

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

antioxidants เป็นสารที่สามารถยับยั้ง lipid oxidation เป็นสารที่มีความสำคัญในการป้องกันการเสื่อมเสียในอาหาร ยังมีผลต่อสิ่งมีชีวิตป้องกันการเกิด oxidative damage ซึ่งปฏิกิริยา oxidative deterioration มีผลต่อสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และคุณค่าทางอาหาร (Mansour, 2000) อุตสาหกรรมอาหารนิยมใช้สาร antioxidant สังเคราะห์ เช่น BHA, BHT และ TBHQ เป็นต้น ถึงแม้ว่าวัตถุเจือปนอาหารเป็นสารสังเคราะห์ที่ได้ผ่านการทดสอบทางพิษวิทยาแล้วก็ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ถ้ามีการใช้วัตถุเจือปนอาหารในปริมาณที่กำหนดไว้ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณสูงสุดของวัตถุเจือปนอาหารที่กฎหมายอนุญาตให้ใช้ได้

ประเภทวัตถุเจือปนอาหาร	ชื่อวัตถุเจือปนอาหาร	ปริมาณสูงสุดที่ให้ได้ใช้ได้ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
1. วัตถุกันหืน (antioxidants)	1.1 propyl gallate	100
	1.2 butylated hydroxytoluene (BHT)	75
	1.3 butylated hydroxyanisole (BHA)	175
	1.4 tertiary butyl hydroquinone (TBHQ)	120
	1.5 propyl gallate รวมกับ BHA หรือ BHT หรือ TBHQ หรือรวมทั้งสามอย่างใช้รวมกัน	200 แต่ปริมาณใช้ของแต่ละตัวต้องไม่เกินปริมาณที่กำหนดใน 1.1, 1.2, 1.3 และ 1.4
2. วัตถุกันเสีย (antimicrobial agents)	2.1 sodium benzoate, esters of parahydroxy benzoic acid	1000
	2.2 sorbic acid และ potassium sorbate	500
	2.3 sulfur dioxide	100

ที่มา : http://www2.fda.moph.go.th/law/search/frmSrch_food.asp (2005)

ซึ่งอันตรายอาจเกิดขึ้นเมื่อได้รับสารเจือปนนั้นเป็นระยะเวลานาน แต่ยังไม่ได้มีหลักฐานยืนยันที่ชัดเจนถึงความสัมพันธ์ระหว่างการบริโภคสารเจือปนอาหารและอันตรายที่เกิดขึ้น โดยมีการคาดไว้ว่าสารเจือปน

อาหารอาจก่อให้เกิดมะเร็งต่อผู้บริโภคได้ (Farag และคณะ, 1989) พร้อมทั้งยังมีอันตรายต่อกระเพาะอาหาร ระบบประสาท และระบบปัสสาวะ (Cho และคณะ, 1995) ยิ่งไปกว่านั้นถ้าผู้ประกอบการด้านอาหารมีความรู้เท่าไม่ถึงการณ์ หรือขาดความรู้เกี่ยวกับคุณและโทษของวัตถุเจือปนแต่ละชนิดโดยละเอียด เช่น อาจใช้ผิดกับประเภทอาหาร หรือใช้มากเกินไปกว่ามาตรฐานที่กฎหมายกำหนด อาจก่อให้เกิดอันตรายถึงแก่ชีวิตกับผู้บริโภคได้

ปัจจุบันผู้บริโภคส่วนใหญ่ตระหนักถึงอันตรายที่เกิดจากวัตถุเจือปนอาหารที่เป็นเคมีสังเคราะห์ดังกล่าว ดังนั้นจึงนิยมหันมาเลือกบริโภคอาหารที่ผลิตโดยใช้สารธรรมชาติทดแทนมากขึ้น (Hsieh และคณะ, 2001; Alzoreky และ Nakahara, 2003) ซึ่งในธรรมชาติมีสาร antioxidant หลายชนิด คือ วิตามินอี วิตามินซี และแคโรทีนอยด์ ได้แก่ แคโรทีน ไลโคพีน (Block และคณะ, 1992) รวมทั้ง phenolic compounds ซึ่งเป็นสารกลุ่มใหญ่และพบทั่วไปในพืชเกือบทุกชนิด เป็นเหตุให้การวิจัยเพื่อสกัดสารจากพืชสำหรับใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียจากธรรมชาติ เพื่อทดแทนสารสังเคราะห์ที่ได้รับความนิยมมากขึ้น ดังเช่น งานวิจัยของเกศศิริ ตระกูลทิวกา และจันทร์เพ็ญ ศักดิ์สิทธิพิทักษ์ (2539) ซึ่งได้ศึกษาถึงศักยภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักพื้นบ้านไทยจำนวน 83 ชนิด (84 ตัวอย่าง) ซึ่งรวบรวมได้จากตลาดในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ การสกัดสารด้วย methanol และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระหรือฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยวิธี β -carotene bleaching ผลจากการวิจัยจำแนกได้ว่า 55.9% ของผักพื้นบ้านไทย 84 ตัวอย่าง อยู่ในกลุ่มที่มีศักยภาพสูง โดยมีสารที่มีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระมากกว่า 100 มิลลิกรัม ของสาร butylated hydroxyanisole (BHA) เปรียบเทียบในผักสด 100 กรัม เช่นเดียวกับ Richheimer และคณะ (1996) ศึกษา activity ในการเป็นสารกันหืนของสารสกัดจากเครื่องเทศ โดยนำสารสกัดจากพืชมาใช้ร่วมกับสารกันหืน (antioxidant) โดยใช้เครื่องเทศที่เป็นพืชในวงศ์ Labiatae คือ oregano, thyme, majoran, dittany, rosemary และ sage กับสารกันหืนที่ใช้คือ BHA, BHT, propyl gallate และ corbyl palmitate พบว่ามีผลในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากขึ้น เช่น การใช้สารสกัดจาก rosemary และ sage ร่วมกับ BHA มีค่า induction period เพิ่มขึ้นอีกเท่าตัว จึงทำให้สามารถลดปริมาณการใช้สารกันหืนสังเคราะห์ลงมาก จากประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากธรรมชาติดังกล่าว ทำให้มีการพัฒนาค้นคว้าวิจัยในกับพืชอีกหลากหลายชนิด ดังเช่นในปี 2000 ประสิทธิภาพการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยที่เตรียมจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศแห้งจำนวน 6 ชนิด ซึ่งทดสอบโดย 2 วิธี aldehyde/carboxylic acid assay และ conjugated diene assay เรียงลำดับจากมากไปหาน้อยดังนี้ thyme, basil, rosemary, chamomile, lavender และ อบเชย โดยสารสกัดจาก thyme และ basil ความเข้มข้น 10 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ hexanol ระยะเวลา 40 วันได้ และนอกจากนั้นที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม

ต่อมิลลิกรัมของสารสกัด thyme มีประสิทธิภาพในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระเท่ากับ BHT และ α -tocopherol อีกด้วย (Kwang-Geun และ Takayuki, 2002) ต่อมาเมื่อมีวิวัฒนาการทางเทคโนโลยีระดับสูงเกิดขึ้น สารสกัดจากธรรมชาติจึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก โดยมีการนำวิทยาการทางด้านนาโนเทคโนโลยี (nanotechnology) มาศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ ดังการศึกษาของ Gurdip และคณะ (2004) ได้ใช้เทคนิค gas chromatography-mass spectrometry วิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยที่สกัดด้วยวิธีการกลั่นจาก Ajwain (*Trachyspermum ammi*) ปรากฏว่ามีสารประกอบจำนวน 26 ชนิด โดยพบ thymol (39.1%) เป็นสารประกอบหลัก และ p-cymene (30.8%), γ -terpinene-4-ol (ร้อยละ 0.8) ส่วนที่สกัดด้วย acetone พบสารสำคัญเพียง 18 ชนิด แต่พบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วย acetone มีศักยภาพในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระใน linseed oil ได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ BHA และ BHT นอกจากนี้ น้ำมันที่ได้จากต้น *Melaleuca alternifolia* ในประเทศออสเตรเลีย สามารถต้านการเกิดอนุมูลอิสระได้ โดยพบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วย methanol ที่ความเข้มข้น 10 $\mu\text{L/mL}$ นั้นสามารถกำจัด free radical ได้ถึง 80% และที่ความเข้มข้น 200 $\mu\text{L/mL}$ สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เปลี่ยน hexanal ไปเป็น hexanoic acid ได้ 60% โดยสารประกอบที่มีคุณสมบัติดังกล่าวในสารสกัดหยาบนี้คือ α -terpinene, α -terpinolene และ γ -terpinene ที่วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง GC-MS (Hyun-jin และคณะ, 2004)

Wettasinghe และ Shahidi (1999) สกัดสารต้านอนุมูลอิสระ จาก evening primrose meal (EPM) พบว่า evening primrose meal ความเข้มข้น 1% และ 2% โดยน้ำหนัก ลดปริมาณสาร 2-thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) ปริมาณ hexanal และสารหอมระเหยใน cooked comminuted pork ได้ประมาณ 43.6-72.6% ในสารสกัดจาก EPM มี phenolic compounds เป็นส่วนประกอบ evening primrose crude extract (EPCE) ยับยั้งการ bleaching ของ β -carotene และยังพบว่า EPCE ที่ความเข้มข้น 200 ppm ยับยั้งการเกิด TBARS, hexanal และ total volatile ใน cooked comminuted pork ได้ประมาณ 67.3-97.5% มีคุณสมบัติในการ scavenging กับ hydrogen peroxide (H_2O_2), hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) และ superoxide radical ($\text{O}_2^{\cdot-}$) ได้ดีกว่า authentic (+) catechin

Fahey และ Stephenson (2002) สกัดสาร pinostrobin จากน้ำผึ้ง (honey) และจาก Thai ginger (*Boesenbergia pandurata*) เพื่อใช้เป็น chemoprotective และ antioxidant enzymes

Mansour และ Khalil (2002) สกัดสาร antioxidant จาก potato peels, fenugreek seed และ ชিং ด้วยวิธี freeze-dried พบว่าชিংสกัดมี คุณสมบัติเป็น antioxidant ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสาร

antioxidant ที่ใช้ในการค้า คือ sustane 20 และ sustane HW-4 และสารสกัดจากขิงและ fenugreek ทำงานได้ดีที่ pH 7.0 แต่ จาก potato peel ทำงานได้ดีที่ pH 5.0-6.0 แต่สารสกัดจาก potato peel และ fenugreek seed ทนต่อความร้อนได้ดีกว่าสารสกัดจากขิง สภาวะการเก็บที่อุณหภูมิ 5, 25 และ 37°C ไม่มีผลต่อสารสกัด เมื่อนำไปใช้กับ beef patties สารสกัดจากขิงและ fenugreek มีประสิทธิภาพดีกว่าจาก potato peel สามารถควบคุมการเกิด lipid oxidation และการเปลี่ยนแปลงสีในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ ต่ำ

Lee และคณะ (2002) สกัดสาร antioxidant จาก *Opuntia ficus-indica* var. saboten ด้วย ethanol พบว่าสามารถยับยั้ง linoleic acid, DPPH radicals, superoxide anions (O_2^-) และ hydroxyl radicals ($OH^\cdot$) และยังพบว่ามีประสิทธิภาพป้องกัน plasmid DNA breakage ที่มีผลชักนำให้เกิด hydroxyl radicals และมีผลยับยั้ง glucose oxidase-mediated cytotoxicity นอกจากนี้มีปริมาณ phenolics 180.3 mg/g ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น antioxidant

Dorman และคณะ (2003) สกัดสาร antioxidant จากพืชวงศ์ Mentha เช่น *M. aquatica* L., และ *M. haplocalyx* Briq และพันธุ์ลูกผสม พบว่าสารสกัดจากพันธุ์ลูกผสมระหว่าง *M. x piperita* “Frantsilla” มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง iron(III) reduction, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging และ iron(III)-ascorbate-catalyzed hydroxyl radical-mediated brain phospholipid peroxidation ได้ดียกเว้น การยับยั้ง ferrous ion chelation และมีปริมาณสาร phenolic content สูงที่สุด

นอกจากนี้ยังมีรายงานการสกัดสารจากพืชพืชวงศ์ขิงเพื่อใช้เป็นสาร antioxidant และ functional property ต่างๆ ดังนี้

Jitoe และคณะ (1992) ศึกษาคุณสมบัติ antioxidant ของพืชวงศ์ขิง 9 ชนิด ได้แก่ *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma domestica*, *Curcuma heyneana*, *Curcuma mangga*, *Curcuma xanthorrhiza*, *Zingiber cassumunar*, *Phaepmeria speciosa*, *Alpinia galanga* และ *Amomum kepulaga* พบว่าสารสกัดจากขิงมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดจากขมิ้น (curcumoids) โดย Osamu (1995) วิเคราะห์ปริมาณสาร oxygenated hydrocarbon ที่สกัดได้จากขิงที่มีขายในประเทศญี่ปุ่น นำมาสกัดด้วย hexane และวิเคราะห์ด้วย gas chromatography-mass spectrophotometry (GC-MS) และพบสาร 18 ชนิด เช่น linalool, geraniol, geranial, neral, isoborneol, (E)-2-alkenals, 2-octyl acetate , 2-pinen-5-ol เป็นต้น

Sekiwa และคณะ (2000) แยกสาร glucosides ของ 6-gingerol 2 ชนิด จากขิงสด (*Zingiber officinale* Roscoe) คือ 1-(4-O- β -D-glucopyranosyl-3-methoxyphenyl)-3,5-dihydroxy-decane และ 5-O- β -D-glucopyranosyl-3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)decane ด้วยเทคนิค HRFAB-MS และ NMR และผลจากการยืนยันพบว่าสาร 2 ชนิดเป็นสารตั้งต้นหรือเป็นสารตัวกลางของ 6-gingerdiol แต่สาร 5-O- β -D-glucopyranosyl-3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)decane มีประสิทธิภาพในการเป็นสาร antioxidant ทั้งในการทดสอบ linoleic acid และ DPPH radical scavenging ส่วน Zancan และคณะ (2002) สกัดสาร antioxidant จากขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) ด้วยวิธี Supercritical CO₂ และใช้ ethanol และ isopropyl เป็น cosolvent ใช้ pressure ที่ 200 และ 250 bar อุณหภูมิ 25°C และ 35°C ใช้ cosolvent คือ CO₂, CO₂+EtOH, CO₂+Isopropyl alcohol) ได้สารสกัดคือ zingiberene, gingerols และ shogoals และพบว่าอุณหภูมิ ความดันและ solvent มีผลต่อ antioxidant activity ส่วน Leal และคณะ (2003) ศึกษาสารสกัดจากขิง (*Zingiber officinale* Roscoe), rosemary (*Rosemarinus officinalis* L.) และขมิ้น (turmeric, *Curcuma longa* L.) เพื่อใช้เป็นสาร antioxidant, anticancer และ antimicrobial โดยการสกัดด้วย supercritical carbon dioxide โดยใช้และไม่ใช้ ethanol และ/หรือ isopropyl alcohol เป็น cosolvent พบว่า สารสกัดจาก rosemary มีคุณสมบัติเป็นสาร antioxidant ดีที่สุดแต่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านแบคทีเรียน้อยที่สุด ส่วนสารสกัดจากขิงมีคุณสมบัติเป็นสารต้านมะเร็งดีที่สุด

Braga และคณะ (2003) เปรียบเทียบ yield ที่ได้จากการสกัดขมิ้นด้วยวิธี hydrodistillation, low pressure solvent extraction, soxhlet และ supercritical carbon dioxide extraction ด้วย carbondioxide และใช้ cosolvent คือ ethanol, isopropyl alcohol และ ethanol ผสมกับ isopropyl alcohol พบว่าการสกัดโดยใช้ soxhlet ได้ yield สูงที่สุดประมาณ 27% และได้สาร curcumoids มากที่สุด ส่วนวิธี hydrodistillation จะให้ yield ต่ำที่สุด 2.1% นอกจากนี้วิธีการสกัดด้วย soxhlet และ low pressure solvent extraction จะได้สารที่มีคุณสมบัติเป็น antioxidant ดีที่สุด

Ly และคณะ (2003) สกัดสาร antioxidant จากเหง้าของ galanga (*Alpinia officinarum* Hance) โดยใช้ methanol วิเคราะห์และ identify ด้วย reversed phase HPLC และตรวจสอบโครงสร้างด้วย MS และ NMR พบว่าประกอบด้วยสาร 7 ชนิด (E)-p-coumaryl alcohol, γ -O-methyl ether เป็นสารใหม่ 5 ชนิด คือ (4E)-1,5-bis(4-hydroxyphenyl)-1-methoxy-2-(methoxy-methyl)-4-pentene, (4E)-1,5-bis(4-hydroxyphenyl)-1-ethoxy-2-(methoxy-methyl)-4-pentene, (4E)-1,5-bis(4-hydroxyphenyl)-1-[(2E)-3(4-acetoxyphenyl)-2-propenoxy]-2-(methoxymethyl)-4-pentene, (4E)-1,5-bis(4-

hydroxyphenyl)-2-(methoxymethyl)-4-pentene-1-ol และ (4E)-1,5-bis(4-hydroxyphenyl)-2-(hydroxymethyl)-4-pentene-1-ol ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติเป็นสาร antioxidant

Laohakunjit และคณะ (2008) รายงานประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ขิง 5 ชนิด ได้แก่ ginger (*Zingiber officinale* Roscoe.), galanga (*Alpinia galanga* Sw.), turmeric (*Curcuma longa* L.), kaempferia (*Boesenbergia pandurata* Holtt.) และ bastard cardamom (*Amomum xanthioides* Wall.) ที่ได้จากการกลั่น (hydrodistillation) และการสกัดด้วยตัวหละลาย 2 ชนิด (petroleum ether และ ethanol) ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *Listeria monocytogenes* ทดสอบด้วยวิธี disc diffusion assay พบว่า น้ำมันหอมระเหย kaempferia และ bastard cardamom ที่ได้จากการต้มกลั่นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบ 4 ชนิด มีค่า minimum concentration สำหรับ *B. cereus* และ *L. monocytogenes* เท่ากับ 6.25 µg/ml. สารหอมระเหยที่พบใน ginger, galanga, turmeric, kaempferia, และ bastard cardamom ที่ได้จากการต้ม มี major volatile compound ได้แก่ zingiberene, methyl chavicol, turmerone, γ -terpinene, และ methyl chavicol,

สำหรับงานวิจัยถึงประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยต่อยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียนั้นได้รับความสนใจอย่างมากเช่นเดียวกัน ได้มีผู้ทดสอบศักยภาพในการต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจำนวน 10 ชนิด ในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืช 52 ชนิด พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากตะไคร้, oregano และ bay สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ทุกชนิดที่ความเข้มข้นประมาณร้อยละ 2 (โดยปริมาตร) และมีน้ำมันหอมระเหยเพียง 6 ชนิด ที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อทุกชนิดได้ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 (โดยปริมาตร) ซึ่ง ได้แก่ apricot, kernel, evening primrose, macadamia, sage, sweet almond และ ฟักทอง (Hammer และคณะ, 1999) ส่วนในปีต่อมา Dorman และ Deans (2000) พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จาก thyme มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 25 ชนิดที่ก่อโรคในสัตว์และพืช รวมทั้งเชื้อที่ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสียและสร้างสารพิษได้ ซึ่งจาก zone of inhibition อยู่ประมาณมากกว่า 90 mm โดยมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยของ พริกไทยดำ กระจ่าง, geranium ลูกจันทร์ และ oregano รวมด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าเครื่องเทศที่คนไทยรู้จักกันดีและใช้อยู่เป็นประจำ อย่างเช่นกระเทียม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เช่นงานวิจัยของ Benkeblia (2004) ที่รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับสารสกัดจากหัวหอม 3 ชนิด (สีแดง สีเหลือง และสีเขียว) โดยสารสกัดที่ได้สามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella enteritidis* ได้ดีกว่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* จากงานวิจัยดังกล่าวนี้ ทำให้สามารถนำน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากกระเทียมและหัวหอมมาใช้เป็นสารป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ในผลิตภัณฑ์จากอาหาร

หลากหลายชนิด ซึ่งน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากพืชนี้สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่า แกรมลบ โดยมีค่า MIC (minimum inhibition concentration) อยู่ระหว่าง 0.05–5 $\mu\text{g/mL}$ และเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพกับผลิตภัณฑ์อาหารพวกเนื้อสัตว์ นม ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของนม ผักและผลไม้ พบว่าเมื่อใช้น้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 0.5–20 $\mu\text{g/mL}$ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ (Sara, 2004)

รายงานการวิจัยการสกัดสารจากพืชที่สามารถใช้เป็นสารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เป็นสารหอมระเหยจากพืชที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์หลายชนิด มาจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศได้แก่ clove, oregano, rosemary, thyme, sage, vanillin, ginger, galangal, cardamom, curcuma, cinnamon, mint, anise เป็นต้น ซึ่งมีประสิทธิภาพยับยั้งจุลินทรีย์แกรมบวก (gram positive) ดีกว่าแกรมลบ (gram negative) แต่บางชนิดเช่น oregano, clove, cinnamon และ citral สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ทั้ง 2 ชนิด (Sivropoulou และคณะ, 1996; Skandamis และคณะ, 2002) ส่วนใหญ่สารหอมระเหยจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศนิยมนำไปใช้เป็นสารต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเนื้อสัตว์ ดังเช่น organo oil ความเข้มข้น 0.8% (v/w) ใช้กับ beef fillet สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella enterica* Typhimurium (Skandamis และคณะ, 2002) cilantro oil ความเข้มข้น 6% ผสม film ใช้กับ ham สามารถยับยั้งการเจริญของ *Listeria monocytogenes* (Gill และคณะ, 2002) cinnamaldehyde ปริมาณ 1% (w/w) +film ใช้กับ cured meat ยับยั้ง *Enterobacteriaceae* (Quattara และคณะ, 2000) cinnamaldehyde ปริมาณ 0.5% ใช้กับ dried beef ยับยั้ง natural gram negative (Kim และคณะ, 2001) clove oil ปริมาณ 1% (v/v) ใช้กับ low fat cheese ยับยั้ง *Listeria monocytogenes* (Smith-Palmer และคณะ, 2001) เป็นต้น

ส่วนสารหอมระเหยจากพืชสมุนไพรที่นำไปใช้ในน้ำผักและผลไม้มีรายงานดังนี้ ในปี 1998 Lachoweiz และคณะ รายงานว่า basil oil ปริมาณร้อยละ 1 ยับยั้งการเจริญของ *Saccharomyces cerevisiae* ใน tomato juice ได้ดี Yuste และ Fung (2002) ใช้ cinnamon powder ปริมาณร้อยละ 0.3 ใน apple juice ยับยั้ง *L. monocytogenes* ได้ ส่วน Cerruti และ Alzamora (1996) ใช้ vanillin ความเข้มข้น 3 mg/mL ใน strawberry puree ยับยั้ง natural microflora และ yeast ได้ดี ส่วน basil sweet linalool (BSL) และ basil methyl chavicol (BMC) oil สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ยีสต์และราใน filter sterilized lettuce supernatant ที่เก็บในตู้เย็นได้ดี โดยเฉพาะ *Aeromonas hydrophila* (เป็น psychrotroph pathogen) และ *Pseudomonas fluorescens* เป็น psychrotrophic spoilage bacterium แต่ BMC oil มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ดีกว่า BSL oil (Wan และคณะ, 1998) รวมทั้ง anise basil oil ซึ่งมีสารประกอบหลักคือ

linalool ปริมาณ 44% และ methyl chavicol ปริมาณ 27% ที่ความเข้มข้น 1% มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของ *Lactobacillus curvatus* และ *Saccharomyces cerevisiae* ใน tomato-based food ที่ pH 4.2 นอกจากนี้สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 2 ชนิดใน tomato juice (Lachowicz และคณะ, 1998) เป็นต้น

Natural aroma จากพืชต่างๆ รวมทั้งจากผักและผลไม้ เป็น secondary metabolites ที่ผลิตขึ้นจาก lipoxygenase pathway โดยการ catalyze กรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ได้ fatty acid hydroperoxide ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ถูกเปลี่ยนเป็นสารประกอบอื่นมีความสำคัญในการต้านจุลินทรีย์บนผิวของผักและผลไม้บริเวณที่เกิดบาดแผล (wounded areas) (Casey และคณะ, 1999) องค์ประกอบของสารหอมระเหยโดยเฉพาะสารที่มี functional group เป็น aldehyde และ alcohol เกิดจากปฏิกิริยา hydroperoxide lyase, isomerase และ dehydrogenase นั้นเป็นสารที่มีคุณสมบัติต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ดี ได้แก่ hexanal, hexanol, 2-(E)-hexenal และ 3-(Z)-hexenol เป็นสารประกอบคาร์บอน 6 อะตอม ให้ลักษณะกลิ่น green notes ซึ่งเป็นสารกลิ่นรสที่สำคัญในมะเขือเทศ ชา สตรอเบอรี่ น้ำมันมะกอก (olive oil) องุ่น แอปเปิ้ล และแพร์ (Gardini และคณะ, 2002) สารหอมระเหยยังมีองค์ประกอบที่สำคัญประเภท terpenoids ซึ่งมีประสิทธิภาพดีในการต้านจุลินทรีย์ชนิดก่อโรคหลายสายพันธุ์ (Delaquis และคณะ, 2002; Dorman และ Deans, 2000) พบว่ามีปริมาณมากในพืช Labiatae (Basilico และคณะ, 1999; Lambert และคณะ, 2001) และพืชตระกูลส้ม (citrus fruit) (Ben-Yehoshua และคณะ, 1998)

ส่วน hexanal และ 2-(E)-hexenal สามารถยับยั้งจุลินทรีย์หลายชนิดที่ทำให้อาหารเน่าเสียได้ (Gardini และคณะ, 2001; Kubo และ Fujita, 2001) จากรายงานของ Song และคณะ (1996 และ 1997) ใช้ hexanal เป็นสาร metabolizable fungicide ในแอปเปิ้ลที่ผ่านการตัดแต่ง (minimally processed apple) และยังพบว่า hexanal ช่วยเพิ่มปริมาณกลิ่นหอมของแอปเปิ้ล Lanciotti และคณะ (1999) พบว่าสาร hexanal สามารถยับยั้ง mesophilic และ psychrotrophic bacteria ที่ 4°C ส่วนที่อุณหภูมิ 15°C hexanal ช่วยยับยั้งการเจริญของ yeasts, mould, mesophilic และ psychrotrophic bacteria มากกว่านั้นการใช้ร่วมกับ modified atmosphere (N₂ ปริมาณ 70% และ CO₂ ปริมาณ 30%) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของ hexanal ในการลดการเกิดสีน้ำตาล (browning reaction) มีการใช้ hexanal ร่วมกับ 2-(E)-hexenal ช่วยยืดอายุการเก็บ fresh sliced apple โดยลดปริมาณ yeast *Pichia subpelliculosa* ที่ระดับ 103 cfu/g (Corbo และคณะ, 2000)

การใช้สารหอมระเหยในการควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย (spoilage microflora) แล้ว ควรคำนึงถึงจุลินทรีย์ที่ก่อโรค (pathogenic microorganism) Lanciotti และคณะ (2004) ใช้

hexanal, 2-(E)-hexenal และ hexyl acetate ในแอปเปิ้ลตัดแต่งพร้อมบริโภค (fresh sliced apple) ที่บรรจุแบบปกติ (ordinary) และแบบดัดแปลงบรรยากาศ (modified atmosphere) พบว่าสามารถยับยั้ง *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* และ *Listeria monocytogenes* ได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ความเข้มข้นของ hexanal, 2-(E)-hexenal และ hexyl acetate เท่ากับ 150, 20 และ 150 ppm ตามลำดับ มีคุณสมบัติเป็น bactericide โดยยับยั้ง *L. monocytogenes* มีผลเพิ่ม lag phase ของ *E. coli* และ *S. enteritidis* ที่มีปริมาณ 104-105 cfu/g สารหอมระเหยจากส้ม (citrus essential oil) ซึ่งมีสาร terpenoid เป็นองค์ประกอบ สามารถยับยั้งการเจริญของ *Penicillium italicum* และ *Penicillium digitatum* (Caccioni และคณะ, 1998) Lancioitii และคณะ (2004) ได้ทดลองใช้สารหอมระเหยจาก mandarin, citron และ lemon ที่ความเข้มข้นชนิดละ 200 ppm สามารถลดปริมาณของ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ได้ inoculate ประมาณ 102 cfu/g และที่ภาวะเดียวกันทำให้อัตราการตายของ *E. coli* เพิ่มขึ้นเมื่อปลูกเชื้อประมาณ 106 cfu/ml

สาเหตุส่วนใหญ่ในการเสื่อมเสียของอาหาร เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อน ดังนั้นในปัจจุบันงานวิจัยเกี่ยวกับพืชสมุนไพร นิยมศึกษาถึงประสิทธิภาพทั้ง 2 ด้านควบคู่กันไป ดังเช่นงานวิจัยของ Sokmen และคณะ (2004) ได้ประเมินคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในน้ำมันหอมระเหยของ *Thymus spathulifolius* ที่ได้จากการกลั่นและการสกัดด้วย methanol พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้สูง ในขณะที่ผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในระดับปานกลาง และไม่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ และสำหรับประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจาก *Thyme thulifolius* วิเคราะห์โดย วิธี DPPH และ β -carotene linoleic acid พบว่าสารสกัดสามารถลดปริมาณอนุมูลอิสระ (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH) ได้น้อยกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (BHT) โดยมีค่า IC50 เท่ากับ 16.15 ± 0.5 และ 19.8 ± 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ พร้อมทั้งพบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ linoleic acid ของน้ำมันหอมระเหยนั้นดีกว่าของสารสกัดด้วย methanol คือ 92% และ 89% ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tepe และคณะ (2004) ที่จำแนกว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จาก *Thymus eigii* มีประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรียได้สูง ในขณะที่สารสกัดที่ไม่มีหัวให้ผลในระดับปานกลาง ส่วนสารสกัดที่มีหัวนั้นเกือบจะไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเลย แต่ผลตรงกันข้ามพบว่าประสิทธิภาพของ fraction ที่มีหัวที่ได้จาก *Salvia tomen tosa* Miller (Lamiaceae) ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้ (Tepe และคณะ, 2003) รวมทั้ง Laohakunjit และคณะ (2008) เปรียบเทียบการสกัดสารจากพืชวงศ์ขิงได้แก่ ขิง ข่า ขมิ้น กระชาย และเร่วหอม ด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย และโดยการกลั่น นำมาทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสาร antioxidant และ antibacterial พบว่าสารสกัดจากพืชวงศ์ขิงมีประสิทธิภาพต่างกัน

จากรายงานการวิจัยที่กล่าวข้างต้น แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยและสารที่สกัดได้จากพืชมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและต้านอนุมูลอิสระ สามารถนำไปใช้เป็นส่วนผสมจากธรรมชาติในการเป็นสารป้องกันการเสื่อมเสียในอาหารและยาได้

พืชพื้นบ้านของไทยอีกหลายชนิด รวมทั้งชะครามและผักแพว ถึงแม้มีการนำมาบริโภคได้ และมีรายงานถึงสรรพคุณทางยารักษาโรคอยู่บ้าง แต่ยังไม่มีการวิจัยถึงคุณประโยชน์เชิงหน้าที่ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ในอาหาร รวมทั้งองค์ประกอบ และสารสำคัญ

ชะคราม (annual seablite) จัดอยู่ในสกุล (genus) *Suaeda* วงศ์ *Chenopodiaceae* มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Suaeda maritima* (L.) Dum ซึ่ง genus *Suaeda* มีทั้งหมด 40 ชนิด (species) แต่ชะคราม (*Suaeda maritima* (L.) Dum) เป็นสายพันธุ์ที่กระจายอยู่ทั่วไปในพื้นที่ดินเค็มขึ้นแฉะใกล้ทะเล ตั้งแต่เขตชายฝั่งทะเลประเทศนอร์เวย์ เอเชียตะวันออก ถึงอเมริกาเหนือ เป็นพืชชอบเกลือ (halophyte) ชนิดขึ้นได้ในความเค็มระดับน้ำทะเล (euhalophyte) ประเทศไทยพบได้ที่เขตบางขุนเทียน จังหวัดกรุงเทพฯ สมุทรสาคร และประจวบคีรีขันธ์ ชะครามมีสีเขียวขาวและสีแดง เป็นสีแดงก่อนและเปลี่ยนเป็นสีม่วง ชะครามนำมาใช้เป็นอาหารต่างๆ สำหรับบริโภคมาเป็นเวลานาน มีรสเค็มเล็กน้อย นำมาผสมกับผักเพื่อลดความเค็ม หรือนำมาลวกด้วยน้ำร้อน แต่คุณค่าทางโภชนาการ และมีสรรพคุณทางยาสำหรับรักษารากผมและแก้ผดผื่น ยังไม่มีข้อมูลยืนยันมากนัก ส่วน Gorham และคณะ (1983) รายงานว่าพืช *Suaeda maritima* มีปริมาณ K/Na ในส่วน apical และ auxillary bud สูงกว่าในส่วน mature vacuolated tissue และในส่วน younger tissue มีปริมาณสาร glycine betaine สูง นอกจากนี้ยังพบปริมาณ K/Na ,ซัลเฟอร์และฟอสฟอรัส ใน cytoplasm ของใบ primodial cell มากกว่าใน vacuoles ของทั้งใบแก่และใบอ่อน

มีรายงานถึงประโยชน์และสารจากพืชชอบเกลือหลายชนิดดังนี้ เป็นแหล่งพลังงานทางเลือก (Villalobos และ Correal, 1992) waxes (Hemmers และ Gblz, 1986) สารไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbons) และสารพฤษเคมี (phytochemicals) (Sekar และ Francis, 1998) พืชชอบเกลือในวงศ์ *Convolvulaceae* นำมาใช้เป็นยาพื้นบ้าน รักษาโรค (folk medicine) พืชบางชนิดในสกุล *Calystegia* มีสารอัลคาลอยด์ (Asano และคณะ, 2001) มี caffeic และ caffeic acid ester (Tori และคณะ, 2000) และมี acylated tetrasaccharide macrolactone (Gaspar, 2001) นอกจากนี้พืชในสกุล *Euphorbia* (วงศ์ *Euphorbiaceae*) มีสาร terpenoids (Gotta และคณะ, 1984; Conolly และ Hill, 1996) สาร flavonoids (Rizk และคณะ, 1980) และ digalactosyl diacylglycerol ซึ่งมีคุณสมบัติการต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) (Cateni และคณะ, 2000)

Benwahhoud และคณะ (2001) สกัดสารจาก aerial part ของ *Sueada fruticosa* (sea blite) ซึ่งอยู่ในวงศ์ Chenopodiaceae พบว่าสารสกัด (aqueous extract) สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูได้ และมีผลต่อพลาสมาคลอโรสเตอรอลทั้งในหนูปกติและหนูที่เป็นเบาหวาน การที่สารสกัดพืชนี้สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด และพลาสมาคลอโรสเตอรอลได้ เนื่องจากมีสาร flavonoid ซึ่งเป็นสารพฤษเคมีที่รายงานไว้โดย Paris และ Nothis (1969) รวมทั้งสารสกัดที่ได้ไม่มีความเป็นพิษที่ dose ต่ำกว่า 5 g/kg นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงสารสกัดจากพืชในวงศ์นี้อีกชนิดหนึ่งคือ *Atriplex halimus* L. มีผลต่อ antidiabetic เช่นกัน เนื่องจากมีเกลือของโครเมียม แมกนีเซียม แมงกานีส เป็นองค์ประกอบที่สำคัญ (Aharonson และคณะ, 1969)

Ivanova และคณะ (2006) ทดสอบผลของเกลือต่อองค์ประกอบของไขมัน (lipid content) ของพืชชอบเกลือ (*Bassia hirsuta* Aschers, *Euphorbia peplis* L., *Salicornia europaea* L., *Calystegia soldanella*, *Calystegia sepium*, *Stachys miritima* Gonan และ *Sueada maritima* Dumont) พบว่าเมื่อเพิ่มความเค็ม (salt salinity) ทำให้สัดส่วนระหว่าง linolenic/linolenic acid เพิ่มขึ้น

Chandrasekaran และคณะ (2008) สกัด fatty acid methyl ester (FAME) จากเมมเบรนของพืชชอบเกลือ 4 ชนิด ในวงศ์ Chenopodiaceae ได้แก่ *Arthrocnemum indicum*, *Salicornia brachiata*, *Sueada maritima* และ *Sueada monoica* เมื่อทดสอบ antibacterial และ antifungal พบว่า FAME จากพืชทั้ง 4 ชนิด มีประสิทธิภาพ antibacterial ดี และ anticandidal ได้ปานกลาง แต่ FAME จาก *Salicornia brachiata* มีประสิทธิภาพดีที่สุด เนื่องจากมี lauric acid ปริมาณสูง

An และคณะ (2008) แยก fraction ของสารสกัด *Suaeda glauca* ที่สกัดด้วยเมทานอล ได้สาร phenolic 4 ชนิดดังนี้ methyl,3,5 di-O-caffeoyl quinate (1), 3,5 di-O-caffeoyl quinic acid (2), isorhamnetin 3-O- β -D-galactoside (3) และ quercetin 3-O- β -D-galactoside (4) โดยสารชนิดที่ 1 และ 2 มีประสิทธิภาพเป็นสาร hepatoprotective ยับยั้งสาร tacrine ที่ชักนำให้เกิดความเป็นพิษต่อตับของมนุษย์ โดยมี EC₅₀ เท่ากับ 72.7 ± 6.2 และ $117.2 \pm 10.5 \mu\text{M}$ ตามลำดับ

ส่วนผักแพวหรือผักไผ่ (Vietnamease coriander หรือ Vietnamease mint) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Polygonum odoratum* Lour วงศ์ Polygonaceae เป็นพืชที่มีกำเนิดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นไม้ล้มลุก สามารถขึ้นเองได้ตามธรรมชาติ ตามที่ขึ้นแฉะ เช่น ห้วย หนอง คลอง บึง แอ่งน้ำต่างๆ ยอดอ่อนและใบอ่อนมีกลิ่นฉุน ช่วยดับกลิ่นคาวเนื้อสัตว์ กินเป็นผักสดแกล้มกับอาหารต่างๆ ผักแพวมีคุณค่าทางอาหาร ประกอบด้วยเส้นใย แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก วิตามินเอ วิตามินบี1 ไนอะซิน และวิตามินซี มี

สรรพคุณ ดังนี้ รากใช้แก้ริดสีดวงทวาร แก้ปวดเมื่อยตามร่างกายและข้อกระดูก รักษาหิด ไช้ แก้เจ็บท้อง ท้องเฟ้อ ใบคั้นสดผสมกับเหล้าแก้กลากเกลื้อนและผื่นคัน

ดอกใช้ขับเหงื่อ รักษาโรคปอด แก้เจ็บท้อง ท้องขึ้น ท้องเฟ้อ นอกจากนี้ใบมีรสเผ็ดร้อน และยังมีน้ำมันหอมระเหย มีรายงานถึงประสิทธิภาพในการแพทย์ เช่นมีสารต้านมะเร็ง โดยมีสารสำคัญได้แก่ quercitol, flavonoids, azetidine 2-carboxylic acid, mucous polysaccharide และสาร steroid รวมทั้ง frutostanol glycoside และ diogenin (Rafi และ Vastano, 2007) ซึ่งน้ำมันหอมระเหยผักแพวหรือ ผักไผ่ มีรายงานน้อยมากถึงชนิดของสารหอมระเหย และประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและต้านการเจริญของแบคทีเรีย

อย่างไรก็ตามประเทศไทยมีพืชท้องถิ่นหลายชนิดและนิยมนำมาใช้รักษาโรคและนำมาใช้เป็นส่วนประกอบอาหาร แต่การศึกษาคุณสมบัติทาง functional properties เช่นการใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร และสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ยังมีน้อยมาก ดังนั้นงานวิจัยนี้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและชนิดของสารหอมระเหย (volatile) ของ oleoresin และ essential oil ในชะครามและผักแพว ซึ่งเป็นพืชน้ำเช่นกัน แต่เป็นพืชชอบน้ำเค็ม และพืชน้ำจืด ตามลำดับ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน ตลอดจนคุณสมบัติการใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และเป็นสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหาร และสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมยา สิ่งที่สำคัญคือการสกัดต้องเลือกสภาวะการสกัดที่เหมาะสมเพื่อให้สารสกัดที่มีปริมาณมาก มีคุณภาพที่ดี ปลอดภัยจากสารเคมีและราคาไม่แพง