC)

5. ศึกษาผลของสารสกัดจากสมุนไพรต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์จุลินทรีย์โดยการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

6. ศึกษาผลของตัวทำละลายต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของพืชสมุนไพรโดยการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

7. ศึกษาฤทธิ์ยังยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของผ้าปอกระเจา โดยการเคลือบด้วยสารสมุนไพรที่ความเข้มข้นที่กำหนด โดยนำมาทดสอบเทียบกับผ้าปอกระเจา ที่ไม่ได้เคลือบสารสกัด และเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นสารสกัดที่ดีที่สุด (0-10 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก)รวมทั้งทดสอบการ

เสริมประสิทธิภาพด้วยสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต (0.2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก)ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมในการยับยั้งจุลินทรีย์

8. ทำการทดสอบคุณสมบัติของผ้าปอกระเจา ก่อนและหลังการเคลือบด้วยสารสมุนไพร โดยนำผ้าปอกระเจา มาทดสอบ ด้วยการใช้สารสมุนไพรที่คัดเลือกจากวิธีการข้างต้น

8.1 ความแข็งแรงต่อแรงดึงและการยืดตัวก่อนขาดของเส้นปอกระเจาด้วยเครื่อง Universal Testing Machine รุ่น Hounsfield H 10 KM (อังกฤษ) ตามวิธีมาตรฐาน ASTMD 2256-97

8.2 การแทรกซึมและเคลือบผิวของเส้นปอกระเจาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อเป็นแนวทางการศึกษาและทำวิจัยสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ จิงจ้อ หมากเมียและแห้วหมู รวมถึงแนวทางในการผลิตผ้าปอกระเจา บรรจุภัณฑ์อาหารจากวัตถุดิบธรรมชาติที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับสมุนไพรอีกทางหนึ่ง นอกจากนี้การเคลือบด้วยสารสกัดสมุนไพรจะช่วยเพิ่มคุณสมบัติความคงทนของผ้าผ้าปอกระเจา ถือว่า เป็นการใช้สารที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1. จิงจ้อ

รูปที่ 2 1 ลักษณะของจิงจ้อ

ชื่อสามัญ : จิงจ้อ (Chingcho)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Operculina turpethum (L.) Silva Manso*

ชื่ออื่น : จิงจ้อตลับ, จิงจ้อเหลี่ยม, จิงจ้อแดง

ชื่อวงศ์ : Convolvulaceae

ถิ่นที่พบได้ : พบทั่วไปในเขตร้อน ขึ้นปะปน กับวัชพืชหรือเลื้อยพันไม้อื่นตามป่าโปร่ง ที่ระดับใกล้น้ำทะเล
จนถึง 1,200 เมตร จากระดับน้ำทะเล ออกดอกช่วงเดือนตุลาคม-พฤษภาคม

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : เป็นพืชไม้เถาเลื้อย ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงสลับ รูปขอบขนาดแคบ ขนาดกว้าง 1-3 ซม. ยาว 3.5-8 ซม. โคนใบมน ปลายใบหยักเว้าเล็กน้อย ขอบใบเรียบ ดอกสีขาว ออกเดี่ยวๆ บางครั้งออกเป็นคู่ กลีบรองดอก 4-5 กลีบ สีเขียวขนาดไม่เท่ากัน กลีบดอก 5 กลีบ เชื่อมติดกันเป็นรูปกรวยปากแตร ปลายกลีบเป็นติ่งแหลม ขนาดผ่าศูนย์กลาง 2-3 ซม. ผลเป็นผลแห้ง สีน้ำตาล รูปไข่ แก่แล้วแตก เมล็ดสีดำ มี 2-4 เมล็ด

สรรพคุณ : ราก แก้ไข้ ขับปัสสาวะ เป็นยาระบาย แก้พรรดึก แก้อาการปวดตามข้อ แก้เสมหะและลม แก้ฟกบวม ช่วยการย่อยอาหาร แก้กำเดา โลหิตเสมหะ เถา รสหวานร้อน แก้บวม แก้ลมพรรดึก แก้เสมหะ โลหิตกำเดา กระตุ้นลำไส้ให้บีบตัว ช่วยย่อยอาหาร

2.2 หมากเมีย

รูปที่ 2 2 ลักษณะของหมากเมีย

ชื่อสามัญ : หมากเมีย (Betel nut, Areca palm)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Acorus calamus L.*

ชื่ออื่น : หมากสง (ภาคใต้), แซ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน), สีซะ (กะเหรี่ยง-ภาคเหนือ), มะ (ซอง-ตราด), เซียด (ชาวบน-นครราชสีมา), ปีแน (มลายู-ภาคใต้), ปิงน๊อ (จีนแต้จิ๋ว), ปิงหลาง (จีนกลาง)

ชื่อวงศ์ : Arecaceae

ถิ่นที่พบได้ : หมากพบได้ในหลายประเทศของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เอเชียใต้ แถบมหาสมุทรแปซิฟิกในส่วนที่เป็นเขตร้อน และบางส่วนของทวีปแอฟริกา

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : เป็นพืชยืนต้น มีลำต้นตรง ไม่แตกกิ่งก้าน สูง 5-15 เมตร ลำต้นเดี่ยว แข็งแรง ลำต้นมีสีเขียวบริเวณ ใกล้ส่วนยอด และเมื่ออายุมากขึ้นลำต้นจะเปลี่ยนเป็นสีเทา ใบยาวถึง 4 เมตร และมีใบฝอยหลายใบ

แต่ละใบยาวประมาณ 60-90 ซม. ดอกหมากจะขึ้นที่ซอกโคนก้านใบ ดอกรวมเป็นช่อใหญ่ ดอกมี สีเหลืองอ่อน มีกลิ่นหอมหวานเย็น ผลมีลักษณะกลมหรือรี ผลอยู่รวมกัน 50-100 ผลใน 1 ทะลาย ผล

อ่อนสีเขียวเรียกว่าหมากดิบ เมื่อผลสุกจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมเหลืองเรียกว่าหมากสง ภายในมีเนื้อลักษณะแข็ง

สรรพคุณ : ลูกอ่อนของหมากมีรสฝาดหวาน ช่วยเจริญอาหาร ขับเสมหะ สมานแผล แก้เมา แก้อาเจียน แก้ไอ เปลือกผลมีรสจืดหวาน ช่วยขับลม ขับปัสสาวะ แก้ท้องอืดแน่น แก้บิด แก้ท้องเสีย เมล็ด รสฝาด แก้บิดปวดเบ่ง แก้ปวดแน่นท้อง ฆ่าพยาธิ ขับปัสสาวะ

2.3 แห้วหมู

รูปที่ 2 3 ลักษณะของแห้วหมู

ชื่อสามัญ : แห้วหมู (Nut grass, Cocograss)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Cyperus rotundus L.*

ชื่ออื่น : หญ้าแห้วหมู หรือ หญ้าขนหมู (แม่ฮ่องสอน), ซาเซ่า (แต้จิ๋ว), ซัวฉ่าว (จีนกลาง)

ชื่อวงศ์ : Cyperaceae

ถิ่นที่พบได้ : พบได้ในเขตร้อนและทุกภาคของประเทศไทย

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : เป็นพืชจำพวกไม้ล้มลุก ลำต้นอยู่ใต้ดิน มีลักษณะเป็นหัวกลม สั้น มีตาจำนวนมาก และสามารถแทงไหลไปได้ไกลแล้วเกิดหัวใหม่เจริญขึ้นต้นเหนือดิน ใบของ แห้วหมูเกิดที่ลำต้น ชิดแน่นโดยเป็นกาบใบหุ้มซ้อนม้วนทับกัน ชูขึ้นเหมือนลำต้นแล้วแผ่เป็นแผ่นใบแบนรูปแถบยาว ปลายแหลม กลางใบเป็นสันร่อง ผิวใบเรียบสีเขียวเข้ม กว้างประมาณ 0.5 เซนติเมตร ยาว 25 เซนติเมตร ดอกของแห้วหมูเกิดที่ปลายยอด ก้านช่อดอกเป็นรูปเหลี่ยมสีเขียวเข้มแทงขึ้นสูง ยาว

ประมาณ 30 เซนติเมตร แล้วแตกเป็นช่อย่อยอีกหลายช่อ ดอกย่อยสีน้ำตาลจำนวนมาก ผลรูปขอบขนาน ปลายแหลมสีน้ำตาลหรือดำ

สรรพคุณ ส่วนหัว แก้ ท้องอืด ท้องเฟ้อ อาการแน่นจุกเสียด แก้โรคบิด ขับปัสสาวะ ใช้ในการรักษาโรคบาดทะยัก มะเร็ง ยาลดไข้ แก้กระหายน้ำ รักษาโรคตับอักเสบ เป็นยาถ่ายพยาธิตัว แก้ชัก เชื้อมาลาเรีย ลดฤทธิ์อะฟาทอกซิน ลดความเป็นพิษที่มีต่อตับ ลดฤทธิ์แอลกอฮอล์ รักษาแผลในกระเพาะอาหารเพิ่มความดันโลหิต กระตุ้นประสาท กระตุ้นการสร้างเม็ดเลือด ลดอาการหดเกร็งของลำไส้กล้ามเนื้อมดลูก และกล้ามเนื้อเรียบ บำรุงหัวใจ กระตุ้นระบบหายใจ ลดการอักเสบ ใช้รักษากลากเกลื้อน และโรคผิวหนังชนิดต่างๆ ใช้ต้านเชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส รักษาแผล ฝีหนอง แผลติดเชื้อ

2.4 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radicals) คือโมเลกุลหรืออะตอมที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวอย่างน้อย 1 ตัว โคจรอยู่ รอบวงโคจรนอกสุด ซึ่งทำให้โมเลกุลหรืออะตอมนั้นมีลักษณะไม่เสถียรและทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีได้เร็ว เนื่องจากลักษณะของโมเลกุลที่ไม่เสถียรจึงจำเป็นต้องเกิดปฏิกิริยากับอะตอมข้างเคียงเพื่อทำให้โมเลกุลของตัวมันเองเสถียรขึ้น ดังนั้นอะตอมข้างเคียงจึงเกิดเป็นอนุมูลอิสระขึ้นแทนเพราะสูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนมาจากโมเลกุลข้างต้น เรียกปฏิกิริยานี้ว่าปฏิกิริยาลูกโซ่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตัวอย่างของอนุมูลอิสระมีดังนี้

อนุมูลอิสระ	หมู่ฟังก์ชัน
Superoxide anion radical	$O^{\bullet}_2$
Hydroxyl radical	$HO^{\bullet}$
Peroxide radical	$ROO^{\bullet}$
Peroxyl radical	$LOO^{\bullet}$
Hydrogen peroxide	H_2O_2
Ozone	O_3
Singlet oxygen	$1O_2$
Hydrogen radical	$H^{\bullet}$
Methyl radical	$CH^{\bullet}_3$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

อนุมูลอิสระจะถูกกำจัดด้วยกลไกของร่างกายโดยอัตโนมัติ แต่หากเกิดภาวะที่อนุมูลอิสระมีปริมาณมากจนร่างกายไม่สามารถกำจัดได้ทัน อาจทำให้ร่างกายเกิดความผิดปกติต่างๆ เช่น โรคหัวใจ เรื้อรัง โรคเบาหวาน และโรคมะเร็ง เนื่องจากอนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถเกิดปฏิกิริยากับเซลล์เมมเบรนหรือสารโมเลกุลใหญ่ได้ง่าย ซึ่งทำให้เซลล์เกิดการหยุดชะงัก เกิดความเสียหายถาวรและนำไปสู่การตายของเซลล์

สารพฤกษเคมี (phytochemical) เป็นสารที่พบได้ทั่วไปในพืชซึ่งสารเหล่านี้ถูกนำมาใช้ทางด้านกายภาพได้เป็นอย่างดี โดยสารพฤกษเคมีจะอยู่ในรูปแบบสี รสชาติ และระบบภูมิคุ้มกันของพืช สารเหล่านี้จะเป็นสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งจะพบได้ในผลไม้ พืช ผัก ธัญพืช ถั่ว และเมล็ดต่างๆ (Ewe. 2015) โดยปฏิกิริยาออกซิเดชั่นที่เกิดขึ้นได้เองมี 3 ระยะ

1) ระยะเหนี่ยวนำเริ่มต้น (initiation) คือระยะแรกที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ เกิดจากการแตกตัวของกรดไขมันที่มีแสงและอุณหภูมิเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

$$RH + initiator \rightarrow \dot{R}\dot{H} \qquad (1.1)$$

2) ระยะเพิ่มจำนวน (propagation) คือระยะที่อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซี่ (peroxy radical) ต่อมาทำปฏิกิริยาต่อกับกรดไขมันเกิดเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์(hydroperoxide) และอนุมูลอิสระ ซึ่งถ้ามีแสงและความร้อนเป็นตัวเร่งก็จะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และเกิดอนุมูลอิสระต่อเนื่องเรื่อยๆ ดังสมการ

$$\dot{R} + O_2 \rightarrow ROO\dot{} \qquad (1.2)$$

2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารต่อต้านอนุมูลอิสระหรือที่รู้จักในชื่อว่าสารแอนติออกซิแดน (antioxidant) เป็นสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอล(phenolics)ที่ใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ทางด้านความงาม เนื่องจากมีงานวิจัยที่บ่งบอกว่าสารแอนติออกซิแดนสามารถชะลอริ้วรอยที่เกิดขึ้นทั้งยังสามารถช่วยในการบำรุงผิวพรรณซึ่งส่งผลให้ผิวมีความขาวมากขึ้น นอกจากประโยชน์ทางด้านความงามแล้วสารแอนติออกซิแดนยังมีประโยชน์ในด้านอื่นๆอีก เช่น เป็นสารที่ช่วยป้องกันการเกิดโรคหัวใจขาดเลือด(Marco N. Diaz; Balz Prei; Joseph A. Vita; John F. Keaney Jr.,1997) และโรคมะเร็ง (Mauro S., Rino B. Alicja W., Anna Mia E.,2002)หลักการทำงานของสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลคือ สารประกอบฟีนอลจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่เร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจน ทำให้สารประกอบมีเสถียรภาพ ทำให้ไม่เกิดการทำปฏิกิริยาอื่นต่อไป แต่อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลบางชนิดสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้ด้วย

2.6 การตรวจหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

กระบวนการตรวจหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ วิธีที่อาศัยหลักการของปฏิกิริยาที่มีการถ่ายเทอะตอมไฮโดรเจน (HAT) และวิธีที่อาศัยหลักการของการถ่ายเทอิเล็กตรอน (ET) โดยหลักการของวิธีการถ่ายเทอะตอมไฮโดรเจน คือการแข่งขันกันเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นกับสารประกอบเอโซที่สลายไปซึ่งหลักการนี้จะรวมไปถึงการยับยั้งการเหนี่ยวนำให้เกิดความหนาแน่นต่ำของไลโปโปรตีนในปฏิกิริยาออกซิเดชัน วิธี oxygen radical absorbance capacity (ORAC) วิธี total radical trapping antioxidant parameter (TRAP) วิธี crocin bleaching assays และวิธี ET-based Assays เป็นวิธีที่ใช้วัดความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระโดยจะมีการเปลี่ยนสีเมื่อเกิดการรีดิวซ์ ระดับการเปลี่ยนสีจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่าง โดยวิธี ET-based assaysวิธี the total phenols assay ด้วยสารละลาย Folin-Ciocalteu (FCR) วิธี equivalence antioxidant capacity (TEAC) ด้วยสารละลายโทรลอค และวิธี ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) วิธีทั้งหมดนี้จะใช้สารประกอบเชิงซ้อนคอปเปอร์ (||) และ DPPH เป็นอนุมูลอิสระและวิธีอื่นๆ จะวัดการยับยั้งอนุมูลอิสระของตัวอย่าง เช่น ออกซิเจนอะตอมเดียว ไอออนซุปเปอร์ออกไซด์ เปอร์ออกซิไนไตรด์ และอนุมูลไฮดรอกซิล โดยการวิเคราะห์เหล่านี้มีพื้นฐานมาจากการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลทั้งหมดด้วยวิธี FCR และการวิเคราะห์อนุมูลเปอร์ออกไซด์ด้วยวิธี ORAC ซึ่งแต่ละสารต้านอนุมูลอิสระจะต้องใช้วิธีในการตรวจที่แตกต่างกัน (Apak และคณะ. 2007)

2.6.1 HAT-based assays

HAT-based assays เป็นวิธีการวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่กำจัดอนุมูลอิสระได้ (พวกอนุมูลเปอร์ออกไซด์) โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอม ปฏิกิริยาเคมี HAT ของสารต้านอนุมูลอิสระคืออะตอมไฮโดรเจนของฟีนอลจะถูกถ่ายเทให้อนุมูล ROO• เขียนเป็นปฏิกิริยาได้ดังนี้

$$ROO\cdot + AH \,/\, ArOH \rightarrow ROOH + A\cdot \,/\, ArO\cdot \qquad (1.3)$$

โดย aryloxy radical (ArO•) เกิดจากปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระของฟีนอลกับอนุมูลอิสระเปอร์ออกไซด์ซึ่งถูกทำให้เสถียรด้วยการเกิดเรโซแนนซ์ ส่วน AH และ ArOH เป็นสารปกป้องทางชีวโมเลกุลและสารประกอบฟีนอลิกตามลำดับ โดยสารต้านอนุมูลอิสระฟีนอลิกจะเกิดปฏิกิริยา

กับสารอนุมูลอิสระได้เร็วกว่าสารชีวโมเลกุล ใน HAT-based antioxidant assays จะให้หลอดฟูออเรสเซนต์และสารต้านอนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับ ROO• ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระสามารถหาได้จากค่าไคเนติกซึ่งวัดจากการลดลงของกราฟ หาพื้นที่ใต้กราฟ และเปรียบเทียบปริมาณสารที่หายไปจากการเกิดปฏิกิริยา HAT-based assays รวมถึงวิธี oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay และ TRAP assay จะใช้ R-phycoerythrin แทนหลอดฟลูออเรสเซนต์ crocin bleaching assay ใช้ 2,2'-azobis (2-amidinopropane) hydrochloride (AAPH) เป็นตัวอนุมูลอิสระ และ β-carotene bleaching assay โดยสารอนุมูลอิสระไม่มีเฉพาะอนุมูลอิสระเปอร์ออกไซด์เท่านั้นดังนั้นจึงต้องอาศัยวิธีอื่นในการวัดด้วย

2.6.2 ET-based assays

วิธี ET-based assays สารต้านอนุมูลอิสระถูกจำลองการเกิดปฏิกิริยาด้วย redox-potential probe สารต้านอนุมูลอิสระจะเกิดปฏิกิริยากับฟลูออเรสเซนต์หรือหลอดที่มีสี (สารออกซิไดซ์) แทนอนุมูลอิสระเปอร์ออกไซด์ ET-based assays วัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยการทำให้เกิดปฏิกิริยารีดักชันของอนุมูลอิสระแล้ววัดด้วยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์เนื่องจากเมื่อเกิดการรีดิวซ์ของสารจะทำให้สีเปลี่ยน และระดับของสีที่เปลี่ยน (ไม่ว่าจะเป็นการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่กำหนด) จะมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่าง 2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)Trolox-equivalent antioxidant capacity (TEAC) และ 2,2-di(4-*tert*-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl (DPPH) ซึ่งเป็นวิธีที่ทำให้สีจางลงโดยใช้สารประกอบโฟลิน ferric reducing antioxidant power (FRAP) และ cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) เป็นวิธีที่เพิ่มการดูดกลืนแสงในความยาวคลื่นที่กำหนดเนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยากับสารที่มีสี (มี 2 วิธี คือ Fe(II) และ Cu(I) เกิดจากการถ่ายเทประจุกับลิแกนด์) โครโมฟอร์ที่มองไม่เห็นของ Ce^{4+} รีดิวซ์สารต้านอนุมูลอิสระซึ่งวิธีนี้ถูกพัฒนาโดย Ozyurt และคณะ ใช้ Ce(IV)ในกรดซัลฟิวริกเจือจางหลังจากเกิดออกซิเดชันโพลีฟีนอลแล้ววัดค่าที่ความยาวคลื่น 320 นาโนเมตร (ช่วงอิเล็กโตรแมคเนติกของรังสียูวี) วิธีเฟอริก-เฟอโรซีนเป็นวิธีที่ใช้วัดสารต้านอนุมูลอิสระที่ถูกพัฒนามาเพื่อให้เป็นวิธีที่ง่าย ลงทุนน้อย และสามารถตรวจสอบสารต้านอนุมูลอิสระได้ในอาหารที่หลากหลาย ในลิแกนด์เฟอโรซีน เฟอริคไอออนเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ออกซิไดซ์ได้ง่ายและตัวมันเองจะรีดิวซ์เป็น Fe(II)-FZ ซึ่งมีค่าการ

ดูดกลืนแสงที่สูงมาก (Fe(II) 2.8×10^4 $Lmol^{-1}cm^{-1}$) วิธี ferricyanide/Prussian blue เป็นวิธีที่วัดความสามารถในการรีดิวซ์ซึ่งวิธีนี้ถูกปรับปรุงมาเพื่อให้สามารถทำซ้ำได้ และมีความสัมพันธ์แบบเชิงเส้นซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระจะสัมพันธ์กับความเข้มข้น การใช้เฟอริคไซยาไนส์และเฟอริคไอออนร่วมกันเป็นอนุมูลอิสระมีสีที่นิยมใช้ในปฏิกิริยารีดอกซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระที่หลากหลาย Prussian blue จะถูกขัดขวางด้วยการเพิ่มโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต (SDS) และค่า pH ที่เหมาะสมจะถูกปรับเป็น 1.7 เพื่อรักษาการรีดอกซ์ของ เฟอริคไอออนในขณะเดียวกันก็เป็นการป้องกันการเกิดไฮโดรไลซิสด้วย การบ่มปฏิกิริยาไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาทีจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่สมบูรณ์กว่าวิธีเฟอริคไซยาไนส์ธรรมดาแต่ในขณะเดียวกันการบ่มที่อุณหภูมิสูงก็อาจจะส่งผลให้เกิดการออกซิเดชันที่มากเกินไปของสารผสมเนื่องจากความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นเป็นความสัมพันธ์แบบเส้นตรง วิธี ET-based โดยทั่วไปจะให้เวลาคงที่และสนใจการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์และวัดค่าความสามารถในการเปลี่ยนสารตั้งต้นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการทางเทอร์โมไดนามิกซ์ในช่วงเวลานั้น วิธี ET-based รวมถึง ABTS TEAC และ DPPH (เป็น 2 วิธีแรกที่ผสมระหว่างวิธี HATและ ET-based) ส่วน Folin–Ciocalteu reagent (FCR) FRAP ferricyanide และ CUPRAC ใช้สารรีดอกซ์ที่มีสีที่แตกต่างกัน แม้ว่าการรีดิวซ์ของตัวอย่างจะไม่เป็นความสัมพันธ์แบบเส้นตรงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ แต่มันก็เป็นปัจจัยสำคัญของการต้านอนุมูลอิสระ (Apak และคณะ. 2013)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 2 1 แสดงวิธีตรวจวัดอนุมูลอิสระ(Huang และคณะ. 2005)

assays involving hydrogen atom transfer reactions	ORAC (oxygen radical absorbance capacity)
$ROO^{\bullet} + AH \rightarrow ROOH + A^{\bullet}$	TRAP (total radical trapping antioxidant parameter)
$ROO^{\bullet} + LH \rightarrow ROOH + L^{\bullet}$	Crocin bleaching assay
	IOU (inhibited oxygen uptake)
	inhibition of linoleic acid oxidation
	inhibition of LDL oxidation
assays by electron-transfer reaction	TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity)
$M(n) + e$ (from AH) $\rightarrow$ $AH^{\bullet+} + M(n-1)$	FRAP (ferric ion reducing antioxidant parameter)
	DPPH (diphenyl-1-picrylhydrazyl)
	copper(II) reduction capacity
	total phenols assay by Folin–Ciocalteu reagent
other assays	TOSC (total oxidant scavenging capacity) (*90*)
	inhibition of Briggs–Rauscher oscillation reaction (*91*)
	chemiluminescence (*92*)
	electrochemiluminescence (*93*)

2.7 ทฤษฎีการสกัด

การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีที่ใช้ในการแยกสารและทำให้สารมีความบริสุทธิ์ขึ้น โดยอาศัยหลักการของการใช้ตัวทำละลายที่สามารถละลายในสารที่ต้องการได้ดี ละลายสารที่ต้องการออกมาสู่เฟสของตัวทำละลาย โดยการสกัดสามารถแบ่งได้ 3 วิธีดังนี้

1) Solid/liquid extraction หลักการคือ ใช้ตัวทำละลายของเหลวละลายสารที่ต้องการออกมาจากตัวอย่างซึ่งเป็นวัฏภาคของแข็ง โดยการสกัดแบบนี้ถือเป็นการใช้ตัวทำละลายเพื่อตกผลึกสารที่ต้องการ

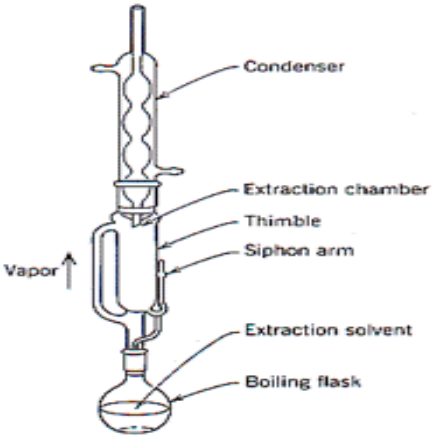
2) Liquid/Liquid extraction หลักการคือ ใช้ตัวทำละลายของเหลวละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสมซึ่งเป็นวัฏภาคของเหลว

3) Acid/Base extraction หลักการคือ ใช้ปฏิกิริยากรดเบสเพื่อแยกสารอินทรีย์ที่มีสมบัติความเป็นกรด-เบสต่างกันออกจากกัน

2.7.1 Solid/Liquid extraction

การสกัดทำได้โดยแช่ตัวอย่างที่เป็นวัฏภาคของแข็งลงในตัวทำละลายของเหลวเป็นเวลานาน การสกัดของแข็งด้วยตัวทำละลาย (solid-liquid extraction) เป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากขั้นตอนนี้จะส่งผลกระทบต่อปริมาณและความสามารถของสารต่อต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ที่สกัดได้ ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารได้แก่ เอทานอล น้ำ เฮกเซน อะซิโตน คลอโรฟอร์ม โดยสามารถแบ่งตัวทำลายทั้งหมดได้เป็นสองประเภท คือ ตัวทำละลายที่มีขั้วและไม่มีขั้ว ความเป็นขั้วที่ต่างกันของตัวทำละลายแต่ละชนิดจะส่งผลให้สกัดสารที่แตกต่างกันได้ โดยส่วนมากจะพบว่าเอทานอลเป็นสารมีขั้วจะสามารถสกัดสารประเภทอะไรออกมาได้มาก โดยเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ได้รับความนิยมในการสกัดสารจากธรรมชาติต่าง ๆ เนื่องจากมีความเป็นขั้วสูงและไม่เป็นพิษเมื่อเทียบกับเมทานอล จากผลงานวิจัยเรื่อง Modeling of the Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans (Stela J., Darko V.; Mate B.; BUCIC-KOJIC, 2010) พบว่าปริมาณน้ำในสารละลายเอทานอลส่งผลต่อความสามารถในการสกัดสารต่อต้านอนุมูลอิสระและยังส่งผลต่อชนิดของสารที่สกัดได้อีกด้วย

หรืออาจใช้เครื่องมือสกัดแบบซ็อกเล็ต (Soxhlet extractor) ที่มีการใช้ความร้อนเข้ามาเป็นตัวช่วยในการสกัดซึ่งวิธีนี้จะนิยมใช้เมื่อสารที่เราต้องการสกัดละลายได้ไม่ดีนักในตัวทำละลาย หลักการของซ็อกเล็ตคือจะใช้ความร้อนทำให้ตัวทำละลายระเหยเป็นไอแล้วผ่านลงไปยังตัวอย่างที่อยู่ในซ็อคเล็ตทำให้สารสกัดละลายอยู่ในตัวทำละลายแล้วไหลลงไปสู่ขวดก้นกลมด้านล่าง โดยตัวทำละลายจะเป็นตัวพาสารสกัดที่ต้องการให้ลงมาอยู่ในขวดก้นกลมด้านล่าง หลังจากนั้นตัวทำละลายที่อยู่ในขวดก้นกลมก็จะถูกทำให้ระเหยผ่านลงมาสู่ตัวอย่างอีกหลายครั้ง วิธีนี้จะทำให้สารสกัดที่ได้ในขวดก้นกลมด้านล่างมีความเข้มข้นมากขึ้น



รูปที่ 2 4 เครื่องสกัดซ็อกเล็ต (Soxhlet)

2.7.2 Liquid/liquid extraction

ตัวทำละลายที่เหมาะสมควรมีคุณสมบัติในการละลายสารสกัดที่ต้องการในตัวอย่างได้ดี มีจุดเดือดไม่สูงมากเพื่อให้สามารถกำจัดออกจากสารสกัดได้ง่าย ต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารหรือตัวทำละลายอื่นที่จะใช้ร่วมกัน ไม่ติดไฟง่าย ไม่มีพิษ และราคาไม่แพง ตัวทำละลายที่นิยมใช้ทั่วไปได้แก่ ไดเอทิลอีเทอร์ ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซีเตด และบิวทานอล โดยปกติการสกัดวิธีนี้จะนิยมใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่แยกวัฏภาคกับน้ำเพื่อสกัดสารที่ละลายน้ำหรือแขวนลอยอยู่ในน้ำ สารเหล่านี้จะเกิดการแยกชั้น และทำให้สารสกัดที่ต้องการละลายอยู่ในทั้งวัฏภาคน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งจะละลายอยู่มากน้อยนั้นขึ้นกับความสามารถในการละลายของตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิด โดยหลักการของการละลายคือ สารที่แตกตัวเป็นไอออนหรือสารที่มีพันธะไฮโดรเจนจะละลายในชั้นน้ำมาก ส่วนสารที่ไม่มีขั้วจะละลายในชั้นของตัวทำละลาย โดยค่าคงที่ของการละลายของสารนี้เรียกว่าสัมประสิทธิ์การแจกแจง (distribution coefficient) (K) เป็นค่าที่แสดงถึงอัตราส่วนของสารว่าสามารถละลายในตัวทำลายต่อชั้นน้ำเท่าไหร่ โดยสัมประสิทธิ์การแจกแจงหาได้จาก

$$K = \frac{C_{solvent}}{C_{water}} \quad (1.10)$$

การสกัดในแต่ละครั้งควรจะใช้ตัวทำละลายไม่มากแต่ทำการสกัดหลายๆ ครั้งเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพของการสกัดที่มากที่สุด

2.7.3 Acid/Base Extraction

การสกัดด้วยวิธีนี้จะใช้แยกสารที่มีสภาวะความเป็นกรดเบสแตกต่างกัน โดยอาศัยการทำปฏิกิริยากับกรดหรือเบสให้เกิดเป็นเกลือซึ่งจะละลายน้ำได้ดี ส่วนสารที่ไม่เกิดเป็นเกลือก็จะไม่สามารถละลายน้ำได้ ตัวอย่างของผสมที่มีความเป็นกรดเบสต่างกันได้แก่ ของผสมของกรดเบนโซอิกซึ่งเป็นกรดแก่ ฟีนอลซึ่งเป็นกรดอ่อน แนพทาลีนซึ่งเป็นกลาง และอะนีลีนซึ่งเป็นเบสอ่อน โดยเริ่มต้นเติมสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตซึ่งเป็นเบสอ่อนลงในสารละลาย โซเดียมไบคาร์บอเนตจะทำปฏิกิริยากับเฉพาะกรดเบนโซอิกซึ่งเป็นกรดแก่ ได้เป็นเกลือโซเดียมเบนโซเอตละลายน้ำได้ จึงทำให้สารนี้ละลายอยู่ในชั้นน้ำ และเมื่อน้ำชั้นน้ำนี้ไปตกผลึกก็จะได้เป็นกรดเบนโซอิกออกมา จากนั้นในชั้นอีเทอร์ก็ทำการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางลงไปเพื่อทำให้เกิดเป็นโซเดียมฟีนอกไซด์ซึ่งแตกตัวเป็นไอออนได้จึงทำให้แยกออกไปอยู่ในชั้นน้ำ เติมกรดไฮโดรคลอริกเจือจางเพื่อให้เกิดเกลืออะนิลิเนียมคลอไรด์ซึ่งละลายน้ำได้ จากนั้นในส่วนอีเทอร์จะเหลือแค่แนพทาลีนโดยสามารถแยกแนพทาลีนโดยใช้การระเหยอีเทอร์ออก

2.7.4 หลักการเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสม

ในการเลือกตัวทำละลายจะต้องพิจารณาปัจจัยต่างๆ ดังนี้

1. ตัวทำละลายต้องสามารถละลายสารที่ต้องการสกัดได้
2. ตัวทำละลายไม่ละลายสารอื่นๆ ที่ไม่ต้องการสกัด
3. ตัวทำละลายต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด
4. ตัวทำละลายต้องแยกออกจากสารที่ต้องการสกัดได้ง่ายและมีจุดเดือดต่ำระเหยง่าย
5. ตัวทำละลายไม่มีความเป็นพิษ

คุณสมบัติต่างๆ ของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารจากสมุนไพรสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2 2 คุณสมบัติของตัวทำละลายบางชนิดที่ใช้ในการสกัดสมุนไพร (Leela และ Satirapipathkul, 2010)

ตัวทำละลาย	คุณสมบัติ
แอลกอฮอล์	เมทานอล และเอทานอล เป็นที่นิยมใช้กันมาก เพราะมีความเป็นพิษต่ำ มีขั้วสูง สามารถละลายสารกว้างหลากหลาย ขจัดออกได้ง่ายโดยไม่ต้องใช้ความร้อนสูง
น้ำกลั่น	เป็นตัวทำละลายที่สำคัญ หาง่าย ราคาถูก ปลอดภัย และสกัดสารได้หลายชนิด แต่อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ง่าย ก่อนนำมาใช้ต้องผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อให้
อะซิโตน	เป็นตัวทำละลายที่กำจัดไขมันได้ดี แต่มีข้อเสียคือ มีกลิ่นฉุน กำจัดออกได้ยาก
อีเทอร์	ละลายสารได้จำกัดชนิด ไม่ละลายสารพื้นฐานชนิดอื่นๆที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อสมุนไพร
คลอโรฟอร์ม	สามารถละลายได้ในสารเกือบทุกชนิด แต่เป็นตัวทำละลายที่อันตราย เนื่องจากเป็นสารก่อมะเร็ง
เฮกเซน	เหมาะสำหรับสารไม่มีขั้ว โดยเฉพาะกลุ่มน้ำมันหอมระเหย
เอสเทอร์	เป็นตัวทำละลายในการสกัดยาสมุนไพร ทำให้ได้ตัวยาสำคัญเข้มข้นและทำให้บริสุทธิ์ขึ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.7.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด

1.ระยะเวลาในการสกัด เป็นตัวแปรที่ส่งผลมากต่ออัตราการสกัด โดยสารในของแข็งจะแพร่เข้าสู่ของเหลวระยะเวลาตั้งแต่เริ่มสัมผัสกันของของเหลวจนถึงความเข้มข้นทั้งสองสถานะมีความเข้มข้นเข้าสู่จุดสมดุล ซึ่งถ้าเวลาน้อยกว่าระยะที่เข้าสู่จุดสมดุลทำให้สารสกัดน้อยลง

2. ขนาดของอนุภาคของแข็งเป็นตัวแปรที่มีส่งผลต่ออัตราการสกัดโดยที่ขนาดของอนุภาคเล็กจะทำให้เกิดพื้นที่ผิว การถ่ายเทมวลสารมากขึ้น ซึ่งมีผลให้สกัดมีประสิทธิภาพสูงสุด

3. ชนิดตัวทำละลาย ตัวทำละลายมีผลต่อการสกัดอย่างมาก ซึ่งในการสกัดให้ได้ผลดีนั้นขึ้นอยู่กับการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวทำละลายที่ดีควรมีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายที่สามารถละลายสารที่เราต้องการสกัดได้ดีพอ ไม่ระเหยง่ายหรือยากจนเกินไป ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่เราต้องการสกัด ไม่เป็นพิษ

4. อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด กระบวนการสกัดทั่วไปจะกระทำที่อุณหภูมิสูง เนื่องจากการละลายของตัวทำละลายที่อุณหภูมิสูงเกิดขึ้นได้ดีกว่า จึงทำให้ความเข้มข้นของตัวทำละลายในส่วนที่สกัดสูงขึ้น อัตราการชะละลายจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากความหนืดของของเหลวลดลงและการแพร่ของตัวทำละลายสูงกว่าค่าที่อุณหภูมิต่ำ อย่างไรก็ตามการใช้อุณหภูมิสูงอาจทำให้ได้สารที่ไม่ต้องการถูกสกัดออกมามากเกินไปหรือตัวทำละลายอาจสูญเสียไปมากและยังสามารถทำลายสารหลากหลายชนิดในสารสกัดได้ ดังนั้นจึงต้องอาศัยการพิจารณาความเหมาะสม

5. การปั่นกวน การกวนเป็นการเพิ่มการแพร่แบบเอ็ดดี้ (eddy diffusion) ทำให้เพิ่มการเคลื่อนที่ของอนุภาคและสารละลาย ช่วยป้องกันการตกตะกอนและเป็นการเพิ่มพื้นที่สัมผัสกับพื้นผิว

6. อัตราการป้อนตัวทำละลาย ในการสกัดแบบต่อเนื่องการป้อนตัวทำละลายจะส่งผลต่อการสกัด เนื่องจากการถ่ายเทมวลสารจะเกิดมากขึ้น แต่ถ้าหากเพิ่มอัตราการป้อนตัวทำละลายมากเกินไปอาจไม่เกิดการถ่ายเทมวลสารที่มาก ดังนั้นควรเลือกใช้อัตราการป้อนที่เหมาะสม

2.8 ผ้าปอกระเจา

ผ้าปอกระเจา หรือ ผ้ากระสอบ คือ ผลิตภัณฑ์ที่สานจากต้นปอกระเจา หรือต้นปอ ปอกระเจาซึ่งเป็นพืชล้มลุกใช้เมล็ดหว่านให้ต้นพืชฉลูดตรง มี 2 พันธุ์ ได้แก่ Capsularisc และ Olitoriusbl สูงตั้งแต่ 150-180 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง ประมาณ 1.75 - 1.90 เซนติเมตร มีใบเฉพาะที่ยอดสีเขียวปานกลางดอกเดี่ยวสีเหลือ 5 กลีบ Capsularis มีผลกลมเหมือนผลมะยม แต่ Olitorius มีผลยาวเหมือนฝักถั่ว กระสอบมี 2 ประเภท ได้แก่ “กระสอบนั่ง” กับ “กระสอบนอน” (ภาษาถิ่นว่า “สอบนั่ง – สอบนอน”) กระสอบป่าน ผลิตจากใยปอเป็นผ้าใยที่สำคัญมากชนิดหนึ่ง แม้จะไม่ใช้ทำเครื่องนุ่งห่ม แต่ก็นิยมนำมาทำเป็นกระสอบผ้าห่อเครื่องจักร ผ้าหอของเพื่อการขนส่ง รวมทั้งใช้ในการบรรจุข้าว เนื่องจากมีคุณสมบัติป้องกันความชื้น จึงทำให้เชื้อราหรือมอดไม่ขึ้นข้าวสาร โดยประเทศไทยใช้กระสอบจำนวนมากต่อปี ประกอบกับมีโรงงานผลิตกระดาษจากใยปอ ปริมาณผลผลิตปอกระเจาจึงเพิ่มมากขึ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 2 3 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับวัสดุต้านจุลินทรีย์

สารต้านจุลินทรีย์	ปริมาณ	สารเคลือบกระดาษ	ชนิดวัสดุ	จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ	ผลการทดลอง	เอกสารอ้างอิง
น้ำมันกานพลู	15%	hydrophobic starch	duplex board	*Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*	จากผลการทดลองพบว่ากระดาษที่เคลือบด้วยน้ำมันกานพลูมีดัชนีการด้านจุลินทรีย์ที่ดีที่สุดคือ 0.32	(สุทธิ์สุดา และคณะ.2553)
น้ำมันกานพลู	1%	glucomannan	ฟางข้าว	*spergillus niger*, *Eurotium amstelodami*, *Penicillium camemberti*	จากผลการทดลองพบว่ากระดาษที่เคลือบด้วยน้ำมันพลู สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราและสามารถยืดอายุการเก็บรักษาทุเรียนกวนที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 90 วัน	(อุดมลักษณ์ และคณะ.2546)

ตารางที่ 2 3 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับวัสดุต้านจุลินทรีย์ (ต่อ)

สารต้านจุลินทรีย์	ปริมาณ	สารเคลือบกระดาษ	ชนิดกระดาษ	จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ	ผลการทดลอง	เอกสารอ้างอิง
น้ำมันอบเชย	2%	glucomannan	ฟางข้าว	*Aspergillus niger*, *Eurotium* sp. , *Penicillium chrysogenum*	กระดาษที่เคลือบด้วยน้ำมันอบเชยสามารถต้านการเจริญของเชื้อราได้และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาทุเรียนกวนที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 70 วัน	(อุดมลักษณ์และคณะ.2549)
Triclosan	10%	Ethylene acrylic acid	ลูกฟูก	*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*	กระดาษที่เคลือบด้วย Triclosan สามารถต่อต้านแบคทีเรียได้และความสามารถในการต่อต้านแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ Triclosan เพิ่มขึ้น	(กิตติมา 2552)

2.9 การทดสอบสมบัติของผ้าปอกระเจา

สมบัติเชิงกล (mechanical property)

สมบัติเชิงกลของวัตถุ หมายถึง สมบัติของวัสดุในการตอบสนองต่อแรงเชิงกลที่มากระทำ ไม่ว่าแรงเชิงกลนั้นจะมีลักษณะใดก็ตาม โดยทั่วไปแล้วสมบัติเชิงกลมักพิจารณาถึงเทอมต่อไปนี้

1. ความเครียด (strain) คือ ผลที่เกิดขึ้นหลังจากได้รับสิ่งรบกวน จะทำให้วัสดุยืดออกหรือหดเข้าตามแนวแรงที่กระทำซึ่งหาได้จากอัตราส่วนระหว่างความยาวของวัสดุที่เปลี่ยนแปลงไปต่อความยาวเดิมของวัสดุก่อนถูกแรงกระทำ

2. ความทนแรงดึง (tensile strength) เป็นการวัดความสามารถของวัสดุที่ต้านทานต่อการขาดภายใต้แรงดึง นับเป็นการทดสอบสมบัติเชิงกลอย่างง่ายของวัสดุที่เป็นแผ่นหรือฟิล์ม

3. เปอร์เซ็นต์การยืดตัว (%elongation) คือ การยืดออกของชิ้นทดสอบที่แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ของความยาวเริ่มต้น ซึ่งการยืดตัวนี้เกิดขึ้นภายใต้แรงดึง ก่อนชิ้นงานจะขาด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.10 จุลินทรีย์ชนิดต่างๆที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรค

จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุสำคัญให้เกิดโรคมี 3 ประเภท ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ และรา

2.10.1 แบคทีเรีย

แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็ก มีรูปร่างต่างๆ กัน เช่น เกลียว กระบอกหรือท่อนกลม ซึ่งอาจเกาะเรียงตัวกันเป็นสายหรือกลุ่ม แบคทีเรียมีการเจริญเพิ่มจำนวนโดยการแบ่งเซลล์โดยเฉลี่ยที่สภาวะเหมาะสมจะเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่าทุก 20-30 นาที ดังนั้นหากในอาหารมีแบคทีเรียปนเปื้อนเพียง 1 เซลล์ ภายใน 10 ชั่วโมง จะมีจำนวนแบคทีเรียมากกว่า 1 ล้าน

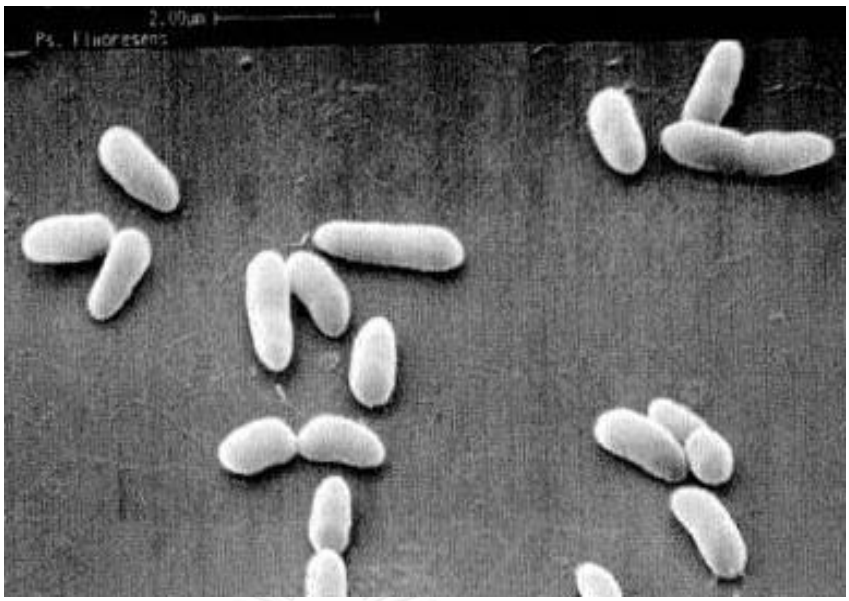
แบคทีเรียที่แบ่งเป็นกลุ่มๆได้ โดยอาจพิจารณาจากความสามารถในการย่อยสลายประเภทอาหารและผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ตัวอย่างเช่น

- แบคทีเรียที่ย่อยสลายน้ำตาล จะมีเอนไซม์ช่วยย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตจำพวกแป้งหรือน้ำตาล

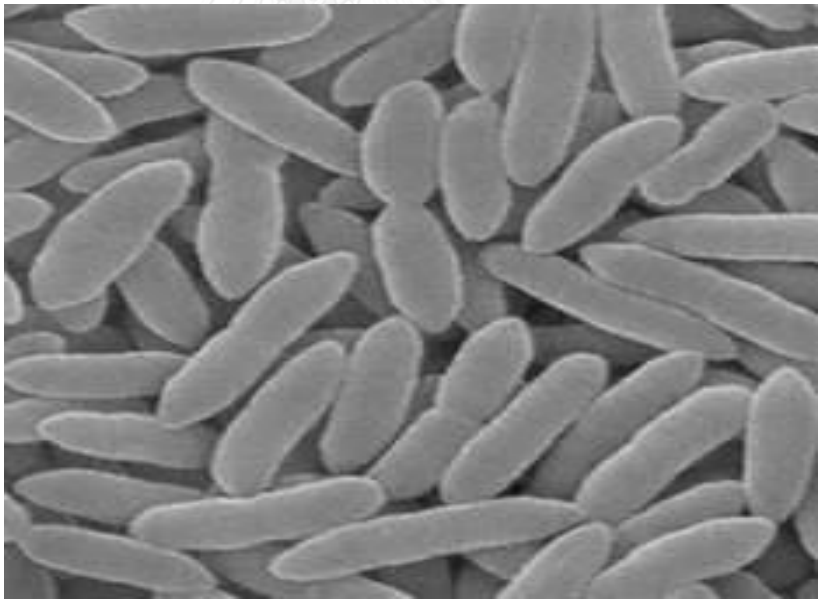
- แบคทีเรียที่ย่อยสลายโปรตีน เช่น *Clostridium*, *Pseudomonas* (ดังแสดงในรูปที่ 6) และ *Proteus* จะสร้างเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนทำให้เกิดการเน่าเสีย แบคทีเรียบางชนิดในกลุ่มนี้สามารถย่อยสลายโปรตีนในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน ทำให้เกิดสารที่มีกลิ่นเหม็น เช่น แก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์

- แบคทีเรียที่ย่อยสลายเพกทิน แบคทีเรียกลุ่มนี้มีน้อยชนิด เช่น *Bacillus* (ดังแสดงในรูปที่ 5), *Clostridium* และ *Erwinia* เป็นต้น แบคทีเรียนี้จะสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยสลายเพกทิน ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อนทำให้อาหารประเภทผักและผลไม้เกิดการเสียหายและเน่าเสียได้

- แบคทีเรียที่สร้างกรด เช่น กรดแอซิติก ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหาร โดยเฉพาะเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ รสชาติจะเปลี่ยนไป เนื่องจากเกิดรสเปรี้ยวจากกรดแอซิติก ตัวอย่างแบคทีเรียที่สร้างกรดแอซิติก เช่น *Acetobacter* และ *Gluconobacter* เป็นต้น



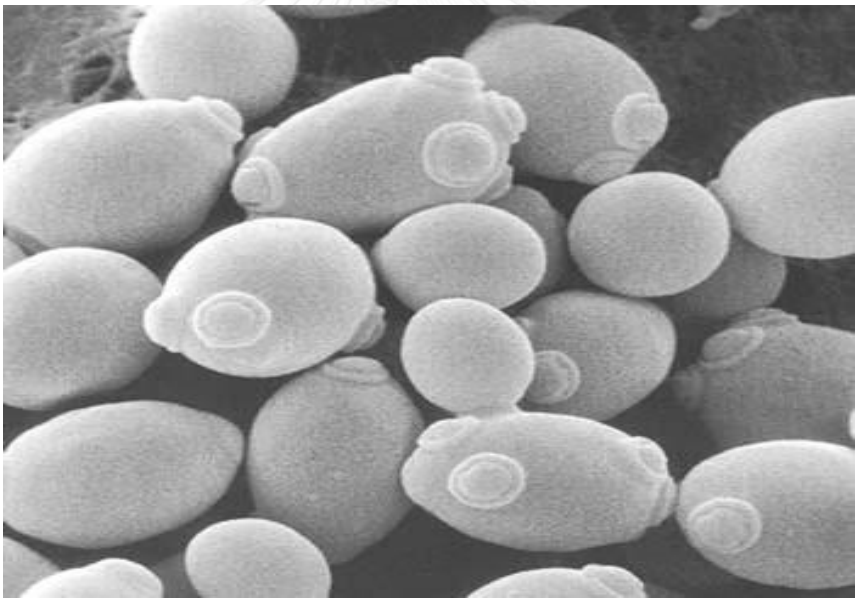
รูปที่ 2 5 ลักษณะแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus*



รูปที่ 2 6 ลักษณะแบคทีเรียกลุ่ม *Pseudomonas*

2.10.2 ยีสต์

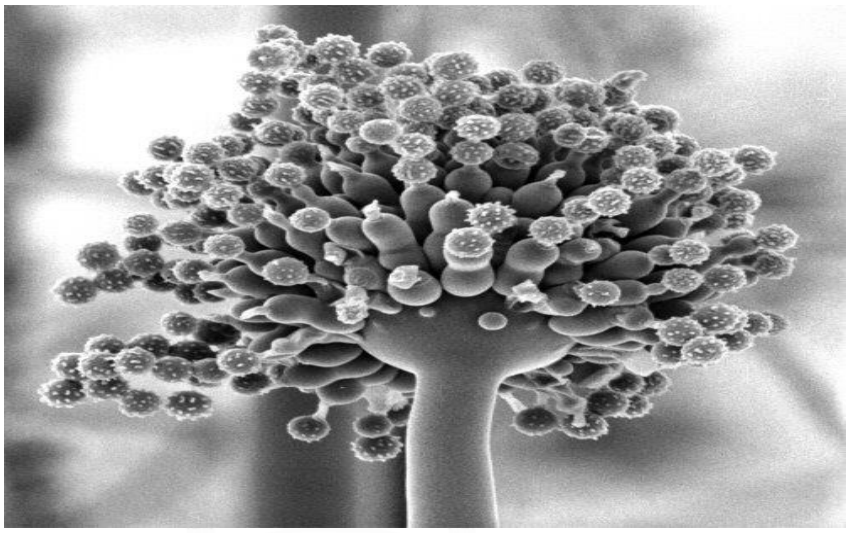
ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย เซลล์มีรูปร่างหลายลักษณะ เช่น กลม รี เป็นต้น ส่วนใหญ่เพิ่มจำนวนโดยการแตกหน่อ ยีสต์เจริญได้ดีในอาหารที่มีน้ำตาลสูง เช่น น้ำผลไม้ แยม ผลไม้แช่อิ่มหรือแห้ง รวมทั้งอาหารที่มีปริมาณเกลือมาก เช่น ผักดอง แฮม เบคอน และเนื้อเค็ม สปอร์ของยีสต์ไม่ทนความร้อนเหมือนกับสปอร์ของแบคทีเรีย นอกจากนี้ ยีสต์ยังมีเอนไซม์ที่ย่อยสลายกรดอินทรีย์ต่างๆที่ใช้ในการถนอมอาหารได้ เช่น กรดแล็กติก กรดแอซิติก ทำให้กรดมีความเข้มข้นลดลง ทำให้อาหารมีสภาวะเหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียได้ อาหารที่เกิดการเน่าเสียจากยีสต์มักเกิดกลิ่นหมัก เมือก หรือฝ้าบริเวณผิวหน้า รวมทั้งเกิดความขุ่นและแก๊สได้ ตัวอย่างยีสต์ชนิดต่างๆ เช่น *Saccharomyces (ดังแสดงในรูปที่ 7), Pichia และTorulopsis* เป็นต้น



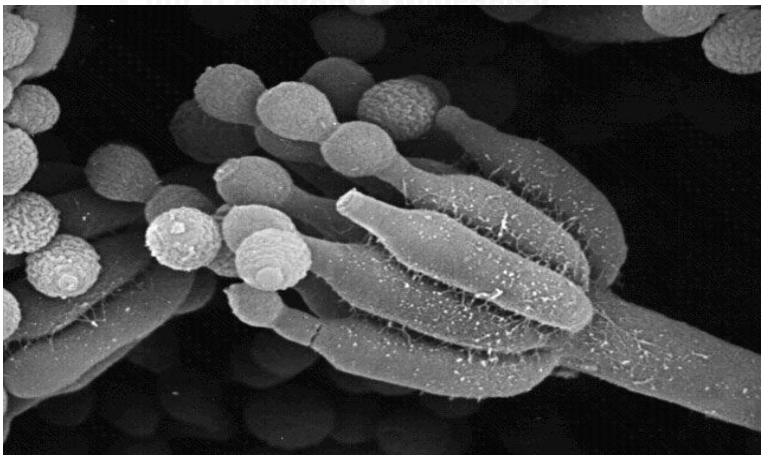
รูปที่ 2 7 ลักษณะยีสต์ *Saccharomyces*

2.10.3 รา

ราเป็นจุลินทรีย์ที่พบอยู่ทั่วไป มีรูปร่างลักษณะและสีต่างๆกัน ราเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผักผลไม้และอาหารแห้ง ผลิตภัณฑ์ขนมอบ เกิดการเน่าเสีย มีสี กลิ่น ที่ผิดปกติ และราบางชนิด เช่น *Aspergillus flavus* ยังสามารถสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินขึ้นในอาหารได้ โดยทั่วไปราเจริญได้ช้ากว่าแบคทีเรียและยีสต์ แต่เมื่อราเจริญได้สักระยะหนึ่ง ก็จะเจริญได้อย่างรวดเร็ว ราสามารถทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ดี เช่น มีความชื้นน้อย ความเป็นกรด จึงเป็นปัญหาในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารมาก ตัวอย่างราชนิดต่างๆ เช่น *Aspergillus, Penicillium (ดังแสดงในรูปที่ 8-9) และ Rhizopus* เป็นต้น



รูปที่ 2 8 ลักษณะรากลุ่ม *Aspergillus*



รูปที่ 2 9 ลักษณะรากลุ่ม *Penicillium*

เนื่องจากอาหารแต่ละชนิดมีองค์ประกอบบางอย่างที่แตกต่างกัน จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีเอนไซม์ที่แตกต่างกัน ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหารแต่ละชนิด จึงเกิดจากจุลินทรีย์ต่างชนิดกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.3 ซึ่งแสดงตัวอย่างของชนิดจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหารแต่ละประเภท

ตารางที่ 2 5 จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในอาหาร

กลุ่มอาหาร	ตัวอย่างจุลินทรีย์
อาหารทะเล	*Achromobacter, Pseudomonas* และ *Vibrio*
เนื้อสัตว์ สัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์	*Achromobacter, Clostridium* และ *Pseudomonas*
ไข่และผลิตภัณฑ์	*Pseudomonas* และ *Proteus*
นมและผลิตภัณฑ์	*Pseudomonas, Micrococcus* และ *Streptococcus*
แยม ผลไม้แห้ง	*Saccharomyces* และ *Schizosaccharomyces*
อาหารกระป๋อง	*Bacillus stearothermophilus* และ *Clostridium thermosaccharolyticum*
ผักและผลไม้	*Botrytis, Erwinia* และ *Penicillium*
ธัญชาติ	mold
น้ำผลไม้	*Escherichia, Lactobacillus* และ *Leuconostoc Yeast*
เครื่องเทศ	*Bacillus* และ mold

บทที่ 3
อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 กระดาษกรองเบอร์ 4 เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 เซนติเมตร (Whatman filter papers no.1)

3.1.2 กระบอกตวง (Cylinder)

3.1.3 กล่องใส่จานเพาะเชื้อ (Petri dish box)

3.1.4 กรวยกรองบุชเนอร์ (Buchner funnel)

3.1.5 ผ้าปอกระเจา

3.1.6 ขวดรูปชมพู่ (flask)

3.1.7 ขวดก้นกลม (Round bottom flask)

3.1.8 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) UV-2450 Mettler Toledo, Switzerland

3.1.9 เครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum pump) A-3S Tokyo Rikakikai CO.,LTD.,Japan

3.1.10 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH Meter) MP220, Mettler Toledo, Switzerland

3.1.11 เครื่องบด (Grinder)

3.1.12 เครื่องให้ความร้อน (Hot Plate Stirrer) RW 20 ZM.n. lka labortechnik, Germany

3.1.13 เครื่องเขย่าสารละลาย (Vortex mixer)

3.1.14 เครื่องชั่งสาร PB303-S/FACT Mettler Toledo, Switzerland

3.1.15 เครื่องกวนสาร (Magnetic stirrer)

3.1.16 จานเพาะเชื้อ (Petri dish) ขนาด 90x15 มิลลิเมตร)

3.1.17 ตู้เตาอบ (Hot Air Oven) ULM 500 Memmert, Germany

3.1.18 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

3.1.19 ตู้แช่เย็น 4 องศาเซลเซียส (Refrigerator) Sanyo, Japan

3.1.20 ตู้แช่-22องศาเซลเซียส (Refrigerator)

3.1.21 แท่งแม่เหล็กกวน (Magnetic bar)

3.1.22 บีกเกอร์ (Beaker)

3.1.23 ปากคีบ

3.1.24 พาราฟิล์ม (Parafilm)

3.1.25 ไมโครปิเปต (Micro pipette)

3.1.26 หลอดทดลอง (Tube)

3.1.27 ลูปเขี่ยเชื้อ

3.1.28 สำลีพันก้าน

3.1.29 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave) SS-325, TOMY, Japan

3.1.30 Vertical Laminar flow VS-124, ISSCO, U.S.A.

3.2 เคมีภัณฑ์

3.2.1 กรดแกลลิก (Gallic acid)

3.2.2 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodiumcarbonate)

3.2.3 ไดเบสิกโซเดียมฟอสเฟต (dibasic sodium phosphate)

3.2.4 น้ำปราศจากไอออน (Deionized water, DI)

3.2.5 ฟอลิน ซิโอแคลตูรีเอเจนต์ (Folin-ciocalteu)

3.2.6 เอทานอล 99.9% (Ethanol99.9%)

3.2.7 อาหารวุ้นแข็ง Nutrient agar (Hi-media)

3.2.8 อาหารเหลว Nutrient broth

3.2.9 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (PDDH)

3.2.10 สารคอปเปอร์ซัลเฟต (Copper(II) sulfate)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ

3.3.1 *Bacillus subtilis*

3.3.2 *Escherichia coli*

3.3.3 *Staphylococcus aureus*

3.4 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.4.1 สมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง

สมุนไพรที่ใช้ในการทดลองนี้มีทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่

จิงจ้อ (ร้านเจ้ากรมเป๋อ, กรุงเทพ)

หมากเมีย (ร้านเจ้ากรมเป๋อ, กรุงเทพ)

แห้วหมู (ร้านเจ้ากรมเป๋อ, กรุงเทพ)

3.4.2 ผ้าปอกระเจาที่ใช้ในการทดลอง

ผ้าปอกระเจาที่ใช้ในการทดลองคือ ผ้าปอกระเจา ขนาด 1 เมตร

3.4.3 การเตรียมตัวอย่างและการสกัดด้วยตัวทำละลาย

นำสมุนไพรจากหัวข้อ 3.4.1 ทำความสะอาดแล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดเป็นผง แล้วทำการสกัดหยาบเป็นเวลา 3 วัน ในอัตราส่วนสมุนไพรต่อตัวทำละลาย (เอทานอล 90%, เอทานอล 50%, เฮกเซน, อะซีโตน และคลอโรฟอร์ม) 1 ต่อ 10 จากนั้นกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum pump) โดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 4 นำสารสกัดที่ได้ระเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Vacuum evaporator) เก็บสารสกัดที่ได้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

3.4.4 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสมุนไพร โดยวิธี Folin-Ciocalteau assay

การวัดค่าความเข้นข้นของสารประกอบฟีนอลิกจะเป็นการวัดค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compounds) โดยนำสารสกัดที่เตรียมไว้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาเติมด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 7.9 มิลลิลิตร Folin-ciocalteu phenol reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และ 20% sodium carbonate ผสมให้เข้ากันทันที เตรียมหลอด blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง เติม Folin-ciocalteu phenol reagent และ 20% sodium carbonate เช่นเดียวกับตัวอย่าง ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง นำสารละลายที่สกัดได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer เทียบกับ blank โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณ phenolic compounds โดยเทียบผลกับกราฟของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิค

3.4.5 การวัดปริมาณสารแอนติออกซิแดนท์ โดยวิธี Ferric Reducing Ability of Plasma

ทำการเตรียมสารละลายเพื่อใช้ในการทำการทดสอบ FRAP (FRAP reagent) โดยการผสมอะซีเตทบัฟเฟอร์, เฟอร์ริกคลอไรด์ และ2,4,6-ไตร-2-ไพริดิว-ไตรอะไซด์ในอัตราส่วน 10:1:1 โดยสารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนทำการวิเคราะห์ในขั้นตอนของการทำการทดสอบ เราจะนำ FRAP reagent มาทำการอุ่นที่ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นผสมสารละลาย FRAP reagent 3

มิลลิลิตรกับน้ำกลั่น 0.3 มิลลิลิตรและสารสกัด 0.1 มิลลิลิตรแล้วเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาทีก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตรเพื่อนำค่าที่ได้ไปทำการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต เพื่อทำการหาปริมาณสารแอนติออกซิแดนที่มีอยู่ในสารสกัด

3.4.6 การเคลือบผ้าปอกระเจาด้วยสารสกัดจากสมุนไพร

เตรียมสารสกัดสมุนไพร และน้ำในอัตราส่วน 0.5:1 จากนั้นกวนสารให้ผสมเข้ากัน นำผ้าปอกระเจาที่แช่ลงในสารละลายให้ท่วมผ้าปอกระเจา โดยใช้อัตราส่วนระหว่างผ้าปอกระเจากับสารละลายที่เตรียมไว้ในอัตราส่วน 1 : 20 นำผ้าปอกระเจาที่ต้องการแช่ลงในสารละลายให้ท่วมผ้าปอกระเจา แช่ผ้าปอกระเจาในสารละลายเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปตากหรือนำไปอบแห้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.4.7 วิธีการเตรียมสารละลายเชื้อเข้มข้น

นำเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการเพาะในอาหารเหลวถ่ายลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อวุ้นเอียง (Slant) 1 ลูป บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นล้างด้วยสารละลายน้ำเกลือผสม (สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำเกลือเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ 800 มิลลิลิตร) 3 มิลลิลิตร เหวี่ยงผสมให้เข้ากันแล้วดูดด้วยไมโครปิเปตปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ในขวดที่เตรียมน้ำเกลือไว้อยู่แล้ว 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ค่าที่ได้อยู่ระหว่าง 0.004 ถึง 0.006 จะได้สารละลายเชื้อเข้มข้น 106 เซลล์ ส่วนการเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ทำการชั่งโมโนโซเดียมฟอสเฟต 27.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร และชั่งไดเบสิกโซเดียมฟอสเฟต 53.65 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายทั้งสองผสมกันในอัตราส่วน โมโนโซเดียมฟอสเฟต 39 มิลลิลิตร ต่อ ไดเบสิกโซเดียมฟอสเฟต 61 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนกระทั่งได้สารละลายปริมาตร 200 มิลลิลิตร

3.4.8 วิธีหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดสมุนไพร

นำเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรีย และ 48 ชั่วโมง สำหรับยีสต์ มาปรับความขุ่นในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากเชื้อ จนมีความขุ่นเท่ากับสารละลายมาตรฐาน 0.5 Mc farland และ เตรียม 2-fold serial dilution โดยนำหลอดทดลองขนาดเล็กมา 10 หลอด ใช้ปิเปตดูดอาหาร TSB ใส่ในหลอดที่ 2 จนถึงหลอดที่ 10 ปริมาณหลอดละ 1 มิลลิลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อโรค อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารสกัดจากสมุนไพรที่เตรียมไว้สำหรับทดสอบ (ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ใส่ในหลอดที่ 1 และหลอดที่ 2 ปริมาตรหลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าหลอดที่ 2 ให้สารสกัดจากสมุนไพรรวมตัวกับอาหาร TSB จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารในหลอดที่ 2 ไปใส่ในหลอดที่ 3 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าหลอด และทำเจือจางต่อไปจนถึงหลอดที่ 9 จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารจากหลอดที่ 9 เขย่าแล้วทิ้งไป 1 มิลลิลิตร หลอดที่ 10 เป็นหลอดที่มีเฉพาะอาหาร TSB ใช้เป็นหลอดควบคุม ใช้ปิเปตดูดเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในหลอดทดลอง หลอดที่ 1 ถึง 10 หลอดละ 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มเพาะในตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รายงานผลจากความขุ่นของการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในหลอดทดลอง ความเข้มข้นของหลอดทดลองสุดท้ายที่เชื้อไม่สามารถเจริญได้ คือ Minimal Inhibitory Concentration

3.4.9 วิธีทดสอบฤทธิ์ยังยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จากสารสกัดของสมุนไพรด้วยวิธี Disc diffusion method

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบมีดังนี้ แบคทีเรียแกรมบวก คือ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* แบคทีเรียแกรมลบ คือ Escherichia coli ทำการศึกษาโดยใช้สำลีพันปลายไม้จุ่มเชื้อพอเปียกแล้ว swab เชื้อลงบนผิวอาหารวุ้นแข็ง 3 ระนาบ จากนั้นใช้ไมโครปิเปตดูดสารสกัดสมุนไพรที่ดีที่สุดจากข้อ 3.4.10 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร มาหยดลงบนกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำมาวางบนจานเพาะเชื้อโดยทำการทดลองเช่นนี้ 3 ซ้ำ แล้วนำจานเพาะเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตผลการทดลองโดยดูลักษณะ clear zone และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณวงใสที่เกิดขึ้น

3.4.10 วิธีทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าปอกระเจาที่ผ่านการเคลือบด้วยสารสกัดจากสมุนไพร

การศึกษาทำโดยนำตัวอย่างผ้าปอกระเจาที่เคลือบสารกัดโดยใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก นำไปฆ่าเชื้อด้วยรังสี UV เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ใช้สำลีพันปลายไม้จุ่มเชื้อพอเปียกแล้ว swab เชื้อลงบนผิวอาหารวุ้นแข็ง 3 ระนาบ จากนั้นนำผ้าปอกระเจาตัวอย่างที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำมาวางบนจานเพาะเชื้อโดยทำการทดลองเช่นนี้ 3 ซ้ำ แล้วนำจานเพาะเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตผลการทดลองโดยดูลักษณะ clear zone และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณวงใสที่เกิดขึ้น ในการทดสอบการเคลือบด้วยสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์ก่อน 24 ชั่วโมง และเคลือบซ้ำด้วยสารสกัดแห้วหมู 5-10 เปอร์เซ็นต์ก่อนนำไปฆ่าเชื้อด้วยรังสี UV เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปทดสอบในสภาวะข้างต้น

3.4.11 วิธีศึกษาผลของสารสกัดจากสมุนไพรต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์จุลินทรีย์

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 1 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมเชื้อจุลินทรีย์ 106 เซลล์ 1 มิลลิลิตร และสารสกัดจากสมุนไพร 1 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง กรองเชื้อและนำไปศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์จุลินทรีย์โดยการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

3.4.12 วิธีศึกษาผลของตัวทำละลายชนิดต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของพืชสมุนไพร

นำสมุนไพรแห้งที่ได้รับการคัดเลือกว่ามีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุดไปศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสมุนไพรก่อนและหลังการสกัดเมื่อใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ โดยการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

3.4.13 วิธีการทดสอบคุณสมบัติเชิงกลของผ้าปอกระเจา

ศึกษาสมบัติเชิงกลของผ้าปอกระเจา ด้วยเครื่อง Universal Testing Machine รุ่น Hounsfield H 10 KM (อังกฤษ) ตามมาตรฐาน ASTMD 2256-97 (ASTM, 1991) ที่โหลดเซลล์ขนาด 1 กิโลนิวตัน โดยเตรียมตัวอย่างชิ้นงานในการทดสอบให้มีขนาด 1x10 เซนติเมตร โดยนำมาเคลือบสารสกัดแห้วหมูที่ความเข้มข้น 0-10 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 นาที ก่อนนำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปทดสอบโดยนำชิ้นงานตัวอย่างที่เตรียมไว้สอดเข้าไปในตัวหนีบทั้งด้านบนและด้านล่างแล้วหมุนตัวหนีบให้มีการจับยึดกับชิ้นงานตัวอย่างให้แน่นเพื่อไม่ให้แผ่นฟิล์มหลุดระหว่างการวิเคราะห์ ให้มีระยะห่างระหว่างตัวหนีบเท่ากับ 10 เซนติเมตร และมีค่า cross-head 50 มิลลิเมตรต่อนาที หลังจากนั้นวิเคราะห์โดยการให้หัวหนีบด้านบนเคลื่อนที่และบันทึกแรงที่มากที่สุดที่ทำให้ชิ้นงานตัวอย่างขาดออกจากกัน เพื่อรายงานผลเป็นค่าต้านทานแรงดึงขาด และค่าการยืดตัว

3.4.14 วิธีศึกษาสารเคลือบสมุนไพรต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของผ้าปอกระเจา

นำผ้าผ้าปอกระเจาจากข้อ 3.4.10 ไปศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงลักษณะของผ้าก่อนและหลังการเคลือบสารสกัด โดยการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4
ผลการทดลอง วิเคราะห์ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาปริมาณสารสกัดหยาบของสมุนไพรไทย

เมื่อทำการสกัดสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด คือ จิงจ้อ หมากเมีย แห้วหมู (รูปที่ 4.1) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์โดยเรียงลำดับความมีขั้วจากตัวทำละลายมีขั้ว (polar solvent) จนถึงตัวทำละลายไม่มีขั้ว (non-polar solvent) คือ เอทานอล 50 % เอทานอล 90% อะซิโตน คลอโรฟอร์ม และเฮกเซน ตามลำดับ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 20 กรัมต่อมิลลิลิตร ระยะเวลา 3 วัน หลังจากระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ จะได้สารสกัดหยาบ ซึ่งปริมาณของค่าผลได้สารสกัดหยาบที่ได้มีค่าตั้งแต่ 0.6 ถึง 12 กรัม ต่อ 100 กรัมสมุนไพรแห้ง ดังแสดงในรูปที่ 4.2

การสกัดแห้วหมูด้วย เอทานอล 50 % เอทานอล 90% เฮกเซน อะซิโตน และคลอโรฟอร์ม พบว่าสารสกัดหยาบของแห้วหมูที่ได้มีค่าเท่ากับ 12.19, 7.20, 1.68, 4.63 และ 2.24 กรัม ต่อ 100 กรัมสมุนไพรแห้ง ตามลำดับ โดยถือว่าตัวทำละลายทุกชนิดสามารถให้สารสกัดสูงมากที่สุดเมื่อเทียบกับพืชสมุนไพรทั้งหมดอีก 3 ชนิด โดยเอทานอล 50 % เป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด สามารถสกัดได้สูงที่สุดคือ 12.19 กรัม ต่อ 100 กรัมสมุนไพร การสกัดด้วยเอทานอล 90 % ให้สารสกัดมากเป็นอันดับสอง รองลงมาคือ คือ อะซิโตน และคลอโรฟอร์ม ตามลำดับ และสารสกัดจากเฮกเซนมีค่าน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับสมุนไพรตัวอื่น เมื่อพิจารณาสารสกัดที่ได้หลังจากระเหยตัวทำละลาย จะมีลักษณะเป็นของเหลวที่มีความมีน้ำตาลอ่อน

การสกัดจิงจ้อด้วยเอทานอล 50 % เอทานอล 90 % คลอโรฟอร์ม อะซิเตท และเฮกเซน พบว่าสารสกัดหยาบของจิงจ้อที่ได้มีค่าเท่ากับ 0.91, 4.62, 0.6, 1.40 และ 1.64 กรัม ต่อ 100 กรัมสมุนไพรแห้ง ตามลำดับ โดยเอทานอล 50 % ตัวทำละลายที่ดีที่สุด รองลงมาคือ เอทานอล 90 % อะซิโตน และคลอโรฟอร์มตามลำดับ ในส่วนของเฮกเซนได้สารสกัดน้อยที่สุด สารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวที่มีสีน้ำตาล

การหมากเมียด้วยเอทานอล 50 % เอทานอล 90% คลอโรฟอร์ม อะซิเตท และเฮกเซน พบว่าสารสกัดหยาบของหมากเมียที่ได้มีค่าเท่ากับ 11.73, 6.47, 1.05, 2.40 และ 2.10 กรัม ต่อ 100 กรัมสมุนไพรแห้ง ตามลำดับ โดยการสกัดด้วยเอทานอล 50 % ให้สารสกัดมากที่สุด คือ 11.73 กรัม

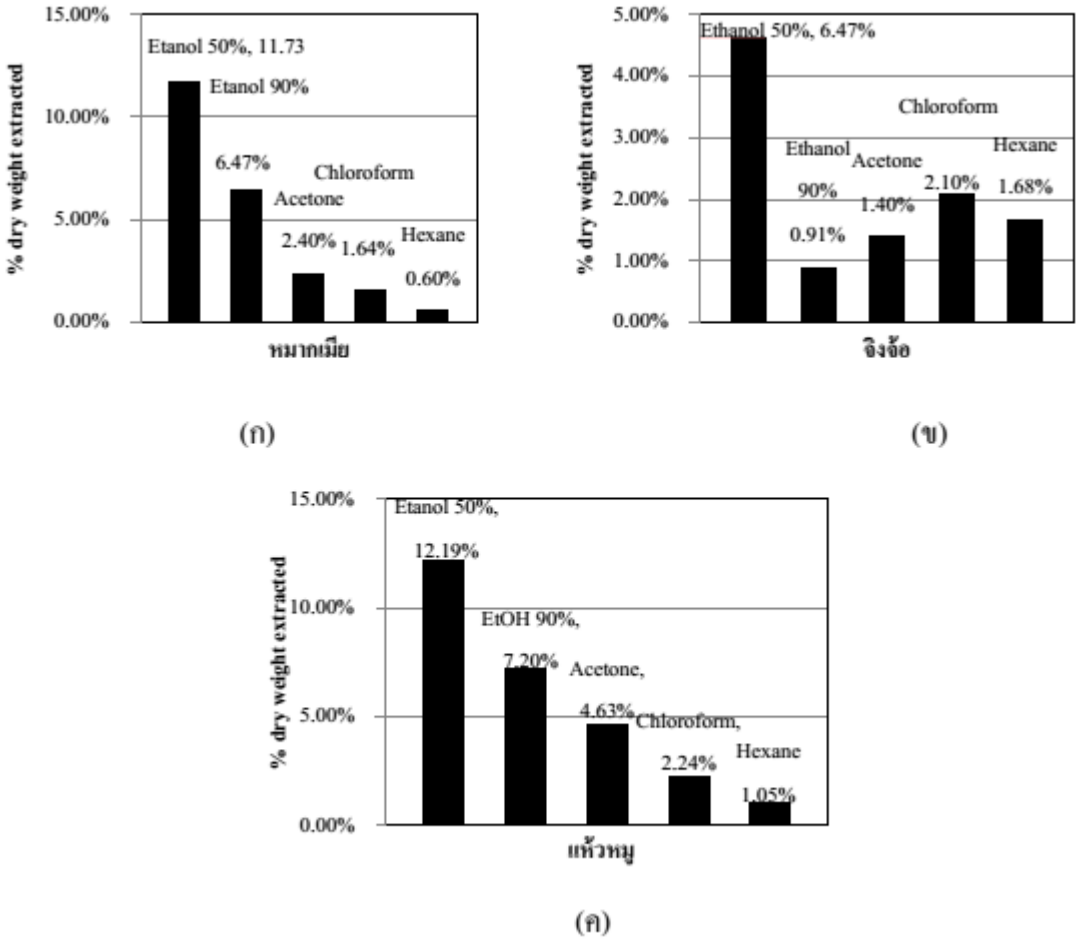
ต่อ 100 กรัมสมุนไพรแห้ง รองลงมา คือ เอทานอล 90 % อะซิโตน และคลอโรฟอร์มตามลำดับ ในส่วนของเฮกเซนได้สารสกัดน้อยที่สุด สารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวที่มีสีน้ำตาลอ่อน

(ก)

(ข)

(ค)

รูปที่ 4.1ลักษณะสมุนไพรแห้งที่ผ่านการบด จิงจ้อ (ข) หมากเมีย (ค) แห้วหมู



รูปที่ 4 2 แสดงผลได้ (yield) ที่ได้จากการสกัด (ก) หมากเมีย (ข) จิงจ้อ (ค) แห้วหมู ด้วยตัวทำละลายต่างๆ ได้แก่ เอทานอล 50% เอทานอล 90% อะซิโตน คลอโรฟอร์ม และ เฮกเซน

4.2 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสมุนไพรไทย

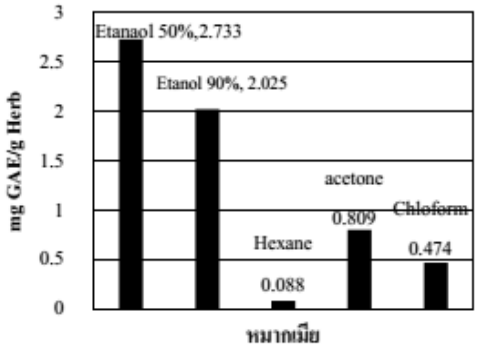
จากการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากการสกัดสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 20 กรัมต่อมิลลิลิตร ระยะเวลา 3 วัน หลังจากการระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ นำสารสกัดหยาบมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นสารประกอบฟีนอลิก ด้วยวิธีวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolics) แสดงดังรูปที่ 4.3 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ที่สกัดได้มีค่าตั้งแต่ 0.068 ถึง 8.024 มิลลิกรัม GAE / กรัม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย

สารสกัดหยาบจากแห้วหมูที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ เมื่อศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พบว่าสารสกัดจิงจ้อที่สกัดด้วยเอทานอล 50 % เอทานอล 90% เฮกเซน อะซิโตนและคลอโรฟอร์ม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 8.024, 4.052, 0.127, 1.107 และ 0.332 มิลลิกรัม GAE ต่อ กรัม ตามลำดับ โดยสารสกัดจากเฮกเซนสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ปริมาณน้อยที่สุด ส่วนเอทานอลสกัดได้ปริมาณมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย

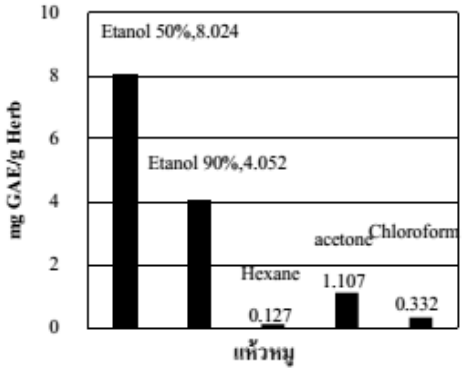
สารสกัดจากจิงจ้อที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ เมื่อศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พบว่าสารสกัดด้วยด้วย เอทานอล 50 % เอทานอล 90% เฮกเซน อะซิโตนและคลอโรฟอร์ม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 4.190, 1.722, 0.068, 0.835 และ 0.380 มิลลิกรัม GAE ต่อ กรัม ตามลำดับ โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดด้วยเอทานอล 50 % จะมีค่ามากที่สุด รองลงมาเป็นเอทานอล 90% อะซิโตน และคลอดรฟอร์ม ส่วนเฮกเซนสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ปริมาณน้อยสุด

สารสกัดหมากเมียที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ เมื่อศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พบว่าสารสกัดแห้วหมูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 % เอทานอล 90% คลอโรฟอร์ม อะซิเตท และเฮกเซน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 2.733, 2.025, 0.088, 0.809 และ 0.474 กรัม ต่อ 100 กรัมสารสกัดหยาบ ตามลำดับ โดยสารสกัดจากเอทานอล 50 % สามารถสกัดสารประกอบ ฟีนอลิกได้ปริมาณมากที่สุดเมื่อเทียบกับตัวทำละลายชนิดอื่นๆซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย

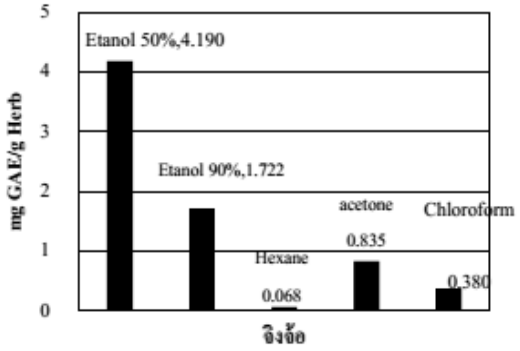
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



(ก)



(ข)



(ค)

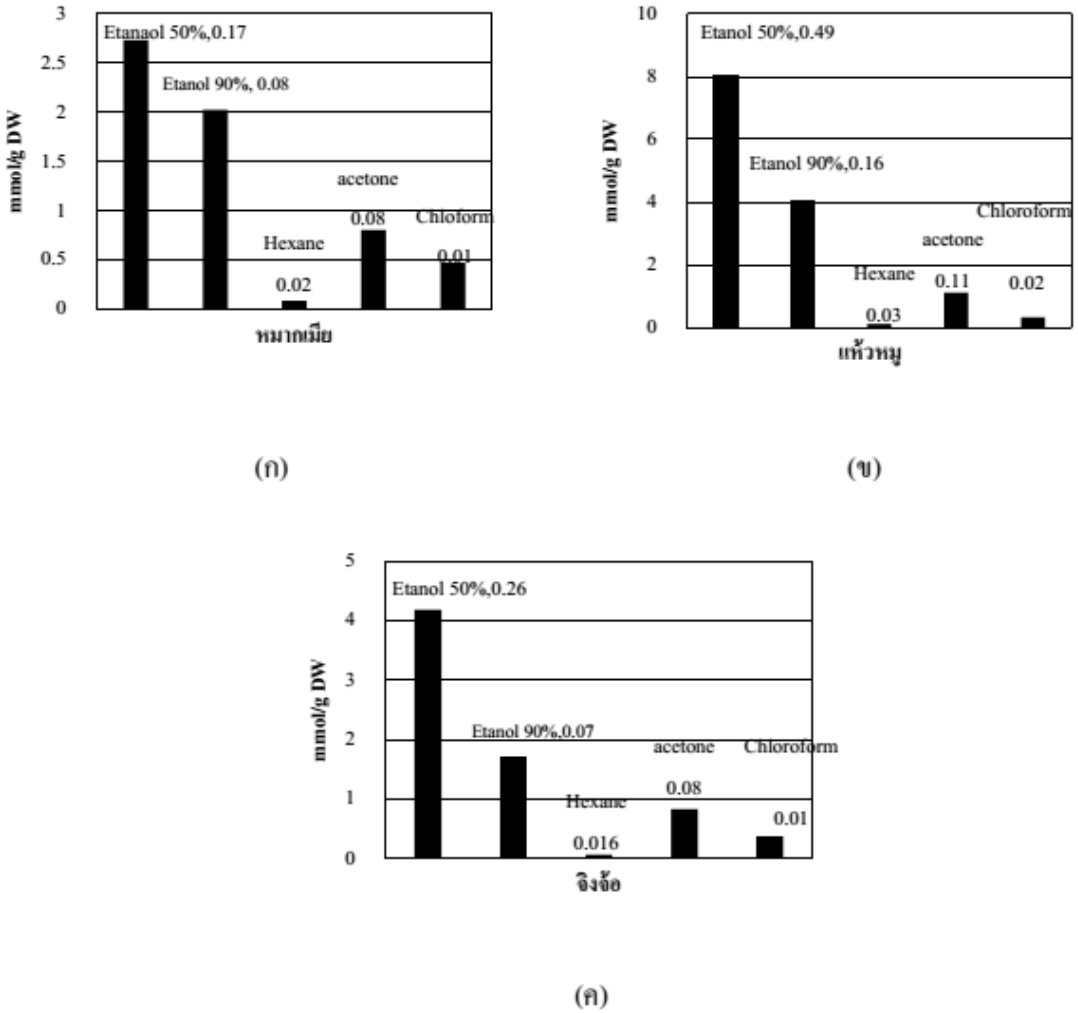
รูปที่ 4 3 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัด (ก) หมากเมีย (ข) จิงจ้อ (ค) แห้วหมู จากจิงจ้อ โดยรายงานผลเป็น GAE/g Herb หรือ Gallic Acid Equivalent

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.3 ผลการศึกษาสารสกัดเพื่อทดสอบหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

การสกัดเพื่อเลือกสมุนไพรที่มีปริมาณผลได้สารประกอบฟีนอลมากที่สุด: ในการพิจารณาสารสกัดเพื่อทำการเลือกสารสกัดสมุนไพรไปทำการทดสอบหาปริมาณสารที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant Activity) นั้นเราจะพิจารณาจากค่าผลได้และปริมาณสารประกอบฟีนอล เนื่องจากสารต่อต้านอนุมูลอิสระนั้นเป็นสารหนึ่งในสารประกอบฟีนอล ซึ่งการที่เราพบปริมาณสารประกอบฟีนอลในปริมาณสูงอาจจะเป็นการบอกได้บ่งบอกในขั้นต้นว่าสารสกัดชนิดนั้นมีปริมาณสารต่อต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูงอาจจะเป็นการบอกได้บ่งบอกในขั้นต้นว่าสารสกัดชนิดนั้นมีปริมาณสารต่อต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูงเช่นกัน จากตารางที่ 2.2 แสดงปริมาณสารต่อต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากจิงจ้อ หมากเมีย และแห้ว ตามลำดับ สำหรับค่าผลได้ของสารสกัดสมุนไพรพบว่าสารสกัดจากจิงจ้อ หมากเมีย และแห้วหมู เอทานอล 50% เป็นตัวทำละลายจะได้ค่าผลได้มากที่สุด คือ 0.26, 0.17 และ 0.49 ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าแห้วหมูเป็นพืชที่มีต่อต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด และให้ปริมาณผลได้และสารประกอบฟีนอลสูงที่สุด เมื่อเทียบกับสมุนพรุนชนิดอื่นๆ ในขณะที่การสกัดพืชทั้งสองชนิดด้วยตัวทำละลายอื่นๆ ให้ปริมาณผลได้และสารประกอบฟีนอลน้อย ดังแสดงในรูป 4.4

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 4 4แสดงปริมาณต้านอนุมูลอิสะในสารสกัดจาก (ก) หมากเมีย (ข) จิงจ้อ (ค) แห้วหมู จิงจ้อ โดยรายงานผลเป็น mmol/g DW

4.4 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย

4.4.1 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc diffusion method

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรคือ จิงจ้อ หมากเมีย และแห้วหมู ด้วยตัวทำละลาย เอทานอล50% เอทานอล90% เฮกเซน อะซิโตนและคลอโรฟอร์ม ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อเชื้อ *E.coli, B.subtilis และ S.aureus* ได้ผลการทดลองแสดงดังในรูปที่ 4.5 ถึง 4.7 และสรุปผลในตารางที่ 4.1

สารสกัดหมากเมีย มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด สูงที่สุดเมื่อเทียบกับพืชสมุนไพรทั้งหมดอีก 3 ชนิด ดังแสดงในรูปที่ 4.5 จากการทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยของสารสกัดจากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด อยู่ในช่วง 7 ถึง 9 มิลลิเมตร เมื่อสกัดด้วย เอทานอล50% เอทานอล90% เฮกเซน อะซิโตนและคลอโรฟอร์ม โดยพบว่า เมื่อสกัดด้วยเอทานอลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน และเฮกเซน ตามลำดับ ส่วนสารสกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์มมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้น้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างชนิดของสายพันธุ์แบคทีเรีย สารสกัดหยาบของหมากเมียสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis และ S. aureus*) ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) ซึ่งเชื้อ *S. aureus* ถูกยับยั้งได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับ *B. subtilis* ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่พบว่า สารสกัดจิงจ้อด้วยเอทานอล 50% ให้ผลยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มมีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้น้อยและมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย

ผลทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดหยาบของจิงจ้อ ดังแสดงในรูปที่ 4.6 พบว่าสารสกัดหยาบของจิงจ้อที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 % มีผลยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ได้ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 90% เฮกเซน และคลอโรฟอร์ม ซึ่งให้ประสิทธิภาพเท่ากัน ส่วนสารสกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม ในการยับยั้งแบคทีเรียได้น้อยที่สุด เมื่อเทียบกันระหว่างชนิดของสายพันธุ์แบคทีเรีย สารสกัดหยาบของจิงจ้อ สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis และ S. aureus*) ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) ซึ่งเชื้อ *S. aureus* ถูกยับยั้งได้เท่ากับเชื้อ *B. subtilis* ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย

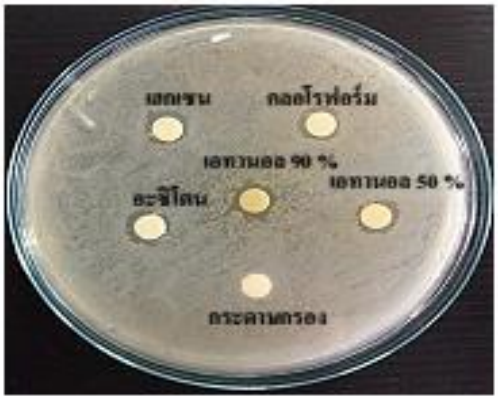
ผลทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดหยาบของแห้วหมู ดังแสดงในรูปที่ 4.7 พบว่าสารสกัดหยาบแห้วหมูที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50% มีผลยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม และเอทานอล 90% เฮกเซน อะซิโตน ซึ่งให้ประสิทธิภาพเท่ากัน โดยยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis* และ *S. aureus*) ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) ซึ่งเชื้อ *S. aureus* ถูกยับยั้งได้เท่ากับเชื้อ *B. subtilis* ส่วนสารสกัดด้วย

เฮกเซนมีประสิทธิ ภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้น้อย โดยยับยั้งแต่กลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis* และ *S. aureus*) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย

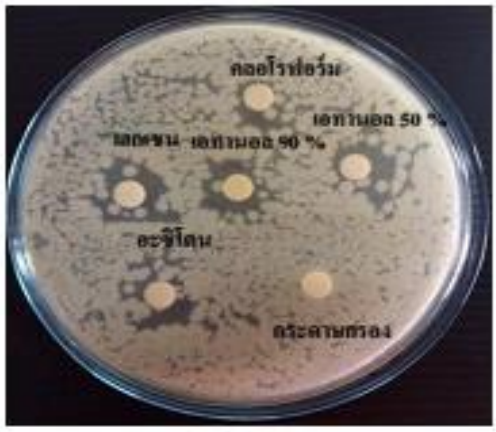
สารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแต่ละชนิดได้แตกต่างกันซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรีย โดยส่วนใหญ่พบว่า สารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดมีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ โดยสารที่เป็นองค์ประกอบหลักในพืชสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ คือ 1′- Acetoxychavicol acetate, Eugenol, Geraniol และแทนนิน ซึ่งสารเหล่านี้จะเข้าไปควบคุมการสร้างโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย ขัดขวางการละลายของชั้นไขมันใน cytoplasmic membrane รวมทั้งยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ ทำให้โปรตีนภายในเซลล์รวมตัวกัน

จากผลการทดลองส่วนนี้จะพบว่า ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ดี และมีค่าใกล้เคียงเมื่อเทียบกับผลการทดลองของงานวิจัยคนอื่นๆ

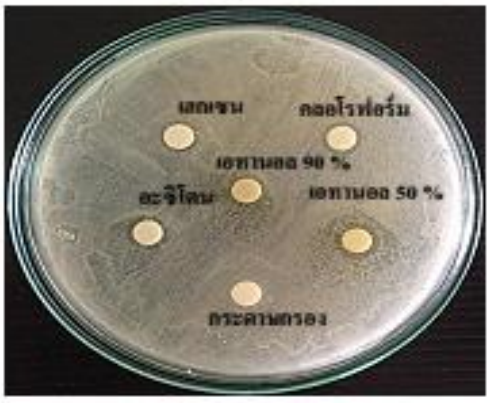
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



(ก)

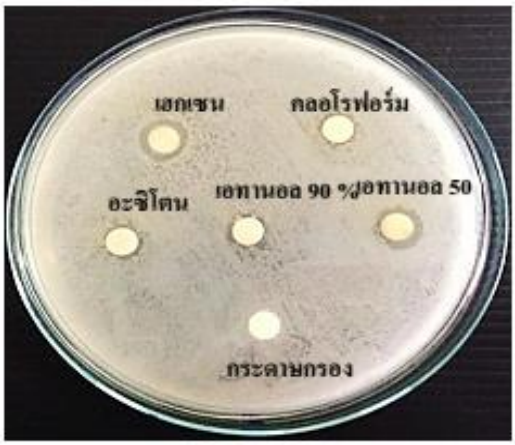


(ข)



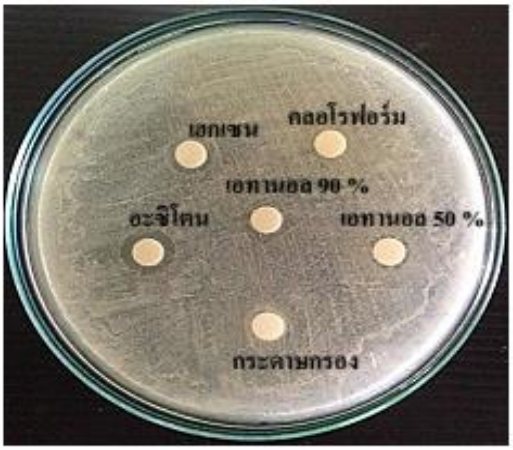
(ค)

รูปที่ 4 5 ฤทธิ์เชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหมากเมียจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 0.5 กรัมต่อมิลลิลิตร (ก) *E. coli*, (ข) *B. subtilis* และ (ค) *S. aureus*



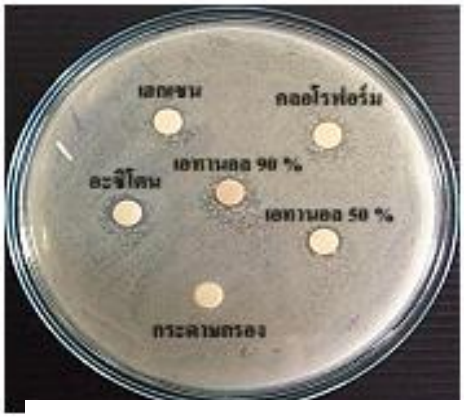
(ก)

(ข)

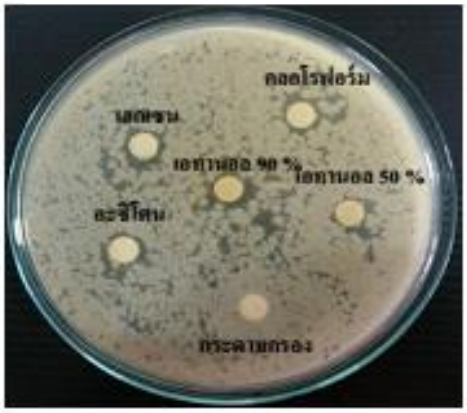


(ค)

รูปที่ 4 6 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจิงจ้อจากตัวทำละลายชนิดที่ความเข้มข้นของสารสกัด 0.5 กรัมต่อมิลลิลิตร (ก) *E. coli*, (ข) *B. subtilis* และ (ค) *S. aureus*



(ก)



(ข)

(ค)

รูปที่ 4 7 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดแห้วหมูจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 0.5 กรัมต่อมิลลิลิตร (ก) *E. coli*, (ข) *B. subtilis* และ (ค) *S. aureus*

ตารางที่ 4 1 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อเชื้อ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus*

สมุนไพร	**ตัวทำละลาย**	**ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ± S.D.[a]**		
		E. coli	***B. subtilis***	***S. aureus***
หมากเมีย	เอทานอล 50%	7.67±1.53	7.33±2.08	7.67±2.31
	เอทานอล 90%	7.00±1.00	6.67±1.53	7.33±1.53
	เฮกเซน	7.33±0.58	7.00±1.00	7.33±1.15
	อะซิโตน	7.50±0.50	6.67±0.58	7.33±1.15
	คลอโรฟอร์ม	7.17±0.76	7.67±0.58	7.33±1.15
จิงจ้อ	เอทานอล 50%	8.00±1.00	8.17±1.44	8.00±1.73
	เอทานอล 90%	7.33±0.58	7.00±2.00	7.33±1.53
	เฮกเซน	7.50±0.87	7.00±1.00	6.67±0.58
	อะซิโตน	7.67±1.15	6.67±0.58	6.33±0.58
	คลอโรฟอร์ม	7.33±1.53	7.33±0.58	7.67±1.15
แห้วหมู	เอทานอล 50%	8.33±1.15	8.33±1.53	8.33±0.58
	เอทานอล 90%	7.33±1.53	8.00±1.00	7.83±1.44
	เฮกเซน	7.00±1.00	7.67±1.53	8.00±1.00
	อะซิโตน	7.67±1.53	8.00±1.00	7.83±1.04
	คลอโรฟอร์ม	7.67±1.15	8.00±0.00	7.83±0.29

หมายเหตุ : เส้นผ่าศูนย์กลางของวงแหวน 6.00 มิลลิเมตร

4.4.2 ผลการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย

จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อของสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ด้วยวิธี Disc diffusion method พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรที่สกัดด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้แตกต่างกัน ในการทดลองนี้จึงคัดเลือกสารสกัดจากแต่ละสมุนไพรที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด จากตารางที่ 4.1 มาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด คือ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus* ในหลอดทดลอง โดยวิธี broth dilution method ตั้งแต่ความเข้มข้น 0.1 ถึง 0.00078125 มิลลิกรัมกรัมต่อมิลลิลิตรพบว่าสมุนไพรทั้ง 3ชนิด มีความสามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ถึง 4.4 คือ

สารสกัดแห้วหมูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 % มีความสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus* โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อมีค่าเท่ากับ 2.5, 0.3125 และ 0.3125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดจากแห้วหมูสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบโดยสารสกัดแห้วหมูสามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับเชื้อจุลินทรีย์อีก 2 สายพันธุ์ ในตารางที่ 4.2 ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับ

สารสกัดจิงจ้อที่สกัดด้วยด้วยเอทานอล 50 % มีความสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus* โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อมีค่าเท่ากับ 2.5, 12.5 และ 0.3125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ โดยสารสกัดจิงจ้อ ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis* และ *S. aureus*) ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) ดังแสดงในตารางที่ 4.3 ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับ

สารสกัดหมากเมียที่สกัดด้วยเอทานอล 50 % มีความสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus* โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อมีค่าเท่ากับ 2.5, 0.625 และ 0.3125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยสารสกัดจิงจ้อ ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis* และ *S. aureus*) ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) ดังแสดงในตารางที่ 4.3 ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

จากการทดลองจะเห็นได้ว่า สารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีเนื้อเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกเป็นโมเลกุลของลิโปโพลีแซคคาไรด์ Helander และคณะ (1997) เมื่อสารสกัดสัมผัสกับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบจะต้องแพร่ผ่านชั้นของลิโปโพลีแซคคาไรด์ก่อนถึงจะสามารถเข้าไปทำลายเซลล์ได้ ทำให้การยับยั้งหรือฆ่าเชื้อทำได้ยากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก

ตารางที่ 4 2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดแห้วหมูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 % ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมกรัมต่อมิลลิลิตร)	**เชื้อจุลินทรีย์**		
	E. coli	***B. subtilis***	***S. aureus***
0.1	-	-	-
0.05	-	-	-
0.025	-	-	-
0.0125	+	-	-
0.00625	+	-	-
0.003125	+	-	-
0.0015625	+	+	+
0.00078125	+	+	+

หมายเหตุ - คือ ไม่พบเชื้อเจริญเติบโต, + คือ พบเชื้อเจริญเติบโต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4 3 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจิงจ้อที่สกัดด้วยเอทานอล 50 % ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมกรัมต่อมิลลิลิตร)	**เชื้อจุลินทรีย์**		
	E. coli	*B. subtilis*	*S. aureus*
0.1	-	-	-
0.05	-	-	-
0.025	-	-	-
0.0125	+	-	-
0.00625	+	+	-
0.003125	+	+	-
0.0015625	+	+	+
0.00078125	+	+	+

หมายเหตุ - คือ ไม่พบเชื้อเจริญเติบโต, + คือ พบเชื้อเจริญเติบโต

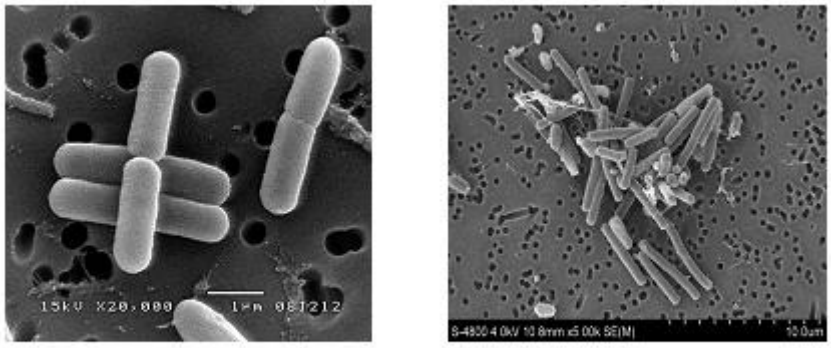
ตารางที่ 4 4 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหมากเมียที่สกัดด้วยเอทานอล 50% ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมกรัมต่อมิลลิลิตร)	**เชื้อจุลินทรีย์**		
	E. coli	*B. subtilis*	*S. aureus*
0.1	-	-	-
0.05	-	-	-
0.025	-	-	-
0.0125	+	-	-
0.00625	+	-	-
0.003125	+	+	-
0.0015625	+	+	+
0.00078125	+	+	+

หมายเหตุ - คือ ไม่พบเชื้อเจริญเติบโต, + คือ พบเชื้อเจริญเติบโต

4.5 ผลของสารสกัดจากสุมนไพรต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์

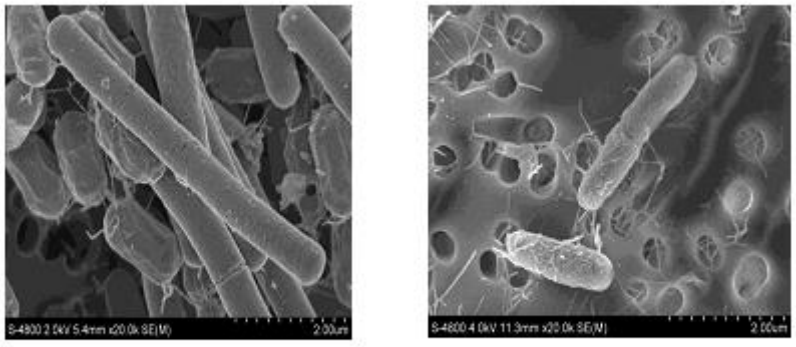
ผลของสารสกัดแห้วหมูด้วยเอทานอล 50% ต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพพื้นผิวของเชื้อ *E. coli* เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่า เซลล์ปรกติมีรูปร่างลักษณะเป็นแท่งและผิวของผนังมีลักษณะเรียบ เมื่อทำการเติมสารสกัดลงไป พบว่า สารสกัดจะออกฤทธิ์ทำลายผนังเซลล์เป็นส่วนใหญ่ ดังแสดงในรูปที่ 4.8



(ก) (ข)

รูปที่ 4 8 เชื้อ *E. coli* (ก) ก่อนได้รับสารสกัด (ข) หลังได้รับสารสกัด

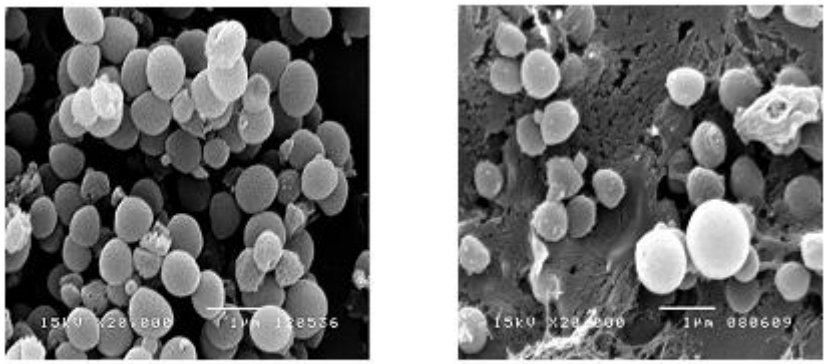
ส่วนผลของสารสกัดแห้วหมูด้วยเอทานอล 50% ต่อเชื้อ *B. subtilis* พบว่า ก่อนทำการเติมสารสกัดนั้น เซลล์ปรกติมีความแข็งแรง มีลักษณะผิวเซลล์ที่ราบเรียบเช่นเดียวกับผิวเซลล์ของเชื้อ *E. coli* เมื่อมีการเติมสารสกัดลงไป จะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัด คือ เซลล์ของ *B. subtilis* มีลักษณะยืดยาวขึ้น และรูปร่างของผนังเซลล์มีการเปลี่ยนรูปไป โดยเกิดการยุบหรือสลายตัว ทำให้รูปร่างเซลล์ผิดปกติไปจากเดิม ดังแสดงในรูปที่ 4.9



(ก) (ข)

รูปที่ 4 9 เชื้อ *B. subtilis* (ก) ก่อนได้รับสารสกัด (ข) หลังได้รับสารสกัด

สำหรับผลของสารสกัดแห้วหมูด้วยเอทานอล 50% ต่อการเปลี่ยนแปลงของเชื้อ *S. aureus* พบว่า ลักษณะรูปร่างของเชื้อปรกติเป็นรูปทรงกลมผิวเรียบอยู่รวมกันเป็นกลุ่มก้อน ซึ่งเมื่อทำการเติมสารสกัดพบว่า ผนังเซลล์ของเชื้อถูกทำลายจากผิวเรียบกลายเป็นผิวขรุขระ และผนังเซลล์บางส่วนมีการฉีกขาดและหลุดออกมาเกาะรวมกันที่พื้นผิวภายนอก ดังแสดงในรูปที่ 4.10



(ก) (ข)

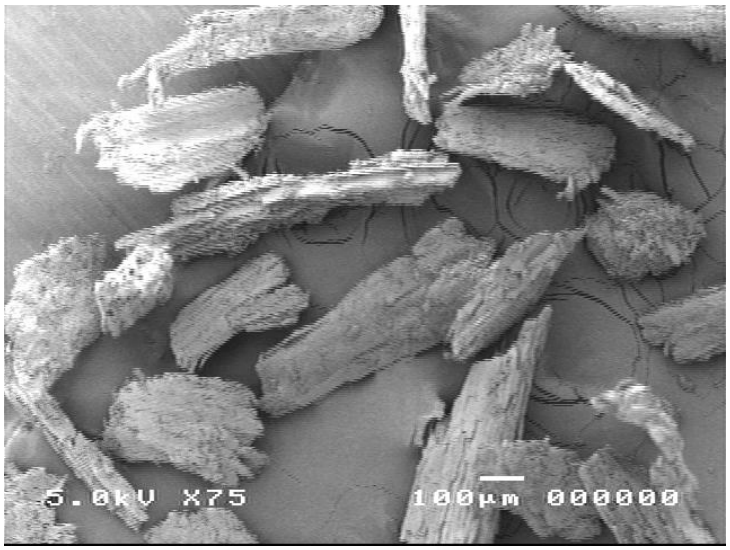
รูปที่ 4 10 เชื้อ *S. aureus* (ก) ก่อนได้รับสารสกัด (ข) หลังได้รับสารสกัด

จากผลการถ่ายภาพของจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดแห้วหมูนั้น ได้ผลเช่นเดียวกับการทดลองของ Chusri *และ* Voravuthikunchai (2009) ที่ศึกษาการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยสารสกัดสมนุไพรจากเอทานอล โดยพบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติการควบคุมสารเข้า-ออก ของเยื่อหุ้มเซลล์ เมื่อทำการตรวจสอบการรั่วไหลของสารประกอบที่ดูดกลืนแสง UV ซึ่งอาจรั่วไหลจากเยื่อภายในที่ช่วงความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร แต่ทำให้เกิด pseudomulticellular aggregates ทำให้มีการเกาะตัวของกลุ่มเซลล์ที่มีผนังเซลล์หนา มีสาเหตุหลักจากสารกลุ่มแทนนิน ซึ่งลักษณะการเปลี่ยนแปลงเช่นนี้มีปรากฏในการทดลองของ Hamilton-Miller และ Shah (1999) เกี่ยวกับการยับยั้งเซลล์ของ *S. aureus* ด้วยสารสกัดจากชาเขียว ที่ประกอบด้วยสารชีวภาพออกฤทธิ์ในกลุ่มแทนนิน และกรดแกลลิก

4.6 ผลของตัวทำละลายต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของพืชสมุนไพร

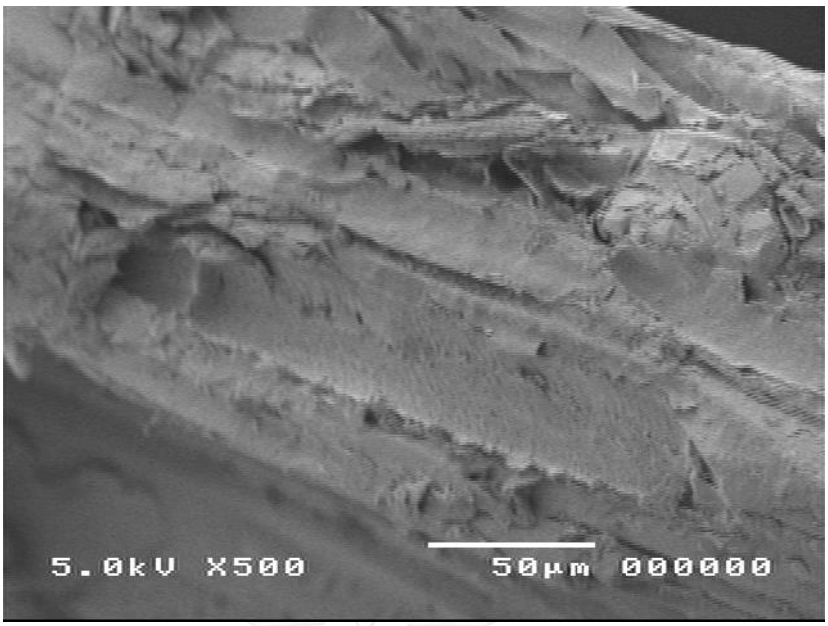
สมุนไพรที่ใช้ในการศึกษาผลของตัวทำละลายต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา คือ แห้วหมูอนุภาคแห้วหมูที่ใช้ขนาด 300 ไมโครเมตร ใช้เวลาในการสกัด 24 ชั่วโมง ซึ่งลักษณะของแห้วหมูก่อนและหลังการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscops, SEM) ดังแสดงในรูปที่ 4.11 – 4.17

สภาพพื้นผิวของแห้วหมูก่อนการสกัดพบว่า มีลักษณะขรุขระ ผิวหน้าเสมอกัน ไม่มีรูพรุน ดังแสดงในรูปที่ 4.11



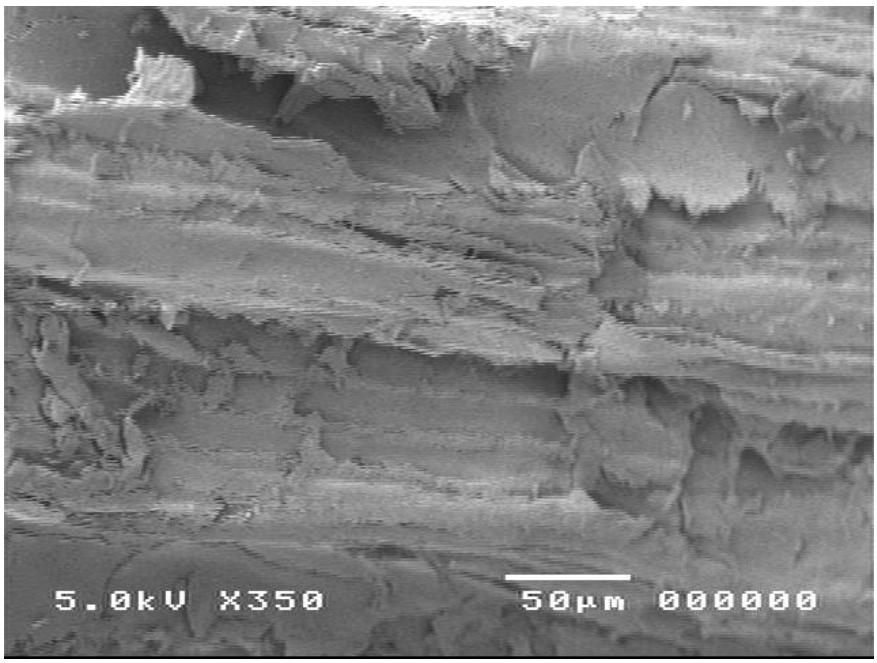
รูปที่ 4 11 แห้วหมูก่อนสกัด

สภาพพื้นผิวของแห้วหมูที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50% ว่า มีลักษณะเป็นรูพรุนกว้างลึก และฉีกขาดค่อนข้างมาก (ดังแสดงในรูปที่ 4.12) มากกว่าที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่นๆ แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายเอทานอล 50% มีฤทธิ์ในการสกัดแห้วหมูได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับร้อยละของสารสกัดที่ได้ของเบญแห้วหมูที่มีค่ามากที่สุด



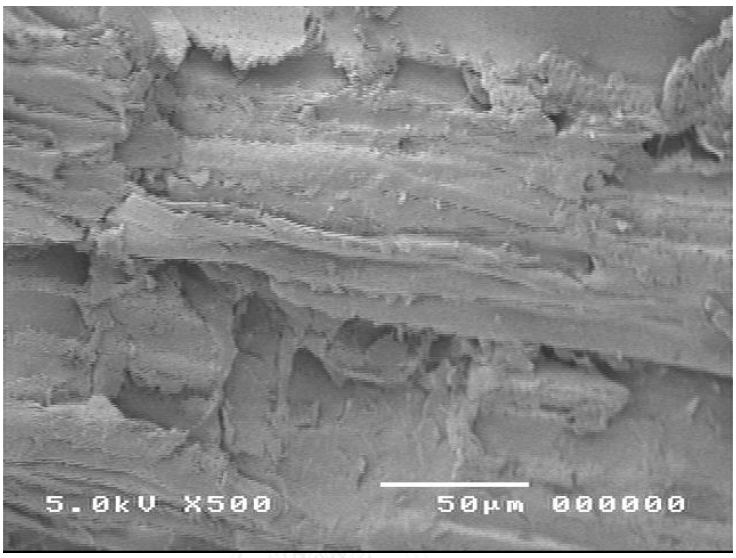
รูปที่ 4 12 แห้วหมูหลังสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 %

สภาพพื้นผิวของแห้วหมูที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 90% พบว่า มีลักษณะเป็นรูพรุนกว้าง และฉีกขาด มากกว่าที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่นๆ แต่น้อยกว่าตัวทำละลายเอทานอล 90 % (ดังแสดงในรูปที่ 4.13) แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายเอทานอลมีฤทธิ์ในการสกัดแห้วหมูได้ดีรองจากตัวทำละลายเอทานอล 50% ซึ่งสอดคล้องกับร้อยละของสารสกัดที่ได้ของแห้วหมูที่มีค่ามากเป็นอันดับ 2



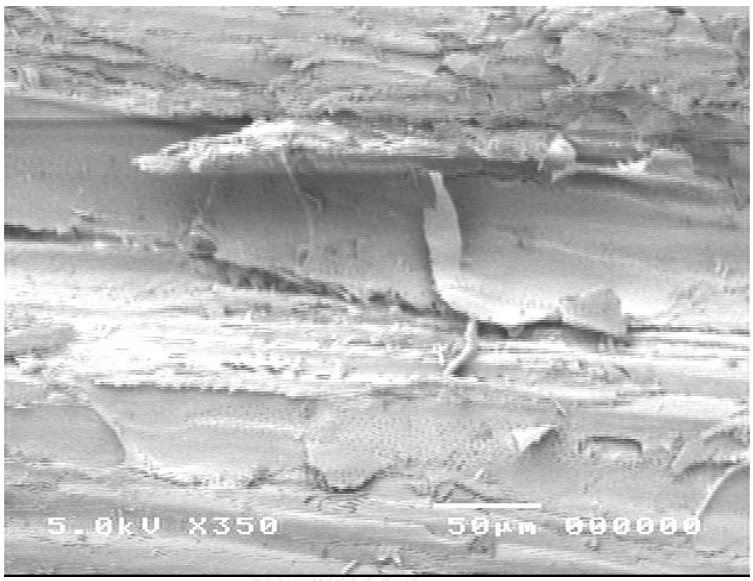
รูปที่ 4 13 แห้วหมูหลังสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 90 %

สภาพพื้นผิวของแห้วหมูที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่า ลักษณะของพื้นผิวไม่มี รูพรุนลึกเหมือนตัวทำละลายเอทานอล 50% และเอทานอล 90% แต่ถูกกัดเซาะลงไปเล็กน้อย (ดังแสดงในรูปที่ 4.14) แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายเฮกเซนมีฤทธิ์ในการสกัดค่อนข้างน้อย



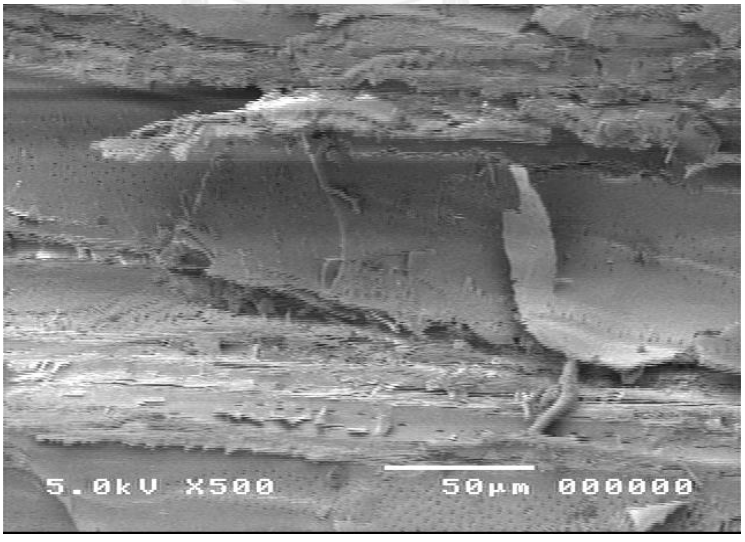
รูปที่ 4 14 แห้วหมูหลังสกัดด้วยเฮกเซน

สภาพพื้นผิวของแห้วหมูที่สกัดด้วยอะซิโตน พบว่ามีลักษณะเป็นรูพรุนลึกเช่นเดียวกับพื้นผิวที่สกัดด้วยเอทานอล 50%และเอทานอล 90% แต่การฉีกขาดไม่กว้างเท่ากับการสกัดด้วยเอทานอล 50%และเอทานอล 90% ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองหาร้อยละของสารสกัดที่ได้ของแห้วหมูที่สกัดด้วยอะซิโตน พบว่ามีค่ามากเป็นอันดับที่ 3 ดังแสดงในรูปที่ 4.15



รูปที่ 4 15 แห้วหมูหลังสกัดด้วยอะซิโตน

ส่วนสภาพพื้นผิวของแห้วหมูที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์มพบว่า ลักษณะของพื้นผิวไม่มีรูพรุนลึก แต่ถูกกัดเซาะลงไปเล็กน้อย เหมือนกับตัวทำละลายเฮกเซน (ดังแสดงในรูปที่ 4.16) แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายคลอโรฟอร์มมีฤทธิ์ในการสกัดค่อนข้างน้อย ซึ่งสอดคล้องกับร้อยละของสารสกัดที่ได้ของแห้วหมูที่มีค่าค่อนข้างน้อย ซึ่งมีค่าเท่ากับตัวทำละลายเฮกเซน



รูปที่ 4 16 แห้วหมูหลังสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ใช้สกัดแห้วหมูมีความสามารถในการสกัดได้แตกต่างกัน จึงส่งผลให้ลักษณะของพื้นผิวสมุนไพรที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆแตกต่างกันไปด้วยเมื่อทำการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ซึ่งพบว่าตัวทำละลายที่มีขั้วสูงสามารถสกัดได้ดีโดยลักษณะของพื้นผิวแห้วหมูส่วนใหญ่จะมีรูพรุน และฉีกขาด ส่วนตัวทำละลายที่มีขั้วน้อยมีความสามารถในการสกัดได้น้อยจึงส่งผลให้พื้นผิวถูกกัดเซาะได้น้อยตามไปด้วย

4.7 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของตัวอย่างผ้าปอกระเจาที่เคลือบสารสกัดสมุนไพร

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของผ้าปอกระเจาที่เคลือบสารสกัดสมุนไพรทั้งสามชนิดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง ต่อเชื้อ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus* ได้ผลการทดลองแสดงดังในตารางที่ 4.5 ผ้าปอกระเจาที่เคลือบสารสกัดแห้วหมูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทั้งสามชนิดสูงที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยอยู่ในช่วง 8.38 – 10.47 มิลลิเมตร โดยผ้าปอกระเจาที่เคลือบสารสกัดจะแสดงวงใสของการยับยั้งอย่างชัดเจน เมื่อเทียบกันระหว่างชนิดของสายพันธุ์แบคทีเรีย พบว่า ผ้าปอกระเจาที่เคลือบสารสกัดแห้วหมูสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*B.subtilis* และ *S.aureus*) ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*E coli*) ส่วนการยับยั้งในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกเดียวกัน พบว่า มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่อ *B.subtilis* และ *S.aureus* ได้ใกล้เคียงกัน

ผ้าปอกระเจาที่เคลือบสารสกัดจิงจ้อ จะให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยอยู่ในช่วง 7.04 – 9.68 มิลลิเมตร โดยผ้าปอกระเจาที่เคลือบสารสกัดจิงจ้อ จะแสดงวงใสของการยับยั้งอย่างชัดเจน เมื่อเทียบกันระหว่างชนิดของสายพันธุ์แบคทีเรีย พบว่า ผ้าปอกระเจาที่เคลือบสารสกัดจิงจ้อ สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*B.subtilis* และ *S.aureus*) ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) ส่วนการยับยั้งในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกเดียวกัน พบว่า มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่อ *B.subtilis* และ *S.aureus* ได้ใกล้เคียงกันเช่นกัน

ผ้าปอกระเจาที่เคลือบสารสกัดหมากเมีย จะให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยอยู่ในช่วง 6.52 – 7.47 มิลลิเมตร โดยผ้าปอกระเจาที่เคลือบสารสกัดหมากเมียจะไม่แสดงวง ใสของการยับยั้งอย่างชัดเจน เมื่อเทียบกันระหว่างชนิดของสายพันธุ์แบคทีเรีย พบว่า ผ้าปอกระเจาที่เคลือบสารสกัดหมากเมียสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*B.subtilis* และ *S.aureus*) ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*E.coli*) เล็กน้อย ส่วนการยับยั้งในกลุ่มแบคทีเรียแกรมแกรมลบ พบว่า ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียภายใต้แผ่นผ้าปอกระเจาที่เคลือบ สารสกัด

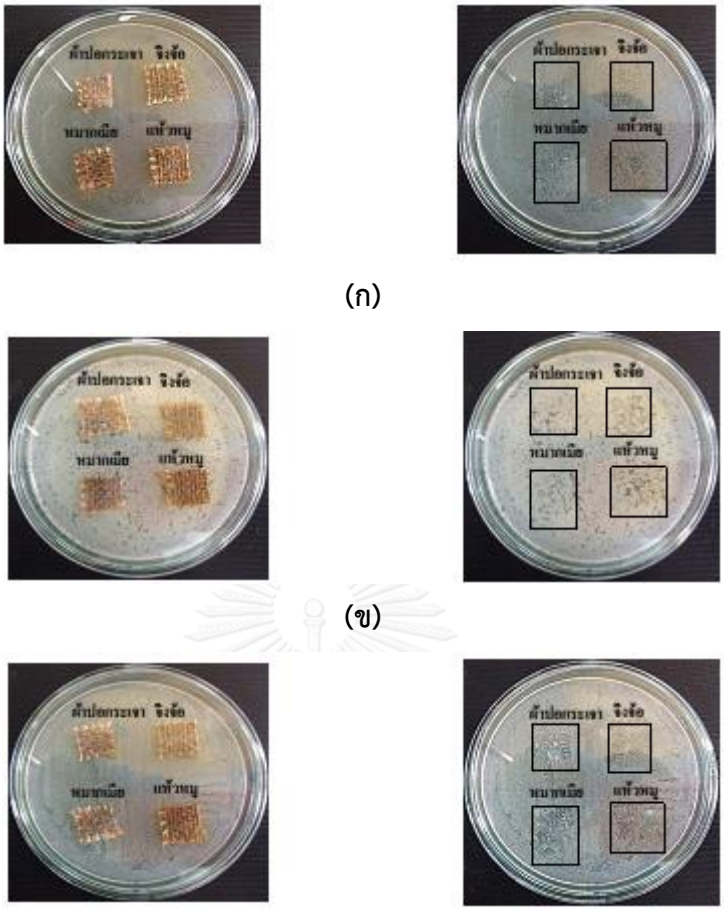
พบว่า ผ้าปอกระเจาที่ไม่มีสารสกัดนั้นไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียภายใต้แผ่นผ้าได้ สำหรับฟิล์มที่มีสารสกัดทั้งสามชนิด สามารถยับยั้งแบคทีเรียภายใต้แผ่นผ้าปอกระเจาได้ทั้งหมด โดยจะเกิดของวงใสขึ้นใต้แผ่นผ้าปอกระเจา

ตารางที่ 4 5 ผลการยับผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของผ้าปอกระเจาที่เคลือบสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ที่สกัดด้วยเอทานอล 50%

ชนิดของสมุนไพร	ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย		
	E.coli	*B.subtilis*	*S.aureus*
แห้วหมู	///	////	///
จิงจ้อ	//	////	///
หมากเมีย	/	//	//

หมายเหตุ : / แสดงถึง ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



(ก)

(ข)

(ค)

รูปที่ 4 17 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าปอกระเจาที่เคลือบด้วยสารสกัดสมุนไพร ที่ความเข้มข้นของสารสกัด0.5 กรัมต่อมิลลิลิตร (ก) *E. coli*, (ข) *B. subtilis* และ (ค) *S. aureus*

เมื่อทำการศึกษาผลของระดับความเข้มข้นของสารสกัดแห้วหมูบนผ้าปอกระเจา (0%, 5% และ 10% โดยน้ำหนัก) เมื่อมีการเคลือบสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต (CUSO4) 0.2% โดยน้ำหนัก ก่อนการผ้าปอกระเจาด้วยสารสกัดแห้วหมู ได้ผลการทดลองแสดงดังในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4 6 ผลการยับยั้งแบคทีเรียของผ้าปอกระเจาที่ประกอบด้วยสารสกัดแห้วหมูและสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต เมื่อสังเกตุผล ที่เวลา 24 ชั่วโมง

แบคทีเรีย	**ปริมาณสารสกัด (โดยน้ำหนัก %)**	**ปริมาณCUSO4 (โดยน้ำหนัก %)**	**ขนาดวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร± S.D.[a])**	**พื้นที่ใต้ผ้าปอกระเจา**
E.coli	5	0	8.38±0.03	+
	5	0.2	8.93±0.27	+
	10	0	9.22±0.53	+
	10	0.2	9.49±0.82	+
B. subtilis	5	0	9.49±0.82	+
	5	0.2	10.11±0.37	+
	10	0	10.68±0.41	+
	10	0.2	11.67±0.53	+
S. aureus	5	0	9.87±0.64	+
	5	0.2	10.88±0.93	+
	10	0	11.69±0.56	+
	10	0.2	12.33±0.33	+

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หมายเหตุ : + แสดงถึง มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย - แสดงถึง ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย

ประสิทธิภาพของผ้าปอกระเจาที่เคลือบด้วยสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ($CUSO_4$)ใน การต้านทั้งแบคทีเรียแกรมลบและแบคทีเรียแกรมบวกเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบ กับการเคลือบด้วยสารสกัดแห้วหมูที่ทุกระดับความเข้มข้น ซึ่งเห็นได้จากค่าขนาดวงใสที่มีค่าเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต จะช่วยแทรกในช่อง ว่างระหว่างเส้นใยของผ้าปอกระเจา ทำให้สารสกัดแห้วหมูที่ใช้เคลือบทับเป็นชั้นที่สองเกาะติดกับผ้าปอกระเจาที่ได้มากขึ้น จึงแสดงความสามารถในการต่อต้านแบคทีเรียเป้าหมายได้มากกว่าผ้าปอกระเจาที่ไม่ได้ที่เคลือบสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตก่อน อย่างไรก็ผ้าปอกระเจาที่เคลือบด้วยสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต และสารสกัดแห้วหมูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่า แบคทีเรียแกรมลบที่ทุกระดับความเข้มข้น ทั้งแบบที่เคลือบด้วยสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตและแบบที่ไม่เคลือบสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต เนื่องจากโดยทั่วไปกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบจะมีความสามารถในการต้านทานต่อการ ออกฤทธิ์ยับยั้งของสารต้านจุลินทรีย์ทุกชนิดได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก โดยที่บริเวณผิวผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีสมบัติเป็น Hydrophilicity และมีพันธะ Divalent ของสารประจุบวกทำให้การเชื่อมต่อระหว่าง Lipopolysaccharide ที่เป็นองค์ประกอบภายในเมมเบรนแข็งแรงขึ้นทำให้ความสามารถในการป้องกันการแพร่ของสารผ่าน Cytoplasmic membrane เข้า สู่เซลล์แบคทีเรียดีขึ้น ทำให้มีคุณสมบัติป้องกันความสามารถในการซึมผ่านของสารสกัดแห้วหมูแลสารละลาย คอปเปอร์ซัลเฟตซึ่งมีคุณสมบัติชอบน้ำได้ จากผลการทดลองทั้งหมด แสดงให้เห็นว่า การเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการ ต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.8 ผลการเปรียบเทียบสมบัติเชิงกลของผ้าปอกระเจา

การศึกษาสมบัติทางกลของผ้าปอกระเจาได้แสดงถึงค่าต้านทานแรงดึงขาดและความสามารถในการยืดตัวของแผ่นฟิล์ม ตามมาตรฐาน ASTMD 2256-97 โดย ค่าต้านทานแรงดึงขาด คือ ความสามารถของผ้าที่ต้านทานแรงดึง ซึ่งกระทำที่ปลายข้างใดข้างหนึ่งของผ้าที่มีความกว้างคงที่จนแผ่นทดสอบนั้นขาด ส่วน ค่าร้อยละการยืดตัว คือ การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของผ้าภายใต้แรงดึง และยังเป็นค่าที่ใช้บอกถึงความอ่อนของผ้าปอกระเจา ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4 7 เปรียบเทียบคุณสมบัติทางเชิงกลของผ้าปอกระเจาก่อนและหลังการเคลือบด้วยสารสมุนไพร

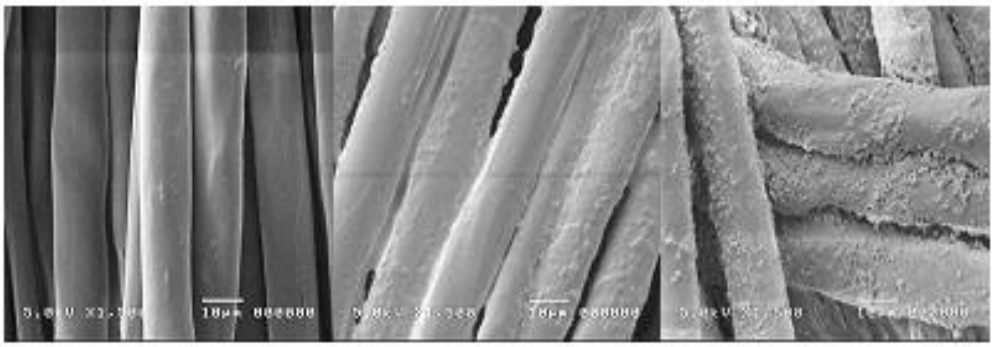
สมบัติ	ผ้าปอกระเจา		
	ไม่เคลือบสารสกัด	เคลือบสารสกัดเปอร์เซ็นต์ 5	เคลือบสารสกัดเปอร์เซ็นต์ 10
น้ำหนักผ้าปอกระเจาก่อนการอบ (มิลลิกรัม/เมตร)	42.5	44.92	46.11
น้ำหนักผ้าปอกระเจาหลังการอบ (มิลลิกรัม/เมตร)	39.82	42.23	43.96
ค่าต้านทานแรงดึงขาด (นิวตัน)	24.14	30.06	35.66
การยืดตัวของเส้นปอกระเจา (มิลลิเมตร)	11.21	10.09	9.06

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากผลการทดลอง จะเห็นได้ว่า เส้นปอที่ผ่านการเคลือบสมุนไพรแห้วหมู จะทำให้มีความแข็งแรงหรือมีค่าต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด เนื่องจากสารสกัดจะไปเคลือบเส้นปอทำให้มีความเป็นระเบียบและหนาขึ้น แต่ในทางกลับกัน ผ้าที่แข็งมากขึ้นจะมีการยืดตัวของเส้นปอลดลงอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งผลที่ได้มีความสอดคล้องกับลักษณะเส้นปอที่วิเคราะห์ด้วยกล้องส่องกราดในข้อ 4.9

4.9 ผลการตรวจสอบลักษณะของเส้นใยปอกระเจาที่เคลือบด้วยด้วยสารสกัดสมุนไพรด้วยกล้องส่องกราด

เมื่อนำผ้าปอกระเจาที่สภาวะต่างๆ มาศึกษาเปรียบเทียบการลักษณะสัณฐานวิทยาด้วยกล้องส่องกราด ดังแสดง พบว่า ผ้าปอกระเจาไม่ได้ผ่านการเคลือบสารสกัด (ในรูปที่ 4.18 ก) จะมีลักษณะเส้นใยเป็นเส้นตรงเรียงกันอย่างเป็นระเบียบ และไม่มีอนุภาคใดๆ เกาะอยู่บนเส้นใย เมื่อนำมาเคลือบสารสกัดสมุนไพรแห้วหมู5 เปอร์เซ็นต์ จะมีลักษณะเส้นใยผ้าที่ค่อนข้างตรง และมีสารสกัดเกาะกระจายกันอยู่บนเส้นใย (ในรูปที่ 4.19 ข) ส่วนผ้าปอกระเจาเคลือบสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มเป็นสองเท่า หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ จะมีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน แต่มีอนุภาคสารสกัดที่เกาะอยู่บนเส้นใยในปริมาณที่สูงกว่า (ในรูปที่ 4.19 ค)



(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4 18 แสดงภาพถ่ายผ้าปอกระเจาที่สภาวะต่างๆ ด้วยกล้องส่องกราด (ก) ผ้าปอกระเจาที่ไม่ได้ผ่านการชุเคลือบสารสกัด (ข) ผ้าปอกระเจาที่ผ่านการเคลือบสารสกัด 5 เปอร์เซ็นต์ (ค) ผ้าปอกระเจาที่ผ่านการเคลือบสารสกัด 10 เปอร์เซ็นต์

จากผลการตรวจสอบพบว่า เส้นปอกระเจาที่ผ่านการเคลือบสารสมุนไพร จะมีเส้นใยที่ยื่นออกมาน้อยลง หรือ หายไปบางส่วน เนื่องจากสารสกัดที่เคลือบจะไปกด หรือ ปิดเส้นใยที่ยื่นออกมาให้แบนราบเสมอกัน ทำให้เส้นปอกระเจามีความหนา เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสมุนไพร พบว่า เส้นปอจะถูกหุ้มด้วยสารเคลือบหนาขึ้น จึงส่งผลให้เส้นปอกระเจามีค่าการยืดตัวก่อนขาดลดลง

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย

5.1.1 เมื่อทำการสกัดสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด คือ จิงจ้อ หมากเมีย แห้วด้วยตัวทำละลายโดยเรียงลำดับความมีขั้วจากตัวทำละลายมีขั้วจนถึงตัวทำละลายไม่มีขั้ว คือ น้ำเอทานอล 50 % เอทานอล 90% อะซิโตน คลอโรฟอร์ม และเฮกเซน ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด สารสกัดจากแห้วหมูมีปริมาณสารสกัดหยาบมากกว่าสมุนไพรชนิดอื่นๆ

5.1.2 การทดสอบการหาบริเวณยับยั้งเชื้อด้วยวิธี Disc diffusion method พบว่าสารสกัดหยาบจากแห้วหมูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 % มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิด ได้ดีกว่าตัวทำละลายชนิดอื่นๆ โดยยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัดจากแห้วหมูมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด

5.1.3 เมื่อเปรียบเทียบสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด พบว่ายับยั้งเชื้อ *B. subtilis* และ *S. aureus* ได้ดีที่สุด และสารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ

5.1.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ โดยสารสกัดหยาบจากแห้วหมูที่สกัดด้วยเอทานอล 50% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด เมื่อเทียบกับตัวทำละลายอื่น ทั้งนี้เนื่องจากโดยส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลิกจะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสภาพขั้วสูง และเมื่อเปรียบเทียบสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด สารสกัดจากแห้วหมูนีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าสมุนไพรชนิดอื่น

5.1.5 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้จากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ โดยสารสกัดหยาบจากแห้วหมูที่สกัดด้วยเอทานอล 50% มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด เมื่อเทียบกับตัวทำละลายอื่น ทั้งนี้เนื่องจากโดยส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลิกจะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสภาพขั้วสูง และเมื่อเปรียบเทียบสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด สารสกัดจากแห้วหมูนีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าสมุนไพรชนิดอื่น

5.1.6 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์จุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด (*E. coli*, *B. subtilis* และ *S. aureus*) โดยส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าสารสกัดมีผลทำให้ลักษณะผนังเซลล์ของเชื้อทั้ง 3 ชนิด ถูกทำลาย และเกิดการบิดตัวผิดไปจากรูปร่างเดิม

5.1.7 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของสมุนไพรแห้วหมูหลังการสกัดด้วยเอทานอล 50% โดยส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่ามีลักษณะเป็นรูพรุนและฉีกขาดมากกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายเอทานอล 50 % มีความสามารถในการสกัดสารสกัดออกมาได้มาก ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของสารสกัดที่ได้ที่มีค่าสูงกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น

5.1.8 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของผ้าปอกระเจาที่เคลือบด้วยสารสกัดสมุนไพร พบว่ามีเพียงสารสกัดจากสมุนไพรแห้วหมูและจิงจ้อ ที่เคลือบลงบนผ้าปอกระเจาโดยตรงที่สามารถแสดงผลออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *B. subtilis* และ *S. aureus* โดยผ้าปอกระเจาที่เคลือบด้วยสารสกัดสมุนไพรแห้วหมูสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ทดสอบได้ดีและผ้าปอกระเจาที่เคลือบด้วยสารสกัดสมุนไพรจิงจ้อมีฤทธิ์ยับยั้งปานกลาง ส่วนผ้าปอกระเจาที่เคลือบด้วยสารสกัดจากสมุนไพรหมากเมียแสดงผลออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *B. subtilis* และ *S. aureus* ได้เล็กน้อย เนื่องจากความเข้มข้นสารประกอบฟีนอลิกของสมุนไพรมีค่าน้อยเกินไป นอกจากนี้เมื่อทำการเคลือบผ้าด้วยสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์ ก่อนการเคลือบด้วยสารสกัดแห้วหมู พบว่า มีฤทธิ์ช่วยเสริมประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของผ้าปอกระเจาเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

5.1.9 ผลของการเคลือบสารสกัดแห้วหมูที่ความเข้มข้น 0-10 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาทีพบว่า การเคลือบสารสกัดมีผลทำให้น้ำหนักหลังการอบเพิ่มขึ้นและมีผลต่อคุณลักษณะเชิงกลของผ้าปอกระเจา โดยทำให้ความแข็งแรงต่อการดึงขาดมีค่าเพิ่มขึ้นและการยืดตัวลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น

5.2. เมื่อนำผ้าปอกระเจาเคลือบสารสกัดมาวิเคราะห์ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา พบว่า การเคลือบสารสกัดจะทำให้ได้เส้นใยที่เรียบขึ้น และมีความหนาขึ้น จึงส่งผลให้ผ้าปอกระเจามีคุณสมบัติที่แข็งแรงขึ้น และมีการความยืดตัวลดลง

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กิตติมา เจริญสุข. คุณลักษณะของกระดาษเคลือบที่มีสมบัติต่อต้านแบคทีเรีย (2552) วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาเทคโนโลยีบรรจุภัณฑ์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สุทธิ์สุดา วานิช, ภาณุวัฒน์ สรรพกุล, ธัญญารัตน์ จิญกาญจน์.ประสิทธิผลของกระดาษต้านจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยน้ำมันกานพลูในตัวพาแป้งดัดแปร (2553).การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48: สาขาอุตสาหกรรมเกษตร, หน้า 108-116

อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ, วิชัย หฤทัยธนาสันติ์, อนุวัตร แจ้งชัด, งามผ่อง คงคาทิพย์ และอุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์ (2546) .การพัฒนากระดาษฟางข้าวเคลือบน้ำมันพลูเพื่อยืดอายุการเก็บทุเรียนกวน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41: สาขาอุตสาหกรรมเกษตร, หน้า 251-258.

อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ, อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์1, วุฒินันท์ คงทัด1, วิชัย หฤทัยธนาสันติ์1,2 และ สุภนิดา บัวบาน (2549). การพัฒนากระดาษฟางข้าวเคลือบน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรเพื่อยืดอายุการเก็บผลไม้กวน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 : สาขาอุตสาหกรรมเกษตร สาขาเศรษฐศาสตร์ สาขาบริหารธุรกิจ, หน้า 446-453

ภาษาอังกฤษ

Appendini, P. and Hotchkiss, J. H. (2002). Review of antimicrobial food packaging. Innov. Food Sci. Emerg. 3: 113-126.

Apak, R., et al. (2007). "Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay." Molecules 12(7): 1496-1547.

Apak, R., et al. (2013). "Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report)." Pure and Applied Chemistry **85**(5). Food Microbiology 94: 223-253.

Ewe, S. K. Y. a. J. A. (2015). "Effect of fermentation on the phytochemical contents and antioxidant properties of plant foods."

Huang, D., et al. (2005). "The chemistry behind antioxidant capacity assays." Journal of agricultural and food chemistry **53**(6): 1841-1856.

Heinrich U.a, Tronnier H.a, Stahl W.b, Béjot M.c, Maurette J.-M.c. (2006). Antioxidant Supplements Improve Parameters Related to Skin Structure in Humans. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol. 19, 224–231.

Leela, T., and Satirapipathkul, C. Studies on the Antibacterial Activity of Quercus Infectoria Galls. Int. J. Biosci. Biochem. Bioinf . 11 (2011): 410-114

Marco N. Diaz, M.D., Balz Frei, Ph.D., Joseph A. Vita, M.D., and John F. Keaney, Jr., M.D. (1997). Antioxidants and Atherosclerotic Heart Disease. The **New** England Journal of Medicine. 337, 408-416.

Mauro S., Rino B. Alicja W., Anna Mia E. (2002). Total antioxidant potential of fruit and vegetables and risk of gastric cancer. GASTROENTEROLOGY. 123, 985–991.

Stela J., Darko V.; Mate B.; BUCIC-KOJIC. (2010). Modelling of the process of solid-liquid extraction of total polyphenols from soybeans. **C**zech J. Food Sci. 28(3), 206–212.

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก

การคำนวณการวิเคราะห์ข้อมูล

1.วิเคราะห์ปริมาณผลผลิตของสารสกัดจากสมุนไพรนำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออก เพื่อหาปริมาณผลผลิตที่ได้ด้วยเครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ คำนวณโดยใช้สูตร ดังนี้

$$\%Yield\ (dry\ weight\ basis) = (W_1 \times 100) / W_2$$

โดยที่ W_1 คือ น้ำหนัก (กรัม) สารสกัดหลังจากระเหยตัวทำละลายออก

W_2 คือ น้ำหนักแห้ง (กรัม) ของตัวอย่าง

1. การสร้างกราฟมาตรฐานสารประกอบฟีนอลิก

วิธีการสร้างกราฟมาตรฐานสารประกอบฟีนอลิก จะใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐานสำหรับเปรียบเทียบ โดยการเตรียมกรดแกลลิก 5 กรัมผสมกับเอทานอล 95 เปอร์เซนต์ 10 มิลลิลิตรและทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำสารละลายดังกล่าวมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 1, 2, 5, 10 และ 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ จะได้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 50, 100, 250, 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายมาตรฐานแกลลิกที่เตรียมได้ดังกล่าว นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความนาวคลื่น 765 นาโนเมตร ที่ความเข้มข้นกรดแกลลิกต่างๆ เมื่อนำค่าความเข้มข้นของกรดแกลลิกและค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงมาพลอตกราฟนั้น จะได้กราฟมาตรฐานฟีนอลิก ดังรูปที่ ข 2.1

2. การสร้างกราฟมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต

การสร้างกราฟมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต : ทำการเตรียมสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟตในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครโมลาร์แล้วเจือจางจนถึงความเข้มข้น 400 ไมโครโมลาร์ เป็นจำนวน 6 ค่าจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปทำการหาปริมาณสารแอนติออกซิแดน ดังวิธีที่ 3.4.5 จะได้กราฟมาตรฐานฟีนอลิก ดังรูปที่ ข 2.2

ภาคผนวก ข

ข้อมูลทางการทดลองและกราฟมาตรฐาน

ข.1 ข้อมูลทางการทดลอง

ตารางที่ ข1.1 สารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดแห้วหมูด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ค่าดูดกลืนแสง
แห้วหมู	เอทานอล 50 %	1.227
	เอทานอล 90 %	1.062
	อะซิโตน	0.850
	คลอโรฟอร์ม	0.057
	เฮกเซน	0.097

ตารางที่ ข1.2 สารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดจิงจ้อด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ค่าดูดกลืนแสง
จิงจ้อ	เอทานอล 50 %	1.503
	เอทานอล 90 %	0.477
	อะซิโตน	0.413
	คลอโรฟอร์ม	0.349
	เฮกเซน	0.140

ตารางที่ ข1.3 สารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดหมากเมียด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ค่าดูดกลืนแสง
หมากเมีย	เอทานอล 50 %	0.302
	เอทานอล 90 %	0.240
	อะซิโตน	0.218
	คลอโรฟอร์ม	0.210
	เฮกเซน	0.104

ตารางที่ ข1.4 สารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดแห้วหมูด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ค่าดูดกลืนแสง
แห้วหมู	เอทานอล 50 %	1.227
	เอทานอล 90 %	1.062
	อะซิโตน	0.850
	คลอโรฟอร์ม	0.057
	เฮกเซน	0.097

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ข1.5 สารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดจิงจ้อด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ค่าดูดกลืนแสง
จิงจ้อ	เอทานอล 50 %	1.503
	เอทานอล 90 %	0.477
	อะซิโตน	0.413
	คลอโรฟอร์ม	0.349
	เฮกเซน	0.140

ตารางที่ ข1.6สารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหมากเมียด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ค่าดูดกลืนแสง
หมากเมีย	เอทานอล 50 %	0.302
	เอทานอล 90 %	0.240
	อะซิโตน	0.218
	คลอโรฟอร์ม	0.210
	เฮกเซน	0.104

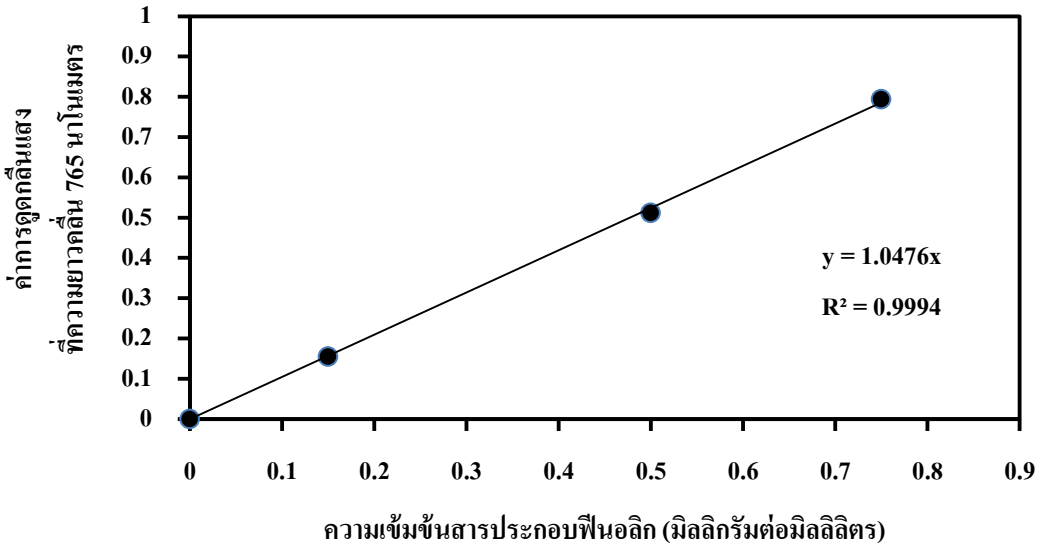
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ข1.7 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	*E. coli*				*B. subtilis*				*S. aureus*			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
จิงจ้อ	เอทานอล 50%	9	8	7	8.00	9	6.5	9	8.17	9	9	6	8.00
	เอทานอล 90%	8	7	7	7.33	7	5	9	7.00	9	6	7	7.33
	เฮกเซน	8	8	6.5	7.50	6	8	7	7.00	6	7	7	6.67
	อะซิโตน	9	7	7	7.67	7	6	7	6.67	6	7	6	6.33
	คลอโรฟอร์ม	9	7	6	7.33	8	7	7	7.33	9	7	7	7.67
หมากเมีย	เอทานอล 50%	8	9	6	7.67	9	5	8	7.33	9	5	9	7.67
	เอทานอล 90%	7	8	6	7.00	8	7	5	6.67	9	6	7	7.33
	เฮกเซน	7	8	7	7.33	8	6	7	7.00	8	6	8	7.33
	อะซิโตน	8	7.5	7	7.50	7	6	7	6.67	8	6	8	7.33
	คลอโรฟอร์ม	7	8	6.5	7.17	7	8	8	7.67	6	8	8	7.33
แห้วหมู	เอทานอล 50%	9	7	9	8.33	10	7	8	8.33	9	8	8	8.33
	เอทานอล 90%	6	7	9	7.33	9	7	8	8.00	9.5	7	7	7.83
	เฮกเซน	6	8	7	7.00	9	8	6	7.67	9	8	7	8.00
	อะซิโตน	6	9	8	7.67	9	8	7	8.00	9	7.5	7	7.83
	คลอโรฟอร์ม	9	7	7	7.67	8	8	8	8.00	8	7.5	8	7.83

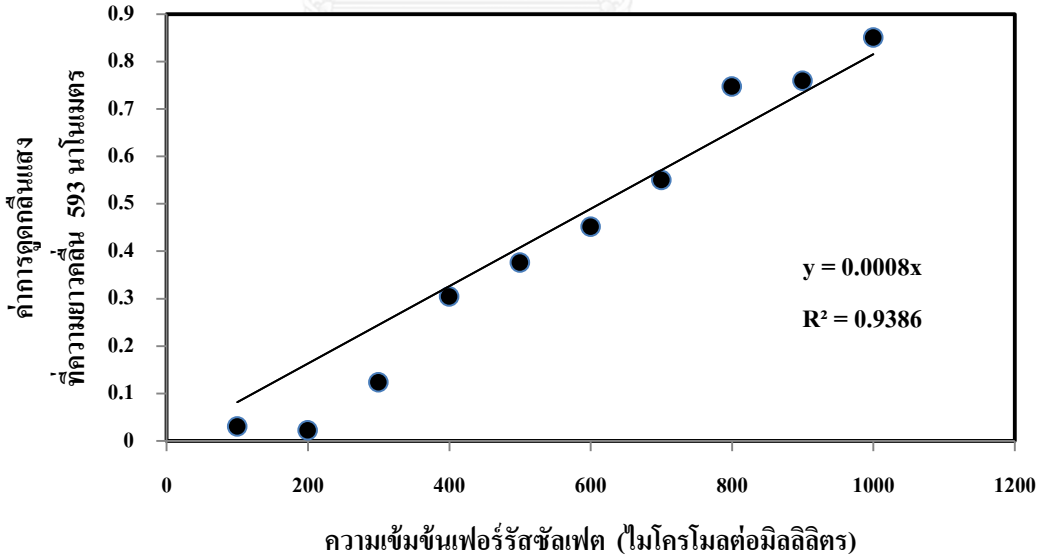
หมายเหตุ : 1,2 และ 3 คือ จำนวนครั้งที่วัด 4 คือ ค่าเฉลี่ย

ข.2.1 กราฟมาตรฐานสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการทดลอง



รูปที่ ข.2.1 กราฟมาตรฐานความเข้มข้นกรดแกลลิก

ข.2.2 กราฟมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตที่ได้จากการทดลอง



รูปที่ ข.2.2 กราฟมาตรฐานความเข้มข้นเฟอร์รัสซัลเฟต

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายธนาคาร ชาติดำ เกิดเมื่อวันที่ 3 พฤศจิกายน พ.ศ. 2530 ที่อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา สำเร็จการศึกษาระดับชั้นมัธยมศึกษา จากโรงเรียนจุฬาภรณราชวิทยาลัย สตูล จังหวัดสตูล เมื่อปี พ.ศ.2548 หลังจากนั้นได้รับปริญญาวิศวกรรมศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เมื่อปี พ.ศ. 2553 และได้ศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ. 2555

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University