



วิทยานิพนธ์

การพัฒนาสารเคลือบบริโภคได้ต้านจุลินทรีย์ร่วมกับสารสกัด
พืชสมุนไพร

**DEVELOPMENT OF ANTIMICROBIAL EDIBLE COATINGS
INCORPORATED WITH CRUDE HERB EXTRACTS**

นางสาววิภาวีร์ ชาระเขตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการบรรจุ)

ปริญญา

เทคโนโลยีการบรรจุ

สาขา

เทคโนโลยีการบรรจุ

ภาควิชา

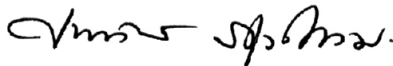
เรื่อง การพัฒนาสารเคลือบบริโภคได้ด้านจุลินทรีย์ร่วมกับสารสกัดพืชสมุนไพร

Development of Antimicrobial Edible Coatings Incorporated with Crude Herb Extracts

นามผู้วิจัย นางสาววิภาวีร์ ธาระเขตร์

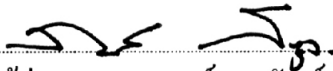
ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ



(รองศาสตราจารย์งามทิพย์ ภู่วโรดม, Ph.D.)

กรรมการ



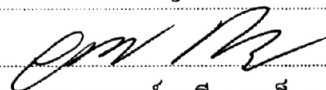
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ภาณุวัฒน์ สรรพกุล, Ph.D.)

กรรมการ



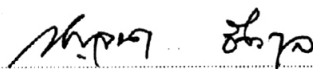
(รองศาสตราจารย์เพ็ญแข วันไชยธนวงศ์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา



(รองศาสตราจารย์วราณี ชนเห็นชอบ, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว



(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 23 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2551

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การพัฒนาสารเคลือบบริโภคได้ต้านจุลินทรีย์ร่วมกับสารสกัดพืชสมุนไพร

Development of Antimicrobial Edible Coatings Incorporated with Crude Herb Extracts

โดย

นางสาววิภาวีร์ ชาระเขตร์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการบรรจุ)

พ.ศ. 2551

วิภาวีร์ ชาระเขตร์ 2551: การพัฒนาสารเคลือบบริโภคนิโกลได้ด้านจุลินทรีย์ร่วมกับสารสกัดพืชสมุนไพร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการบรรจุ) สาขาเทคโนโลยีการบรรจุ ภาควิชา
เทคโนโลยีการบรรจุ ปรธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์งามทิพย์ ภู่วโรดม, Ph.D.
156 หน้า

การศึกษาความสามารถของสารสกัดจากสมุนไพรจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ กระชาย กระเทียม กานพลู และอบเชย ที่ด้านการเติบโตของแบคทีเรียทดสอบ 4 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus* และ *Pseudomonas aeruginosa* ด้วยวิธี Well Assay พบว่า สารสกัดจาก กานพลูและอบเชย สามารถด้านการเติบโตของแบคทีเรียทดสอบทั้ง 4 ชนิด ได้ดี ส่วนสารสกัดจากกระชาย สามารถด้านการเติบโตของ *S. epidermidis* และ *S. aureus* เท่านั้น ในขณะที่สารสกัดจากกระเทียมไม่สามารถ ด้านการเติบโตของแบคทีเรียทดสอบทั้ง 4 ชนิด สารสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์จะแสดงบริเวณด้านขนาดใหญ่ กว่า และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของการด้านแบคทีเรียจะต่ำกว่าสารสกัดจากสมุนไพรชนิดเดียวกันแต่น้ำกลั่น เป็นตัวทำลาย ประสิทธิภาพการด้านแบคทีเรียทดสอบของสมุนไพรที่ศึกษา พบว่าสารสกัดจากอบเชยมี ประสิทธิภาพสูงที่สุด รองลงมาคือ กานพลูและกระชาย ตามลำดับ โดย MIC มีค่าอยู่ในช่วง 31.25-100 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตร 100-250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 200-500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และขนาดของบริเวณ ด้านแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้น ในระหว่างการเก็บรักษาสารสกัดจากสมุนไพร ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าความสามารถด้านแบคทีเรียจะลดลง อย่างไรก็ตามการเก็บไว้นานถึง 8 สัปดาห์ สารสกัดจากอบเชยและกานพลูยังสามารถด้านแบคทีเรียได้ดี โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 100-250 และ 200-500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

สารเคลือบบริโภคนิโกลได้ที่เหมาะสมที่สุดกับการเคลือบบนผิวตัวอย่างพลาสติกเค็ม และสามารถลอกออก ได้ง่ายก่อนนำไปประกอบอาหาร คือ แครร์ราจีแนน 2.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ฟิล์มแครร์ราจีแนนที่ใส่ สารสกัดจากอบเชย มีฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ทดสอบ 4 ชนิด และจุลินทรีย์ดอกจากพลาสติกเค็มได้ดีกว่าสารสกัด จากกานพลู เมื่อนำสารละลายแครร์ราจีแนน 2.5 เปอร์เซ็นต์ที่ใส่สารสกัดจากอบเชยมาเคลือบตัวอย่างพลาสติก เค็ม พบว่า มีประสิทธิภาพ และให้ผลดีมากยิ่งขึ้นเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น ซึ่งสามารถด้านจุลินทรีย์ได้ดี ที่สุดที่ความเข้มข้น 15 เท่าของค่า MIC โดยเก็บรักษาได้ 10 วัน เมื่อเก็บไว้ ณ อุณหภูมิห้อง และยืดอายุการเก็บ รักษาได้ 28 วัน เมื่อเก็บไว้ ณ อุณหภูมิแช่เย็น

วิภาวีร์ ชาระเขตร์
ลายมือชื่อนิติ

อ.ดร. งามทิพย์ ภู่วโรดม 20 / พ.ค. / 2551
ลายมือชื่อประธานกรรมการ

Wiphavee Tarakhet 2008: Development of Antimicrobial Edible Coatings Incorporated with Crude Herb Extracts. Master of Science (Packaging Technology), Major Field: Packaging Technology, Department of Packaging Technology. Thesis Advisor: Associate Professor Ngamtip Poovarodom, Ph.D. 156 pages.

This study focused on the determination of the antimicrobial activity of herb extracts, namely fingerroot, garlic, clove and cinnamon, against spoilage microorganisms, which were *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus* and *Pseudomonas aeruginosa* by using Well Assay. Clove and cinnamon extracts exhibited significant antimicrobial activities against all test bacteria while fingerroot extract could only inhibit the growth of *S. aureus* and *S. epidermidis*. The extract of garlic showed no inhibitory effect against any test bacteria. The extractions with ethyl alcohol showed more appreciable inhibitory effect than those with water. Cinnamon extract showed the highest activity with minimum inhibitory concentrations (MIC) ranging from 31.25 to 100 mg/ml, followed by clove and fingerroot with MIC of 100-250 and 200-500 mg/ml, respectively. The inhibition zone increased with the increase of the extract concentrations. It was shown that their inhibitory activity decreased over the storage period of 8 weeks at 4°C. Nonetheless, cinnamon and clove extracts still possessed considerable inhibitory activity against the test bacteria with slightly higher MIC of 100-250 and 200-500 mg/ml, respectively.

Carrageenan 2.5% was best suited to coat on fatty skin of dried salted fish and easily peeled off before cooking. Carrageenan films incorporated with cinnamon and clove extracts were tested their antimicrobial effects by using agar disc diffusion method against the 4 test microorganisms and cocktail stock, which were taken from real samples. It was found that cinnamon extract in films gave better results than clove extract. Also, the inhibitory effects were more promising against cocktail microorganisms. The application of these antimicrobial coatings to dried salted fish (*Trichogaster pectoralis* Regan, Sepat-Siam) showed was more beneficial if refrigeration involved. The cinnamon extracts of 15 folds of MIC could maintain the microbial quality of the fish for about 10 day at room temperature but about 28 days in refrigerator.

Wiphavee Tarakhet

Student's signature

Ngamtip P

Thesis Advisor's signature

20, May, 2008

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณคณะกรรมการที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.งามทิพย์ ภู่วโรดม ประธานกรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุวัฒน์ สรรพกุล กรรมการวิชาเอก รองศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญแข วันไชยธนวงศ์ กรรมการวิชาการ และอาจารย์ ดร.จิตศิริ ราชตะนะพันธ์ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ปรึกษา ในทุกๆ ด้านตลอดระยะเวลาทำการวิจัย และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สุคสาย ศรีวานิช ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำการทดสอบด้านจุลินทรีย์ ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.วันชัย วรวัฒน์เมธีกุล และรองศาสตราจารย์ ดร.อรพินท์ จินตสถาพร ที่ให้คำปรึกษา และข้อคิดต่างๆ และทำให้มีโอกาสได้ไปศึกษากิจกรรมวิธีการผลิตพลาสติกเค็ม ณ สถานที่จริง

ขอขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และสำนักงานส่งเสริมวิสาหกิจขนาดกลางและย่อย (สสว.) ภายใต้โครงการสร้างกำลังคนเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรม และสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุนทุนในการศึกษาและทำวิจัยครั้งนี้ และขอขอบพระคุณคุณคุณุชฎี คานาพงษ์ และคุณจำลอง ยิ้มสรวล นักวิชาการกรมส่งเสริมสหกรณ์ ที่ให้ความช่วยเหลือประสานงานกับผู้ผลิตพลาสติกเค็ม

ขอขอบพระคุณอาจารย์ และเจ้าหน้าที่ในภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุทุกท่านที่คอยให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน และอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงาน และขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคนในภาควิชาที่คอยเป็นกำลังใจและช่วยเหลืออย่างดีเสมอมา

ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงสำหรับคุณพ่อ คุณแม่ คุณน้า คุณลุง คุณป้า คุณพี่ และโอภาส วงษ์ชนะชัย ที่ให้การสนับสนุนช่วยเหลือ เป็นกำลังใจในการศึกษา และการทำวิทยานิพนธ์ ด้วยดีตลอดมา ประโยชน์อันเกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน และหากมีข้อผิดพลาดประการใด ข้าพเจ้าน้อมรับไว้แต่เพียงผู้เดียว

วิภาวีร์ ธาระเขตร์

เมษายน 2551

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	38
อุปกรณ์	38
วิธีการ	42
ผลและวิจารณ์	51
สรุปและข้อเสนอแนะ	86
สรุป	86
ข้อเสนอแนะ	87
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	88
ภาคผนวก	103
ภาคผนวก ก การหาปริมาณเกลือโดยวิธีไทเทรต	104
ภาคผนวก ข การคำนวณความเข้มข้นสารสกัดจากสมุนไพรในสารเคลือบบริโภครได้	108
ภาคผนวก ค ตารางผลการทดลอง	112
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	156

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์ของตัวอย่างพลาสติกเค็ม	54
2	การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากกระชาย และกระเทียมที่ด้านจุลินทรีย์ทดสอบ	52
3	การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากกานพลู และอบเชยที่ด้านจุลินทรีย์ทดสอบ	61
4	การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม	65
5	การทดสอบค่า MIC ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ด้านจุลินทรีย์ทดสอบ	68
6	การทดสอบค่า MIC ของสารสกัดจากกระชาย และกระเทียมที่ด้านจุลินทรีย์ทดสอบระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	69
7	การทดสอบค่า MIC ของสารสกัดจากกานพลู และอบเชยที่ด้านจุลินทรีย์ทดสอบระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	70
8	ค่า MIC ของสารสกัดจากกระชาย กานพลูและอบเชย ที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบ ภายหลังการเก็บรักษา 8 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	71
9	การทดสอบค่า MIC ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ด้านจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม	72
10	ความหนา และลักษณะปรากฏของพลาสติกเค็มชุบสารเคลือบบริโกลได้	73
11	ความเข้มข้นของสารเคลือบใส่สารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบ และจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม	76

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ค1	การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์ของตัวอย่างพลาสติกเค็ม	113
ค2	การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างพลาสติกเค็ม ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ	114
ค3	การต้านการเติบโตของ <i>Staphylococcus aureus</i> ของสารสกัดจากสมุนไพร	115
ค4	การต้านการเติบโตของ <i>Staphylococcus epidermidis</i> ของสารสกัดจากสมุนไพร	116
ค5	การต้านการเติบโตของ <i>Micrococcus luteus</i> ของสารสกัดจากสมุนไพร	117
ค6	การต้านการเติบโตของ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ของสารสกัดจากสมุนไพร	118
ค7	ความเข้มข้นของสารสกัดจากกระชายที่ต้านการเติบโตจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม	119
ค8	ความเข้มข้นของสารสกัดจากกระเทียมที่ต้านการเติบโตจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม	122
ค9	ความเข้มข้นของสารสกัดจากกานพลูที่ต้านการเติบโตจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม	125
ค10	ความเข้มข้นของสารสกัดจากอบเชยที่ต้านการเติบโตจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม	128
ค11	ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกระชายที่ต้านการเติบโตของ <i>Staphylococcus aureus</i>	131
ค12	ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกระเทียมที่ต้านการเติบโตของ <i>Staphylococcus aureus</i>	132
ค13	ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกานพลูที่ต้านการเติบโตของ <i>Staphylococcus aureus</i>	133
ค14	ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากอบเชยที่ต้านการเติบโตของ <i>Staphylococcus aureus</i>	134

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ก15	ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกระชายที่ด้านการ เติบโตของ <i>Staphylococcus epidermidis</i>	135
ก16	ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกระเทียมที่ด้านการ เติบโตของ <i>Staphylococcus epidermidis</i>	136
ก17	ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกานพลูที่ด้านการ เติบโตของ <i>Staphylococcus epidermidis</i>	137
ก18	ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากอบเชยที่ด้านการ เติบโตของ <i>Staphylococcus epidermidis</i>	138
ก19	ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกระชายที่ด้านการ เติบโตของ <i>Micrococcus luteus</i>	139
ก20	ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกระเทียมที่ด้านการ เติบโตของ <i>Micrococcus luteus</i>	140
ก21	ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกานพลูที่ด้านการ เติบโตของ <i>Micrococcus luteus</i>	141
ก22	ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากอบเชยที่ด้านการ เติบโตของ <i>Micrococcus luteus</i>	142
ก23	ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกระชายที่ด้านการ เติบโตของ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	143
ก24	ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกระเทียมที่ด้านการ เติบโตของ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	144
ก25	ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกานพลูที่ด้านการ เติบโตของ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	145
ก26	ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากอบเชยที่ด้านการ เติบโตของ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	146

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ก27 ค่า MIC ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร ที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์ที่คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม	147
ก28 ความเข้มข้นของสารเคลือบสมุนไพรที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบและจุลินทรีย์ที่คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม	149
ก29 ความเข้มข้นของสารเคลือบบริโกลได้อบเชยต่อค่าวอเตอร์แอกติวิตี ในตัวอย่างพลาสติกเค็ม ณ อุณหภูมิห้อง	150
ก30 ความเข้มข้นของสารเคลือบบริโกลได้อบเชยที่ด้านจุลินทรีย์ทั้งหมด ในตัวอย่างพลาสติกเค็ม ณ อุณหภูมิห้อง	151
ก31 ความเข้มข้นของสารเคลือบบริโกลได้อบเชยที่ด้านยีสต์-รา ในตัวอย่างพลาสติกเค็ม ณ อุณหภูมิห้อง	152
ก32 ความเข้มข้นของสารเคลือบบริโกลได้อบเชยต่อค่าวอเตอร์แอกติวิตี ในตัวอย่างพลาสติกเค็ม ณ อุณหภูมิแช่เย็น	153
ก33 ความเข้มข้นของสารเคลือบบริโกลได้อบเชยที่ด้านจุลินทรีย์ทั้งหมด ในตัวอย่างพลาสติกเค็ม ณ อุณหภูมิแช่เย็น	154
ก34 ความเข้มข้นของสารเคลือบบริโกลได้อบเชยที่ด้านยีสต์-รา ในตัวอย่างพลาสติกเค็ม ณ อุณหภูมิแช่เย็น	155

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ระยะการเติบโตของจุลินทรีย์ (Growth Phases of Microorganisms)	17
2	บริเวณด้าน <i>Staphylococcus aureus</i> ของสารสกัดจากสมุนไพรโดยใช้ตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์	58
3	บริเวณด้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากกานพลูโดยใช้ตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์	59
4	บริเวณด้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากอบเชยโดยใช้ตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์	59
5	บริเวณด้านจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็มในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ของสารสกัดจากสมุนไพรโดยใช้ตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์	64
6	บริเวณด้านจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็มในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (pH 5.5) ของสารสกัดจากสมุนไพรโดยใช้ตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์	64
7	บริเวณด้านแบคทีเรีย ของฟิล์มแคร่ราจีแนด้านจุลินทรีย์ที่ใส่สารสกัดจากกานพลู	77
8	บริเวณด้านแบคทีเรีย ของฟิล์มแคร่ราจีแนด้านจุลินทรีย์ที่ใส่สารสกัดจากอบเชย	77
9	บริเวณด้านจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม ของฟิล์มแคร่ราจีแน 2.5 เปอร์เซ็นต์ ด้านจุลินทรีย์ที่ใส่สารสกัดจากกานพลู และอบเชย	78
10	ลักษณะผิวพลาสติกเค็มหลังจากหุบสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์	82
11	การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์ของพลาสติกเค็มเคลือบสารบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์ที่ใส่สารสกัดจากอบเชยที่ความเข้มข้นต่างๆ (แหล่งตัวอย่างที่ 12)	83
12	การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์ของพลาสติกเค็มเคลือบสารบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์ที่ใส่สารสกัดจากอบเชยที่ความเข้มข้นต่างๆ (แหล่งตัวอย่างที่ 13)	84

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
13	การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์ของพลาสติกเค็มเคลือบสาร บริโภคนได้ด้านจุลินทรีย์ที่ใส่สารสกัดจากอบเชยที่ความเข้มข้นต่างๆ (แหล่งตัวอย่างที่ 14)	85
ภาพผนวกที่		
ข1	ตำแหน่งการวัดความหนาของสารเคลือบบริโภคนได้บนตัวอย่างพลาสติกเค็ม	109

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

MIC	=	Minimum Inhibitory Concentrations
NB	=	Nutrient Broth
NA	=	Nutrient Agar
PDA	=	Potato Dextrose Agar
PCA	=	Plate Count Agar
BP	=	Baird Parker Agar
SS	=	Salmonella Shigella Agar
VRBA	=	Violet Red Bile Agar
MC	=	MacConkey's Agar
CA	=	Pseudomonas Cetrinide Agar

การพัฒนาสารเคลือบบริโภคได้ด้านจุลินทรีย์ร่วมกับสารสกัดพืชสมุนไพร

Development of Antimicrobial Edible Coatings Incorporated with Crude Herb Extracts

คำนำ

จุลินทรีย์ เป็นสาเหตุสำคัญของการเสื่อมเสีย และเน่าเสียของอาหาร และบางครั้งเป็นสาเหตุของอาหารเป็นพิษ การทำลาย การดื้อ หรือควบคุมการเติบโตของจุลินทรีย์ เป็นปัจจัยสำคัญที่ใช้ในการแปรรูป และถนอมรักษาอาหาร ซึ่งมีทั้งการใช้ระหว่างกระบวนการผลิต การบรรจุ และการเก็บรักษา เพื่อป้องกันการเน่าเสียในอาหาร นอกจากนี้ บางกรณีมีการใช้วัตถุกันเสียเติมแต่งอาหาร วัตถุกันเสียที่ใช้ทั่วไปส่วนใหญ่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ หากใช้ในปริมาณที่ไม่เหมาะสม อาจไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค (สิวาพร, 2542) ทำให้ผู้บริโภคมีแนวโน้มเลือกซื้ออาหารที่ไม่มีวัตถุกันเสีย ผู้ผลิตอาหารจึงต้องหาเทคโนโลยีใหม่ๆ มาแทนการใช้วัตถุกันเสียดังกล่าว ในปัจจุบันมีกระแสการใช้สมุนไพร และเครื่องเทศในการถนอมอาหาร เนื่องจากสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ (Antimicrobials) สมุนไพรที่คนไทยรู้จักสรรพคุณเชิงยา และด้านจุลินทรีย์ เช่น กระชาย กระเทียม กานพลู และอบเชย เป็นต้นโดยสารสกัดจากสมุนไพร และเครื่องเทศบางชนิดสามารถต้านการเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าวัตถุเจือปนอาหารสังเคราะห์บางชนิด (Arora and Kaur, 1999)

ในปัจจุบันผู้บริโภคมีความต้องการอาหารที่ปราศจากวัตถุเจือปนในอาหารส่งผลให้เพิ่มความสนใจในการพัฒนาภาชนะบรรจุที่บริโภคได้ (Edible Packaging) ซึ่งฟิล์มหรือสารเคลือบผลิตได้จากพอลิเมอร์ธรรมชาติ เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharides) ไขมัน (Lipids) หรือ/และ โปรตีน (Proteins) ซึ่งสามารถย่อยสลายได้ด้วยกระบวนการทางชีวภาพ (Biodegradable) และรักษาสีและกลิ่น รสชาติหลักของภาชนะบรรจุชนิดนี้คือ ช่วยลดมลภาวะในสิ่งแวดล้อม และปรับปรุงลักษณะเฉพาะทางด้านประสาทสัมผัส เช่น สี และรสชาติ ส่งผลต่อความปลอดภัยของอาหาร เนื่องจากเป็นสารจากธรรมชาติ ช่วยลดการสูญเสียความชื้น และอาจช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร (Zactiti and Kieckbusch, 2006)

การเติบโตของจุลินทรีย์บนพื้นผิวอาหารเป็นสาเหตุสำคัญ ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย โดยผลิตภัณฑ์เนื้อเป็นผลิตภัณฑ์ที่ไวต่อการปนเปื้อน ของจุลินทรีย์ก่อโรค และทำให้อาหารเน่าเสีย นับเป็นปัญหาที่รุนแรงต่อสุขภาพมนุษย์ การเน่าเสียอาจเกิดในกระบวนการแปรรูป หรือการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ดังนั้น จึงมีการป้องกันการเน่าเสีย โดยใช้สารต้านจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา โดยการฉีดพ่น หรือจุ่มสารต้านจุลินทรีย์ แต่อย่างไรก็ตาม การใช้สารต้านจุลินทรีย์บนผิวสัมผัสโดยตรง แต่มีข้อจำกัด เนื่องจากสารต้านจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพไม่เพียงพอบนพื้นผิวหรือเกิดการกระจายอย่างรวดเร็วไปสู่อาหาร ทำให้สารทำหน้าที่ได้ไม่เต็มที่ (Siragusa and Dickson, 1992) จึงพัฒนาฟิล์ม หรือสารเคลือบ เพื่อใช้เป็นพาหะควบคุมการปลดปล่อยสารได้ดียิ่งขึ้น

สารเติมแต่งที่ใส่ลงไปในฟิล์มบริโภคได้ เช่น สารต้านการออกซิเดชัน สารต้านจุลินทรีย์ สารแต่งสี สารแต่งกลิ่น สารเพิ่มสารอาหาร (Fortified Nutrients) และ เครื่องเทศ (Pena and Torres 1991; Han, 2003) สารต้านจุลินทรีย์ที่นิยมใช้กับอาหาร เช่น กรดอินทรีย์ (Organic Acids) แบคทีริโอซิน (Bacteriocins) เอนไซม์ แอลกอฮอล์ และกรดไขมัน นอกจากนี้สารสกัดจากสมุนไพรยังมีความสามารถในการควบคุมการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์เนื้อได้ (Ouattara *et al.*, 2000b) เครื่องเทศ และสมุนไพร เช่น กระเทียม หัวหอม อบเชย กานพลู โหระพา กะเพรา กระชาย พลู และ สะระแหน่ มีสมบัติเป็นสารต้านจุลินทรีย์ โดยทั่วไปจะอยู่ในรูปน้ำมันหอมระเหย (Essential Oil) ซึ่งประสิทธิภาพที่ด้านได้ดี (Nychas, 1995) สารต้านจุลินทรีย์ที่เติมลงบนผิวหน้าอาหารโดยตรง สามารถต้านการเติบโตของจุลินทรีย์ได้ แต่มีข้อจำกัดในการใช้ คือ ต้องทำให้สารมีสภาพเป็นกลาง และสารอาจจะหาย หรือแพร่ไม่พอเพียงกับพื้นผิวของอาหาร ดังนั้นจึงมีการพัฒนา โดยเติมสารต้านจุลินทรีย์ลงในฟิล์มบริโภคได้ หรือการเคลือบที่บริเวณผิวอาหาร สารต้านจุลินทรีย์มีการปลดปล่อยอย่างช้าๆ ไปยังบริเวณผิวอาหาร จึงทำให้คงความเข้มข้นไว้ได้สูง (Ouattara *et al.*, 2000a)

การบริโภคพลาสติกในประเทศไทย และประเทศใกล้เคียง ไม่นิยมบริโภคสด แต่จะนำมาแปรรูปเป็นพลาสติกเค็ม ซึ่งเป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลาย ราคาค่อนข้างสูง มีกลิ่นหอม รสชาติอร่อย เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายใน และภายนอกประเทศ ซึ่งมีทั้งประเทศในเอเชีย ตะวันออกกลาง ยุโรป และสหรัฐอเมริกา (พฤกษ์อำไพ, 2531) พลาสติกเค็มมักจะเน่าเสียจากจุลินทรีย์ได้ง่าย ดังนั้นการพัฒนาสารเคลือบบริโภคได้ต้านจุลินทรีย์ ที่ใส่สารสกัดจากสมุนไพรจึงเป็นที่น่าสนใจ เพื่อช่วยสามารถต้านการเติบโตของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหาร และยังช่วยลดความเสี่ยงจากการใช้สารเคมีที่ไม่ได้รับอนุญาต

วัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์หลักของงานวิจัยนี้ คือ เพื่อพัฒนาสารเคลือบบริโภคได้ที่สามารถเป็นพาหะให้สารต้านจุลินทรีย์ที่สกัดจากพืชสมุนไพร และสามารถใส่เคลือบบนอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้น รักษาสิ่งแวดล้อม เพิ่มคุณค่าของสมุนไพรไทย ลดความเสี่ยงจากสารเคมีอันตรายให้กับผู้บริโภค และพัฒนาไปใช้ในเชิงการค้าต่อไป โดยวัตถุประสงค์ของการวิจัย ได้แก่

1. คัดเลือกสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ในพลาสติกเค็ม
2. ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคลือบบริโภคได้ผสมสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ต้านจุลินทรีย์ในพลาสติกเค็ม

การตรวจเอกสาร

1. फिल्मและสารเคลือบบริโภคได้ (Edible Films and Coatings)

ฟิล์มบริโภคได้ หมายถึง แผ่นฟิล์มบางๆ ที่ทำจากวัตถุดิบที่สามารถรับประทานได้ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน โดยนำมาใช้เคลือบบนผิวของผลิตภัณฑ์อาหารด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การห่อหุ้ม การจุ่ม การทาด้วยแปรง หรือการพ่นฝอย (Kester and Fennema, 1986) ฟิล์มนี้ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของอาหารสด ป้องกันการเกิดสีน้ำตาล และนำภาชนะบรรจุกลับมาใช้ใหม่ได้มากขึ้น (Bentley, 2001) การขึ้นรูปฟิล์มที่มีองค์ประกอบหลักเป็น โปรตีน พอลิแซ็กคาไรด์ ไขมัน จากสัตว์ ผักและผลไม้ จะได้ฟิล์มที่มีความเปราะ และไม่สามารถนำไปใช้งานได้ จึงมีการพัฒนาฟิล์มโดยเติมสารพลาสติกไซเซอร์ ซึ่งเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น กลีเซอรอล (Glycerol) ซอร์บิทอล (Sorbitol) พอลิเอทิลีนไกลคอล (Polyethylene Glycol) พรอพิลีนไกลคอล (Propylene Glycol) และกรดไขมัน (Fatty Acids) (Krochta and De Mulder-Johnston, 1997)

ฟิล์มบริโภคได้ นิยมใช้ร่วมกับสารเติมแต่งอาหาร เช่น สารต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial Agents) หรือ สารต้านการออกซิเดชัน (Antioxidants Agents) ในสิ่งแวดล้อมผิวหน้าของอาหาร ซึ่งเป็นบริเวณที่เกิดการเน่าเสียจากการเติบโตของจุลินทรีย์ หรือการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Kester and Fennema, 1986)

1.1 การขึ้นรูปฟิล์ม และสารเคลือบ (Film Formation and Coating)

ฟิล์มเกิดจากโครงสร้างของพอลิเมอร์ที่อาศัยแรง 2 ชนิด คือ แรงแอดฮีชัน (Adhesion) ซึ่งเป็นแรงระหว่างสารเคลือบกับวัสดุที่นำมาเคลือบ และแรงโคฮีชัน (Cohesion) เป็นแรงระหว่างโมเลกุลของสารเคลือบในการขึ้นรูปฟิล์ม หากแรงโคฮีชันมีค่ามากส่งผลให้ฟิล์มมีความยืดหยุ่น ความเป็นรูพรุน และการแพร่ผ่านของแก๊สและสารละลายลดลง ระดับของแรงโคฮีชันขึ้นกับโครงสร้างและสมบัติทางเคมีของสารเคลือบ การละลายในการเตรียมฟิล์ม สารเชื่อมข้าม (Cross-Linking Agents) ธรรมชาติของตัวถูกละลายและการเจือจาง วิธีใช้ และความหนาของฟิล์ม

สารเคลือบที่นำมาเคลือบโดยตรงกับวัสดุทำได้โดย การทาด้วยแปรง การพ่น และการจุ่ม ส่วนการห่อหุ้มโดยใช้ฟิล์มที่ขึ้นรูปแล้ว ควรเป็นฟิล์มที่แห้งเร็ว ติดแน่น หนาสม่ำเสมอ ไม่ขาดง่าย หรือยุบ การเคลือบต้องอาศัยเทคนิค ความสามารถ และประสบการณ์สูง การขึ้นรูปกับสารบริโภคนได้ต้องคำนึงถึงคุณลักษณะของการใช้เครื่องจักรในระดับอุตสาหกรรม การเตรียมแม่พิมพ์สำหรับขึ้นรูปฟิล์มต้องป้องกันแรงแอคซีชันของฟิล์ม เช่นเดียวกับการเตรียมวัสดุที่นำมาเคลือบควรพิจารณาถึงความเสี่ยงของพื้นผิวที่ยากต่อการเคลือบ (Guilbert, 1986)

1.2 ข้อดีของฟิล์มบริโภคนได้

ข้อดีของฟิล์มบริโภคนได้ที่เหนือกว่าฟิล์มพลาสติก คือ สามารถบริโภคนฟิล์มได้พร้อมกับผลิตภัณฑ์ที่บรรจุ ช่วยลดมลภาวะในสิ่งแวดล้อม ปรับปรุงลักษณะเฉพาะทางด้านประสาทสัมผัส เช่น สี และรสชาติของอาหารที่นำมาบรรจุให้ดีขึ้น ช่วยลดการสูญเสียความชื้น และช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร โดย Gennadios *et al.* (1994) พบว่าฟิล์มบริโภคนได้สามารถป้องกันการสูญเสียความชื้น ออกซิเจน กลิ่น และเพิ่มความคงตัวของสารละลายสามารถใช้ร่วมกับฟิล์มพลาสติก โดยให้ฟิล์มบริโภคนได้สัมผัสกับอาหารโดยตรง หรือใช้ห่อหุ้มแบบแยกชั้น

1.3 ชนิดของฟิล์ม และสารเคลือบบริโภคนได้ แบ่งได้ 4 ประเภท คือ

1.3.1 ฟิล์มไขมัน (Lipid Films)

ฟิล์มบริโภคนได้จากไขมัน รวมถึงกลีเซอไรด์ของไขมันจากธรรมชาติที่มีเอสเทอร์ของ กลีเซอรอล กรดไขมัน ไขมันที่มีสายโซ่μονοไฮดริคแอลกอฮอล์ (Monohydric Alcohol) และกรดไขมัน (Kester and Fennema, 1986) ตัวอย่างของฟิล์มไขมัน ได้แก่ ไข (Wax) สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) แอซีโทกลีเซอไรด์ (Acetoglyceride) ฟิล์ม และสารเคลือบไขมัน มีสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านไอน้ำและแก๊สได้ดี เมื่อใช้กับผัก และผลไม้สดจะช่วยชะลอการเน่าเสียจากการหายใจซึ่งทำให้ผลไม้เกิดการสุกก่อน นอกจากนี้ยังช่วยชะลอการเกิดกลิ่นรสผิดปกติในเนื้อเยื่อของผลไม้ (Hernandez, 1994)

1.3.2 फिल्मโปรตีน (Protien Films)

การศึกษาถึงฟิล์มบรีโกลได้จากโปรตีนมีมากขึ้น เนื่องจากเป็นฟิล์มที่มีความแข็งแรง และมีสมบัติป้องกันการซึมผ่านของแก๊สได้ดี และโปรตีนมีคุณค่าทางอาหารสูง ฟิล์มโปรตีนที่มีการศึกษา ได้แก่ ฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลือง ข้าวสาลี ถั่วลิสง คอลลาเจน เจลาติน ข้าวโพด และเวย์โปรตีน (Krochta and De Mulder-Johnston, 1997) ฟิล์มโปรตีนมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนแตกต่างกันไป เช่น โปรตีนข้าวโพด และโปรตีนข้าวสาลีมีองค์ประกอบของกรดกลูตามิกสูง รองลงมาคือกรดพอรอลีน ภายในโครงสร้างประกอบด้วยปริมาณของกรดอะมิโนที่แสดงควมมีขั้ว และไม่มีขั้ว มาก-น้อยแตกต่างกันไป เช่น โปรตีนข้าวโพดมีปริมาณกรดอะมิโนที่มีขั้วอยู่น้อย และมีปริมาณของกรดอะมิโนที่ไม่มีขั้วอยู่มาก เช่น พอรอลีน และอะลานีน (Shewry and Mifflin, 1985)

มีรายงานการใช้โปรตีนจากนมที่มีสมบัติต้านแรงดึงได้ดี และป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจน ไขมัน และกลีเซอรอลได้ แต่เนื่องจากมีสมบัติรวมตัวกับน้ำ จึงทำให้มีสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำต่ำ (Chick and Ustunol, 1998) ซึ่งสามารถปรับปรุงได้ โดยการใช้ร่วมกับกลุ่มที่ไม่ชอบรวมตัวกับน้ำ (Hydrophobic) เช่น ไขมัน (Perez-Gago and Krochta, 1999) มีรายงานการใช้ฟิล์มเวย์โปรตีนร่วมกับไขมันในรูปฟิล์มอิมัลชัน เพื่อปรับปรุงสมบัติดังกล่าว และพบว่าฟิล์มที่ได้สามารถปิดผนึกได้ด้วยความร้อน ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการขึ้นรูปเป็นภาชนะบรรจุ (Kim and Ustunol, 2000)

1.3.3 फिल्मประกอบ (Composite Films)

ฟิล์มบรีโกลได้ เกิดจากการรวมตัวกันของสารหลายชนิด เช่น การรวมตัวกันของพอลิแซ็กคาไรด์ โปรตีน หรือไขมัน โดยใช้ลักษณะเด่นของสารแต่ละชนิดมาใช้ประโยชน์ได้กว้างขึ้น และปรับปรุงสมบัติของฟิล์ม เช่น ฟิล์มที่ประกอบด้วยไขมันและสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ ไฮโดรคอลลอยด์เป็นตัวช่วยให้มีโครงสร้างและแรงยึดเหนี่ยวที่ดี ฟิล์มประกอบที่เกิดจากการรวมตัวของไขมันกับเพกทินที่มีกลุ่มเมทอกซีต่ำ จะสามารถป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดีขึ้น ส่วนฟิล์มประกอบที่มีส่วนประกอบของกรดไขมัน และไฮดรรมชาติ ทำหน้าที่เป็นตัวกั้นไอน้ำ

1.3.4 พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide Films)

พอลิแซ็กคาไรด์บางชนิดสามารถใช้ผลิตฟิล์มบิโภาคได้ เช่น แอลจินเต (Alginate) เพกทิน (Pectin) สตาร์ช (Starch) แครรัจจีแนน (Carrageenan) แซนแทนกัม (Xanthan Gum) กลูโคแมนแนน (Glucomanan) จากแป้งบุก สตาร์ชไฮโดรไลเซต และอนุพันธ์ของเซลลูโลส เป็นต้นแต่เนื่องจากธรรมชาติของพอลิเมอร์เหล่านี้ชอบรวมตัวกับน้ำ จึงไม่เหมาะที่จะนำฟิล์มชนิดนี้มาป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ (Nisperos-Carriedo, 1995) ฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์บางชนิดที่ใช้เคลือบมีลักษณะคล้ายวุ้น และมีความชื้นสูง ซึ่งช่วยชะลอการสูญเสียความชื้นของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ในช่วงอายุการเก็บสั้นๆ โดยที่สารเคลือบเจลาทำหน้าที่เป็น Sacrificing Agent ยอมให้มีการเสียน้ำออกมา มากกว่าเป็นตัวกลางขวางกั้นการซึมผ่านของไอน้ำเข้าสู่ผลิตภัณฑ์ ฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์บางชนิดช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในไขมัน (Lipid Oxidation) และองค์ประกอบอื่นในอาหาร ซึ่งทำให้อาหารเหม็นหืน (Kester and Fennema, 1986) ตัวอย่างของฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์ ได้แก่ สตาร์ช อนุพันธ์ของเซลลูโลสและสารไฮโดรคอลลอยด์

สารไฮโดรคอลลอยด์ (Hydrocolloids) เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ประเภทหนึ่งที่สามารถให้ลักษณะเนื้อ และเกิดเจลได้ในสภาวะที่มีน้ำ อาจเรียกชื่อแตกต่างกันไป เช่น กัม (Gum) ไฮโดรคอลลอยด์ พอลิเมอร์ของคอลลอยด์ที่ชอบน้ำที่ละลายได้ (Hydrophillic Colloid Soluble Polymer) และเมือก (Mucilages) (Glicksman, 1982) สามารถนำมาผลิตเป็นฟิล์มและสารเคลือบบิโภาคได้ เนื่องจากไฮโดรคอลลอยด์มีสมบัติในการขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้ดี แต่เนื่องจากธรรมชาติของพอลิเมอร์เหล่านี้ชอบรวมตัวกับน้ำ จึงไม่เหมาะที่จะนำฟิล์มเพื่อใช้ป้องกันการซึมผ่านความชื้น อย่างไรก็ตามสารไฮโดรคอลลอยด์มีสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของแก๊สได้ดี และสามารถยึดติดกับพื้นผิวที่มีสภาพชอบน้ำได้ดี ดังนั้นจึงเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นสารเคลือบบิโภาคได้

สารไฮโดรคอลลอยด์ เป็นองค์ประกอบของสารที่พบได้ในพืช สัตว์ และแบคทีเรีย โดยโมเลกุลมีการจัดเรียงตัวเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพ ที่มีสายยาวอาจเกิดจากการเรียงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์เพียงชนิดเดียวหรือจากสารหลายชนิดก็ได้ ซึ่งจะแตกต่างกันไปตามชนิดของสารไฮโดรคอลลอยด์ มีผลทำให้สมบัติเชิงหน้าที่ของสารไฮโดรคอลลอยด์แตกต่างกันไปด้วย สมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญของสารไฮโดรคอลลอยด์ เช่น กระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกับน้ำ สารเพิ่มความข้นหนืด (Thickening Agent) สารให้ความคงตัว (Stabilizing Agent) สารช่วยให้เกิดความคงตัวของอิมัลชัน (Emulsion Stability) มีสมบัติในการเกิดเจลที่ดี และมีความคงตัว (อดิศักดิ์, 2540)

สารไฮโดรคอลลอยด์ แบ่งเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่

- (1) ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากพืช เช่น กัมอราบิก (Arabic Gum) ทรากาแคนท์ (Tragacanth) กัมคารายา (Caraya Gum)
- (2) ผลิตภัณฑ์สกัดจากวัตถุดิบชนิดต่างๆ ทำโดยการแยก หรือทำให้บริสุทธิ์ สกัดจากสาหร่ายทะเล พืช และสัตว์ ได้แก่ วุ้น (Agar) แอลจินต์ แครร์ราจีแนน เพกทิน และเจลาติน (Gelatin)
- (3) ผลิตภัณฑ์จากเมล็ดพืชผลิตได้จากเอ็นโดสเปิร์ม ได้แก่ เซลลูโลสชนิดโครงสร้างผลึกขนาดเล็ก (Microcrystalline Cellulose)
- (4) ผลิตภัณฑ์จากการหมัก เช่น แซนแทนกัม เดกซ์แทรน และเจลแลน (Gellan)
- (5) ผลิตภัณฑ์จากการดัดแปรทางเคมี โดยการปรับปรุงโครงสร้างโมเลกุล ได้แก่ อนุพันธ์ของเซลลูโลส (Cellulose Derivative) สตาร์ชดัดแปร (Modified Starch) และโลว์-เมทอกซี เพกทิน (Low-Methoxy Pectin) นิยมใช้สำหรับทำหน้าที่บางอย่าง เช่น ช่วยในการละลาย ให้ความหนืด ทนกรด และทนความร้อน

การเลือกใช้ไฮโดรคอลลอยด์ ต้องพิจารณาสมบัติด้านหน้าที่ ลักษณะที่ต้องการ ทำให้เลือกใช้คอลลอยด์ได้ถูกต้อง นอกจากนี้ต้องคำนึงถึงระบบที่ผลิตว่ามีส่วนผสมใดบ้าง เช่น เกลือ โปรตีน ไขมัน หรือองค์ประกอบอื่นๆ ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับไฮโดรคอลลอยด์ได้ รวมถึงต้องพิจารณาอายุการเก็บรักษา คุณค่าทางอาหาร และราคา

1.4 สมบัติไฮโดรคอลลอยด์บางชนิด

1.4.1 สมบัติของแอลจินเต และการใช้ประโยชน์

แอลจินเต จัดเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล (Brown Seaweed) นิยมใช้ในรูปของโซเดียมแอลจินเต (Sodium Alginate) การเกิดฟิล์มของโซเดียมแอลจินเตเป็นผลมาจากการเกิดเจล เมื่อแอลจินเตทำปฏิกิริยากับพอลิวาเลนต์แคทไอออน (Polyvalent Cation) เช่น แคลเซียม ซึ่งจะเกิดเป็นไอออนที่ทำให้เกิดเจล ที่มีประสิทธิภาพสูง และใช้ในรูปของเกลือแคลเซียมคลอไรด์ ซึ่งจะทำให้เกิดเจลที่เหนียวแน่น คุณภาพดี เนื่องจากแคลเซียมไอออนเข้าจับกับสายของแอลจินเตด้วยพันธะไฮโดรเจน ทำให้เกิดแรงดึงดูดภายในโมเลกุลเกิดขึ้น ความแข็งแรงของฟิล์ม และค่าการซึมผ่านสามารถปรับเปลี่ยนได้ โดยจะเกี่ยวข้องกับค่าความเข้มข้นของพอลิวาเลนต์แคทไอออน เวลาในการอบฟิล์ม ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และส่วนผสมในการผลิต

โครงสร้างโมเลกุลของแอลจินเตจัดเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ประจุลบ (Anionic Polysaccharide) ทำให้เกิดอันตรกิริยาแบบไฟฟ้าสถิต (Electrostatic Interaction) กับโมเลกุลของโปรตีนได้ แอลจินเต ประกอบด้วยมอนอเมอร์กระจายอยู่ทั่วไป การเกิดเจลแอลจินเตมีความคงตัวเมื่อมีเกลือของกรดแอลจินิก ซึ่งเกลือของแคลเซียมแอลจินเตเป็นเจลชนิดที่สามารถทนความร้อน และสามารถประยุกต์ใช้กับพวกเบเกอรี่ ซอสได้ กรดแอลจินิกไม่ละลายในน้ำเย็น และละลายได้เพียงเล็กน้อยในน้ำร้อน แต่ละลายในสารละลายต่างๆ เช่น โลหะ ไฮดรอกไซด์ หรือคาร์บอเนต เกิดเป็นเกลือแอลจินเต ทำให้สารละลายมีลักษณะเหนียว ส่วนเกลือโซเดียม โพแทสเซียม และแอมโมเนียม รวมทั้งพรีพอลิเมอร์ไกลคอลล เอสเทอร์ของแอลจินิก ละลายได้ทั้งน้ำร้อนและน้ำเย็น ไอออนของโลหะพวกพอลิวาเลนต์ เช่น แคลเซียม ไอออน อลูมิเนียม ไอออน เมื่อทำปฏิกิริยากับแอลจินเต ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ไม่ละลายน้ำ มีลักษณะเป็นเจลแข็ง หรือแผ่นฟิล์ม

แอลจินเต เป็นไฮโดรคอลลอยด์ชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญอย่างมากต่ออุตสาหกรรมอาหาร เป็นสารธรรมชาติที่สกัดมาจากสาหร่ายสีน้ำตาล รวมตัวกับกรด 1–4 เบต้า-D-แมนนูโรนิก (1–4, β -D-Mannuronic Acid (M)) และกรดอัลฟา-แอล-กลูโรรอนิก (α -L-Guluronic Acid (G)) สำหรับสายโซ่พอลิเมอร์ มีการเรียงตัวแบบสลับกันอย่างเป็นระเบียบ ระหว่างกลุ่มของ GG (GG Blocks) และ กลุ่มของ MM (MM Blocks) จนเป็นกลุ่มของ MG (MG Blocks) การรวมตัว

กัน และลำดับทางเคมีของกลุ่ม M และ G ขึ้นกับแหล่งที่พบด้านชีววิทยา การเติบโต และสภาวะตามฤดูกาล (King, 1983) การใช้งานที่สำคัญ และสมบัติที่ต่างจากสารอื่นของแอลจินेट คือ สามารถทำปฏิกิริยากับ พอลิวาเลนต์แคตไอออน ชนิดโลหะ (Polyvalent Metal Cations) เช่น ไอออนของแคลเซียม ที่ใช้ผลิตเจลแข็ง หรือพอลิเมอร์ที่มีการละลายได้ต่ำ ไอออนที่มีการเชื่อมระหว่างกลุ่ม M และ G เป็นผลให้มีโครงร่างเป็นสามมิติ (Tridimensional Network) ซึ่งมีการรวมตัวและประสานกัน โดยมีการจัดเรียงตัวลักษณะรูปที่เรียกว่า Egg-Box Model (Grant *et al.*, 1973) การเชื่อมข้ามของพอลิวาเลนต์แคตไอออน สามารถปรับปรุงลักษณะเฉพาะของฟิล์มได้ เช่น การป้องกันการซึมผ่านของน้ำ การต้านทานทางกล สมบัติการป้องกันการยัดเกาะ และความแข็ง

การใช้แอลจินेटในเชิงการค้า ขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาระหว่างโซเดียมแอลจินेट กับ แคตไอออน ซึ่งนิยมใช้แคลเซียมไอออน แอลจินेटสามารถละลายได้ในน้ำเย็น และให้เจลที่สามารถรักษารูปร่างเดิม และลักษณะต่างๆ ไม่ให้เปลี่ยนแปลงไปในช่วงกระบวนการให้ความร้อน นอกจากนั้นเจลของแอลจินेटมีความเสถียรภาพต่อกระบวนการแช่แข็ง/ละลายน้ำแข็ง ซึ่งเป็นสมบัติที่จำเป็น ในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด การผลิตแอลจินेटเชิงการค้า นิยมผลิตเป็นรูปกรดแอลจินิก ซึ่งเป็นกรดในรูปอิสระ กรดแอลจินิกมีเสถียรภาพค่อนข้างจำกัด หรือจัดเป็นสารอินเตอร์มีเดียท การผลิตกรดแอลจินิกถูกเปลี่ยนเป็นเกลือแอลจินेटได้หลายรูปแบบ เช่น โพแทสเซียมไอออน โซเดียมไอออน แอมโมเนียมไอออน และแคลเซียมไอออน และสามารถผลิตในรูปพรอพิลีนไกลคอลแอลจินेट

การเคลือบด้วยฟิล์มแอลจินेटส่วนใหญ่ นำไปใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อ เช่น ชิ้นส่วนเนื้อวัว เนื้อหมู เนื้อไก่ ถึงแม้แอลจินेटจะให้ความชื้นผ่านได้สูง แต่การเคลือบให้ผลดี เนื่องจากเจลในฟิล์มมีปริมาณความชื้นสูง ความชื้นในเจลระเหยออกไปก่อนที่จะขึ้นเนื้อที่เจลห่อหุ้มไว้จะสูญเสียความชื้น นอกจากนี้ฟิล์มเจลยังช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์บนผิวเนื้อ ช่วยรักษาสีแดงของเนื้อได้นานกว่าเนื้อปกติ ช่วยยืดอายุการเก็บของเนื้อแช่แข็ง ช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมันในอาหาร และช่วยให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ดีขึ้น (Aristippos *et al.*, 1997; Ouattara *et al.*, 2002) สมบัติความแข็งของแอลจินेट เกี่ยวข้องกับปริมาณ และการกระจายตัวของกรดแมนนูโรนิก และกรดกลูโคโรนิก แอลจินेटที่ประกอบด้วยพอลิเมอร์ของกรดกลูโคโรนิกในปริมาณสูง จะมีความแข็งของเจล (Gel Strength) สูง และความเข้มข้นของสารละลายไอออนที่ใช้ในการเกิดเจล มีผลต่อความแข็งของเจล

ความหนืดของสารละลายแอลจินต ขึ้นกับ ความเข้มข้น น้ำหนักโมเลกุล อุณหภูมิ และความเป็นกรด-ด่าง สารละลายแอลจินตสามารถเกิดเจลได้ที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งเจลที่ได้ทนต่อความร้อน โดยทั่วไปนิยมใช้ แคลเซียมไอออน หรือไอออนของโลหะพวกพอลิวาเลนซ์ ช่วยในการเกิดเจล ส่วนการใช้สารคอนซีเตรนซ์ เช่น ฟอสเฟต หรือพอลิฟอสเฟต ช่วยควบคุมการเกิดเจล และสมบัติต่างๆ ของแอลจินต นอกจากนี้ความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมี และทางกายภาพของแอลจินต ซึ่งมีการนำแอลจินตมาประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ใช้เป็นสารเพิ่มความหนืด สารให้ความคงตัว ตัวกระทำอิมัลชัน สารทำให้เกิดเจล โดยแอลจินตที่ใช้ต้องไม่ทำให้กลิ่นรสของอาหารเปลี่ยนแปลง (Smidsrod, 1974)

Maizura *et al.* (2007) ศึกษาสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์ชนิดแอลจินต และซาโกสตาร์ชที่เติมน้ำมันมะขาม พบว่าสามารถต้านการเติบโตของแบคทีเรีย *E. coli* O157:H7 ได้ นอกจากนี้มีงานวิจัยการใช้สารเคลือบแอลจินตร่วมกับสารเคลือบชนิดอื่นที่มีการเติมกรดอินทรีย์ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของผลไม้ ยกตัวอย่างเช่น แอปเปิ้ลกาล่า (Olivas *et al.*, 2007) มะละกอดัดแต่ง (Tapia *et al.*, 2008) แอปเปิ้ลฟูจิตัดแต่ง (Rojas-Grau *et al.*, 2008) เมลอนตัดแต่ง (Raybaudi-Massilia *et al.*, 2008) เป็นต้น

1.4.2 สมบัติของแครรัจีแนน และการใช้ประโยชน์

แครรัจีแนน สกัดได้จากสาหร่ายสีแดง ในวงศ์ Rhophyceae เป็นสารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง สายของพอลิแซ็กคาไรด์จะประกอบด้วยหมู่ซัลเฟต โดยโครงสร้างประกอบไปด้วยน้ำตาลดี-กาแลกโทส (D-galactose) และน้ำตาล 3, 6-แอนไฮโดร-ดี-กาแลกโทส (3, 6-anhydro-D-galactose) ซึ่งแครรัจีแนนแบ่งเป็น 7 ประเภท ตามปริมาณซัลเฟต เอสเทอร์ได้ ได้แก่ แคปปา (Kappa-) แลมบ์ดา (Lambda-) ไอโอตา (Iota-) มิว (Mu-) นิว (Nu-) ซิ (Xi-) และ เทตา (Theta-) แครรัจีแนน

สาหร่ายส่วนใหญ่มีแครรัจีแนนอย่างน้อย 2-3 ชนิดผสมกัน โดยแคปปา และ ไอโอตา แครรัจีแนนเท่านั้นที่มีสมบัติเกิดเจลได้เมื่อมีโพแทสเซียมไอออน ส่วนแลมบ์ดา แครรัจีแนนเกิดเจลไม่ได้แต่ใช้เป็นสารให้เนื้อสัมผัส (Giese, 1992) แหล่งของสาหร่ายสีแดงที่เป็นวัตถุดิบในการผลิตแครรัจีแนน ได้แก่ *Chondrus crispus* พบในน้ำที่เย็นเล็กน้อยใช้ผลิต

แครร์ราจีแนนชนิดแคปปา และแลมบ์ดา *Eucheuma* พบในน้ำอุ่นใช้ผลิตแครร์ราจีแนนชนิดแคปปา และไอโอตา ส่วน *Gigartina* พบในน้ำเย็นจัดใช้ผลิตแครร์ราจีแนนชนิดแคปปา และแลมบ์ดา

แครร์ราจีแนนสามารถละลายน้ำได้ และมีการละลายดีขึ้นเมื่อมีการให้ความร้อน อุณหภูมิประมาณ 50–80 องศาเซลเซียส โดยสารละลายแครร์ราจีแนนที่ได้จะค่อนข้างหนืด ความหนืดของแครร์ราจีแนนขึ้นกับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น อุณหภูมิ ชนิดของสารหยาบที่นำมาสกัด น้ำหนักโมเลกุล และอนุมูลโลหะ พบว่าอนุมูลโลหะ เช่น โพแทสเซียม แคลเซียม แอมโมเนีย มีผลต่อการเกิดเจลของสารละลายแครร์ราจีแนน โดยให้เจลที่ได้มีความยืดหยุ่นดี เมื่อให้ความร้อนสามารถละลายได้และเกิดเจลใหม่เมื่อทำให้เย็น เมื่อนำสารละลายแครร์ราจีแนนร้อนมาทำให้เย็น จะเกิดเป็นเจลขึ้นในรูปของเกลียวคู่ (Double Helix Structure) และได้ผลิตภัณฑ์เป็นพอลิเมอร์ที่มีโครงตาข่ายสามมิติ เจลแครร์ราจีแนนที่ใช้เคลือบอาหารทำหน้าที่เป็น ตัวเคลือบเก็บรักษาอาหาร โดยป้องกันการสูญเสียความชื้นในอาหารที่ห่อหุ้มไว้ นิยมใช้เคลือบชิ้นเนยเทียมกึ่งแข็ง ด้วยเจลผสมแครร์ราจีแนน และวุ้น ที่มีกรดซอร์บิกอยู่ด้วย มีผลทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเติบโตบนผิวของผลิตภัณฑ์ได้ (Torres *et al.*, 1985; Kampf and Nussinovit, 2000) นอกจากนี้ Clara *et al.* (2007) ได้ศึกษาสารเคลือบแครร์ราจีแนน แป้ง และโคโคซาน ที่เหมาะสมต่อการยืดอายุการเก็บรักษาสตรอเบอร์รี่

สมบัติที่สำคัญของแครร์ราจีแนน คือ การทำปฏิกิริยากับโปรตีนบางชนิด โดยเฉพาะการทำปฏิกิริยากับโปรตีนในนม ซึ่งเป็นปฏิกิริยาระหว่างประจุบวกเคซีน และประจุลบของกลุ่มซัลเฟตของแครร์ราจีแนน บนพื้นผิวของไมเซลล์เคซีน เรียกว่า Milk Reaction (Garnier *et al.*, 2003; Vega *et al.*, 2005) จึงสามารถใช้แครร์ราจีแนนในการช่วยให้โกโก้ที่ใส่ในนมแขวนลอยอยู่ได้ นอกจากใช้เป็นสารแขวนลอยแล้ว ยังใช้เป็นสารที่ช่วยให้เกิดเจลในผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น เจลขนมหวาน เจลอาหารเด็ก เจลขนมหวานแช่แข็ง เป็นต้น นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารให้ความคงตัวในผลิตภัณฑ์ไอศกรีม ผลิตภัณฑ์เนื้อกระป๋อง และปลากระป๋อง มีการใช้แครร์ราจีแนนเพื่อให้เนื้อจับกันได้ดี

1.4.3 สมบัติของอนุพันธ์เซลลูโลส และการใช้ประโยชน์

โมเลกุลของเซลลูโลส ประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสต่อกันด้วยพันธะ β -(1-4) กลูโคซิดิก โมเลกุลของเซลลูโลสเป็นสายยาวไม่มีแขนง สายยาวเกาะกันตามแนวราบด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคส ทำให้โครงสร้างของโมเลกุลแข็งแรง โครงสร้างของเซลลูโลสในแต่ละหน่วยย่อยของน้ำตาลกลูโคส ยังมีหมู่ไฮดรอกซิลอิสระเหลืออยู่ ซึ่งจะเกิดพันธะระหว่างสายของพอลิเมอร์ ทำให้บางส่วนของโครงสร้างผลึก (Crystalline) ส่วนที่เกิดโครงสร้างผลึก จะมีความหนาแน่นมากกว่า จึงทนทานต่อการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ และสารเคมีมากกว่าส่วนที่ไม่เป็นผลึก (Non Crystalline) นอกจากนี้ส่วนที่เป็นโครงสร้างผลึก ยังดูดน้ำได้น้อยกว่าอีกด้วย โมเลกุลของเซลลูโลสที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอิสระเหลืออยู่ ทำให้ถูกแทนที่ด้วยหมู่เมทิล เอทิล ไฮดรอกซีเมทิล ไฮดรอกซีเอทิล และไฮดรอกซีพროพิลเมทิล ได้เป็นเมทิลเซลลูโลส ไฮดรอกซีเมทิลเซลลูโลส คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส และไฮดรอกซีพโรพิลเมทิลเซลลูโลส เป็นต้น แต่ส่วนของโมเลกุลเซลลูโลสที่เป็น โครงสร้างผลึก จะเกิดปฏิกิริยาทางเคมีได้ยาก อนุพันธ์เซลลูโลสเหล่านี้จัดเป็นเซลลูโลสดัดแปร

ไฮดรอกซีพโรพิลเซลลูโลส ประกอบด้วย พอลิเมอร์พวที่ชอบน้ำ (Hydrophillic Polymer) ชนิดที่ไม่มีประจุ จัดเป็นเรซินเทอร์โมพลาสติก สามารถฉีดพ่นออกมาเป็นฟิล์มได้จากสถานะหลอมเหลว ส่วนเมทิลเซลลูโลส เป็นพวที่มีพอลิเมอร์พวที่ชอบน้ำอยู่น้อยที่สุด ซึ่งมีความสามารถด้านการซึมผ่านของน้ำได้ดีที่สุด ไฮดรอกซีพโรพิลเมทิลเซลลูโลส มีสมบัติในการเกิดเจลได้ไม่ดีเท่า เมทิลเซลลูโลส แต่สามารถแก้ไขได้โดยการเติมพลาสติกไซเซอร์ลงไป เพื่อช่วยให้เกิดเจลได้ดีขึ้น และนำมาใช้ในการผลิตสารเคลือบ หรือฟิล์มที่ช่วยลดการดูดซับน้ำมันในระหว่างการทอดของมันฝรั่ง และหัวหอมทอดได้ นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารเคลือบที่ผิวของผักและผลไม้ เพื่อลดอัตราการแพร่ผ่านของแก๊สจากการหายใจ ซึ่งเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ (Garcia *et al.*, 2002; Salvador *et al.*, 2008)

2. การบรรจุด้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial Packaging)

การบรรจุด้านจุลินทรีย์ เป็นระบบของการป้องกันการเน่าเสียของอาหาร ช่วยยืดอายุการเก็บรักษา และรักษาคุณภาพของอาหาร โดยใส่สารด้านจุลินทรีย์ในระบบของภาชนะบรรจุ หรือใช้วัสดุพอลิเมอร์ที่มีการใส่สารด้านจุลินทรีย์ลงไป เพื่อให้ช่วยรักษาคุณภาพของอาหาร ในกรณีของอาหารที่มีความชื้นปานกลาง (Intermediate Moisture Foods) การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในระหว่างการขนส่ง และการเก็บรักษาจะทำให้มีการควบแน่นที่ผิวหน้าของอาหาร เป็นผลให้ค่าวอเตอร์แอกติวิตี (Water Activity; a_w) เพิ่มขึ้นซึ่งเกิดเฉพาะที่ผิวหน้า ส่งผลให้มีการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ การใช้สารเคลือบบริโภคนำด้านจุลินทรีย์ มีข้อได้เปรียบ เนื่องจากใช้วิธีการแพร่จากชั้นของสารเคลือบลงไปสู่ผิวหน้าของอาหาร แทนการพ่น หรือใส่วัตถุกันเสีย หรือสารเคมีลงในอาหารโดยตรง ส่งผลให้ในปัจจุบันมีการศึกษาสารเคลือบบริโภคนำด้านจุลินทรีย์กันอย่างแพร่หลาย (Cagri *et al.*, 2001; Dong *et al.*, 2002; Soares *et al.*, 2002; Limjareon *et al.*, 2003; Grower *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2004; Choi *et al.*, 2005; Pranoto *et al.*, 2005a; Rojas-Grau *et al.*, 2007; Rojas-Grau *et al.*, 2008; Seydim and Sarikus, 2006; Maizura *et al.*, 2007; Fernandez-Saiz *et al.*, 2008; Raybaudi-Massilia *et al.*, 2008; Sathiya *et al.*, 2008)

2.1 การออกแบบระบบของภาชนะบรรจุด้านจุลินทรีย์ ควรคำนึงถึง

- 2.1.1 กลไกการด้านจุลินทรีย์ของสารด้านจุลินทรีย์ที่ใช้
- 2.1.2 สมบัติทางเคมีของสารด้านจุลินทรีย์
- 2.1.3 ลักษณะเฉพาะทางด้านเคมีของอาหาร
- 2.1.4 จุลินทรีย์ที่พบในอาหารโดยทั่วไป และลักษณะเฉพาะของจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบการด้าน
- 2.1.5 กลไกการเคลื่อนย้ายของสารด้านจุลินทรีย์เข้าสู่อาหาร
- 2.1.6 สภาพแวดล้อมในระหว่างการจัดเก็บรักษา
- 2.1.7 ขั้นตอนการผลิตฟิล์ม หรือภาชนะบรรจุ
- 2.1.8 ความเป็นพิษ และกฎหมาย
- 2.1.9 สมบัติที่ส่งผลต่อคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของสารด้านจุลินทรีย์
- 2.1.10 ความสามารถในการผลิต และการใช้เครื่องจักรของภาชนะบรรจุที่มีสารด้านจุลินทรีย์

2.2 รูปแบบของการบรรจุด้านจุลินทรีย์

2.2.1 ซองหรือแผ่นปลดปล่อยสารระเหย (Sachets/Pads)

2.2.2 การฟุ้งแก๊สหรือแผ่นปลดปล่อยแก๊ส (Gas Flushing or Emitting Pads)

2.2.3 สารเคลือบหรือฟิล์มเคลือบด้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial Coatings or Coated Films)

2.2.4 ฟิล์มดูดซับด้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial Adsorbed Films)

2.2.5 ฟิล์มเกาะติดด้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial Immobilized Films)

2.2.6 ฟิล์มแต่งเติมสารด้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial Incorporated Films)

2.2.7 สารเคลือบหรือฟิล์มด้านจุลินทรีย์โดยธรรมชาติ (Inherently Antimicrobial Coatings or Films)

2.2.8 ฟิล์มด้านจุลินทรีย์ดัดแปรพื้นผิว (Surface Modified Antimicrobial Films)

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของสารด้านจุลินทรีย์

ประสิทธิภาพของสารด้านจุลินทรีย์ ขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น ความเข้มข้นของสารด้านจุลินทรีย์ ชนิด จำนวน อายุ และประวัติของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร อุณหภูมิ และสมบัติทางเคมี และกายภาพของอาหาร ซึ่งสามารถแบ่งออกได้ดังนี้

2.3.1 ความเข้มข้นของสารด้านจุลินทรีย์ ประสิทธิภาพของสารด้านจุลินทรีย์จะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับปริมาณสารด้านจุลินทรีย์ที่ใช้ ความเข้มข้นของสารด้านจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ประสิทธิภาพในการชะลอการเติบโต หรือทำลายจุลินทรีย์มากขึ้น สารด้านจุลินทรีย์ที่มีความเข้มข้นสูงจะสามารถทำลาย หรือฆ่าจุลินทรีย์ได้ แต่สารที่มีความเข้มข้นต่ำลงจะส่งผลในด้านการเติบโตของจุลินทรีย์เท่านั้น หรืออาจไม่มีผลต่อจุลินทรีย์ ดังนั้นหากปริมาณจุลินทรีย์มีมากขึ้นส่งผลให้ปริมาณสารที่ใช้เข้มข้นขึ้นเพื่อใช้ในการทำลายเซลล์ (Matan *et al.*, 2006)

2.3.2 ชนิด จำนวน อายุ และประวัติของจุลินทรีย์ ความไวของสารที่ด้าน หรือการทำลายจุลินทรีย์ด้วยสารด้านจุลินทรีย์จะแตกต่างกันตามชนิด และจำนวนของจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์บางชนิดต้องใช้สารด้านจุลินทรีย์ในปริมาณมาก จึงสามารถด้าน หรือทำลายจุลินทรีย์ได้ ในขณะที่จุลินทรีย์บางชนิดใช้สารด้านจุลินทรีย์ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ปริมาณมาก ส่งผลต่อปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้เพิ่มขึ้น (Rojo-Bezares *et al.*, 2007) นอกจากนี้การเติบโตในแต่ละช่วงอายุ และการดื้อยาของจุลินทรีย์มีผลต่อปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้เช่นกัน โดยจุลินทรีย์ที่มีอายุอยู่ในระยะที่สอง (Logarithmic Growth Phase) จะมีความแข็งแรงกว่า จุลินทรีย์ที่มีอายุอยู่ในระยะเริ่มต้น (Lag Phase) และระยะที่สาม (Stationary Growth Phase) ทำให้ปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้แตกต่างกัน (Bower and Daeschel, 1999)

ระยะการเติบโตของจุลินทรีย์ (Growth Phases of Microorganisms) ซึ่งจุลินทรีย์มีวงจรชีวิตของการเติบโตแบ่งเป็น 5 ระยะ ดังภาพที่ 1 ดังนี้

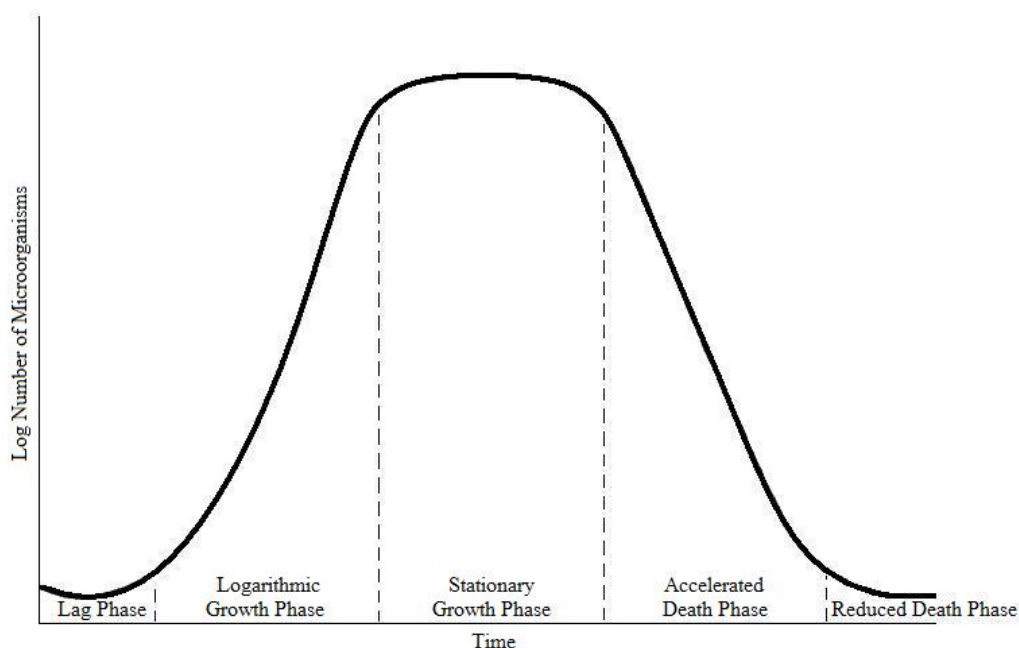
(1) Lag Phase เป็นระยะแรกของการเติบโตในช่วงเวลาที่จุลินทรีย์กำลังปรับตัว หลังจากได้รับอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งระยะนี้จุลินทรีย์จะเริ่มเติบโตอย่างช้าๆ การใช้อุณหภูมิจะช่วยลดการเติบโตของจุลินทรีย์ได้

(2) Logarithmic Growth Phase ระยะนี้จุลินทรีย์จะมีการแบ่งตัวทำให้อัตราการเติบโตของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น อาหาร และอุณหภูมิ

(3) Stationary Growth Phase ระยะนี้อัตราการเติบโตจะช้าลง หรือคงที่ เนื่องจากเกิดการแข่งขันในการแย่งอาหารระหว่างการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง การสร้างของเสียจากจุลินทรีย์ หรือเกิดการเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นในอาหารชนิดเดียวกัน

(4) Accelerated Death Phase ระยะนี้จุลินทรีย์จะเริ่มตายเนื่องจากขาดอาหาร การสร้างของเสียจากจุลินทรีย์ และการแข่งขันระหว่างจุลินทรีย์

(5) Reduced Death Phase เมื่อจุลินทรีย์ผ่านระยะ Accelerated Death Phase ที่มีการลดจำนวนของจุลินทรีย์ ระยะนี้อัตราการตายจะเริ่มลดลงหลังระยะดังกล่าว



ภาพที่ 1 ระยะการเติบโตของจุลินทรีย์ (Growth Phases of Microorganisms)

2.3.3 อุณหภูมิ อุณหภูมิที่ใช้ในการแปรรูปอาหารเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อประสิทธิภาพของสารต้านจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอุณหภูมิในขณะเติมสารต้านจุลินทรีย์ลงในอาหาร หรืออุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บผลิตภัณฑ์อาหารระหว่างรอการจำหน่าย เนื่องจากสารต้านจุลินทรีย์ที่ไม่ทนความร้อน เช่น น้ำมันหอมระเหย สามารถเกิดการสลายตัวได้เมื่ออยู่ในอุณหภูมิสูง ดังนั้นการเลือกชนิดของสารต้านจุลินทรีย์จึงต้องพิจารณาควบคู่ไปกับอุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการผลิตด้วย (Ha *et al.*, 2001)

2.3.4 สมบัติทางเคมี และกายภาพของอาหาร เนื่องจากสารต้านจุลินทรีย์อาจทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบภายในอาหารทำให้มีสภาพลดลง เช่น ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ การใช้สารต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมักจะต้องใช้ในปริมาณที่มากขึ้น เนื่องจากสารต้านจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ไม่ละลายในน้ำมัน หรือไขมัน หรือละลายได้ในปริมาณเล็กน้อยเท่านั้น หรือการทำปฏิกิริยากันระหว่างสารอินทรีย์กับสารต้านจุลินทรีย์ทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ลดลง ในขณะที่อาจมีสภาพเพิ่มมากขึ้นในอาหารที่เป็นกรด นอกจากนี้ จุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสามารถด้านการเติบโตได้มากกว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง เนื่องจากสารต้านจุลินทรีย์มีความสามารถในการแพร่บนอาหารในอัตราที่แตกต่างกัน (Burt, 2004)

3. การประเมินสารต้านจุลินทรีย์ในอาหาร (Methods for Evaluation of Antimicrobial in Food)

3.1 การคัดเลือกลำดับการต้านจุลินทรีย์ (Screening Methods Antimicrobial Assays) แบ่งออกเป็น 3 วิธี (Davidson, 1993) ได้แก่

3.1.1 การคัดเลือกลำดับการต้านจุลินทรีย์โดยวิเคราะห์จุดสุดท้ายของจุลินทรีย์ (Screening Methods Endpoint Assays) เป็นการตรวจสอบในหลอดทดลอง หรือจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่

3.1.1.1 วิธีการแพร่ของสารทดสอบในอาหารแข็ง (Agar Diffusion Method) เป็นวิธีการวัดการแพร่ของสารทดสอบในอาหารแข็ง ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาไม่นาน ทำได้ครั้งละหลายๆ ตรวจผลง่าย เป็นการทดสอบในเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลได้ว่าจุลินทรีย์มีความไวต่อสารทดสอบหรือไม่ บริเวณที่ไม่มีการเติบโตของจุลินทรีย์ จะแสดงผลการต้านจุลินทรีย์เป็นวงใส (Zone of Inhibition หรือ Clear Zone)

3.1.1.2 วิธีการแพร่ของสารทดสอบจากแผ่นกระดาษลงสู่อาหารแข็ง (Agar Disc Diffusion Method) ทดสอบโดยวางแผ่นกระดาษ (Paper Disc) ที่มีสารทดสอบลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สารทดสอบบนแผ่นกระดาษ จะแพร่ไปสู่อาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งการแพร่นี้จะนำสารทดสอบไปสู่อาหารเลี้ยงเชื้อรอบแผ่นกระดาษ การแพร่ของสารทดสอบรอบแผ่นกระดาษ ขึ้นกับความสามารถในการละลาย และขนาดของโมเลกุลของสารทดสอบ ในกรณีที่จุลินทรีย์ไวต่อสารทดสอบ จะเกิดบริเวณวงใส ซึ่งไม่มีจุลินทรีย์เติบโตรอบแผ่นกระดาษ ซึ่งเรียกว่า บริเวณต้าน (Zone of Inhibition หรือ Clear Zone) สามารถทดสอบได้โดยใช้จุลินทรีย์ทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้ววางแผ่นกระดาษ ซึ่งมีสารทดสอบที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อที่แข็งตัว จากนั้นนำจานเพาะจุลินทรีย์ไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรีย และที่ 30 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมงสำหรับยีสต์-รา วัดผลโดยการวัดบริเวณต้านที่เกิดขึ้น หรือความกว้างของบริเวณต้านที่เกิดขึ้น จะแสดงถึงประสิทธิภาพของสารต้านจุลินทรีย์ที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบ ได้ดังนี้ จุลินทรีย์มีความไวต่อสารทดสอบ (Susceptibility) จุลินทรีย์มีความไวต่อสารทดสอบปานกลาง (Intermediate) และจุลินทรีย์ต้านสารทดสอบ (Resistant)

3.1.1.3 วิธีการแพร่ของสารทดสอบจากหลุมที่เจาะเข้าสู่อาหารแข็ง (Agar Wells Diffusion Method) มีหลักการทดสอบ และการวัดผลเช่นเดียวกันกับวิธีการแพร่ของสารทดสอบจากแผ่นกระดาษลงสู่อาหารแข็ง แต่เจาะอาหารเลี้ยงเชื้อ (Wells) แล้วใส่สารลงไป ในหลุม เจาะแทนการวางแผ่นกระดาษ

3.1.2 วิธีการเจือจางสารทดสอบด้วยอาหารแข็ง (Agar Dilution Method)

เป็นการทดสอบในเชิงปริมาณ สามารถบอกค่าความเข้มข้นของสารที่ต้าน และ ทำลายจุลินทรีย์ได้ เป็นวิธีมาตรฐานในการทดสอบความไวของจุลินทรีย์แบบปริมาณวิเคราะห์ โดย การเจือจางสารทดสอบในอาหารวุ้น และถ่ายจุลินทรีย์ลงบนผิวของอาหารวุ้นเป็นจุด เป็นวิธีที่ เหมาะสมกับการทดสอบจุลินทรีย์จำนวนมาก ข้อดีของวิธีนี้คือ สามารถทดสอบจุลินทรีย์หลายชนิด บนอาหารจานเดียวกันได้ ตรวจผลโดยการเติบโตของจุลินทรีย์ ความเข้มข้นของสารที่มีค่าต่ำสุดที่ ทำให้จุลินทรีย์ไม่เติบโต ถือว่าเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่ต้านการเติบโตของจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentrations; MIC)

3.1.3 วิธีการเจือจางสารทดสอบด้วยอาหารเหลว (Broth Dilution Method)

เป็นการทดสอบเชิงปริมาณ สามารถบอกค่าความเข้มข้นของสารที่ต้านและ ทำลายจุลินทรีย์ได้ เป็นการทดสอบโดยเจือจางสารทดสอบในอาหารเหลว โดยนำจุลินทรีย์ที่ ต้องการทดสอบมาเติมลงไป ในจำนวนจำกัด ซึ่งอาจทำแบบใช้หลอดทดลองซึ่งต้องใช้ปริมาณสาร ทดสอบมาก หรือทำการทดสอบใน Microtiter Plate ในกรณีที่มีสารทดสอบในปริมาณน้อย ตรวจ ผลการทดสอบเช่นเดียวกับวิธีการเจือจางสารทดสอบด้วยอาหารแข็ง โดยติดตามการเติบโตของ จุลินทรีย์ในปริมาณคงที่ในสารต้านจุลินทรีย์ที่มีความเข้มข้นต่างๆ โดยเจือจางสารต้านจุลินทรีย์ใน ความเข้มข้นต่างๆ (Two Fold Dilution) มีตัวควบคุมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ใส่สารต้านจุลินทรีย์ แล้วนำจุลินทรีย์ที่จะทดสอบในปริมาณที่เหมาะสม ใส่ลงในสารละลายที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้น ต่างๆ ในปริมาณที่เท่ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ และเวลาที่กำหนด แล้วนำมาสังเกตความขุ่น ความ ขุ่นที่เกิดขึ้นแสดงให้เห็นว่า จุลินทรีย์ไม่ถูกต้านการเติบโต สารหรือสารละลายที่คาดว่าจะมีฤทธิ์ต้าน จุลินทรีย์ที่ความเข้มข้นนั้นๆ จุดตัดสิน (Break Point) คือ ระหว่างที่ความเข้มข้นของสารที่แสดงผล เป็น สารละลายใส กับความเข้มข้นของสารที่แสดงผลเป็น สารละลายขุ่น จุดนี้เรียกว่า Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) ซึ่งค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่แสดงผลเป็น สารละลายใสตัว

สุดท้ายตามลำดับก่อนที่จะถึงความเข้มข้นของสารที่แสดงผลเป็นขุ่น คือ ค่า MIC และวิธีการนี้สามารถหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำลายจุลินทรีย์ได้ทั้งหมดได้ด้วย (Minimum Lethal Concentration; MLC)

3.2 การคัดเลือกลำดับการทดสอบโดยวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่หยุดการเติบโต (Screening Methods Growth-Inactivation Testing)

3.2.1 การวิเคราะห์ค่าความขุ่น (Turbidimetric Assay)

เป็นวิธีที่ง่ายในการทดสอบ ประหยัด โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์วัดค่าการดูดกลืนแสงแล้วนำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อแปลงค่าเป็นปริมาณจุลินทรีย์ต่อไป ข้อจำกัดของวิธีนี้คือ เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์โดยทั่วไปมีช่วงการตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ในช่วง 10^6 - 10^7 โคโลนีต่อมิลลิตร

3.2.2 Time-Kill Assay

เป็นการทดสอบโดยการเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารที่มีสารต้านจุลินทรีย์ จากนั้นบ่มเชื้อแล้วนำตัวอย่างมาวิเคราะห์การเติบโต หรือการรอดชีวิต จากกราฟการต้านการเติบโตของจุลินทรีย์ที่เรียกว่า “Inhibition Curve” หรือการทำลายจุลินทรีย์ที่เรียกว่า “Killing Curve” วิธีนี้เป็นการวิเคราะห์ที่ถูกต้องมากกว่าการวิเคราะห์ค่าความขุ่น เพราะมีช่วงการวิเคราะห์ที่กว้างกว่า วิธีนี้มีความหลากหลายแต่มีข้อเสียหลายประการ เช่น ยากต่อการวิเคราะห์ทางสถิติในการตรวจสอบความแตกต่างในการทดลอง หรือไม่มีวิธีทางสถิติในเปรียบเทียบแต่ละการทดลอง เช่น การหาค่า MIC และใช้เวลาทดสอบนาน เสียค่าใช้จ่ายมาก

3.3 การศึกษาแนวประยุกต์ (Application Studies)

การทดสอบฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์ ไม่สามารถจำลองความหลากหลายทั้งหมดที่อาจเกิดขึ้นในอาหารได้ ดังนั้นจึงต้องนำไปประยุกต์กับระบบอาหารด้วย การทดสอบสมบัติการต้านจุลินทรีย์ และการแพร่ของสารต้านจุลินทรีย์ เพื่อประยุกต์กับอาหาร ให้ได้ผลที่มีประสิทธิภาพ ช่วยยืดอายุการเก็บรักษา และลดอัตราการเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค ควรคำนึงถึงปัจจัยดังต่อไปนี้

3.3.1 ผลกระทบอาหาร พิจารณาถึงองค์ประกอบของอาหารที่อาจมีผลต่อการทดสอบ เช่น ปฏิกิริยาที่มีผลต่ออันตรกิริยา (Interaction) ในอาหาร ได้แก่ โปรตีน ไขมัน แลทไอออน ตัวเชื่อม ในส่วนประกอบของอาหาร การทำลายจุลินทรีย์ (Inactivation) โดยสารเติมแต่งอื่น อิทธิพลของค่าความเป็นกรด-ด่าง ต่อความคงตัว และการต้านจุลินทรีย์

3.3.2 จุลินทรีย์ (Microorganism) โดยเน้นไปที่การทดสอบประสิทธิภาพการต้านจุลินทรีย์ที่เฉพาะเจาะจงหรือที่สนใจนำไปศึกษา

3.3.3 ความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ (Concentrate of Antimicrobial) นิยมใช้ความเข้มข้นเป็นสิบเท่า หรือมากกว่าของความเข้มข้นในการทดลอง (Davidson, 1993) เนื่องจากอาจเกิดการสูญเสียความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ ในระหว่างกระบวนการผลิต

3.3.4 สภาพการเก็บรักษา (Storage Condition) คำนึงถึงสถานะต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการทดสอบ เช่น การขนส่ง

4. สมุนไพร

สมุนไพร หมายถึง พืชที่ใช้เป็นยา หรือส่วนผสมของยารักษาโรค ซึ่งอาจรวมถึงเครื่องเทศบางชนิดด้วย (บัญญัติ, 2527) ปัจจุบันนิยมใช้สมุนไพรมากอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะในด้านการปรุงแต่งอาหาร ในขณะเดียวกันก็เป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่าพืชสมุนไพร และเครื่องเทศนั้นสามารถต้านการเติบโตของจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ และยังมีผลในการรักษาคุณภาพของอาหารต่างๆ อีกด้วย

4.1 การสกัดสารสำคัญจากพืช

การสกัดสารสำคัญจากพืช เป็นวิธีทำสารให้บริสุทธิ์ หรือเป็นวิธีแยกสารออกจากกัน โดยอาศัยสมบัติของการละลายของสารแต่ละชนิด สารที่ต้องการสกัดต้องละลายในตัวทำละลายสามารถทำได้หลายวิธี ขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่ใช้สกัด การทนต่อความร้อนของสาร และชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ แต่ละวิธีมีข้อดี และข้อจำกัด (นันทนา, 2528) วิธีเหล่านี้ได้แก่

4.1.1 Maceration เป็นการสกัดสารสำคัญจากพืช โดยวิธีการหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายในภาชนะปิด เช่น ขวดรูปชมพู่ ขวดปากกว้าง เขย่า หรือคนบ่อยๆ เมื่อครบกำหนดจึงรินสารสกัดออก บีบสารละลายออกจากกากให้มากที่สุด รวมสารสกัดที่ได้นำไปกรองอาจต้องทำการสกัดหลายๆ ครั้ง เป็นวิธีที่สารไม่โดนความร้อน แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก

4.1.2 Percorator เป็นการสกัดสารสำคัญแบบต่อเนื่อง โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Percorator นำสมุนไพรมาหมักกับตัวทำละลายให้ขึ้น เมื่อพองตัวเต็มที่แล้วค่อยๆ บรรจุสารที่ละน้อยเป็นชั้นลงใน Percorator เติมตัวทำละลายลงไปให้สูงเหนือสมุนไพรประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงเริ่มไขเอาสารสกัดออกโดยค่อยๆ เติมสารสกัดเหนือสมุนไพรเพื่อไม่ให้แห้ง เก็บสารสกัดจนการสกัดสมบูรณ์ บีบกากเอาสารสกัดออกให้มากที่สุด นำสารสกัดที่ได้ทั้งหมดมารวมกันแล้วนำไปกรอง

4.1.3 Soxhlet's Extraction เป็นวิธีการสกัดอย่างต่อเนื่อง โดยใช้ตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำ โดยเครื่องมือ Soxhlet's Apparatus เป็นเครื่องมือที่ใช้ตัวทำละลายปริมาณน้อย การสกัดจะเป็นลักษณะการใช้ ตัวทำละลายหมุนเวียนผ่านสารที่ต้องการสกัดหลายๆ ครั้ง ต่อเนื่องกันไป จนกระทั่งสกัดสารออกมามีปริมาณเข้มข้นมากพอ ส่วนตัวทำละลายที่ใช้สกัดแล้ว จะระเหยแล้วควบแน่นกลับมาใช้ได้อีกต่อไป เครื่องมือนี้เหมาะสำหรับแยกสารอินทรีย์ออกจากของผสมที่เป็นของแข็ง

4.1.4 Liquid-Liquid Extraction เป็นการสกัดสารละลายซึ่งเป็นของเหลวในตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งไม่ผสมกับตัวทำละลายชนิดแรก แบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ Extractant Lighter คือ ตัวทำละลายที่ใช้สกัดเบากว่าตัวทำละลายที่ใช้ละลาย และ Raffinate Lighter คือ ตัวทำละลายที่ใช้สกัดหนักกว่าตัวทำละลายที่ใช้ละลาย

4.1.5 Extraction by Thermomicrodistillation เป็นการสกัดสารโดยใช้เครื่องมือ Thermomicro Analysis and Separation Ovens (TAS Oven) เป็นการสกัดสารปริมาณน้อยมากๆ โดยสารที่ต้องการ ต้องระเหยได้ง่าย จึงใช้ไอน้ำพาออกมาจากสารอื่นได้ การสกัดด้วยวิธีนี้ทำให้สารอินทรีย์ที่มีจุดเดือดสูง กลายเป็นไอออกมาที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง

4.2 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

สารสกัดหยาบที่ได้จากการกรอง นำไปแยกองค์ประกอบได้ไม่สะดวก และไม่มีประสิทธิภาพ จึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นก่อนด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้

4.2.1 การระเหย (Free Evaporation) เป็นการนำตัวทำละลายออกจากสารสกัด โดยใช้ความร้อนจากอ่างควบคุมอุณหภูมิ หรือแผ่นความร้อน วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้ เนื่องจากอุณหภูมิสูงเกินไป และหากใช้สารละลายอินทรีย์ (Organic Solvent) ในการสกัด การระเหยโดยให้ความร้อนโดยตรงบนแผ่นความร้อน อาจเกิดอันตรายได้ง่าย นอกจากนี้ควรคำนึงถึงอุณหภูมิที่จะทำให้เกิดการสลายตัวของสารสำคัญ เมื่อใช้ความร้อน

4.2.2 การกลั่นภายใต้สุญญากาศ (Distillation in Vacuum) จัดเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัดโดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ พร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum Pump) เครื่องมือนี้เรียกว่า เครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator)

4.2.3 การทำให้แห้ง (Drying) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัดจนแห้งได้สารสกัดออกมาในสภาพของแข็ง หรือกึ่งของแข็ง มีหลายวิธี เช่น การทำแห้งเยือกแข็ง (Lyophilisation หรือ Freeze Drying) หรือการทำแห้งโดยใช้ความร้อนด้วยเครื่องพ่นแห้ง (Spray Dryer) เป็นต้น

4.2.4 อัลตราฟิลเตรชัน (Ultrafiltration) เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้น โดยใช้แผ่นเมมเบรน ใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 5,000

4.3 สมบัติของสมุนไพรบางชนิด

4.3.1 กระชาย

ชื่อท้องถิ่น: กะแอน ระแอน (ภาคเหนือ) จิงทราย (มหาสารคาม) จี๊ปู ชีพู (เงี้ยว-แม่ฮ่องสอน) เป๊าะซอเราะ เป๊าะลี (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) ว่านพระอาทิตย์ (กรุงเทพฯ)

ชื่อสามัญ: Fingerroot

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Boesenbergia pandurata* Holtt.

วงศ์: Zingiberaceae

ส่วนที่ใช้: ราก เหง้า ใบ

สารที่พบ: น้ำมันหอมระเหย ประมาณ 0.08 เปอร์เซ็นต์ที่พบในรากกระชายนั้นมีดังนี้ α -Thyjene, α -Pinene, Camphene, Myrcene, Limonene, 1,8-Cineol, trans-Ocimene, p-Cymene, Linalool, Neral, α -Terpineol, Borneol, Geraneol, Benzyl Acetone, Methyl Cinnamate, Geranial และ Camphor 32.1 เปอร์เซ็นต์ (นิจศิริ, 2542) นอกจากนี้ยังพบสารเคมีชนิดอื่นๆ อีกหลายชนิด คือ Pinostrobin, Alpinetin, Chalcone, Boesenbergin A, Pinocembrin, Cardamonin, Chavicolin, Flavonoid, Chromone, Chalcone และ Flavone เป็นต้น (สุนทรี, 2535) องค์ประกอบเคมีในกลุ่มของ Chromone เข้าไปดัดแปลงหมู่ที่ทำหน้าที่โปรตีน และกรดนิวคลีอิกในแบคทีเรียทำให้ไม่สามารถเติบโตได้

กระชายใช้เป็นยาแก้ท้องร่วง ท้องเดิน ท้องอืด ท้องเฟ้อ แก้ปวดท้อง แก้บิด เป็นยาบำรุงหัวใจ ยารักษาโรคผิวหนัง เป็นยาแก้ไอ และเป็นยาอายุวัฒนะ (รุ่งรัตน์, 2540) จากการศึกษาของมหาวิทยาลัยมหิดล (ม.ป.ป.) ทดลองโดยใช้สารสกัดรากกระชายแห้ง ซึ่งเตรียมจากการแช่รากในอีเทอร์ ปีโตรเลียมอีเทอร์ และน้ำกลั่น 48 ชั่วโมง แล้วนำมากรอง พบว่ามีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* แบคทีเรียในลำไส้ *Escherichia coli* แบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนอง *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยนิจศิริ และพยอม (2534) กล่าวว่ากระชายมีประสิทธิภาพที่ด้านการเติบโตของ *Listeria monocytogenes* และ *Listeria innocus* และสามารถต้านการเติบโตของจุลินทรีย์อื่นได้ด้วย เช่น *Salmonella* Steinberg, *Salmonella* Lexington และ *Salmonella* Worthington และใช้เป็นยาแก้ท้องร่วง เหง้ามีน้ำมันหอมระเหยเป็นสารประเภท Flavonoid และ Chromone ชื่อ Boesenbergia A, Pinostrobin, 2',6'-Dihydroxy-4'-Methoxychalcone และ Cardamonin ที่สามารถต้านแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงได้

ศรียาญนา (2541) ศึกษาความไวของ *L. monocytogenes* และ *L. innocua* ต่อสารสกัดหยาบจากสมุนไพร 39 ชนิด พบว่ามีเพียง 8 ชนิดที่สามารถต้านการเติบโตของจุลินทรีย์ทั้ง 2 สายพันธุ์ ได้แก่ กระชาย แก่นขนุน ดอกจันทน์เทศ เจตมูลเพลิงแดง ชะเอมเทศ ฝรั่ง ฟ้ายะลวยโจร และมะขามแขก สามารถต้านการเติบโตของแบคทีเรียได้ เมื่อมีปริมาณสมุนไพรแห้งในสารสกัด 20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในขณะที่ชนิดอื่นมีปริมาณสมุนไพรแห้งเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) จะสังเกตการณ์เกิดบริเวณด้านได้ และเมื่อนำกระชายมาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถต้านการเติบโตของ *L. monocytogenes* พบว่าปริมาณของกระชายในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 5,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถต้านการเติบโตของจุลินทรีย์ได้อย่างสมบูรณ์ แต่จะทำให้มีปริมาณลดลง

วาทินี (2546) รายงานว่า สารสกัดจากกระชายสามารถต้านการเติบโตของ *S. aureus*, *Salmonella* Derby และ *Salmonella* Typhi แต่ไม่สามารถต้านการเติบโตของ *E. coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Lactobacillus* sp., *Lactobacillus pentosus* ST10-1 และ *Pediococcus acidilactici* M6 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ กรรณิการ์ และฐิติพร (2544) พบว่า กระชายสามารถต้านการเติบโตของ *Bacillus cereus* และ *S. aureus* ได้ มีค่า MIC เท่ากับ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ไม่สามารถต้านการเติบโตของ *Salmonella* sp. และ *E. coli* ได้ เช่นเดียวกับ Zaika (1998) พบว่ากระชายไม่สามารถต้านการเติบโตของ *E. coli* ได้เช่นกัน นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Oonmetta-aree *et al.* (2006) พบว่า สารสกัดจากกระชายสามารถต้านการเติบโตของ *S. aureus* ได้ และไม่สามารถต้านการเติบโตของ *E. coli* ได้เช่นกัน จากการศึกษาของ Thongson *et al.* (2004) และ Thongson *et al.* (2005) พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากกระชาย สามารถต้านการเติบโตของ *L. monocytogenes* และ *S. Typhimurium* DT104 ทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อ และตัวอย่างอาหารน้ำแอปเปิ้ล นอกจากนี้ Wanchaitanawong *et al.* (2005) พบว่า สารสกัดหยาบจากกระชาย สามารถต้านการเติบโตได้ทั้ง *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* และ *Penicilium* sp.

4.3.2 กระเทียม

ชื่อท้องถิ่น: กระเทียม (ภาคกลาง) หอมเทียม (ภาคเหนือ) เทียม หัวเทียม (ภาคใต้)

ชื่อสามัญ: Garlic

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Allium sativum* Linn.

วงศ์: Alliaceae

ส่วนที่ใช้: หัว

สารที่พบ: Allicin, Coumarins, Allyl Propyl Disulphide, Diallyl Disulphide Peroxidase และ Myrosinase

หัวกระเทียมมีน้ำมันหอมระเหยเผ็ดร้อน ใช้เป็นยาขับเหงื่อ ขับปัสสาวะ และขับเสมหะ น้ำคั้นจากกระเทียมมีรสเผ็ดร้อนมาก หยดใส่หูแก้หูอักเสบ หูคั่ง ใช้ทาแผล ใช้แก้กลากเกลื้อน ขับลมในลำไส้ แก้ท้องขึ้น ปวดท้อง จุกเสียด ท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับพยาธิเส้นด้ายเล็ก ใช้แก้หิด อัมพาต ลมเข้าท้อง ใช้แก่น้ำลายเหนียว ปอดบวม หลอดลมอักเสบ ปอดพิการ วัณโรค ใช้เป็นยาฆ่าเชื้อโรคในปาก ทาถอนแผลแก้อาการชักกระตุกของเด็ก โคลงพอกหัวหน่าวแก้ซัดเบา โคลงสระผม ป้องกันผมหงอก โคลงกับน้ำส้มกวาดคอ แก้อักเสบเสียงแหบแห้ง ใช้พอกตรงที่ถูกแมลง ตะขาบ แมลงป่อง หรือแตนต่อย จะบรรเทาอาการเจ็บปวด แก้อาการไขมันอุดตันในเส้นเลือด แก้ความดันโลหิตสูง แก้หูด แก้ปวดศีรษะข้างเดียว (รุ่งรัตน์, 2540)

Arora and Kaur (1999) ศึกษาความสามารถของกระเทียมที่ด้านการเติบโตของแบคทีเรีย พบว่า สารสกัดของกระเทียมสามารถด้านการเติบโตของ *Staphylococcus epidermidis* ภายในเวลา 1 ชั่วโมงของการบ่ม และสามารถด้านการเติบโตของ *S. Typhi* ภายใน 3 ชั่วโมง จากรายงานของ Unal *et al.* (2001) พบว่า น้ำกระเทียมสด สามารถด้านการเติบโตของจุลินทรีย์ได้หลายชนิด โดยแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบเป็นแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ พบว่า น้ำกระเทียมสดไม่สามารถด้าน *Leuconostoc mesenteroides* แต่ด้านการเติบโตของ *E. coli* B-103 นอกจากนี้ Pranoto *et al.* (2005b) พบว่าฟิล์มแอลจินดัดเม้นน้ำมันกระเทียมตั้งแต่ 0.2 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป สามารถด้านจุลินทรีย์ที่ก่อโรค *S. aureus* และ *B. cereus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ไม่ด้านการเติบโตของ *E. Coli* และ *S. Typhimurium* และพบว่าน้ำมันกระเทียมไม่มีผลต่อสมบัติทางกายภาพ และทางกลของฟิล์ม สามารถนำไปใช้กับอาหารได้ดี

ผลการวิจัยจากหลายแหล่ง (Serge and Mirelman, 1999; Per and Rios, 2000; Bhurinder *et al.*, 2001; Renata and Zamparini, 2002; Benkeblia, 2004; Hannah *et al.*, 2004; Siripongvutikorn *et al.*, 2005) พบว่าสารสกัดหรือน้ำมันหอมระเหยของกระเทียมมีฤทธิ์ต้านการเติบโตของจุลินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ *E. coli*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, *Endomyces fibuliger*, *Penicillium commune*, *Penicillium corylophilum*, *Penicillium roqueforti*, *L. monocytogenes*, *Salmonella enterica* serovar Enteritidis, *E. coli* 0157:H7, *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia carotovora*, *Alternaria brassicicola*, *Botrytis cinerea*, *Plectosphaerella cucumerina*, *Magnaporthe grisea*, *Phytophthora infestans* และ *Pseudomonas fluorescens* อนึ่งผลการต้านจุลินทรีย์ที่พบในงานวิจัยเหล่านี้มีทั้งความสอดคล้อง และแตกต่างกัน ซึ่งอาจมีสาเหตุจากวิธีการสกัด และแหล่งที่มาของกระเทียม วิธีการทดสอบ รวมทั้งแหล่งที่มาของจุลินทรีย์

4.3.3 กานพลู

ชื่อท้องถิ่น: จันทน์ (ภาคเหนือ) ดอกจันทน์ (เชียงใหม่)

ชื่อสามัญ: Cloves

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Eugenia caryophyllus*

วงศ์: Myrtaceae

ส่วนที่ใช้: ดอกตูมแห้ง

สารที่พบ: กานพลูมีน้ำมันหอมระเหย 14–20 เปอร์เซ็นต์ Gallotannic 10-13

เปอร์เซ็นต์ Eugenol 85–90 เปอร์เซ็นต์ Triterpene นอกจากนี้ยังมีกรดอินทรีย์ Oleanolic Acid และ Methyl Salicylate สารจำพวก Vanillin, Chromone, Eugenol และ Sesquiterpenes สาร Eugenol เป็นองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอล ซึ่งมีประสิทธิภาพที่ต้านจุลินทรีย์ เช่น ทำให้การดูดซึมอาหารเสียไป ลดอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (Adenosine Triphosphate; ATP) ภายในเซลล์ และเกิดปฏิกิริยากับสารพวกฟอสโฟลิปิด ของเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้เกิดการบาดเจ็บที่เยื่อหุ้มเซลล์ และเป็นผลให้สารภายในเซลล์ไหลออกสู่ภายนอก จึงต้านแบคทีเรียได้ดี ส่วนสารไตรเทอร์พีน มีผลทำให้ส่วนประกอบของลิพิดิก ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์แตก ส่วนกรดอินทรีย์ ต้านจุลินทรีย์โดยการแปรสภาพโครงสร้างโปรตีนจนไม่สามารถทำหน้าที่ปกติได้ กานพลูจึงสามารถต้านแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวก และแกรมลบ

กานพลูเป็นส่วนผสมของยารักษาโรค เช่น ยาแก้ไอ แก้สะอึก ยาชาต่างๆ ยาแก้เลือดออกตามไรฟัน ยาขับลม ยาขับระดู ยาแก้ปวดท้อง จุกเสียด ท้องเสีย ยาระงับอาการปวดฟัน ยาบำรุงธาตุ มีฤทธิ์เป็นยาชา ยามาเชื้อ แก้ปวดฟัน เป็นส่วนผสมสำหรับคูนเนื้อสัตว์ เครื่องแกง และน้ำพริกสำเร็จรูป และกึ่งสำเร็จรูป เป็นส่วนผสมของอาหารเพื่อปรุงแต่งกลิ่นและรสชาติอาหาร ช่วยถนอมอาหาร ใช้ในอาหารหมักดอง อาหารกระป๋องและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ มีฤทธิ์ในการฆ่าและด้านการเติบโตของจุลินทรีย์ ใช้ผลิตเครื่องสำอาง สบู่ สบู่สักระหัดกลิ่นวนิลา (รุ่งรัตน์, 2540)

ชัยวัฒน์ (2528) นำพืชสมุนไพรและเครื่องเทศรวม 16 ชนิด มาทดสอบประสิทธิภาพที่ด้านการเติบโตของราในสกุล *Aspergillus* sp. พบว่า สมุนไพรที่มีประสิทธิภาพสูงสุด คือ พลู รองลงมา คือ กานพลู จากรายงานของ Stecchini *et al.* (1993) พบว่า น้ำมันหอมระเหยของกานพลู Coriander และ Nutmeg ที่ความเข้มข้น 500, 1,250 และ 10,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ สามารถด้านการเติบโตของ *Aeromonas hydrophila* ในอาหารแข็ง Tryptic Soy Agar ได้ ซึ่ง Wendakoon and Sakaguchi (1993) พบว่า การใช้สารสกัดจากกานพลู 0.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) จะส่งผลให้การเติบโตและการผลิตเอมีน ของ *Enterobacter aerogenes* ช้าลง ส่วน สิริพร และคณะ (2539) ศึกษาความสามารถของเครื่องเทศและสมุนไพรที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์ปนเปื้อนในอาหาร ได้แก่ *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 และ *Yersinia enterocolitica* พบว่า กานพลูมีประสิทธิภาพสูงสุดที่ด้านเติบโตของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้

วาทีณี (2546) รายงานว่า สารสกัดจากกานพลูสามารถด้านการเติบโตของ *S. aureus* และ *S. Typhimurium* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของกรรณิการ์ และฐิติพร (2544) พบว่า กานพลูสามารถด้านการเติบโตของ *B. cereus*, *E. coli* และ *S. aureus* ได้มีค่า MIC เท่ากับ 40,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน *Salmonella* sp. มีค่า MIC เท่ากับ 20,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รวมทั้งนิจศิริ (2542) พบว่า น้ำมันกานพลูสามารถด้านการเติบโตของแบคทีเรียได้หลายชนิด เช่น *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella Typhosa* เนื่องจากในน้ำมันกานพลูมีสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 85 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใหญ่เป็น Eugenol แต่ผลจากการทดลองวาทีณี (2546) สารสกัดจากกานพลูไม่สามารถด้านการเติบโตของ *E. coli* ได้ เนื่องจากการสกัดกานพลูด้วยแอลกอฮอล์ได้น้ำมันหอมระเหยน้อย นอกจากนี้ Wanchaitanawong *et al.* (2005) พบว่า สารสกัดหยาบจากกานพลูด้านการเติบโต *A. oryzae* ได้

Clem *et al.* (2006) ทดสอบประสิทธิภาพที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยสารสกัดจากผงกานพลู และอบเชยด้วยแอลกอฮอล์ พบว่า สารทั้งสองชนิดด้านการเติบโตของ *E. coli* ได้มีค่า MIC เท่ากับ 7.8 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร รวมทั้งด้านการเติบโตของ *Saccharomyces cerevisiae* ได้ มีค่า MIC เท่ากับ 15.6 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร และอบเชยด้านการเติบโตของ *Staphylococcus albus* ได้ มีค่า MIC เท่ากับ 62.5 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร ส่วนกานพลูด้านการเติบโตของ *S. albus* ได้ มีค่า MIC เท่ากับ 31.3 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร

ผลการวิจัยจากหลายแหล่ง (Per and Rios, 2000; Renata and Zamparini, 2002; Valero and Salmeron, 2003; Moriera *et al.*, 2005; Matan *et al.*, 2006; Mytle *et al.*, 2006; Fabian *et al.*, 2006) พบว่าสารสกัดหรือน้ำมันหอมระเหยของกานพลูมีฤทธิ์ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ *A. flavus*, *E. fibuliger*, *P. commune*, *P. corylophilum*, *P. roqueforti*, *Penicillium solitum*, *E. coli* 0157, *S. enterica* serovar Enteritidis, *B. cereus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Mucor plumbeus*, *Eurotium* sp., *Debaryomyces hansenii*, *Pichia membranaefaciens*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Candida lipolytica*, *S. aureus* และ *Pediococcus halophilus* อนึ่งผลการต้านจุลินทรีย์ที่พบในงานวิจัยเหล่านี้มีทั้งความสอดคล้อง และแตกต่างกัน ซึ่งอาจมีสาเหตุจากวิธีการสกัด และแหล่งที่มาของกานพลู วิธีการทดสอบ รวมทั้งแหล่งที่มาของจุลินทรีย์

4.3.4 อบเชย

ชื่อท้องถิ่น: อบเชยต้น มหาปราบ (ภาคกลาง) กระแจะโมง โมงหอม (ชลบุรี) กระดังงา (กาญจนบุรี) ฝักดาบ (พิษณุโลก) สุรามิต (สุโขทัย) บอกลอก (ลำปาง) พญาปราบ (นครราชสีมา) สะวง (ปราจีนบุรี) กระเจียด กระทั่งหัน (ยะลา)

ชื่อสามัญ: Cinnamon, Cassia

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Cinnamomum cassia* Ness.

วงศ์: Lauraceae

ส่วนที่ใช้: เปลือกต้นแห้ง

สารที่พบ: Cinnamic Aldehyde, Linalool (E)-nerolidol, Perpineol สาร linalool เป็นสารเสริมฤทธิ์ ช่วยเพิ่มการด้านการเติบโตของแบคทีเรีย

อบเชยมีรสหวานหอม ให้ความสดชื่น แก้อ่อนเพลีย ทำให้มีกำลัง ขับผายลม ใช้ ขับลมในลำไส้ได้ดี บำรุงโลหิต บำรุงธาตุ แก้บิด แก้ไขสันนิบาต ใช้ปรุงยาคัดค้านักแก้ไขพิษ มี กลิ่นหอมฉุน และรสหวาน ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารชนิดต่างๆ เช่น ผักดอง ซอส ส่วนผสม ของเครื่องพะโล้ ขนมกุ๊กกี้ ขนมเค้ก อาหารว่างต่างๆ ผงกะหรี่ เครื่องเทศผสม เครื่องดื่มประเภท โคล่า แยม ใส้กรอก เบคอน และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ต่างๆ (รุ่งรัตน์, 2540)

Bullerman *et al.* (1977) ทดสอบผลของน้ำมันหอมระเหยของอบเชยและ กานพลู ชินนามิค แอลดีไฮด์ และEugenol ที่ด้านการเติบโต และการสร้างอะฟลาทอกซิน ของ *Aspergillus parasiticus* พบว่าสารดังกล่าวมีผลที่ด้านการเติบโตของ *A. parasiticus* มากกว่าการ ด้านการสร้างอะฟลาทอกซิน โดยสารจาก ชินนามิคแอลดีไฮด์ และ Eugenol ให้ผลการด้านดีกว่า น้ำมันหอมระเหยของอบเชย และกานพลู เช่นเดียวกับ Montes-Belmont and Carvajal (1998) ได้ ศึกษาความสามารถของน้ำมันหอมระเหยจากพืช 11 ชนิด ที่ด้านการเติบโตของ *A. flavus* พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากอบเชย เปปเปอร์มินต์ กะเพรา ออริกาโน ไทม์ และกานพลู สามารถด้านการ เกิดราในเมล็ดข้าวโพดได้

วาที (2546) รายงานว่า ผลของสารสกัดจากอบเชยด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ที่ ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถด้านการเติบโตของ *S. aureus* ได้ ซึ่ง Alzoreky and Nakahara (2003) ศึกษาความสามารถของสารสกัดที่ได้จากพืชที่รับประทานได้จาก ประเทศจีน ญี่ปุ่น ไทย และเยเมน ที่ด้านการเติบโตของ *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes* และ *Salmonella enterica* Sero var Infantis พบว่าสารสกัดจากอบเชยด้านการ เติบโตได้ดีที่สุด จากรายงานของ Wanchaitanawong *et al.* (2005) พบว่า สารสกัดหยาบจากอบเชย สามารถด้านการเติบโตของ *A. niger* และ *A. oryzae* ได้ นอกจากนี้ Petinaki *et al.* (2006) ได้ศึกษา ความสามารถของสารที่มีองค์ประกอบจากพืชที่ด้านการเติบโตของ *M. luteus* พบว่า น้ำมันอบเชย ที่มีความเข้มข้น 0.67 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร สามารถด้าน *M. luteus* ได้ 20 เปอร์เซ็นต์ และที่มี ความเข้มข้น 667 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร สามารถด้าน *M. luteus* ได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัยจากหลายแหล่ง (Per and Rios, 2000; Valero and Salmeron, 2003; Kim *et al.*, 2004; Fabian *et al.*, 2006; Matan *et al.*, 2006; Gurdip *et al.*, 2007; Rojas-Grau *et al.*, 2007; Chang *et al.*, 2008; Mosqueda-Melgar *et al.*, 2008) พบว่าสารสกัดหรือน้ำมันหอมระเหยของอบเชยมีฤทธิ์ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ *E. coli* O157:H7, *P. aeruginosa*, *E. fibuliger*, *A. flavus*, *P. solitum*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, *S. Typhi*, *Legionella pneumophila*, *S. Enteritidis*, *M. plumbeus*, *Eurotium* sp., *D. hansenii*, *P. membranaefaciens*, *Z. rouxii*, *C. lipolytica* และ *P. halophilus* อนึ่งผลการต้านจุลินทรีย์ที่พบในงานวิจัยเหล่านี้มีทั้งความสอดคล้อง และแตกต่างกัน ซึ่งอาจมีสาเหตุจากวิธีการสกัด และแหล่งที่มาของอบเชย วิธีการทดสอบ รวมทั้งแหล่งที่มาของจุลินทรีย์

จากความหลากหลายของการทดสอบความไว และ ค่า MIC ของสาร สามารถสรุปปัจจัยหลักที่มีผลต่อฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ต้านจุลินทรีย์ โดยขึ้นกับความแตกต่างของปัจจัยต่างๆ ดังนี้

- (1) ชนิด และแหล่งของสารสกัดจากพืชสมุนไพร และองค์ประกอบทางเคมี
- (2) วิธีการสกัดของสารสกัดจากพืชสมุนไพร
- (3) จุลินทรีย์ (แหล่งที่มา ปริมาณความเข้มข้น ระยะเวลาการบ่ม สายพันธุ์ และสปอร์ ของจุลินทรีย์)
- (4) วิธีการทดสอบ

ปัจจัยเหล่านี้เป็นปัจจัยทั่วไปที่มีอิทธิพลที่ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรแต่ในระบบอาหาร พบว่าอาหารมีความซับซ้อนมากกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงต้องใช้ความเข้มข้นของสารสกัดที่สูงกว่าการทดลองในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากโปรตีน และไขมันในอาหารอาจทำให้ประสิทธิภาพของสารสกัดที่ด้านการทดสอบของจุลินทรีย์ลดลง นอกจากนี้ Zaiika (1998) ได้สรุปปัจจัยที่มีผลต่อฤทธิ์ที่ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไว้ดังนี้

- (1) ความหลากหลายของวิธีทดสอบฤทธิ์ที่ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรและองค์ประกอบต่างๆ
- (2) ระดับของการต้านขึ้นกับวิธีที่ใช้ทดสอบแตกต่างกัน
- (3) ชนิดของจุลินทรีย์

- (4) ผลการด้านแบคทีเรียมากกว่ารา
- (5) ผลของสปอร์อาจแตกต่างจากผลของ Vegetative Cells
- (6) แกรมลบต้านทานต่อสารได้มากกว่าแกรมบวก
- (7) สารสกัดจากพืชสมุนไพรอาจต้าน หรือทำให้เกิดการเติบโตของจุลินทรีย์
- (8) สารสกัดจากพืชสมุนไพรอาจทำให้จุลินทรีย์เติบโต และสร้างสารพิษ
- (9) องค์ประกอบของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีความเข้มข้นต่ำอาจเสริมฤทธิ์กับปัจจัยอื่น (โซเดียมคลอไรด์ กรด และวัตถุกันเสีย) เพื่อเพิ่มฤทธิ์การต้านของจุลินทรีย์
- (10) สภาวะการกั้นของสารใน Lipid Phase อาจทำให้การต้านจุลินทรีย์ลดน้อยลง
- (11) สารอาหารในสารสกัดจากพืชสมุนไพรอาจกระตุ้นการเติบโตของจุลินทรีย์

5. ปลาสลิดเค็ม

ปลาสลิด (Snake Skinned Gourami) เป็นปลาน้ำจืดที่อยู่ในตระกูล *Labyrinthici* Order และวงศ์ *Pectoralis* Species มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Trichogaster pectoralis* Regan และมีชื่อสามัญว่า Sepat-Siam (กรมประมง, 2535)

ปลาสลิดเค็ม หมายถึง ปลาสลิดสดที่ตัดแต่ง โดยการขูดเกล็ด ตัดหัว ควักไส้ และล้างให้สะอาดด้วยน้ำเกลือเจือจาง แล้วผ่านกระบวนการทำเค็ม และทำแห้ง (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2536)

ปลาสลิดเค็ม เป็นผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคนิยม ทั้งในประเทศไทย และประเทศข้างเคียง มีราคาค่อนข้างสูง อายุการเก็บสั้น เน่าเสียได้ง่าย เนื่องจากจุลินทรีย์ทั้งรา และแบคทีเรีย ทำให้ผู้ผลิตบางรายลักลอบใช้ฟอร์มาลิน เพื่อยืดอายุการเก็บ ทั้งที่เป็นสารที่ไม่อนุญาตให้ใช้กับอาหาร ซึ่งเป็นสารอันตรายต่อผู้บริโภค ดังนั้นจึงศึกษาความเป็นไปได้ การยืดอายุการเก็บรักษาของปลาสลิดเค็ม โดยห่อหุ้มด้วยสารเคลือบบริโภคได้ที่ใส่สารต้านจุลินทรีย์จากพืช ซึ่งเป็นสารจากธรรมชาติที่มีในประเทศไทย

การบริโภคพลาสติก ไม่นิยมบริโภคสด แต่จะนำมาแปรรูปเป็นพลาสติกเค็ม ซึ่งเป็นที่นิยมน้อยอย่างแพร่หลาย ราคาค่อนข้างสูง มีกลิ่นหอม รสชาติอร่อย เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและภายนอกประเทศ ซึ่งมีทั้งประเทศในเอเชีย ตะวันออกกลาง ยุโรป และอเมริกา (พฤษอำไพ, 2531) ประเภทพลาสติกเค็ม แบ่งตามปริมาณเกลือได้ 3 ชนิด คือ

- (1) พลาสติกเค็มชนิดเค็มน้อย ได้แก่ พลาสติกเค็มที่มีปริมาณเกลือน้อยกว่า 5.0 เปอร์เซ็นต์
- (2) พลาสติกเค็มชนิดเค็มปานกลาง ได้แก่ พลาสติกเค็มที่มีปริมาณเกลือระหว่าง 5.0–10.0 เปอร์เซ็นต์
- (3) พลาสติกเค็มชนิดเค็มมาก ได้แก่ พลาสติกเค็มที่มีปริมาณเกลือมากกว่า 10.0 เปอร์เซ็นต์

พฤษอำไพ (2531) กล่าวถึง การสำรวจข้อมูลในแหล่งผลิตของสำนักงานพาณิชย์ จังหวัดสมุทรปราการ ในพื้นที่อำเภอบางพลี อำเภอบางบ่อ และอำเภอเมืองสมุทรปราการ พบว่า พลาสติกปริมาณกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ จำหน่ายให้แก่ผู้ผลิตพลาสติกเค็มในท้องถิ่น ดังนั้นผลิตภัณฑ์พลาสติกที่นำเข้าสู่ตลาดจนถึงผู้บริโภคกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ จึงเป็นผลิตภัณฑ์พลาสติกเค็มทั้งสิ้น

5.1 ลักษณะทั่วไปของพลาสติกเค็ม

ลักษณะทั่วไปของพลาสติกเค็ม คือ มีขนาดสม่ำเสมอ ไม่มีเกล็ดติดอยู่ ยกเว้น บริเวณโคนกรีบ ภายในช่องท้องไม่มีเศษลำไส้ติดอยู่ ลำตัว และผิวหนังต้องไม่แตก หรือฉีกขาด ไม่มีสีน้ำตาลอมแดงที่หนังปลา โดยเฉพาะบริเวณที่มีไขมันสูง เช่น ที่โคนกรีบ และหนังท้องปลา มีกลิ่นรสตามธรรมชาติ ไม่มีกลิ่นอับ กลิ่นหืน กลิ่นเหม็นเน่า หรือกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์ ลักษณะเนื้อแน่นตึง ไม่แข็งกระด้าง ไม่ร่วนซุย ไม่มีสิ่งแปลกปลอม มีค่าวอเตอร์แอกทิวิตี (Water Activity; a_w) ไม่เกิน 0.85 ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ไม่เกิน 0.3 เปอร์เซ็นต์ ตะกั่วไม่เกิน 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 1×10^5 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ($5 \log \text{CFU/g}$) *S. aureus* ไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ($2 \log \text{CFU/g}$) และราไม่เกิน 2×10^2 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ($2.3 \log \text{CFU/g}$) (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2536)

5.2 การเน่าเสียของพลาสติกเค็ม

พลาสติกเค็ม เกิดการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ได้ง่าย โดยเฉพาะรา ซึ่งต้องการความชื้นในการเติบโตค่อนข้างต่ำ อุดม และอารีย์ (2517) ได้ทดลองเก็บพลาสติกเค็มไว้ในภาชนะบรรจุ และเก็บไว้ในอุณหภูมิต่างๆ กัน พบว่าถ้าเก็บรักษาพลาสติกเค็มไว้ในภาชนะเปิดที่อุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) พลาสติกเค็มมีราเกิดขึ้นหลังจากเก็บไว้ 5 วัน ซึ่ง Phillips and Wallbridge (1979) ได้รายงานถึงการตรวจสอบราในผลิตภัณฑ์ปลาตากแห้ง ปลาใส่เกลือตากแห้ง และปลาใส่เกลือรมควัน พบราต่าง ๆ ดังนี้ คือ *Aspergillus amstelodami*, *A. flavus*, *A. niger*, *Aspergillus chevalieri*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus rubber*, *Penicillium* sp., *Acremonium* sp. และ *Rhizopus* sp.

เดมศักดิ์ (2526) ศึกษาชนิดของแบคทีเรียในพลาสติกเค็มซึ่งแช่เกลือโปแตสเซียมซอร์เบท 0.7 เปอร์เซนต์ ร่วมกับการฉายรังสี 4.5 kGy ชนิดแบคทีเรียที่พบมาก คือ *Micrococcus* sp. และ *Staphylococcus* sp. ส่วนชนิดแบคทีเรียที่พบน้อย คือ *Bacillus* sp. และ *Pseudomonas* sp. และแยกจากพลาสติกเค็มซึ่งแช่เกลือโปแตสเซียมซอร์เบท 0.7 เปอร์เซนต์ ร่วมกับการฉายรังสี 4.5 kGy พบราชนิดต่าง ๆ ดังนี้ *Helminthosporium* sp., *Drechslera* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., *Achremonium* sp. และ *Alternaria* sp.

มัทนา (2523) ตรวจสอบสภาพทางด้านจุลินทรีย์ของพลาสติกเค็ม พบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด 9 logCFU/g, Coliform 872 MPN/g และ *E.coli* 565 MPN/g นอกจากนี้ มัทนา (2533) ยังตรวจสอบผลิตภัณฑ์ปลาเค็ม และปลาแห้งที่มีจำหน่ายในตลาดกรุงเทพมหานคร 16 ตัวอย่าง พบแบคทีเรีย 8 สกุล คือ *Planococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Pediococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* และ *Achromobacter* ต่อมาได้ศึกษาแบคทีเรียจากตัวอย่างปลาเค็มที่มีสีแดงผิดปกติ เพื่อตรวจหาปริมาณไนโตรซามีน ซึ่งพบ 1 ชนิด คือ *Micrococcus roseus* สามารถรีดิวซ์ไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ได้ ส่วนอีก 3 ชนิด ได้แก่ *Bacillus pantothenicus*, *Bacillus circulans* และ *S. epidermidis* สามารถรีดิวซ์ไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ได้ในบางครั้ง แต่ *M. luteus* ไม่สามารถรีดิวซ์ไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ได้ นอกจากนี้ Ahmed et al. (2005) ได้แยกจากปลาเค็ม 60 ชนิด ในประเทศอียิปต์ พบว่า 83.3 เปอร์เซนต์ เป็นราพวก Xerophilic โดยมี *Aspergillus* sp. ถึง 58.2 เปอร์เซนต์ ในขณะที่ *Penicillium* sp. พบ 32.7 เปอร์เซนต์

5.3 แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ประมง

มัทนา (2545) กล่าวถึง แบคทีเรียที่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ประมงไว้ ดังนี้

5.3.1 แบคทีเรียในลำไส้ที่เป็นดัชนีในเรื่องความสะอาดผลิตภัณฑ์ประมง

5.3.1.1 *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์ สามารถเคลื่อนที่ได้ การเติบโตต้องการอากาศแบบแฟกัลเททีฟแอนแอโรบ มีถิ่นที่อยู่ในลำไส้ของมนุษย์ สัตว์เลื้อยคลาน และสัตว์ปีก *E. coli* จัดอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (Coliform Bacteria) ซึ่งใช้เป็นจุลินทรีย์ดัชนี (Index Microorganisms) บ่งชี้การปนเปื้อนของอุจจาระในอาหาร เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่น (Normol Flora) ในระบบทางเดินอาหารของคน และสัตว์เลื้อยคลาน อาหารที่ตรวจพบโคลิฟอร์ม แสดงว่าอาหารนั้นไม่สะอาด อาจมีสิ่งโสโครก เช่น อุจจาระลงไปปะปน และอาจมีเชื้อโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร เติบโตในอาหารนั้น ทำให้ไม่ปลอดภัยต่อการบริโภค ถ้าพบในอาหารแสดงว่ามีการปนเปื้อนทางตรง หรือทางอ้อมจากอุจจาระ แบคทีเรียชนิดนี้พบในน้ำ สัตว์ทะเล จำพวกหอย นม และอาหารอื่นๆ การเป็นพิษของแบคทีเรียชนิดนี้ คือ ทำให้ท้องเสีย และอาจรุนแรงถึงตายได้

5.3.1.2 *Enterobacter* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ที่มีต้นกำเนิดมาจากพืช ไม่ทำให้เกิดโรคแก่คนหรือสัตว์ แต่ถ้ามีการปนเปื้อนในปริมาณสูง แสดงว่าอาหารนั้นไม่สะอาด

5.3.1.3 Faecal Streptococci หมายถึง กลุ่มแบคทีเรีย Enterococci ซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์ประเภท *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus equines* และ *Streptococcus avium* จุลินทรีย์กลุ่มนี้คิดสี่แกรมบวก เติบโตในอาหารที่มีความเป็นกรด-ด่าง ช่วงกว้างมาก เติบโตได้ในที่มีออกซิเจนน้อย เติบโตได้ในเกลือ 6.5 เปอร์เซ็นต์ ทนความร้อน และความเย็นได้ แต่จุลินทรีย์กลุ่มนี้ ไม่ก่อให้เกิดโรคที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ

5.3.2 แบคทีเรียก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะในผลิตภัณฑ์ประมง

5.3.2.1 *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียที่ดัดสีแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ เติบโตได้ทั้งที่มีอากาศ และไม่มีอากาศ มีค่า a_w ตั้งแต่ 0.83 ถึง 0.94 และมีชีวิตอยู่ในที่แห้ง และเย็น ได้เป็นเวลานาน อุณหภูมิที่แบคทีเรียเติบโตได้อยู่ในช่วง 7-48 องศาเซลเซียส เติบโตได้ดีที่สุดที่ 37 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เติบโตได้อยู่ในช่วง 4.0-9.3 แต่ที่เหมาะสมต่อการเติบโตอยู่ที่ 7.0-7.5 การเติบโตลดลงหาก a_w น้อยกว่า 0.83 และไม่สร้างสารพิษหาก a_w ต่ำกว่า 0.86 แบคทีเรียเติบโตได้ในสภาพ a_w ต่ำได้ดีกว่าแบคทีเรียชนิดก่อให้เกิดโรค เนื่องจากอาหารเป็นพาหะ สารพิษของ *S. aureus* ทนความร้อนได้ดี ทนต่ออุณหภูมิน้ำเดือดได้มากกว่าชั่วโมง พบจุลินทรีย์ชนิดนี้ได้ทั่วไปในอากาศ ตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย ได้แก่ ผิวหนัง รูขุมขน เยื่อเมือก แบคทีเรียชนิดนี้ก่อให้เกิดโรค Staphylococcus aureus Intoxication เมื่อบริโภคสารพิษจากจุลินทรีย์ชนิดนี้ ทำให้มีอาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน พิษอาเจียนรุนแรง และถึงแก่ความตายได้

5.3.2.2 *Salmonella* เป็นแบคทีเรียดัดสีแกรมลบ เซลล์เป็นท่อนเล็กๆ ไม่สร้างสปอร์ เติบโตได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ไม่ทนความร้อน ทำลายได้ในระยะเวลาสั้น มีชีวิตอยู่ได้ในที่เย็น การปนเปื้อนมาจากอุจจาระของคนหรือสัตว์

5.3.2.3 *Clostridium botulinum* เป็นแบคทีเรียดัดสีแกรมบวก เซลล์รูปท่อน สร้างสปอร์ทนความร้อนได้ดี เติบโตในที่ไม่มีออกซิเจน สร้างสารพิษไม่ทนความร้อน สารพิษทำให้เกิดอาการ อาเจียน ปวดท้อง ต่อมามีอาการตาพร่ามัว มองเห็นภาพซ้อน อาเจียนรุนแรงถึงขั้นเป็นอัมพาต ลิ้นแข็ง พูด และกลืนอาหารไม่ได้ การทำงานของหัวใจอ่อนลง และตายในที่สุด มักพบในอาหารกระป๋อง ปลารมควันบรรจุภายใต้สุญญากาศ

5.3.2.4 *Clostridium perfringens* เป็นแบคทีเรียดัดสีแกรมบวก เซลล์รูปท่อน เติบโตได้ในที่ไม่มีอากาศ พบทั่วไปในดิน น้ำ อาหาร ฝุ่นละออง เครื่องเทศ และระบบทางเดินอาหารของคน และสัตว์ อาการของโรค คือ ปวดท้อง มีแก๊สในกระเพาะมาก คลื่นไส้ อาเจียน อาจเกิดแผลในลำไส้เล็ก และอาเจียนรุนแรงถึงตายได้ มักพบในอาหารแห้ง

5.3.2.5 *Vibrio parahaemolyticus* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เซลล์รูปท่อนตรง เติบโตได้ทั้งที่มี และไม่มีออกซิเจน ไม่ทนต่ออุณหภูมิสูงและอุณหภูมิต่ำ สามารถทำลายให้หมดไปได้เมื่อให้ความร้อนถึงอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที อาการของโรค คือ มีไข้ คลื่นไส้ อาเจียน และท้องเดิน ถ้าพิษรุนแรงถ่ายออกมาเป็นมูกเลือดคล้ายบิด

5.3.2.6 *Vibrio cholerae* เป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอหิวาตกโรค ปนเปื้อนมากับสัตว์น้ำมีเปลือก เช่น กุ้ง ปู หอย อาการของโรค ปวดท้อง และถ่ายอย่างรุนแรง อาจรุนแรงถึงตายได้ เนื่องจากเสียเกลือแร่ในร่างกายมาก

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบปลาสลิดเค็ม (Dried Salted Fish; *Trichogaster pectoralis* Regan)

1.1 ปลาสลิดที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมี และจุลินทรีย์ เป็นปลาสลิดที่จำหน่ายในตลาดสด ในพื้นที่เขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล มีทั้งหมด 14 ตัวอย่าง ดังนี้

- 1.1.1 ปลาสลิดเค็ม (บางป่อ) จากร้านที่ 1 ตลาดอ.ต.ก.
- 1.1.2 ปลาสลิดเค็ม (บางป่อ) จากร้านที่ 2 ตลาดอ.ต.ก.
- 1.1.3 ปลาสลิดเค็ม (บางป่อ) จากร้านที่ 3 ตลาดอ.ต.ก.
- 1.1.4 ปลาสลิดเค็ม (อยุธยา) จากร้านที่ 1 ตลาดนัด ม. เกษตรศาสตร์
- 1.1.5 ปลาสลิดเค็ม (บางป่อ) จากร้านลุงหมู ตลาดนัด ม. เกษตรศาสตร์ Lot ผลิต 1
- 1.1.6 ปลาสลิดเค็ม (บางป่อ) จากร้านที่ 1 ตลาดบางขุนศรี
- 1.1.7 ปลาสลิดเค็ม (บางป่อ) จากร้านที่ 1 ตลาดบางขุนนนท์
- 1.1.8 ปลาสลิดเค็ม (บางป่อ) จากร้านลุงหมู ตลาดนัด ม. เกษตรศาสตร์ Lot ผลิต 2
- 1.1.9 ปลาสลิดเค็ม (บางป่อ) จากร้านที่ 1 ตลาดน้ำดอนหวาย
- 1.1.10 ปลาสลิดเค็ม (บางป่อ) จากร้านลุงหมู ตลาดนัด ม. เกษตรศาสตร์ Lot ผลิต 3
- 1.1.11 ปลาสลิดเค็ม (บางป่อ) จากร้านลุงหมู ตลาดนัด ม. เกษตรศาสตร์ Lot ผลิต 4
- 1.1.12 ปลาสลิดเค็ม (บางป่อ) จากร้านที่ 1 ตลาดบางพลี
- 1.1.13 ปลาสลิดเค็ม (บางป่อ) จากร้านที่ 2 ตลาดบางพลี
- 1.1.14 ปลาสลิดเค็ม (บางป่อ) จากร้านลุงหมู ตลาดนัด ม. เกษตรศาสตร์ Lot ผลิต 5

1.2 ปลาสลิดเค็มที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรที่ด้านจุลินทรีย์คอกเทล โดยวิธีการแพร่ของสารบนอาหารแข็ง ได้แก่ แหล่งตัวอย่างข้อ 1.1.1-1.1.10

1.3 ปลาสลิดเค็มที่ใช้ในการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากสมุนไพรที่ด้านจุลินทรีย์คอกเทล และทดสอบฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ของสารเคลือบบริโภคได้ผสมสารสกัดจากสมุนไพรได้แก่ แหล่งตัวอย่างข้อ 1.1.11

1.4 พลาสติกเค็มที่ใช้ในการเคลือบเพื่อทดสอบฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ของสารเคลือบบริโกลได้ผสมสารสกัดจากสมุนไพร ได้จากแหล่งผู้ผลิต 3 ราย โดยเป็นพลาสติกเค็มจากการผลิตชุดเดียวกันของผู้ผลิตแต่ละรายได้แก่ แหล่งตัวอย่างข้อ 1.1.12-1.1.14

2. สมุนไพร

- 2.1 กระชายผง (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Sohltr.) จากบริษัท ซี อาร์ เฟี้ยว ไลท์ จำกัด
- 2.2 กระเทียมผง (*Allium sativum* Linn.) จากบริษัท ซี อาร์ เฟี้ยว ไลท์ จำกัด
- 2.3 กานพลูผง (*Eugenia caryophyllus*) จากบริษัท ซี อาร์ เฟี้ยว ไลท์ จำกัด
- 2.4 อบเชยผง (*Cinnamomum* spp. Lauraceae) จากบริษัท ซี อาร์ เฟี้ยว ไลท์ จำกัด

3. สารเคมี

- 3.1 แครรัจี้แนน ชนิดแคปปา-แครรัจี้แนน (Carrageenan MSC 5744) จาก บริษัท ไทยฟู้ด แอนด์ เคมีคอล จำกัด
- 3.2 เมทิลเซลลูโลส (Methocel A15 Premium) จาก บริษัท รามา โปรดัคชัน จำกัด
- 3.3 ไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลส (Methocel E50 Premium) จาก บริษัท รามา โปรดัคชัน จำกัด
- 3.4 โซเดียมแอลจีเนต (Grindsted Alginate FD 175) จาก บริษัท BJC Specialties Co.,Ltd.
- 3.5 กลีเซอรอล จาก J.T. Baker ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.6 กรดแลกติก จาก Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย
- 3.7 โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต จาก Fluka Chemie ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
- 3.8 โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต จาก Fluka Chemie ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
- 3.9 เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ จาก Complex Chemical and Equipment Co., Ltd. ประเทศไทย
- 3.10 สารเคมีวิเคราะห์ปริมาณเกลือโดยการไทเทรต (ภาคผนวก ก)

4. จุลินทรีย์ทดสอบ

- 4.1 *Micrococcus luteus* DMST 15503 จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
- 4.2 *Pseudomonas aeruginosa* DMST 4739 จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
- 4.3 *Staphylococcus aureus* DMST 8840 จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
- 4.4 *Staphylococcus epidermidis* TISTR จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

5. อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 5.1 Nutrient Broth (NB) จาก Difco™ ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 5.2 Nutrient Agar (NA) จาก Difco™ ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 5.3 Potato Dextrose Agar (PDA) จาก Difco™ ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 5.4 Plate Count Agar (PCA) จาก Difco™ ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 5.5 Baird Parker Agar (BP) จาก Difco™ ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 5.6 Salmonella Shigella Agar (SS) จาก Difco™ ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 5.7 Violet Red Bile Agar (VRBA) จาก Difco™ ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 5.8 MacConkey's Agar (MC) จาก Difco™ ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 5.9 Pseudomonas Cetremide Agar (CA) จาก Difco™ ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 5.10 Eosin Methylene Blue Agar (EMB) จาก Difco™ ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 5.11 Egg Yolk Tellulite Sterile จาก Difco™ ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 5.12 Rappaport-Vassiliadis Soya Peptone Broth จาก Difco™ ประเทศสหรัฐอเมริกา

6. อุปกรณ์

- 6.1 ลวดเขี่ยเชื้อ
- 6.2 จานเพาะเชื้อ
- 6.3 หลอดไวแอล ขนาด 20 มิลลิลิตร
- 6.4 หลอดไวแอลสีขา ขนาดบรรจุ 20 มิลลิลิตร
- 6.5 ไมโครปิเปต ขนาด 100-1,000 ไมโครลิตร

- 6.6 ไมโครปิเปต ขนาด 10-200 ไมโครลิตร
- 6.7 หลอดเก็บจุลินทรีย์ ขนาด 1 มิลลิลิตร
- 6.8 แท่งแก้วอ
- 6.9 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 6.10 อุปกรณ์ชุดกรองสาร
- 6.11 ขวด Duran ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 6.12 ขวด Duran ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 6.13 ขวด Duran ขนาด 500 มิลลิลิตร
- 6.14 ขวด Duran ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- 6.15 เหล็กเจาะรู (Cork Borer) เบอร์ 2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร
- 6.16 เหล็กเจาะรู เบอร์ 4 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร
- 6.17 แท่งแม่เหล็กกวนสาร (Magnetic Bar)
- 6.18 แผ่นกระจก
- 6.19 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4
- 6.20 ชุดเครื่องแก้วและอุปกรณ์สำหรับการทดลอง

7. เครื่องมือ

- 7.1 เครื่องชั่งน้ำหนัก ความละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น Satorius BP2100S ประเทศเยอรมัน
- 7.2 เครื่องชั่งน้ำหนัก ความละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น Satorius BP110S ประเทศเยอรมัน
- 7.3 หม้อนึ่งความดัน (Huxley) รุ่น HL-340 ประเทศไต้หวัน
- 7.4 เครื่องวัดความหนา (Digimatic Thickness Gage) รุ่น ID-C112BS Mitutoyo Corp. ประเทศญี่ปุ่น
- 7.5 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert) ประเทศเยอรมัน
- 7.6 ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ (Memmert) รุ่น INE 700 ประเทศเยอรมัน
- 7.7 เครื่องผสม (Vortex Mixer) รุ่น CTL 107 ประเทศแคนาดา
- 7.8 เครื่องกำจัดฟองอากาศ (TRU-SWEEP Ultrasonic Cleaner) รุ่น 2750 ประเทศสหรัฐอเมริกา

- 7.9 เครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator and Aspirator) รุ่น Buchi Rotavapor R-200 ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
- 7.10 ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ รุ่น WTB Binder ประเทศเยอรมัน
- 7.11 ตู้ปลอดเชื้อ (ISSCO Laminar Flow) รุ่น VS-123 ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 7.12 เตาไฟฟ้าพร้อมเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (Hotplate Stirrer) รุ่น HTS1003 ประเทศญี่ปุ่น
- 7.13 เครื่องวัดความสูงของเครื่องปาดฟิล์ม (Thickness Gauge)
- 7.14 เวอร์เนียร์ คาลิเปอร์ (Vernier Caliper) รุ่น Macoh
- 7.15 เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)
- 7.16 เครื่องตีปั่นอาหาร (Bagmixer) รุ่น 400 ประเทศฝรั่งเศส
- 7.17 เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (a_w Analyzer) รุ่น Testo 650 ประเทศเยอรมัน
- 7.18 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (Moisture Analyzer) รุ่น Satorious MA 40 ประเทศเยอรมัน
- 7.19 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณเกลือ (Salometer) แบบพกพา รุ่น 30006 Salt Refractometer, Specific Gravity 0-32 เปอร์เซนต์

วิธีการ

1. การเตรียมจุลินทรีย์

เก็บรักษาจุลินทรีย์ทดสอบเริ่มต้นในอาหารเหลว NB ที่เติมกลีเซอรอลปลอดเชื้อ 40 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร ที่ -18 องศาเซลเซียส นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว NB เพื่อกระตุ้นให้เซลล์เติบโต โดยบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเช็ดลงในอาหารวุ้นแข็ง NA บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แยกโคโลนีเดี่ยวออกมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว NB บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และปรับปริมาณความเข้มข้นของจุลินทรีย์ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ค่าความเป็นกรด-เบส 7.0) ให้มีจำนวนเซลล์มีชีวิต 10^6 – 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร โดยการนับโคโลนีแบบ Pour Plate ในอาหารวุ้นแข็ง NA

เตรียมจุลินทรีย์ค็อกเทล (Cocktail Stock) จากตัวอย่างอาหารพลาสติกเค็มแต่ละแหล่ง โดยนำตัวอย่างพลาสติกเค็ม 25 กรัม และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร ตีปั่นในเครื่องตีปั่น

อาหาร คูดสารละลายตัวอย่างที่ตีปั่นได้ 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร เจือจางอาหารผสมที่ได้ลงทีละ 10 เท่า (Ten-Fold Dilutions) ที่ระดับการเจือจาง 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} อาหารผสมที่นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง NA ด้วยวิธี Pour Plate เรียกว่า คอกเทลแบคทีเรีย และอาหารผสมที่นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง PDA (pH 5.5) ด้วยวิธี Spread Plate เรียกว่า คอกเทล จุลินทรีย์ในพลาสติกเค็ม

2. การเตรียมสารสกัดหยาบ (Crude Extracts) จากพืชสมุนไพร

ชั่งตัวอย่างสมุนไพรผง ซึ่งมีขนาด 40/60 mesh และความชื้นต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนัก 10 กรัม ใส่ลงในขวดขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น หรือเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ตั้งอุณหภูมิตั้งไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (วาทินี, 2546) จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 และนำสารสกัดที่ได้ไปทำให้เข้มข้นขึ้น โดยใช้เครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator) ที่ 50 องศาเซลเซียส ความดัน 100-150 มิลลิบาร์ จนกระทั่งสารสกัดเหลือ 1 ใน 4 ของปริมาตรเริ่มต้น ปรับปริมาตรโดยเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ทำให้สารสกัดเข้มข้นขึ้นจนกระทั่งเหลือสารสกัด 10 มิลลิลิตร บรรจุสารสกัดที่ได้ในขวดแก้วสีชาปิดสนิทและเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส

3. การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์ของตัวอย่างพลาสติกเค็ม

นำตัวอย่างพลาสติกเค็มทั้ง 14 ตัวอย่าง (ข้อ 1.1.1-1.1.14) มาตรวจวิเคราะห์คุณภาพ ดังนี้

3.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีของตัวอย่างพลาสติกเค็ม

3.1.1 การวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอกติวิตี ด้วยเครื่องวิเคราะห์ค่า a_w

3.1.2 การวิเคราะห์ค่าความชื้น ด้วยเครื่องวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

3.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณเกลือ ด้วยเครื่องวัดปริมาณเกลือ และวิธีการไทเทรต ตามภาคผนวก ก

3.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างพลาสติกเค็ม

การวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์-รา และจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, PDA และ อาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ (Selective Difference Agar) ตามลำดับ โดยเตรียมตัวอย่างอาหารที่ระดับความเข้มข้น 1:10 นำตัวอย่างพลาสติกเค็ม 25 กรัม และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร ตีปั่นในเครื่องตีปั่นอาหาร คูดสารละลายตัวอย่างที่ตีปั่นได้ 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร เจือจางอาหารผสมที่ได้ลงทีละ 10 เท่า โดยคูดสารละลายอาหารผสมเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เพาะจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค Pour Plate บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, NA, VRBA, MC, EMB และ BP และเทคนิค Spread Plate Agar บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA (pH 3.5, 5.5) และ CA วิเคราะห์ผลโดยการสังเกต และนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

สำหรับการวิเคราะห์หา *Salmonella* sp. โดยเตรียมตัวอย่างอาหารที่ระดับความเข้มข้น 1:10 โดยนำตัวอย่างพลาสติกเค็ม 25 กรัม และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร ตีปั่นในเครื่องตีปั่นอาหาร นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง คูดสารละลายตัวอย่างที่ตีปั่นและบ่มแล้ว 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Rappaport-Vassiliadis Soya Peptone Broth 9 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำลวดเขี่ยเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเปลวไฟแล้ว จุ่มลงในอาหารเหลวที่บ่มไว้ แล้วแยกเชื้อด้วยเทคนิค Streak Plate ลงบนอาหารแข็ง SS นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลโดยการสังเกตโคโลนีที่เกิดขึ้น

หมายเหตุ PCA สำหรับวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count)
 NA สำหรับวิเคราะห์แบคทีเรียทั้งหมด (Bacteria)
 VRBA สำหรับวิเคราะห์ Enterobacteriaceae (โคโลนีเยิ้ม ขนาดใหญ่ สีแดงอมชมพู)
 MC สำหรับวิเคราะห์ Coliform (โคโลนีสีแดง)
 EMB สำหรับวิเคราะห์ *E. coli* (โคโลนีสีม่วงแดง หรือม่วงดำ ไม่เยิ้ม อาจมีจุดตรงกลางโคโลนี อาจมี Metallic Sheen)

BP สำหรับวิเคราะห์ *S. aureus* (โคโลนีเติบโตจนถึงดีมาก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 1.0-1.5 มิลลิเมตร ในเวลา 18 ชั่วโมงหลังจากการบ่ม จนถึง 3-5 มิลลิเมตร ในเวลา 48 ชั่วโมง โคโลนีมีสีดำเป็นมันวาว ลักษณะโค้งมน ขอบเรียบ มีเส้นตะกอนสีขาวเล็กๆ ล้อมรอบ และมีบริเวณใสขนาด 2-5 มิลลิเมตร ล้อมรอบโคโลนีอีกทีหนึ่ง)

PDA (pH 3.5) สำหรับวิเคราะห์ปริมาณยีสต์-รา (Yeast-Mold)

CA สำหรับวิเคราะห์ *Pseudomonas* sp. (โคโลนีเรืองแสง สีเขียว)

SS สำหรับวิเคราะห์ *Salmonella* sp. (โคโลนีไม่มีสี โปร่งแสง มีจุดสีดำกลางโคโลนี บริเวณสีเหลืองอมน้ำตาลรอบๆ โคโลนี)

4. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ต้านจุลินทรีย์โดยวิธีการแพร่ของสารในอาหารแข็ง

4.1 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ต้านจุลินทรีย์ทดสอบโดยวิธีการแพร่ของสารในอาหารแข็ง

ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรที่ต้านการเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบ โดยใช้เทคนิคประยุกต์ Well Assay (Rauha *et al.*, 2000) ใช้จุลินทรีย์ทดสอบที่มี จำนวนเซลล์ประมาณ 1×10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารแข็ง NA วางให้ผิวหน้าอาหารแข็งแห้ง 30 นาที และเจาะหลุมด้วยเหล็กเจาะรูที่ปลอดเชื้อ เบอร์ 2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร (Okeke *et al.*, 2001) เติมสารสกัดจากสมุนไพรความเข้มข้น 500, 750 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงหลุมละ 40 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นที่ปลอดเชื้อเป็นตัวควบคุมที่หลุมตรงกลาง บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน โดยใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์ ซึ่งรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของหลุมด้วย โดยวัดจากบริเวณต้านตั้งแต่ 7 มิลลิเมตรขึ้นไป (Nascimento *et al.*, 2000)

4.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ต้านจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม โดยวิธีการแพร่ของสารในอาหารแข็ง

ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรที่ต้านการเติบโตของจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม 10 แหล่ง จากแหล่งตัวอย่างข้อ 1.1.1-1.1.10 โดยใช้เทคนิคประยุกต์ Well Assay (Rauha *et al.*, 2000) ใช้อาหารผสมจากตัวอย่างพลาสติกเค็มที่ระดับการเจือจาง 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารแข็ง NA สำหรับแบคทีเรีย ด้วยวิธี Pour Plate และปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ในอาหารแข็ง PDA สำหรับยีสต์-รา ด้วยวิธี Spread Plate วางให้ผิวหน้าอาหารแข็งแห้ง 30 นาที เจาะหลุมด้วยเหล็กเจาะรูที่ปลอดเชื้อ เบอร์ 2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

(Okeke *et al.*, 2001) เติมสารสกัดจากสมุนไพรความเข้มข้น 250, 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร ลงหลุมละ 40 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นตัวควบคุมที่หลุมตรงกลาง บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรีย และที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับยีสต์-รา ตรวจผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน โดยใช้ เวอร์เนียร์คาลิเปอร์ ซึ่งรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของหลุมด้วย โดยวัดจากบริเวณต้านตั้งแต่ 7 มิลลิเมตร ขึ้นไป (Nascimento *et al.*, 2000)

5. การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์และ การศึกษาความเสถียรของสารสกัดระหว่างการเก็บรักษา

5.1 การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์ ทดสอบ และศึกษาความเสถียรของสารสกัดระหว่างการเก็บรักษา

ทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของการต้านจุลินทรีย์ (MIC) ของจุลินทรีย์ทดสอบโดยใช้ เทคนิคประยุกต์ Well Assay (Rauha *et al.*, 2000) ใช้จุลินทรีย์ทดสอบที่มี จำนวนเซลล์ประมาณ 1×10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารแข็ง NA วางให้ผิวหน้าอาหารแข็งแห้ง 30 นาที และเจาะหลุมด้วยเหล็กเจาะรูที่ปลอดเชื้อ เบอร์ 2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร (Okeke *et al.*, 2001) จำนวน 4 หลุม เติมสารสกัดจากตัวอย่างสมุนไพรให้มีความเข้มข้น ดังนี้ 31.25, 62.5, 100, 125, 200, 250, 500, 750 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เติมสารสกัดจาก ตัวอย่างสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในหลุมวันหลุมละ 40 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นปลอด เชื้อเป็นตัวควบคุมที่หลุมตรงกลาง นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกความ เข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากสมุนไพรที่สามารถสร้างบริเวณต้านการเติบโต และวัดเส้นผ่าน ศูนย์กลางของบริเวณต้าน นำสารสกัดจากสมุนไพรมาทดสอบซ้ำหลังจากเก็บไว้นาน 1, 2, 6 และ 8 สัปดาห์ ที่ 4 องศาเซลเซียส

5.2 การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ด้านการเติบโตของ จุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเดิม

ทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของการต้านจุลินทรีย์ ของจุลินทรีย์คอกเทล โดยใช้เทคนิค ประยุกต์ Well Assay (Rauha *et al.*, 2000) ใส่อาหารผสมจากตัวอย่างพลาสติกเดิมจากแหล่ง ตัวอย่างข้อ 1.1.11 ที่ระดับการเจือจาง 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารแข็ง NA สำหรับแบคทีเรีย ด้วยวิธี Pour Plate และปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ในอาหารแข็ง PDA สำหรับยีสต์-รา ด้วยวิธี Spread Plate วางให้ผิวหน้าอาหารแข็งแห้ง 30 นาที แล้วเจาะหลุมวุ้นจำนวน 4 หลุม โดยใช้ เหล็กเจาะวุ้นที่ปลอดเชื้อ No.2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เตรียมสารสกัดจากตัวอย่าง สมุนไพรให้มีความเข้มข้น ดังนี้ 31.25, 62.5, 125, 250, 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เติม สารสกัดจากสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในหลุมวุ้นหลุมละ 40 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่น ปลอดเชื้อเป็นตัวควบคุมที่หลุมตรงกลาง บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับ แบคทีเรีย และที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับยีสต์-รา บันทึกความเข้มข้นต่ำสุด ของสารสกัดจากสมุนไพรที่สามารถสร้างบริเวณต้านจุลินทรีย์ และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ บริเวณต้าน

6. การศึกษาหาสารเคลือบบริโภคได้ต้านจุลินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับพลาสติกเดิม

สารไฮโดรคอลลอยด์ที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ แครร์ราจีแนน โซเดียมแอลจิเนต เมทิล เซลลูโลส และไฮดรอกซีพروพิลเมทิลเซลลูโลส

ชั่งสารไฮโดรคอลลอยด์แต่ละชนิด 1.5, 2.0 และ 2.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 1.5, 2.0 และ 2.5 น้ำหนักต่อปริมาตรตามลำดับ) แครร์ราจีแนน โซเดียมแอลจิเนต ละลายที่ 80 องศาเซลเซียส ส่วนเมทิลเซลลูโลส และไฮดรอกซีพروพิลเมทิล เซลลูโลส ละลายที่อุณหภูมิห้องทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นนำไปใส่ฟองอากาศ ก่อนนำพลาสติกเดิมชุบลง ไปในสารละลายที่เตรียมไว้ ศึกษาลักษณะปรากฏของการเคลือบติด ได้แก่ ความหนา การนิ่มขาด สี ความโปร่งแสง ความมันวาว และการลอกออกได้ง่าย ศึกษาหาชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสม ของสารไฮโดรคอลลอยด์ โดยหาสารที่สามารถเคลือบติดที่ผิวพลาสติกเดิมได้เหมาะสมที่สุด โดย ประเมินผลจากการเกาะติดกับพื้นผิวของพลาสติกเดิม และสามารถลอกออกได้ง่าย กรณีทิ้งไว้นาน หลายวันสามารถลอกออกได้ง่ายด้วยการล้างน้ำ

7. การทดสอบฤทธิ์ของสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์โดยวิธีการแพร่ในอาหารแข็ง

คัดเลือกสารเคลือบบริโกลได้ที่เหมาะสมต่อการเคลือบติด จากข้อ 6 เตรียมสารละลาย ดังกล่าว จากนั้นนำไปใส่ฟองอากาศ แล้วเติมสารสกัดจากสมุนไพรด้านจุลินทรีย์แต่ละชนิดลงไป โดยใช้ความเข้มข้นเป็น 1, 5 และ 10 เท่าของ MIC ที่ได้จากข้อ 5 (1xMIC, 5xMIC และ 10xMIC) และสารละลายที่ไม่เติมสารสกัดจากสมุนไพรมีเป็นตัวควบคุม (0xMIC) เทสารละลาย ลงในช่องปาดฟิล์มที่กำหนดความหนา 1 มิลลิเมตร ปาดฟิล์มบนเพลทกระจกที่มีขนาด 20x22 ตารางเซนติเมตร นำไปผึ่งพดลมที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตัดเป็นชิ้นด้วยเหล็กเจาะรูที่ปลอดเชื้อ เบอร์ 4 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร นำไปทดสอบฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์

7.1 ทดสอบฤทธิ์ของสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์ทดสอบ

ทดสอบฤทธิ์โดยใช้วิธีการแพร่ของสารทดสอบในอาหารแข็ง อ้างอิงจากวิธีการของ Pranoto *et al.* (2005b) และศิริัญญา (2545) โดยวิธีการ Pour Plate ใช้จุลินทรีย์ทดสอบที่มี จำนวนเซลล์ประมาณ 1×10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA วางให้ผิวหน้าอาหารแข็งแห้ง 30 นาที จากนั้นวางสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์ที่เติมสารสกัดจากสมุนไพรมี 1xMIC, 5xMIC และ 10xMIC บนอาหารแข็ง และสารเคลือบบริโกลได้ที่ไม่ใส่สารสกัดจากสมุนไพรมีเป็นตัวควบคุมไว้ตรงกลาง บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ซึ่งรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์ด้วย

7.2 ทดสอบฤทธิ์ของสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเดิม

ทดสอบฤทธิ์โดยใช้วิธีการแพร่ของสารทดสอบในอาหารแข็ง อ้างอิงจากวิธีการของ Pranoto *et al.* (2005b) และศิริัญญา (2545) ใส่อาหารผสมจากตัวอย่างพลาสติกเดิมจากแหล่งตัวอย่างข้อ 1.1.11 ที่ระดับการเจือจาง 10^{-1} ลงในอาหารแข็ง NA สำหรับแบคทีเรีย ด้วยวิธี Pour Plate และอาหารแข็ง PDA สำหรับยีสต์-รา ด้วยวิธี Spread Plate วางให้ผิวหน้าอาหารแข็งแห้ง 30 นาที จากนั้นวางสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์ที่เติมสารสกัดจากสมุนไพรมี 1xMIC, 5xMIC และ 10xMIC บนอาหารแข็ง และสารเคลือบบริโกลได้ที่ไม่ใส่สารสกัดจากสมุนไพรมีเป็นตัวควบคุมไว้ตรงกลาง บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรีย และที่ 30 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับยีสต์-รา ตรวจสอบโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ซึ่งรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์ด้วย

8. ศึกษาฤทธิ์ของสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์ในการยืดอายุการเก็บของพลาสติกเค็ม

8.1 การเตรียมสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์

เตรียมสารละลายสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์ ตามข้อ 7 และเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากสมุนไพรขึ้นอีกระดับหนึ่ง คือ 15xMIC

8.2 การเคลือบพลาสติก

นำสารละลายจากข้อ 8.1 มาใช้ในการเคลือบ และใช้สารละลายสารเคลือบบริโกลได้ที่ไม่เติมสารสกัด และพลาสติกเค็มไม่เคลือบเป็นตัวอย่างควบคุม โดยจุ่มพลาสติกเค็มจากแหล่งตัวอย่างข้อ 1.1.12-1.1.14 ลงไปในสารละลาย แล้วนำพลาสติกเค็มที่ได้แขวนในตู้มุ้งลวด ผึ่งให้แห้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส) โดยแขวนในตู้มุ้งลวด และอุณหภูมิแช่เย็น (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) โดยเก็บตัวอย่างพลาสติกเค็มแต่ละตัวในถุงพอลิพรอพิลีนที่พับปากถุง แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น

8.3 การวิเคราะห์คุณภาพพลาสติกเค็มเคลือบสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์

สุ่มตัวอย่างจากตัวอย่างทดลอง และตัวอย่างควบคุม ซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0, 1, 4, 7, 10, 14, 17 และ 20 วัน มาตรวจวิเคราะห์ค่า a_w จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และยีสต์-รา

สุ่มตัวอย่างจากตัวอย่างทดลอง และตัวอย่างควบคุม ซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น เป็นเวลา 0, 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน มาตรวจวิเคราะห์ค่า a_w จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และยีสต์-รา

เตรียมตัวอย่างอาหารที่ระดับความเข้มข้น 1:10 โดยนำตัวอย่างพลาสติกเค็ม 25 กรัม และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร ตีปั่นในเครื่องตีปั่นอาหาร ผสมสารละลายตัวอย่างที่ตีปั่นได้ 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร เจือจางอาหารผสมที่ได้ลงทีละ 10

ทำ การวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และยีสต์-รา โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และ PDA (pH 3.5) ตามลำดับ คูดสารละลายอาหารผสมเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เพาะจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค Pour Plate แล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับ PCA และใช้เทคนิค Spread Plate แล้วนำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับ PDA

9. การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างตัวอย่างด้วย Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 11.5 for Windows ในการวิเคราะห์ทางสถิติ

10. สถานที่และระยะเวลาในการทำงานวิจัย

10.1 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

วิสาหกิจชุมชนวังกุ่ม-วังปลาสดทอง อำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร

10.2 ระยะเวลาทำการวิจัย

ทำการวิจัยตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2549 และสิ้นสุดเดือนเมษายน พ.ศ. 2551

ผลและวิจารณ์

1. การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์ของตัวอย่างพลาสติกเค็ม

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2536) กำหนดมาตรฐานทางด้านเคมีของพลาสติกเค็มไว้ ดังนี้ ค่าวอเตอร์แอกติวิตี ไม่เกิน 0.850 ซึ่งจากการวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมีของตัวอย่างพลาสติกเค็ม 14 ตัวอย่าง พบว่ามีค่าวอเตอร์แอกติวิตีอยู่ในช่วง 0.808-0.875 โดยมีตัวอย่างที่มีค่าเกินมาตรฐานกำหนด 6 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 14 ตัวอย่าง คิดเป็น 42.86 เปอร์เซ็นต์ ค่าความชื้นอยู่ในช่วง 34.20-47.11 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเกลืออยู่ในช่วง 20-32 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวัดปริมาณเกลือ (Salometer) และอยู่ในช่วง 18.70-45.41 เปอร์เซ็นต์สำหรับการวิเคราะห์ด้วยการไทเทรต เพื่อเปรียบเทียบปริมาณเกลือทั้ง 2 วิธี เนื่องจากการวัดค่าด้วยเครื่องมือมีความสะดวก รวดเร็ว แต่อาจมีความคลาดเคลื่อน จึงวิเคราะห์ด้วยการไทเทรตควบคู่ไป เพื่อยืนยันค่าที่ได้ และเป็นข้อมูลพื้นฐาน สำหรับงานวิจัยต่อไป การวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลินทรีย์ ดังตารางที่ 1 พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 6.7-9.4 logCFU/g เนื่องจากไม่พบยีสต์-รา (pH 3.5) ในตัวอย่างที่ 1-11 แต่พบในตัวอย่างที่ 12-14 อยู่ในช่วง 3.6-3.9 logCFU/g ดังนั้นจึงปรับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA . ให้มีค่า pH 5.5 ให้มีจุลินทรีย์ชนิดอื่นเติบโตร่วมด้วย เพื่อดูการเกิดบริเวณด้านของจุลินทรีย์ พบจุลินทรีย์ อยู่ในช่วง 6.6-9.5 logCFU/g สำหรับการวิเคราะห์แบคทีเรีย พบอยู่ในช่วง 6.5-9.6 logCFU/g ซึ่งสอดคล้องกับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นจุลินทรีย์ที่พบในตัวอย่างพลาสติกเค็ม ส่วนใหญ่น่าจะปนเปื้อนจากแบคทีเรีย ส่วนยีสต์-รา จะพบที่บริเวณผิวหน้าของตัวอย่างพลาสติกเค็ม เนื่องจากต้องการอากาศในการเติบโต

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2536) กำหนดมาตรฐานด้านจุลินทรีย์ของพลาสติกเค็มไว้ ดังนี้ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 1×10^5 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (5 logCFU/g) *S. aureus* ไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (2 logCFU/g) ราไม่เกิน 2×10^2 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (2.3 logCFU/g) แต่จากการสุ่มตัวอย่างพลาสติกเค็มจากตามตลาดมา 14 แหล่ง ตามแหล่งตัวอย่างข้อ 1.1.1-1.1.14 มาวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์ตามตารางที่ 1 พบว่า ตัวอย่างพลาสติกเค็มทั้งหมดไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จึงวิเคราะห์ชนิดของจุลินทรีย์เพิ่มเติม เพื่อแยกชนิดของจุลินทรีย์ที่พบมากในพลาสติกเค็ม และอาจเป็นสาเหตุการเน่าเสีย

จากตารางที่ 1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ คือ อยู่ในช่วง 6-9 logCFU/g และยีสต์-รา ถึงแม้จะไม่พบในตัวอย่างที่ 1-11 แต่อีก 3 ตัวอย่าง พบว่าเกินเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ คือ มียีสต์-รา มากกว่า 3 logCFU/g พบการปนเปื้อนของ *S. aureus* ซึ่งมีค่าเกินเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้เช่นกัน คือ มากกว่า 5 logCFU/g แม้ว่าจะพบ 50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งหมดจากการสุ่มตรวจ และมีปริมาณแบคทีเรีย มากกว่า 6 logCFU/g นอกจากนี้ยังพบจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน ที่บ่งบอกถึงสุขอนามัยของผู้ผลิต หรือผู้จำหน่าย คือ *Salmonella* sp.พบ 10 ตัวอย่างจากทั้งหมด 14 ตัวอย่าง คิดเป็น 71.43 เปอร์เซ็นต์ที่พบการปนเปื้อนจาก *Salmonella* sp.ในพลาสติกเค็ม ยกเว้น Enterobacteriaceae sp., *Pseudomonas* sp., Coliform Bacteria และ *E. coli* ที่ไม่พบในตัวอย่างทั้งหมดที่ตรวจสอบ จากการสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลินทรีย์ โดยสุ่มตัวอย่างมาจากผู้ผลิต หรือผู้จำหน่าย พบว่า สอดคล้องกับการทดลองของ เดิมศักดิ์ (2526) และมัทนา (2533) ที่พบ *S. aureus* และ *Pseudomonas* sp. ซึ่งพบในปริมาณน้อย แต่จากการตรวจสอบไม่พบการปนเปื้อนของ *Pseudomonas* sp. นอกจากนี้มัทนา (2523) ยังวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลินทรีย์ของพลาสติกเค็มพบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด 9 logCFU/g

รังสิณี (2550) กล่าวว่า แหล่งของจุลินทรีย์ที่มีในอาหาร ส่วนที่พบในดิน และน้ำ ได้แก่ *Clostridium* sp., *Enterobacter* sp., *Micrococcus* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp. และ *Penicillium* sp. ส่วนที่พบในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ และสัตว์ ได้แก่ *E. coli*, *Clostridium* sp. และ *Lactobacillus* sp. ส่วนที่พบในการผลิต และการจำหน่ายอาหาร โดยมาจากดิน น้ำ ฝุ่นละออง สู่เครื่องมือ อุปกรณ์ในการผลิตอาหาร ภาชนะบรรจุ และผู้ประกอบการ ได้แก่ *Salmonella* sp., *Shigella* sp. และ *Staphylococcus* sp. และส่วนที่พบในอากาศ และฝุ่นละออง ได้แก่ *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp. และ *Staphylococcus* sp. ดังนั้นการตรวจสอบจุลินทรีย์ ที่พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ จาก *Salmonella* sp. และ *Staphylococcus* sp. ในตัวอย่างพลาสติกเค็ม อาจเป็นผลจากการปนเปื้อนในการเลี้ยงปลาเนื่องจากโคลน กรรมวิธีการผลิต การตากแห้ง การวางจำหน่าย การขนส่ง หรือสุขอนามัยของผู้ผลิต และผู้จำหน่าย อาจเนื่องมาจากจุลินทรีย์เหล่านี้ปนเปื้อนมาจาก น้ำ ดิน ฝุ่น อากาศ อุจจาระ เชื้อโรคในลำไส้ หรือระบบทางเดินอาหาร

จากการวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลินทรีย์ของแหล่งตัวอย่าง 14 ตัวอย่าง พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ แสดงว่า พลาสติกเค็มที่บริโภคกันทุกวันนี้ เป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้มาตรฐาน อาจเนื่องมาจากกระบวนการผลิตพลาสติกเค็มระดับชุมชน ที่ไม่ได้มีการควบคุม ทั้งเรื่องสุขลักษณะส่วนบุคคล ความสะอาดของภาชนะบรรจุ และอุปกรณ์เครื่องมือที่

ใช้ในการผลิต กรรมวิธีการผลิต การตากแห้ง การขนส่ง และการวางจำหน่าย ไม่ได้มีการจัดการ และควบคุมระบบการผลิตที่ดี ให้ปลอดภัย ไม่มีการวิเคราะห์ขั้นตอนการผลิตว่าขั้นตอนใดมีความเสี่ยงที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนได้สูง จึงขาดการเฝ้าระวัง ส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารเป็นจำนวนมากจนเกินเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้อาจทำให้เกิดอันตรายกับผู้บริโภคได้ ถึงแม้พลาสติกเค็มต้องผ่านการให้ความร้อนก่อนบริโภค แต่สารพิษของจุลินทรีย์สามารถทนความร้อนได้สูง เช่น *S. aureus* จะสร้างสารเอนเทอโรทอกซิน (Enterotoxin) ซึ่งเป็นสารพิษ ทนความร้อนได้สูง โดยสารพิษสามารถทนความร้อนได้ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และ 143.3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วินาที สารพิษที่ผลิตจาก *S. aureus* ไม่ทำให้รูปสัมผัสของอาหารมีการเปลี่ยนแปลงใดๆ เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษเข้าไปเป็นเวลาประมาณ 1-6 ชั่วโมง จะมีอาการเป็นพิษเกิดขึ้น เนื่องจากสารพิษไปออกฤทธิ์ที่เยื่อลำไส้ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และท้องเดิน และเป็นสาเหตุของโรคท้องร่วง (Diarrheal) พิษอาจรุนแรง และถึงแก่ความตายได้ โดยอาหารที่ตรวจพบ *S. aureus* มักจะเกิดสารพิษก่อนแสดงอาการเน่าเสีย แบคทีเรียชนิดนี้ก่อให้เกิดโรค Staphylococcus aureus Intoxication โดยสามารถพบจุลินทรีย์ชนิดนี้ได้ทั่วไปในอากาศ ตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย ได้แก่ ผิวหนัง รูขุมขน เยื่อหู (มัทนา, 2545) ซึ่งจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถปนเปื้อนได้ง่ายจากผู้ผลิต หรือผู้จำหน่าย ดังนั้นจึงควรมีมาตรการควบคุม เพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ ที่ปนเปื้อนมากับผลิตภัณฑ์อาหาร

เมื่อพิจารณาถึงมาตรฐานที่กำหนด พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีค่ากำหนดที่ต่ำไปสำหรับอาหารดิบ ซึ่งมีค่าเท่ากับอาหารพร้อมบริโภค คือ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 1×10^5 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ($5 \log \text{CFU/g}$) เห็นควรให้มีการพิจารณาทบทวนมาตรฐานอาหารดิบ โดยตรวจสอบมาตรฐานเพิ่มเติม เนื่องจากพลาสติกเค็มต้องผ่านความร้อนก่อนบริโภค ทั้งนี้ หากมีค่าเกณฑ์มาตรฐานกำหนดที่ทำได้ยาก ผู้ผลิตไม่สามารถทำให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานได้ อาจเป็นการส่งเสริมทางอ้อมให้ผู้ผลิตใช้สารต้านจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นสารเคมีสังเคราะห์ เช่น การลักลอบใช้สารฟอร์มาลิน เนื่องจากต้องการผลที่ฉับ และป้องกันจุลินทรีย์ได้อย่างชะงัก ส่งผลให้ผู้บริโภคหวาดระแวงในการบริโภค และอาจเกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้

เนื่องจาก พลาสติกเค็ม ที่วางขายตามท้องตลาด มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่บ่งชี้ถึงสุขอนามัยของผู้ผลิต และผู้จำหน่าย รวมทั้งจุลินทรีย์ที่เกินกำหนดตามสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ดังนั้น งานวิจัยในขั้นต่อไป จึงเลือกใช้สารสกัดจากสมุนไพรเพื่อป้องกันการเติบโตของจุลินทรีย์แทนการใส่สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค เนื่องจากในอดีตมีข่าวว่าพบ

พลาสติกเค็มจำหน่ายในท้องตลาดมีการปนเปื้อนของสารฟอร์มาลีน ซึ่งเป็นสารอันตราย และห้ามใช้กับอาหาร ทำให้ผู้บริโภคส่วนหนึ่งเลิกบริโภคพลาสติกเค็ม มีผลทำให้ยอดขายของพลาสติกเค็มลดลงมาก เป็นผลกระทบรุนแรงต่อผู้ผลิต จึงเป็นเหตุจูงใจให้ทำการวิจัยเรื่องการพัฒนาสารเคลือบบริโภคได้ร่วมกับการใช้สารสกัดจากสมุนไพรต้านจุลินทรีย์

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์ของตัวอย่างพลาสติกเค็ม

คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์	ผลวิเคราะห์ พลาสติกเค็ม 14 ตัวอย่าง	ค่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์ อุตสาหกรรม (มอก. 1199-2536)	จำนวนตัวอย่าง ที่ไม่ผ่านเกณฑ์ มอก. 1199-2536
ค่าวอเตอร์แอกติวิตี	0.808-0.875	≤ 0.850	6
เปอร์เซ็นต์ความชื้น	34.20-47.11	-	-
เปอร์เซ็นต์เกลือ (เครื่องวัดปริมาณเกลือ)	20-32	-	-
เปอร์เซ็นต์เกลือ (ไทเทรต)	18.70-45.41	-	-
จุลินทรีย์ทั้งหมด (logCFU/g)	6.7-9.4	≤ 5.0	14
ยีสต์-รา (PDA pH 3.5) (logCFU/g)	n.d.-3.9	≤ 2.3	3
จุลินทรีย์ (PDA pH 5.5) (logCFU/g)	6.6-9.5	-	-
แบคทีเรีย (NA) (logCFU/g)	6.5-9.6	-	-
<i>S. aureus</i> (logCFU/g)	n.d.-7.3	≤ 2.0	7
Enterobacteriaceae (logCFU/g)	n.d.	-	-
<i>E. coli</i> (logCFU/g)	n.d.	-	-
Coliform Bacteria (logCFU/g)	n.d.	-	-
<i>Pseudomonas</i> sp. (logCFU/g)	n.d.	-	-
<i>Salmonella</i> sp.	positive	-	10

หมายเหตุ n.d. ไม่พบจุลินทรีย์

2. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ต้านจุลินทรีย์โดยวิธีการแพร่ของสารในอาหารแข็ง

2.1 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ต้านจุลินทรีย์ทดสอบโดยวิธีการแพร่ของสารในอาหารแข็ง

ผลการทดสอบในตารางที่ 2-3 แสดงประสิทธิภาพที่ด้านการเติบโตของแบคทีเรียของสารสกัดจาก กระชาย กระเทียม กานพลู และอบเชย โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่น และเอทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งทดสอบกับแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus* และ *P. aeruginosa* พบว่าสารสกัดจากกระเทียมไม่แสดงการต้านแบคทีเรียทดสอบทั้ง 4 สายพันธุ์ สอดคล้องกับ Onyeagba *et al.* (2004) ที่พบว่าสารสกัดจากกระเทียมด้วยน้ำกลั่น และเอทิลแอลกอฮอล์ ไม่แสดงบริเวณต้านของ *S. aureus* แต่ทั้งนี้มียางานของ Arora and Kaur (1999) ที่ศึกษาความสามารถของกระเทียมที่ด้านการเติบโตของแบคทีเรียพบว่า สารสกัดของกระเทียมสามารถต้านการเติบโตของ *S. epidermidis* ภายในเวลา 1 ชั่วโมงของการบ่ม และสามารถต้านการเติบโตของ *S. Typhi* ภายใน 3 ชั่วโมง จากรายงานของ Unal *et al.* (2001) พบว่า น้ำกระเทียมสด สามารถต้านการเติบโตของจุลินทรีย์ได้หลายชนิด โดยแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบเป็นแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ พบว่า น้ำกระเทียมสดไม่สามารถต้าน *L. mesenteroides* แต่ด้านการเติบโตของ *E. coli* B-103 นอกจากนี้ Pranoto *et al.* (2005b) พบว่าฟิล์มแอลจินเตตินน้ำมันกระเทียมตั้งแต่ 0.2 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป สามารถต้านจุลินทรีย์ที่ก่อโรค *S. aureus* และ *B. cereus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ไม่ด้านการเติบโตของ *E. Coli* และ *S. Typhimurium* และพบว่าน้ำมันกระเทียมไม่มีผลต่อสมบัติทางกายภาพ และทางกลของฟิล์มสามารถนำไปใช้กับอาหารได้ดี ซึ่งจากรายงานดังกล่าวมีทั้งความสอดคล้อง และแตกต่างกันอาจมีสาเหตุจากแหล่งที่มาของกระเทียม วิธีการสกัด ชนิดของกระเทียม (สด/อบแห้ง) ที่นำมาสกัดวิธีการทดสอบ รวมทั้งชนิด และแหล่งที่มาของจุลินทรีย์

สำหรับสารสกัดจากกระชายแสดงบริเวณต้าน *Staphylococcus* sp. ทั้งสองสายพันธุ์ แต่แสดงบริเวณต้านน้อยกว่าสารสกัดจากกานพลู และอบเชย ดังภาพที่ 2 สารสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ให้ผลการการต้านดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำกลั่น โดยสารสกัดจากกระชายที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 500-1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณต้าน *S. aureus* อยู่ในช่วง 7-11 มิลลิเมตร และ *S. epidermidis* อยู่ในช่วง 7-9 มิลลิเมตร ในขณะที่สารสกัดจากกระชายที่สกัด

ด้วยน้ำกลั่น ความเข้มข้น 750-1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณด้านจุลินทรีย์ทดสอบเพียงชนิดเดียว คือ *S. epidermidis* อยู่ในช่วง 7-11 มิลลิเมตร ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ วาทีนี (2546) มหาวิทยาลัยมหิดล (ม.ป.ป.) และ กรรณิการ์ และจิตติพร (2544) สารสกัดจากกระชาย มีสารประกอบในกลุ่ม Chromone ซึ่งสามารถเข้าไปดัดแปลงหมู่ที่ทำหน้าที่โปรตีนและกรดนิวคลีอิก ในแบคทีเรียทำให้ไม่สามารถเติบโตได้ แต่ทั้งนี้สารสกัดจากกระชายไม่สามารถด้านการเติบโตของ *M. luteus* และ *P. aeruginosa* ได้ แต่การศึกษาของมหาวิทยาลัยมหิดล (ม.ป.ป.) ทดลองโดยใช้สารสกัดรากกระชายแห้ง ซึ่งเตรียมจากการแช่รากในอีเธอร์ ปีโตรเลียมอีเธอร์ และน้ำกลั่น 48 ชั่วโมง แล้วนำมากรอง พบว่า มีฤทธิ์ด้านแบคทีเรีย *B. subtilis* แบคทีเรียในลำไส้ *E. coli* แบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนอง *S. aureus* และ *P. aeruginosa* โดยนิจศิริ และพยอม (2534) กล่าวว่า กระชายมีประสิทธิภาพที่ด้านการเติบโตของ *L. monocytogenes* และ *L. innocus* และสามารถด้านการเติบโตของจุลินทรีย์อื่นได้ด้วย เช่น *S. Steinberg*, *S. Lexington* และ *S. Worthington* ซึ่งจากรายงานดังกล่าวมีทั้งความสอดคล้อง และแตกต่างกันอาจมีสาเหตุจากแหล่งที่มาของกระชาย วิธีการสกัด ชนิดของกระชาย (สด/อบแห้ง) ที่นำมาสกัด วิธีการทดสอบ รวมทั้งชนิด และแหล่งที่มาของจุลินทรีย์

ในขณะที่สารสกัดจากกานพลู และอบเชยแสดงการด้านแบคทีเรียทดสอบทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ดี ดังภาพที่ 3-4 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของวาทีนี (2546) กรรณิการ์และจิตติพร (2544) และนิจศิริ (2542) ซึ่งพบว่าสารสกัดจากกานพลูสามารถด้านการเติบโตของ *S. aureus* ได้ เนื่องจากในกานพลู มีสาร Eugenol เป็นองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอล ซึ่งมีประสิทธิภาพดี เช่น ทำให้การดูดซึมอาหารของแบคทีเรียเสียไป ลด อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต ภายในเซลล์ และเกิดปฏิกิริยากับสารพวกฟอสโฟลิปิดของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดการบาดเจ็บที่เยื่อหุ้มเซลล์เป็นผลให้สารภายในเซลล์ไหลออกสู่ภายนอก จึงทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเติบโต ส่วนสาร Triterpene ในสารสกัดจากกานพลูมีผลทำให้ส่วนประกอบของลิพิดิก ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์แตก สำหรับกรดอินทรีย์ในสารสกัดจากกานพลูด้านจุลินทรีย์ได้โดยการแปรสภาพโครงสร้างโปรตีนในเซลล์จนไม่สามารถทำหน้าที่ปกติได้ กานพลูจึงสามารถด้านแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวก และแกรมลบ

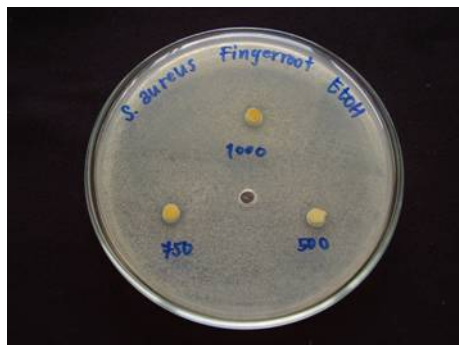
นอกจากนี้วาทีนี (2546) ยังพบอีกว่า สารสกัดจากอบเชยสามารถด้านการเติบโตของ *S. aureus* รวมทั้ง Petinaki et al. (2006) พบว่าสารสกัดจากอบเชยสามารถด้านการเติบโตของ *M. luteus* ได้ เนื่องจากสารที่พบในอบเชย คือ Cinnamic Aldehyde, Linalool (E)-Nerolidol และ Perpineol ซึ่งสาร Linalool เป็นสารเสริมฤทธิ์ ช่วยเพิ่มการด้านการเติบโตของแบคทีเรีย

สารสกัดจากกานพลู และอบเชยที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 500-1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณต้านจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 4 ชนิด อยู่ในช่วง 11-17 และ 13-19 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดจากกานพลู และอบเชยที่สกัดด้วยน้ำกลั่น ความเข้มข้น 500-1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณต้านจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 4 ชนิด อยู่ในช่วง 7-17 และ 9-17 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่า สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ที่ใช้ในการสกัดให้ผลการต้านจุลินทรีย์ได้ดีกว่าน้ำกลั่น ซึ่งสารสกัดจากอบเชย ให้ผลการต้านจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด รองลงมา คือสารสกัดจากกานพลู และสารสกัดจากกระชาย ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาถึงบริเวณด้านของแบคทีเรียทดสอบแกรมบวก (*S. aureus*, *S. epidermidis* และ *M. luteus*) และแกรมลบ (*P. aeruginosa*) พบว่า สารสกัดจากกระชายสามารถต้านแบคทีเรียทดสอบแกรมบวกได้ 2 ชนิด แต่ไม่สามารถต้านแบคทีเรียแกรมลบได้ ส่วนสารสกัดจากกานพลู ที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ และน้ำกลั่น ความเข้มข้น 500-1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณต้านแบคทีเรียทดสอบแกรมบวก อยู่ในช่วง 11-17 และ 7-17 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดจากกานพลู ที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ และน้ำกลั่น ความเข้มข้น 500-1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณต้านแบคทีเรียทดสอบแกรมลบ อยู่ในช่วง 9-15 และ 7-15 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดจากอบเชย ที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ และน้ำกลั่น ความเข้มข้น 500-1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณต้านแบคทีเรียทดสอบแกรมบวก อยู่ในช่วง 13-19 และ 13-17 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดจากอบเชย ที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ และน้ำกลั่น ความเข้มข้น 500-1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณต้านแบคทีเรียทดสอบแกรมลบ อยู่ในช่วง 13-17 และ 11-15 มิลลิเมตร

จากการทดสอบ พบว่า สารสกัดจากพืชสมุนไพรให้ผลการต้านของแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบมีซับซ้อนมากกว่าผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก กล่าวคือ ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบประกอบด้วยเพปติโดไกลแคนเพียง 5-20 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น ส่วนที่เหลือประกอบด้วยลิโปโพรตีน ลิพอโพลิแซ็กคาไรด์ และกรดไขมันโนพิมิไล และมีจำนวนเพปไทด์บริดจ์น้อยกว่าผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก ในขณะที่ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกมีองค์ประกอบของเพปติโดไกลแคนสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ แต่มีกรดไขมันน้อยชนิดกว่าผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบถึงแม้ว่าแบคทีเรียแกรมลบจะมีผนังเซลล์ที่บางกว่าแบคทีเรียแกรมบวก แต่แบคทีเรียแกรมลบมีเมมเบรนชั้นนอก (Outer Membrane) ที่มีปริมาณไขมันสูงถึง 11-22 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้งผนังเซลล์ล้อมรอบ

เพปติโดไกลแคนไว้ทำหน้าที่เป็นชั้นกั้นเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการเติบโตของเซลล์ไม่ให้ออกจากเซลล์ และป้องกันสารเคมีและเอนไซม์จากภายนอกไม่ให้เข้าไปทำลายเซลล์ได้โดยง่าย ซึ่งแบคทีเรียแกรมลบมีโครงสร้างที่ซับซ้อนมากกว่าทำให้ส่วนใหญ่แบคทีเรียแกรมลบจะมีความไวต่อการถูกต้านโดยสารต้านจุลินทรีย์มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Jay *et al.*, 2005)



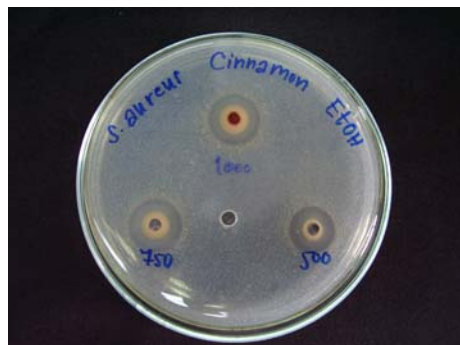
กระชาย



กระเทียม



กานพลู



อบเชย

ภาพที่ 2 บริเวณต้าน *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดจากสมุนไพรโดยใช้ตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์



Staphylococcus aureus



Staphylococcus epidermidis

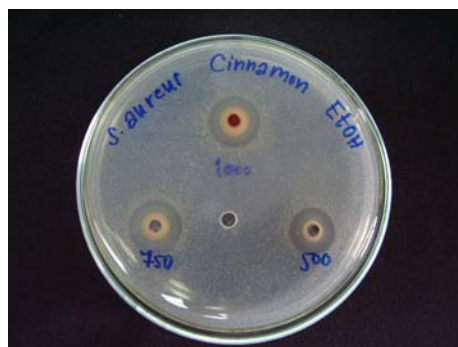


Micrococcus luteus



Pseudomonas aeruginosa

ภาพที่ 3 บริเวณต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากกานพลูโดยใช้ตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์



Staphylococcus aureus



Staphylococcus epidermidis



Micrococcus luteus



Pseudomonas aeruginosa

ภาพที่ 4 บริเวณต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากอบเชยโดยใช้ตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์

ตารางที่ 2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากกระชาย และกระเทียมที่ต้านจุลินทรีย์ทดสอบ

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	จุลินทรีย์ทดสอบ	บริเวณต้าน		
			ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		
			500	750	1,000
กระชาย	น้ำกลั่น	<i>S. aureus</i>	-	-	-
		<i>S. epidermidis</i>	-	+	++
		<i>M. luteus</i>	-	-	-
		<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-
	เอทิลแอลกอฮอล์	<i>S. aureus</i>	+	++	++
		<i>S. epidermidis</i>	+	+	+
		<i>M. luteus</i>	-	-	-
		<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-
	น้ำกลั่น	<i>S. aureus</i>	-	-	-
		<i>S. epidermidis</i>	-	-	-
		<i>M. luteus</i>	-	-	-
		<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-
	เอทิลแอลกอฮอล์	<i>S. aureus</i>	-	-	-
		<i>S. epidermidis</i>	-	-	-
		<i>M. luteus</i>	-	-	-
		<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-

หมายเหตุ หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง ≤ 7 มิลลิเมตร
- + ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.01-9.00 มิลลิเมตร
- ++ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 9.01-11.00 มิลลิเมตร

ตารางที่ 3 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากกานพลู และอบเชยที่ต้านจุลินทรีย์ทดสอบ

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	จุลินทรีย์ทดสอบ	บริเวณต้าน		
			ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		
			500	750	1,000
กานพลู	น้ำกลั่น	<i>S. aureus</i>	++	+++	+++
		<i>S. epidermidis</i>	++	+++	++++
		<i>M. luteus</i>	++	+++	+++++
		<i>P. aeruginosa</i>	++	++	++++
	เอทิลแอลกอฮอล์	<i>S. aureus</i>	+++	+++	++++
		<i>S. epidermidis</i>	+++	+++	++++
		<i>M. luteus</i>	+++++	+++++	+++++
		<i>P. aeruginosa</i>	++	+++	++++
	อบเชย	<i>S. aureus</i>	++++	++++	+++++
		<i>S. epidermidis</i>	+++	++++	+++++
		<i>M. luteus</i>	++++	++++	+++++
		<i>P. aeruginosa</i>	+++	+++	++++
	เอทิลแอลกอฮอล์	<i>S. aureus</i>	+++++	+++++	+++++
		<i>S. epidermidis</i>	++++	+++++	+++++
		<i>M. luteus</i>	+++++	+++++	+++++
		<i>P. aeruginosa</i>	++++	+++++	+++++

หมายเหตุ หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- + ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.01-9.00 มิลลิเมตร
- ++ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 9.01-11.00 มิลลิเมตร
- +++ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 11.01-13.00 มิลลิเมตร
- ++++ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 13.01-15.00 มิลลิเมตร
- +++++ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 15.01-17.00 มิลลิเมตร
- ++++++ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 17.01-19.00 มิลลิเมตร

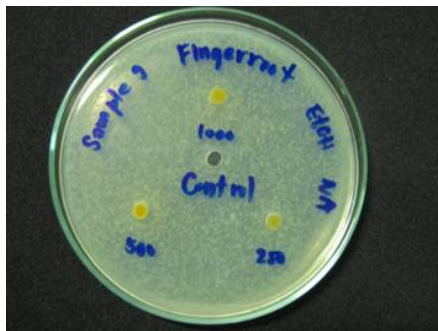
2.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรที่ต้านจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็มโดยวิธีการแพร่ของสารในอาหารแข็ง

จากการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างพลาสติกเค็ม ตามตารางที่ 1 พบว่า จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นของตัวอย่างพลาสติกเค็มที่เพาะเลี้ยงในอาหาร PDA pH 5.5 มีค่าอยู่ในช่วง 6.6-9.5 logCFU/ml ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่เพาะเลี้ยงในอาหาร NA มีค่าอยู่ในช่วง 6.5-9.6 logCFU/ml และ PCA มีค่าอยู่ในช่วง 6.7-9.4 logCFU/ml สันนิษฐานได้ว่า คอกเทลจุลินทรีย์ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่สามารถเติบโตได้ในสภาพที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ค่อนข้างเป็นกรด และอาจมียีสต์-ราเติบโตเพียงเล็กน้อย

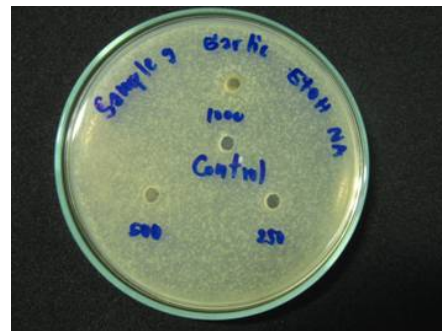
จากการศึกษาตัวอย่างพลาสติกเค็ม 10 แหล่ง (แหล่งตัวอย่างข้อ 1.1.1-1.1.10) ที่นำมาทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรที่ต้านจุลินทรีย์คอกเทล ได้แก่ คอกเทลแบคทีเรีย (NA) จำนวน 5.5-8.6 logCFU/g และคอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5) จำนวน 5.6-8.3 logCFU/g จากตารางที่ 4 พบว่า สารสกัดจากกระชาย ความเข้มข้น 250, 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณต้านคอกเทลจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 7.69-9.27, 8.61-10.65 และ 9.97-12.96 มิลลิเมตรตามลำดับ โดยสามารถต้านการเติบโตของคอกเทลจุลินทรีย์ได้ 9 ใน 10 ตัวอย่าง คิดเป็น 90 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่สามารถต้านการเติบโตของคอกเทลแบคทีเรียได้ สารสกัดจากกระเทียม ความเข้มข้น 250, 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณต้านคอกเทลจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 8.94, 7.92-10.54 และ 8.58-11.77 มิลลิเมตรตามลำดับ โดยสามารถต้านการเติบโตของคอกเทลจุลินทรีย์ได้ 1, 4 และ 7 ใน 10 ตัวอย่าง คิดเป็น 10, 40 และ 70 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่ไม่สามารถต้านการเติบโตของคอกเทลแบคทีเรียได้ แสดงบริเวณต้าน ดังภาพที่ 5-6 แสดงว่า สารสกัดจากกระชาย และกระเทียมให้ผลการต้านคอกเทลจุลินทรีย์ ได้ดีกว่าคอกเทลแบคทีเรีย อาจเป็นผลเนื่องจาก สารสกัดจากกระชาย และกระเทียม ไม่สามารถต้านจุลินทรีย์คอกเทลที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เป็นกลางได้ (คอกเทลแบคทีเรีย เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA pH 7.0) แต่สามารถต้านจุลินทรีย์คอกเทลที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ค่อนข้างเป็นกรดได้ (คอกเทลจุลินทรีย์ เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA pH 5.5) ซึ่งสอดคล้องกับ Burt (2004) ที่กล่าวว่า การทำปฏิกริยากันระหว่างสารอินทรีย์กับสารต้านจุลินทรีย์ ทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ลดลง ในขณะที่อาจมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้นในอาหารที่เป็นกรด

สารสกัดจากกานพลู ความเข้มข้น 250, 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณด้านนอกเทลแบคทีเรียอยู่ในช่วง 7.11-12.17, 8.26-12.98 และ 9.03-14.59 มิลลิเมตรตามลำดับ และมีบริเวณด้านนอกเทลจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 8.07-14.05, 9.97-17.83 และ 11.05-22.63 มิลลิเมตรตามลำดับ โดยสามารถด้านการเติบโตของคอกเทลแบคทีเรีย และจุลินทรีย์ ได้ทั้ง 10 ตัวอย่าง คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับสารสกัดจากอบเชยที่สามารถด้านการเติบโตของคอกเทลแบคทีเรีย และจุลินทรีย์ ได้ทั้ง 10 ตัวอย่าง คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์เช่นกัน โดยสารสกัดจากอบเชย ความเข้มข้น 250, 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณด้านนอกเทลแบคทีเรียอยู่ในช่วง 8.27-10.08, 9.06-11.35 และ 9.56-13.61 มิลลิเมตรตามลำดับ และมีบริเวณด้านนอกเทลจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 8.59-14.10, 9.21-16.08 และ 10.75-18.37 มิลลิเมตรตามลำดับ เมื่อสังเกตบริเวณด้านข้างภาพที่ 5-6 พบว่าสารสกัดจากกานพลู และอบเชยมีบริเวณด้านนอกเทลจุลินทรีย์ มากกว่าคอกเทลแบคทีเรีย อาจเป็นผลเนื่องจาก สารสกัดจากกานพลู และอบเชย ให้ผลการต้านจุลินทรีย์คอกเทลที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เป็นกลางได้น้อย (คอกเทลแบคทีเรีย เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA pH 7.0) แต่สามารถต้านจุลินทรีย์คอกเทลที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ค่อนข้างเป็นกรดได้ดี (คอกเทลจุลินทรีย์ เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA pH 5.5) ซึ่งสอดคล้องกับ Burt (2004) ที่กล่าวว่า การทำปฏิกิริยากันระหว่างอาหารที่เป็นกรด กับสารต้านจุลินทรีย์ทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น

การต้านจุลินทรีย์ อาจเป็นผลเนื่องจาก ปฏิกิริยาของสารต้านจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นที่ผนังเซลล์ หรือเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้ความสามารถในการยอมให้สารต่างๆ ซึมผ่านผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไป ทำให้เส้นทางของอาหารจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เกิดการเปลี่ยนแปลง การเติบโตของจุลินทรีย์จึงหยุดชะงัก และตายในที่สุด การทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์เพียงอย่างเดียวไม่สามารถทำให้จุลินทรีย์ตายได้ เมื่อสารต้านจุลินทรีย์เข้าสู่ภายในเซลล์จะทำให้ไซโทพลาซึม (Cytoplasm) เกิดการตกตะกอน (Coagulate) หรือทำให้เยื่อหุ้มเซลล์แตก เนื่องจากสารดังกล่าวทำลายไขมันที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์นิ่มขาด และส่วนประกอบต่างๆ เช่น โซเดียม หรือโปแตสเซียมรั่วไหลออกจากเซลล์ทำให้จุลินทรีย์ตายได้ (Holley and Patel, 2005; Gallo *et al.*, 2007)



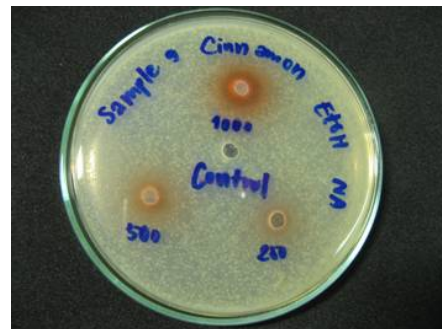
กระชาย



กระเทียม

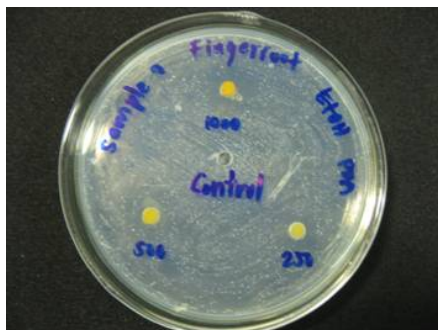


กานพลู



อบเชย

ภาพที่ 5 บริเวณต้านจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างปลาสดเค็มในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรโดยใช้ตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์



กระชาย



กระเทียม



กานพลู



อบเชย

ภาพที่ 6 บริเวณต้านจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างปลาสดเค็มในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (pH 5.5) ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรโดยใช้ตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์

ตารางที่ 4 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม

สมุนไพร	จุลินทรีย์คอกเทล จากตัวอย่างพลาสติกเค็ม 10 ตัวอย่าง	จำนวนจุลินทรีย์ (logCFU/g)	ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
			250		500		1,000	
			จำนวนตัวอย่าง ที่พบการค้ำ	บริเวณค้ำ ¹ (มิลลิเมตร)	จำนวนตัวอย่าง ที่พบการค้ำ	บริเวณค้ำ ¹ (มิลลิเมตร)	จำนวนตัวอย่าง ที่พบการค้ำ	บริเวณค้ำ ¹ (มิลลิเมตร)
กระชาย	แบคทีเรีย (NA)	5.5-8.6	0	-	0	-	0	-
	จุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)	5.6-8.3	9	7.69-9.27	9	8.61-10.65	9	9.97-12.96
กระเทียม	แบคทีเรีย (NA)	5.5-8.6	0	-	0	-	0	-
	จุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)	5.6-8.3	1	8.94	4	7.92-10.54	7	8.58-11.77
กานพลู	แบคทีเรีย (NA)	5.5-8.6	10	7.11-12.17	10	8.26-12.98	10	9.03-14.59
	จุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)	5.6-8.3	10	8.07-14.05	10	9.97-17.83	10	11.05-22.63
อบเชย	แบคทีเรีย (NA)	5.5-8.6	10	8.27-10.08	10	9.06-11.35	10	9.56-13.61
	จุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)	5.6-8.3	10	8.59-14.10	10	9.21-16.08	10	10.75-18.37

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง
 หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร
 - ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง ≤ 7 มิลลิเมตร

3. การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์ และการศึกษาความเสถียรของสารสกัดระหว่างการเก็บรักษา

3.1 การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบ และการศึกษาความเสถียรของสารสกัดระหว่างการเก็บรักษา

ความเข้มข้นต่ำสุด หรือ ค่า MIC ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร ที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบ วัดได้จากสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีความเข้มข้นต่ำที่สุด ที่แสดงการต้านจุลินทรีย์ทดสอบ โดยมีบริเวณด้านขนาด 7 มิลลิเมตรขึ้นไป (หลุม Well ขนาด 5 มิลลิเมตร) จากตารางที่ 5 เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลาย พบว่าการใช้เอทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย จะได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ด้านแบคทีเรียดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำกลั่น สังเกตได้จากค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากสมุนไพรที่เกิดบริเวณด้านการเติบโตของแบคทีเรียของตัวทำละลายที่ใช้เอทิลแอลกอฮอล์จะมีค่าต่ำกว่าสารสกัดด้วยน้ำกลั่น การวิจารณ์ผลการทดลองต่อไปนี้จะพิจารณาสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์เท่านั้น

สำหรับฤทธิ์การต้านแบคทีเรียทดสอบของสมุนไพรที่ศึกษา พบว่าสารสกัดจากอบเชยมีประสิทธิภาพสูงที่สุด รองลงมาคือ กานพลู และกระชาย ตามลำดับ โดย MIC มีค่าอยู่ในช่วง 31.25-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 100-250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 200-500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และขนาดของบริเวณด้านแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นสารสกัดสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบค่า MIC ของงานวิจัยก่อนหน้านี้ พบว่า มีค่า MIC ต่ำกว่า ทั้งนี้เนื่องจาก ความแตกต่างของหน่วยที่เทียบต่างกันในการคำนวณ ค่า MIC ทั้งนี้เนื่องจากใช้ฐานน้ำหนักของสารสกัดที่นำมาคำนวณค่า MIC แตกต่างกัน รวมทั้งแหล่งที่มา และวิธีการเตรียมวัตถุดิบที่ต่างกัน ซึ่ง ค่า MIC ควรพิจารณาถึงการคำนวณที่เทียบกลับไปที้น้ำหนักของวัตถุดิบ หรือสารสมุนไพรผงเริ่มต้นได้ งานวิจัยนี้ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชสมุนไพรเริ่มต้น 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คำนวณได้จาก ใช้สมุนไพรผง 10 กรัมในตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร สกัด และทำให้เข้มข้นจนเหลือปริมาตรสุดท้ายเป็น 10 มิลลิลิตร

จากการศึกษาความเสถียรของสารสกัดจากสมุนไพรระหว่างการรักษาของ Lee *et al.* (2007) พบว่า สารสกัดจากสมุนไพรในประเทศจีนที่สกัดด้วยสารละลายเอซีโตน และ เมทานอล ภายหลังจากการรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 เดือน สามารถต้านจุลินทรีย์ทดสอบได้ใกล้เคียงกับสารสกัดที่เตรียมใหม่ โดยค่า MIC ของสารสกัดจะสูงขึ้นเล็กน้อย ในขณะที่สารสกัดภายหลังจากการรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าค่า MIC ของสารสกัดจะเพิ่มสูงมาก และโดยเสียสภาพการต้านจุลินทรีย์ไปถึง 70-80 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าสารสกัดจากสมุนไพรยังคงมีความเสถียรภายหลังจากการรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 เดือน ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงเลือกอุณหภูมิที่ใช้ในการศึกษาความเสถียรของสารสกัดระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเท่านั้น เนื่องจากจากการศึกษาของงานวิจัยก่อนหน้านี้ พบว่า การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ไม่สามารถรักษาความเสถียรของสารสกัดจากสมุนไพรได้ สูญเสียฤทธิ์ในการต้านเร็วมาก รวมทั้งเพื่อให้สอดคล้องกับสภาวะการเก็บรักษาสารสกัดจากสมุนไพรในระหว่างทำงานวิจัยจริง ซึ่งสารสกัดที่สกัดเสร็จแล้ว ไม่สามารถนำมาใช้ได้ทันที นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จึงศึกษา ค่า MIC ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร ระหว่างการรักษาเป็นเวลา 2 เดือน

ตารางที่ 6-7 แสดงผลของระยะเวลาการรักษาสารสกัดจากสมุนไพรต่อฤทธิ์ที่ต้านการเติบโตของแบคทีเรีย พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นบริเวณด้านแบคทีเรียจะลดลง และ MIC เพิ่มขึ้น ส่วนใหญ่จะสังเกตได้หลังจากเก็บไว้ 1-2 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามการเก็บไว้นานถึง 8 สัปดาห์ สารสกัดจากอบเชย และกานพลูยังสามารถต้านแบคทีเรียได้ดี โดยพบว่า ระหว่างการเก็บรักษาสารสกัดจากอบเชยมีประสิทธิภาพสูงที่สุด รองลงมาคือ กานพลู และกระชาย ตามลำดับ โดย MIC มีค่าอยู่ในช่วง 31.25-250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 100-500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 200-1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ภายหลังจากการรักษา 8 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ค่า MIC ของสารสกัดจากกระชาย กานพลูและอบเชย ที่ต้านการเติบโตของ *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus* และ *P. aeruginosa* ดังสรุปในตารางที่ 7 พบว่าสารสกัดจากกานพลู และอบเชยมีค่า MIC ต่ำที่สุด และมีความเสถียรมากที่สุดระหว่างการเก็บรักษา จึงเลือกใช้ทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ เพื่อนำไปใช้เป็นสารเคลือบต้านจุลินทรีย์ ที่จะประยุกต์กับอาหารทดสอบต่อไป

ตารางที่ 5 การทดสอบค่า MIC ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ต้านจุลินทรีย์ทดสอบ

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ค่า MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			
		จุลินทรีย์ทดสอบ			
		<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
กระชาย	น้ำกลั่น	-	750	-	-
	เอทิลแอลกอฮอล์	500	200	-	-
กระเทียม	น้ำกลั่น	-	-	-	-
	เอทิลแอลกอฮอล์	-	-	-	-
กานพลู	น้ำกลั่น	500	500	250	250
	เอทิลแอลกอฮอล์	100	200	125	250
อบเชย	น้ำกลั่น	62.5	200	100	31.25
	เอทิลแอลกอฮอล์	31.25	62.5	100	62.5

หมายเหตุ - ไม่สามารถต้านจุลินทรีย์

ตารางที่ 6 การทดสอบค่า MIC ของสารสกัดจากกระชาย และกระเทียมที่ด้านจุลินทรีย์ทดสอบ
ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลา เก็บรักษา	ค่า MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			
		จุลินทรีย์ทดสอบ			
		<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
กระชาย (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	750	-	-
	1 สัปดาห์	-	750	-	-
	2 สัปดาห์	-	750	-	-
	4 สัปดาห์	-	750	-	-
	8 สัปดาห์	-	750	-	-
กระชาย (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	500	200	-	-
	1 สัปดาห์	500	500	-	-
	2 สัปดาห์	500	750	-	-
	4 สัปดาห์	500	1,000	-	-
	8 สัปดาห์	500	1,000	-	-
กระเทียม (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	-	-	-
	1 สัปดาห์	-	-	-	-
	2 สัปดาห์	-	-	-	-
	4 สัปดาห์	-	-	-	-
	8 สัปดาห์	-	-	-	-
กระเทียม (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	-	-	-	-
	1 สัปดาห์	-	-	-	-
	2 สัปดาห์	-	-	-	-
	4 สัปดาห์	-	-	-	-
	8 สัปดาห์	-	-	-	-

หมายเหตุ - ไม่สามารถด้านจุลินทรีย์

ตารางที่ 7 การทดสอบค่า MIC ของสารสกัดจากกานพลู และอบเชยที่ต้านจุลินทรีย์ทดสอบ
ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลา เก็บรักษา	ค่า MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			
		จุลินทรีย์ทดสอบ			
		<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
กานพลู (น้ำกลั่น)	1 วัน	500	500	250	250
	1 สัปดาห์	500	500	500	500
	2 สัปดาห์	500	500	500	500
	4 สัปดาห์	500	500	500	750
	8 สัปดาห์	500	500	500	750
กานพลู (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	100	200	125	250
	1 สัปดาห์	200	200	125	250
	2 สัปดาห์	200	200	200	250
	4 สัปดาห์	200	200	200	500
	8 สัปดาห์	200	250	200	500
อบเชย (น้ำกลั่น)	1 วัน	62.5	200	100	31.25
	1 สัปดาห์	100	200	100	100
	2 สัปดาห์	100	200	100	100
	4 สัปดาห์	100	200	100	100
	8 สัปดาห์	100	500	125	100
อบเชย (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	31.25	62.5	100	62.5
	1 สัปดาห์	100	100	100	100
	2 สัปดาห์	100	100	100	100
	4 สัปดาห์	100	100	100	100
	8 สัปดาห์	100	250	100	100

ตารางที่ 8 ค่า MIC ของสารสกัดจากกระชาย กานพลูและอบเชย ที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบ ภายหลังจากการรักษา 8 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สมุนไพร	ค่า MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
กระชาย	500	1,000	-	-
กานพลู	200	200	200	500
อบเชย	100	250	100	100

หมายเหตุ - ไม่สามารถต้านจุลินทรีย์

3.2 การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม

ค่า MIC ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร ที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม วัดได้จากสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีความเข้มข้นต่ำที่สุด ที่แสดงการต้านจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม โดยมีบริเวณด้านขนาด 7 มิลลิเมตรขึ้นไป (หลุม Well ขนาด 5 มิลลิเมตร) จากตารางที่ 9 ซึ่งศึกษาตัวอย่างพลาสติกเค็ม แหล่งตัวอย่างข้อ 1.1.11 โดยนำมาทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรที่ต้านจุลินทรีย์คอกเทล ได้แก่ คอกเทลแบคทีเรีย (NA) จำนวน 6.4 logCFU/g และคอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5) จำนวน 6.6 logCFU/g พบว่า ค่า MIC ของสารสกัดจากอบเชยที่ต้านคอกเทลทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพสูงที่สุด ซึ่งมีบริเวณด้านมากกว่าที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันกับกานพลู โดยมีค่า MIC 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ฤทธิ์การต้านคอกเทลจุลินทรีย์ของสารสกัดจากกระชายมีค่า MIC 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และขนาดของบริเวณด้านจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นสารสกัดสูงขึ้น (ตารางภาคผนวกที่ ค27) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ทดสอบ สารสกัดจากกระชายไม่สามารถต้านการเติบโตของคอกเทลแบคทีเรียได้ ส่วนสารสกัดจากกระเทียมไม่สามารถต้านการเติบโตของจุลินทรีย์คอกเทลทั้ง 2 ชนิดได้ และเลือกค่า MIC ของสารสกัดจากกานพลู และอบเชย ที่ระดับความเข้มข้น 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไปใช้ในการวิจัยขั้นต่อไป เนื่องจากเป็นสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพดี ต่อการต้านทั้งจุลินทรีย์ทดสอบ และจุลินทรีย์คอกเทล

ตารางที่ 9 การทดสอบค่า MIC ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ต้านจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม

สมุนไพร	ค่า MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	จุลินทรีย์คอกเทล	
	แบคทีเรีย (NA) 6.4 logCFU/g	จุลินทรีย์ (PDA pH 5.5) 6.6 logCFU/g
กระชาย	-	250
กระเทียม	-	-
กานพลู	125	125
อบเชย	125	125

หมายเหตุ - ไม่สามารถต้านจุลินทรีย์

4. การศึกษาหาสารเคลือบบริโกลได้ที่เหมาะสมสำหรับตัวอย่างพลาสติกเค็ม

จากการศึกษาถึงผลของความเข้มข้นของสารเคลือบบริโกลได้ที่เหมาะสมสำหรับพลาสติกเค็ม ในขั้นตอนแรกทดสอบโดยการชุบพลาสติกเค็มลงในสารละลายไฮโดรคอลลอยด์ ดังนี้ แครร์ราจีแนน โซเดียมแอลจีเนต เมทิลเซลลูโลส และไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลส ที่ระดับความเข้มข้น 1.5, 2.0 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สารเคลือบบริโกลได้ ชนิดแครร์ราจีแนน ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ ที่มีความเหมาะสมตามวัตถุประสงค์มากที่สุด คือ มีความมันวาว ผิวเรียบ ใส ลอกออกได้ง่าย เมื่อทิ้งไว้หลายวันสามารถลอกออกได้ง่ายด้วยการล้างน้ำ ส่วนสารเคลือบบริโกลได้ชนิดอื่นยึดติดแน่นกับผิวของพลาสติกเค็ม เมื่อลอกออกจะเป็นขุยเล็กๆ ไม่สะดวกที่จะลอกออก และที่ระดับความเข้มข้น 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ เคลือบติดผิวเป็นแผ่นบางเกินไป ทำให้ยากต่อการลอกออก การประเมินผลดังตารางที่ 10 ดังนั้นจึงเลือก สารเคลือบบริโกลได้ ชนิดแครร์ราจีแนน ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ มาใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

ตารางที่ 10 ความหนา และลักษณะปรากฏของพลาสติกเค็มชุบสารเคลือบบริโกลได้

สารเคลือบบริโกลได้	ความหนา (มิลลิเมตร)	ลักษณะปรากฏ
แครร์ราจีแนน	0.2-0.3	พื้นผิวเรียบ ใส มันวาว เหนียว ยึดหยุ่น ลอกออกได้ง่ายที่สุด ไม่มีกลิ่นเฉพาะตัว
โซเดียมแอลจีเนต	0.04-0.07	พื้นผิวเรียบ มีสีเหลืองเล็กน้อย ไม่ยึดหยุ่น ลอกออกได้ยาก ติดแน่นกับพื้นผิว
เมทิลเซลลูโลส	0.03-0.06	พื้นผิวเรียบ ใส เหนียว ยึดหยุ่น ลอกออกได้ยาก ติดแน่นกับพื้นผิว มีกลิ่นเฉพาะตัว
ไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลส	0.03-0.07	พื้นผิวเรียบ ใส เหนียว ยึดหยุ่น ลอกออกได้ยาก ติดแน่นกับพื้นผิว มีกลิ่นเฉพาะตัว

นำพลาสติกเค็มเคลือบแร่ราจีแนน 2.5 เปอร์เซ็นต์ มาลอกออก เพื่อตรวจวัดความหนาเฉลี่ยทั้งตัวปลา เพื่อใช้ในการคำนวณปริมาณสารสกัดที่ต้องเติมในสารละลายแร่ราจีแนน เพื่อให้ได้สารเคลือบบนตัวปลา มีความเข้มข้นของสารสกัด เทียบเท่ากับค่า MIC ที่ได้จากการทดลองข้อ 3 (การคำนวณแสดงในภาคผนวก ข) สรุปได้ดังนี้

ความเข้มข้นของสารสกัดจากสมุนไพรในสารเคลือบแร่ราจีแนน 2.5 เปอร์เซ็นต์ 1 เท่าของค่า MIC มีค่าเท่ากับ 0.1 กรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้นของสารสกัดจากสมุนไพรในสารเคลือบแร่ราจีแนน 2.5 เปอร์เซ็นต์ 5 เท่าของค่า MIC มีค่าเท่ากับ 0.5 กรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้นของสารสกัดจากสมุนไพรในสารเคลือบแร่ราจีแนน 2.5 เปอร์เซ็นต์ 10 เท่าของค่า MIC มีค่าเท่ากับ 1.0 กรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้นของสารสกัดจากสมุนไพรในสารเคลือบแร่ราจีแนน 2.5 เปอร์เซ็นต์ 15 เท่าของค่า MIC มีค่าเท่ากับ 1.5 กรัมต่อมิลลิลิตร

5. การทดสอบฤทธิ์ของสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์โดยวิธีการแพร่ในอาหารแข็ง

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารเคลือบสารสกัดจากอบเชย และกานพลูที่ด้านการเติบโตของจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม (คอกเทลแบคทีเรีย และคอกเทลจุลินทรีย์) และจุลินทรีย์ทดสอบ ตามตารางที่ 11 พบว่า สารเคลือบสารสกัดจากอบเชย มีประสิทธิภาพดีกว่าสารเคลือบสารสกัดจากกานพลู โดยมีบริเวณด้านมากกว่าที่ความเข้มข้นเดียวกัน โดยสารเคลือบสารสกัดจากอบเชย สามารถด้านการเติบโตของแบคทีเรียทดสอบ *S. aureus*, *P. aeruginosa* ได้ที่ความเข้มข้น 10 เท่าของค่า MIC ด้านการเติบโตของแบคทีเรียทดสอบ *M. luteus* และคอกเทลแบคทีเรียได้ที่ความเข้มข้น 5 เท่าของค่า MIC และด้านการเติบโตของคอกเทลจุลินทรีย์ได้ที่ความเข้มข้น 1 เท่าของค่า MIC ยกเว้น *S. epidermidis* ที่ไม่เกิดบริเวณด้านจุลินทรีย์ ส่วนสารเคลือบสารสกัดจากกานพลู สามารถด้านการเติบโตของแบคทีเรียทดสอบ *S. aureus*, *P. aeruginosa* และ *M. luteus* ได้ที่ความเข้มข้น 10 เท่าของค่า MIC และด้านการเติบโตของคอกเทลจุลินทรีย์ได้ที่ความเข้มข้น 5 เท่าของค่า MIC และไม่สามารถด้าน *S. epidermidis* และจุลินทรีย์คอกเทลแบคทีเรียได้ ดังภาพที่ 7-9

การใช้สารสกัดจากสมุนไพรเติมลงในสารเคลือบแคร์ราจีแนน 2.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์สามารถด้านจุลินทรีย์คอกเทลได้ดีกว่าจุลินทรีย์ทดสอบ สังเกตได้จากความเข้มข้นของสารสกัดจากสมุนไพรที่ใส่ลงในสารเคลือบมีค่าต่ำกว่า ทั้งนี้สอดคล้องกับตารางที่ 1 ที่วิเคราะห์ได้ว่า จุลินทรีย์ที่พบในตัวอย่างพลาสติกเค็ม ส่วนมากเป็นจุลินทรีย์ชนิด *S. aureus* ซึ่งสารสกัดจากอบเชยมีฤทธิ์ที่ด้านจุลินทรีย์ชนิดนี้ได้ดี มีบริเวณด้านขนาดกว้าง ค่า MIC ต่ำที่สุด และอบเชยมีความเสถียรในการเก็บรักษาสูง อ้างอิงได้จากผลการทดลองข้างต้น ตามตารางที่ 3, 4, 5 และ 7 และภาพที่ 2 และ 4

นอกจากนี้ยังสันนิษฐานได้ว่า สาเหตุที่สารเคลือบแคร์ราจีแนน 2.5 เปอร์เซ็นต์ที่ใส่สารสกัดจากกานพลู และอบเชย ให้ผลการด้านคอกเทลจุลินทรีย์ PDA pH 5.5 ได้ดีที่สุด โดดเด่นจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น อาจเป็นผลจากการใช้เทคนิค Spread Plate ทำให้มีจุลินทรีย์บริเวณผิวหน้ามาก จึงสัมผัสโดยตรงกับสารสกัดที่แพร่ออกจากสารเคลือบแคร์ราจีแนนได้ดี ส่วนจุลินทรีย์ทดสอบ และคอกเทลแบคทีเรียใช้เทคนิค Pour Plate จุลินทรีย์ในอาหารแข็ง อาจไม่ได้รับสารสกัดที่แพร่จากบริเวณผิวหน้าอาหารแข็ง ผลการด้านจึงลดลงเมื่อเทียบกับการใส่สารสกัดลงในหลุม ซึ่งสารสามารถแพร่เข้าไปในระหว่างชั้นของอาหารแข็งได้ จึงด้านจุลินทรีย์ได้ทั้งผิวหน้า และในอาหารแข็ง

ตารางที่ 11 ความเข้มข้นของสารเคลือบใส่สารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ด้านการเติบโตของ
จุลินทรีย์ทดสอบ และจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างปลาสดเค็ม

สมุนไพร	จุลินทรีย์	บริเวณด้าน		
		ความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในสารเคลือบ		
		1xMIC	5xMIC	10xMIC
กานพลู	<i>S. aureus</i>	-	-	++
	<i>S. epidermidis</i>	-	-	-
	<i>M. luteus</i>	-	-	+
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	++
	คอกเทลแบคทีเรีย (NA)	-	-	-
	คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)	-	+++++	+++++
อบเชย	<i>S. aureus</i>	-	-	+++
	<i>S. epidermidis</i>	-	-	-
	<i>M. luteus</i>	-	+++	+++++
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	+++
	คอกเทลแบคทีเรีย (NA)	-	+	++
	คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)	+	+++++	+++++

หมายเหตุ แผ่นสารเคลือบ มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร

-	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง ≤ 10 มิลลิเมตร
+	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 10.01-11.00 มิลลิเมตร
++	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 11.01-12.00 มิลลิเมตร
+++	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 12.01-13.00 มิลลิเมตร
++++	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 13.01-14.00 มิลลิเมตร
+++++	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 14.01-15.00 มิลลิเมตร
+++++	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง 15.01-16.00 มิลลิเมตร



Staphylococcus aureus



Staphylococcus epidermidis



Micrococcus luteus



Pseudomonas aeruginosa

ภาพที่ 7 บริเวณด้านแบคทีเรีย ของฟิล์มแคร์ราจีแนนด้านจุลินทรีย์ที่ใส่สารสกัดจากกานพลู



Staphylococcus aureus



Staphylococcus epidermidis



Micrococcus luteus

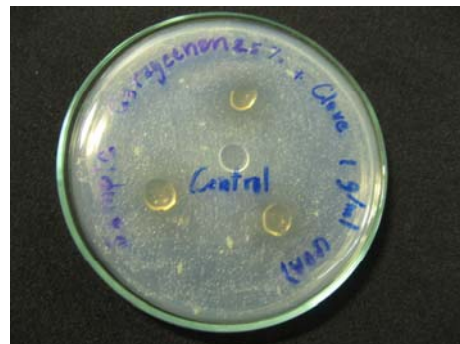


Pseudomonas aeruginosa

ภาพที่ 8 บริเวณด้านแบคทีเรีย ของฟิล์มแคร์ราจีแนนด้านจุลินทรีย์ที่ใส่สารสกัดจากอบเชย



Bacteria cocktails (NA)



Microorganism cocktails (PDA pH 5.5)



Bacteria cocktails (NA)



Microorganism cocktails (PDA pH 5.5)

ภาพที่ 9 บริเวณด้านจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม ของฟิล์มแคร์ราจีแนด้าน
จุลินทรีย์ที่ไ้สารสกัดจากกานพลู และอบเชย

6. ผลการศึกษาฤทธิ์ของสารเคลือบบริโภคได้ต้านจุลินทรีย์ในการยืดอายุการเก็บของพลาสติกเค็ม

จากการวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมี และจุลินทรีย์ในวันเริ่มต้นของตัวอย่างพลาสติกเค็ม 3 ตัวอย่าง (แหล่งจำหน่ายข้อ 1.1.12-1.1.14) สำหรับหุบสารเคลือบบริโภคได้ จากตารางผนวกที่ ค1 และ ค2 พบว่า มีค่าวอเตอร์แอกติวิตีอยู่ในช่วง 0.808-0.818 ค่าความชื้นอยู่ในช่วง 35.86-39.86 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเกลืออยู่ในช่วง 20-24 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Salometer และอยู่ในช่วง 33.46-41.89 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการวิเคราะห์ด้วยการไทเทรต พบจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 7.5-7.6 logCFU/g และยีสต์-รา อยู่ในช่วง 3.6-3.9 logCFU/g ทั้งนี้ยังพบ *S. aureus* 7.3 และ 6.3 logCFU/g ในตัวอย่างทดสอบ 13 และ 14 ตามลำดับ และพบ *Salmonella* sp. ทั้ง 3 ตัวอย่าง

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบบริโภคได้ต้านจุลินทรีย์ มีงานวิจัยบางส่วนที่นำตัวอย่างอาหารไปทำให้ปลอดเชื้อก่อน แล้วใส่จุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบลงไปที่ผิวหน้า หรือในตัวอย่างอาหาร (Beuchat *et al.*, 1996; Ouattara *et al.*, 2000b; Cooksey *et al.*, 2004) แต่ในงานวิจัยนี้หวังผลนำไปใช้งานจริง จึงเลือกใช้ตัวอย่างอาหารจากแหล่งจำหน่ายจริงมาทดสอบ ถึงแม้จะพบว่า มีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นที่สูงมาก เนื่องจากกรรมวิธีการผลิตเป็นในระดับชุมชน ซึ่งอาจมีลักษณะการผลิต ที่มีการจัดการ และการควบคุมระบบการผลิตที่ไม่ดีพอ ซึ่งอาจส่งผลให้จำนวนจุลินทรีย์ในการทดสอบสูงตามไปด้วย ดังนั้นผลที่ได้จึงเห็นความแตกต่างได้ไม่ชัดเจนเหมือนการทดสอบในห้องปฏิบัติการที่มีการฆ่าเชื้อ และควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ทดสอบ อย่างไรก็ตาม ผลที่ได้เป็นผลที่ทดสอบในทางปฏิบัติ ในสภาวะจริง ซึ่งอาจเป็นประโยชน์กับผู้ประกอบการในการนำไปใช้งานได้โดยตรงมากกว่า

เนื่องจาก พลาสติกเค็ม ที่วางขายตามท้องตลาด มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่บ่งชี้ถึงสุขอนามัยของผู้ผลิต และผู้จำหน่าย รวมทั้งจุลินทรีย์ที่เกินกำหนดตามสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ดังตารางที่ 1 ดังนั้น งานวิจัยในขั้นต่อไป จึงเลือกใช้สารสกัดจากสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพที่ต้านจุลินทรีย์ได้ครอบคลุมมากที่สุด คือ อบเชย โดยพิจารณาได้จากค่า MIC ที่หาได้น้อยที่สุด เมื่อเทียบกับสารสกัดจากสมุนไพรชนิดอื่นที่นำมาทดสอบ และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ยกตัวอย่างเช่น Chang *et al.* (2001) ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันอบเชย (*Cinnamomum osmophloeum*) ที่มีซินนามาลดีไฮด์ประมาณ 76 เปอร์เซ็นต์ พบว่าค่า MIC ของน้ำมันอบเชยมีค่า 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้าน *Salmonella* sp. และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้าน *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* ซึ่ง Hili *et al.* (1997) รายงานค่า

MIC ของน้ำมันอบเชย (*Cinnamomum zeylanicum*) ที่มีซินนามาลดีไฮด์ประมาณ 50 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอยู่ที่ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม สำหรับด้าน *E. coli*, *S. aureus* และ *P. aeruginosa* สอดคล้องกับ วาทีนี (2546) รายงานว่า ผลของสารสกัดจากอบเชยด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถต้านการเติบโตของ *S. aureus* ได้ อีกทั้ง Alzoreky and Nakahara (2003) ยังได้ศึกษาความสามารถของสารสกัดที่ได้จากพืชที่รับประทานได้จากประเทศจีน ญี่ปุ่น ไทย และเยอรมัน ที่ต้านการเติบโตของ *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes* และ *S. infantis* พบว่าสารสกัดจากอบเชยต้านการเติบโตได้ดีที่สุด ซึ่ง Wanchaitanawong *et al.* (2005) พบว่า สารสกัดหยาบจากอบเชย สามารถต้านการเติบโตของ *A. niger*, *A. oryzae* ได้ ซึ่ง Bullerman *et al.* (1977) และ Montes-Belmont and Carvajal (1998) พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากอบเชย สามารถต้านการเติบโตของรา ชนิด *Aspergillus* sp. ได้เช่นกัน นอกจากนี้ Petinaki *et al.* (2006) ยังศึกษาความสามารถของสารที่มีองค์ประกอบจากพืชที่ต้านการเติบโตของ *M. luteus* พบว่า น้ำมันอบเชย ที่มีความเข้มข้น 0.67 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมสามารถต้าน *M. luteus* ได้ 20 เปอร์เซ็นต์ และที่มีความเข้มข้น 667 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม สามารถต้าน *M. luteus* ได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์

เมื่อนำตัวอย่างพลาสติกเค็ม 3 แหล่ง ชุบในสารละลายสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์ (แครร์จีแนนใส่สารสกัดจากอบเชย) พบว่า หลังจากชุบเสร็จใหม่ๆ พลาสติกเค็มมีความมันวาว แต่เมื่อทิ้งไว้หลายวันสารเคลือบจะแห้งลงเรื่อยๆ ติดกับผิวของพลาสติกเค็ม ดังภาพที่ 10 พลาสติกเค็มเป็นอาหารที่มีค่าความชื้น และค่าออกซิเจนแอคติวิตีค่อนข้างสูง แต่เมื่อเก็บไว้ในตู้เย็นหุ้มห้อง ค่าออกซิเจนแอคติวิตีจะมีค่าลดลง ตามภาพที่ 11-13 เนื่องจากเกิดการถ่ายเทความชื้นจากพลาสติกเค็มไปสู่อากาศ เนื้อปลาจึงแห้ง และเมื่อพิจารณาถึงจุลินทรีย์ทั้งหมด พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น จนถึงวันที่ 10 หลังจากนั้นจะค่อยๆ ลดลง โดยกลุ่มที่ 1 ได้แก่ ตัวอย่างควบคุม และ 0xMIC จุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วที่สุด สำหรับกลุ่มที่ 2 ได้แก่ 5xMIC, 10xMIC และ 15xMIC มีการเพิ่มของจุลินทรีย์ช้ากว่า และมีปริมาณน้อยกว่ากลุ่มที่ 1 จากการพิจารณาทั้ง 2 กลุ่ม พบว่า ในช่วง 4 วันแรกจำนวนจุลินทรีย์ค่อยๆ เพิ่มขึ้น และค่อนข้างคงที่ ในวันที่ 5-10 สันนิษฐานได้ว่า สารสกัดจากสมุนไพรยังแพร่ออกมาไม่เพียงพอที่จะต้านการเติบโตของจุลินทรีย์ ในช่วง 4 วันแรก แต่สารสกัดเริ่มออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้ในวันที่ 5-10 สังเกตได้จากจำนวนจุลินทรีย์ที่เริ่มคงที่ แต่ภายหลังการเก็บ 10 วัน จำนวนจุลินทรีย์เริ่มลดต่ำลง อาจเนื่องจากค่าออกซิเจนแอคติวิตี ที่ลดต่ำลง ค่าอยู่ในช่วง 0.613-0.749 ซึ่งไม่เหมาะกับการเติบโตของแบคทีเรีย นอกจากนี้แบคทีเรียส่วนใหญ่เป็น *S. aureus* ซึ่งจะเติบโตได้ดีในอาหารที่มีค่าออกซิเจนแอคติวิตี 0.86 ดังนั้นจึงพบจุลินทรีย์น้อยลง อย่างไรก็ตามคุณภาพของ

พลาสติกเค็มในขณะนี้นั้น ไม่เหมาะกับการบริโภค เนื่องจาก ผ่านการเน่าเสียอย่างรุนแรงมาแล้ว และยังมีลักษณะปรากฏของเนื้อปลาที่แห้ง และแข็งมาก ส่งผลต่อเนื้อสัมผัสที่ไม่ดี มีกลิ่นเหม็นอับ และหืน สำหรับยีสต์-รา เติบโตได้ดีในช่วงแรก เนื่องจากต้องการออกซิเจน หลังจากเก็บรักษาไว้ 7 วันจำนวนจะลดลง และพบว่าการใช้สารสกัดจากสมุนไพรให้ผลใกล้เคียงตัวอย่างควบคุม

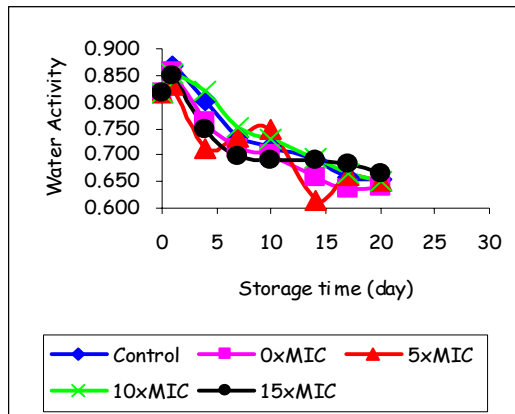
เมื่อพิจารณาพลาสติกเค็ม ตัวอย่างที่ 12-14 เคลือบสารแคร์ราจีแนนเดิมสารสกัดจากอบเชย ใส่ถุงพอลิพรอพิลีน ที่เก็บรักษา ณ อุณหภูมิแช่เย็น ตามภาพที่ 11-13 พบว่า พลาสติกเค็มเคลือบสารเคลือบบริโภคได้ มีค่าวอเตอร์แอคทิวิตีเพิ่มขึ้น เนื่องจากสารเคลือบบริโภคได้มีค่าวอเตอร์แอคทิวิตีสูงกว่าพลาสติกเค็ม จึงเกิดการถ่ายเทความชื้นจากสารเคลือบบริโภคได้ไปสู่พลาสติกเค็ม ค่าจึงเพิ่มขึ้น สำหรับพลาสติกเค็มที่ไม่ได้เคลือบ พบว่า ค่าวอเตอร์แอคทิวิตีลดลงเล็กน้อย เนื่องจาก อุณหภูมิแช่เย็นมีความชื้นต่ำ และมีถุงพอลิพรอพิลีนเป็นตัวกั้นอีกชั้นหนึ่ง จึงเกิดการถ่ายเทความชื้นได้น้อย ค่าจึงลดต่ำลงเล็กน้อย สำหรับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ในวันที่ 1-21 ตัวอย่าง 0xMIC และ 15xMIC พบจำนวนจุลินทรีย์ไม่ค่อยเปลี่ยนแปลง แต่ตัวอย่างควบคุมจุลินทรีย์ค่อยๆ เพิ่มขึ้น มากกว่าเล็กน้อย อาจเป็นผลเนื่องมาจากการวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลินทรีย์ พบว่า ตัวอย่างพลาสติกเค็มพบจุลินทรีย์ชนิด *S. aureus* มาก ซึ่งจุลินทรีย์ชนิดนี้เติบโตได้น้อยลงเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส (งามทิพย์, 2550) และในวันที่ 28 จุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะตัวอย่างควบคุม และ 0xMIC อาจเนื่องจากเป็นช่วงที่พ้นช่วงระยะการปรับตัว หรือระยะที่ 1 (Lag Phase) ของระยะการเติบโตของจุลินทรีย์ ของ *S. aureus* ที่เติบโตในอุณหภูมิแช่เย็น แต่ตัวอย่าง 15xMIC เพิ่มขึ้นน้อยกว่า ดังนั้นสารเคลือบบริโภคได้ด้านจุลินทรีย์ที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากอบเชย 15xMIC ช่วยยืดอายุการเก็บได้ เมื่อต้องการเก็บมากกว่า 28 วัน ส่วนการเก็บที่อุณหภูมิแช่เย็นน้อยกว่า 21 วัน การเคลือบด้วยสารเคลือบด้านจุลินทรีย์ให้ผลไม่แตกต่างกับการไม่เคลือบ สำหรับจำนวนยีสต์-รา เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย จำนวนค่อนข้างคงที่ ซึ่งการเคลือบ หรือไม่เคลือบด้วยสารเคลือบด้านจุลินทรีย์ที่ผิวหน้าตัวอย่างพลาสติกเค็ม ให้ผลแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้พลาสติกเค็มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น มีลักษณะปรากฏที่ดี เนื้อปลาไม่แห้ง ไม่แข็ง ไม่มีกลิ่นเหม็นอับ และไม่มึนหืน เมื่อเก็บรักษาไว้ 28 วัน ดังนั้นจึงเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาพลาสติกเค็มได้ดียิ่งขึ้นกว่าการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง นอกจากนี้ หากผู้ผลิตตัวอย่างพลาสติกเค็ม มีการจัดการ และควบคุมระบบการผลิตที่ดี จะส่งผลให้จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นลดน้อยลง ทำให้ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารเคลือบบริโภคได้ด้านจุลินทรีย์มีความชัดเจน และดียิ่งขึ้น



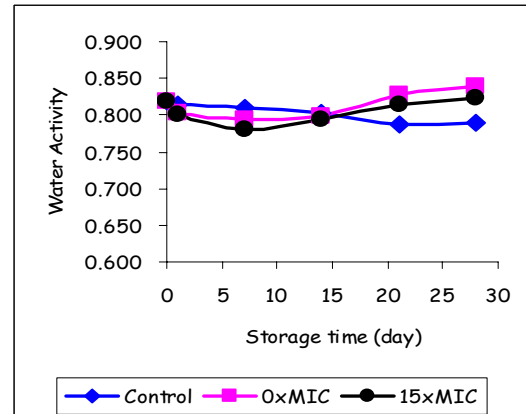
Control

Carrageenan 2.5เปอร์เซ็นต์
หลังจากซบเสร็จใหม่ๆCarrageenan 2.5เปอร์เซ็นต์
+Cinnamon 0xMICCarrageenan 2.5เปอร์เซ็นต์
+Cinnamon 15xMIC

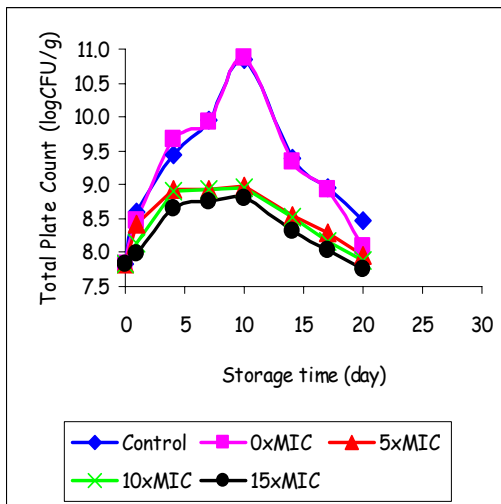
ภาพที่ 10 ลักษณะผิวหนังปลาสดเต็มหลังจากซบสารเคลือบบริโภคดีด้านจุลินทรีย์



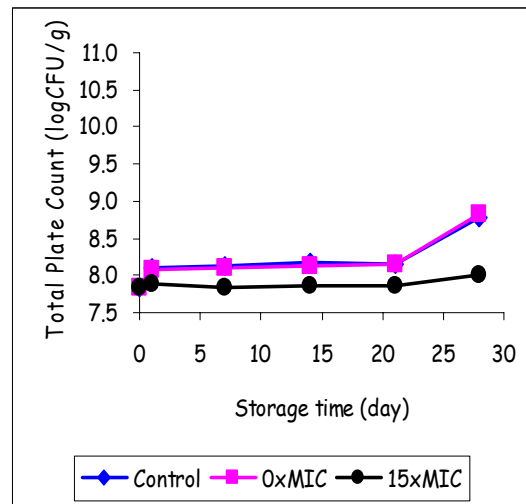
ค่าวอเตอร์แอกติวิตี (ณ อุณหภูมิห้อง)



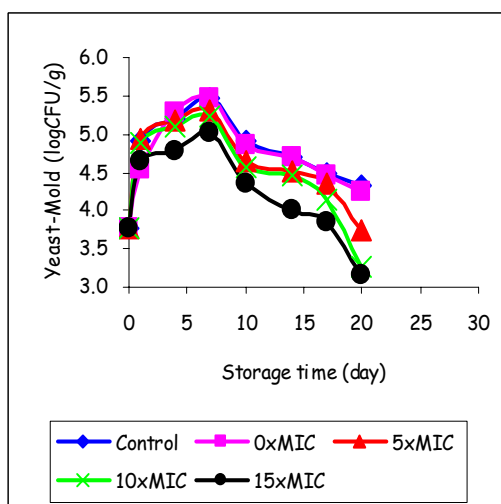
ค่าวอเตอร์แอกติวิตี (ณ อุณหภูมิแช่เย็น)



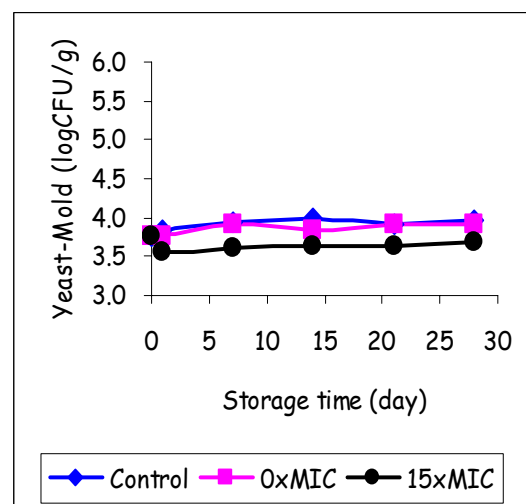
จุลินทรีย์ทั้งหมด (ณ อุณหภูมิห้อง)



จุลินทรีย์ทั้งหมด (ณ อุณหภูมิแช่เย็น)

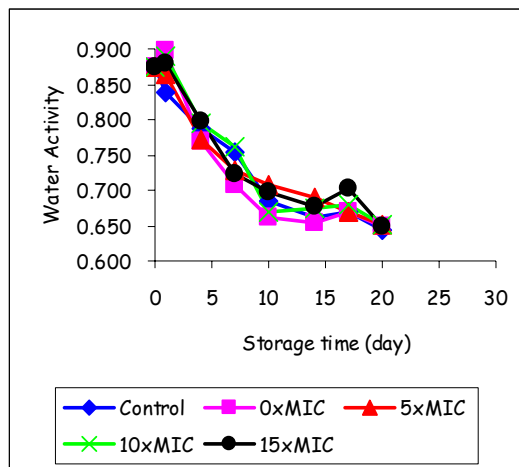


ยีสต์-รา (ณ อุณหภูมิห้อง)

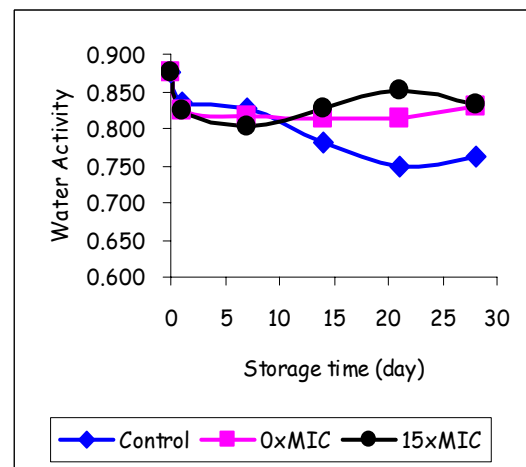


ยีสต์-รา (ณ อุณหภูมิแช่เย็น)

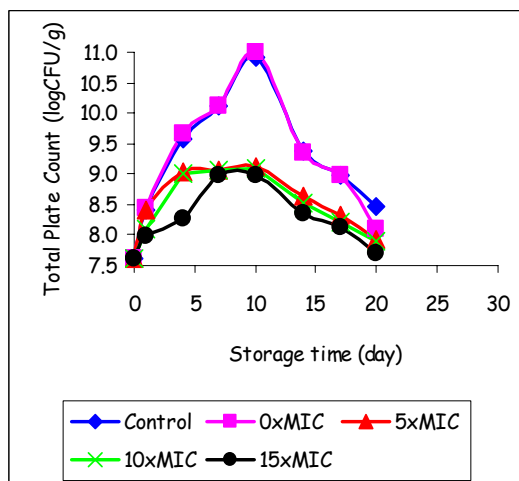
ภาพที่ 11 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์ของพลาสติกเคือบสารบริโกลได้
ด้านจุลินทรีย์ที่ใส่สารสกัดจากอบเชยที่ความเข้มข้นต่างๆ (แหล่งตัวอย่างที่ 12)



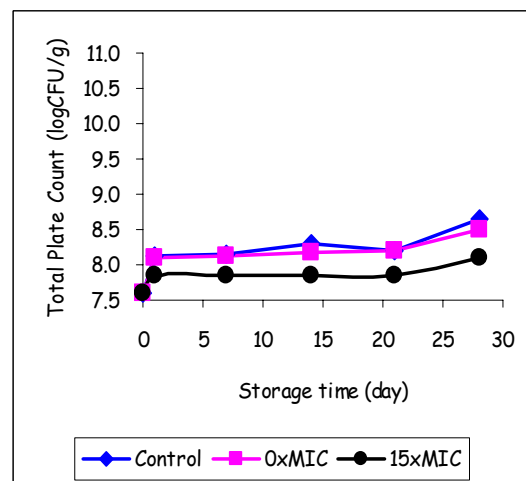
ค่าวอเตอร์แอกติวิตี (ณ อุณหภูมิห้อง)



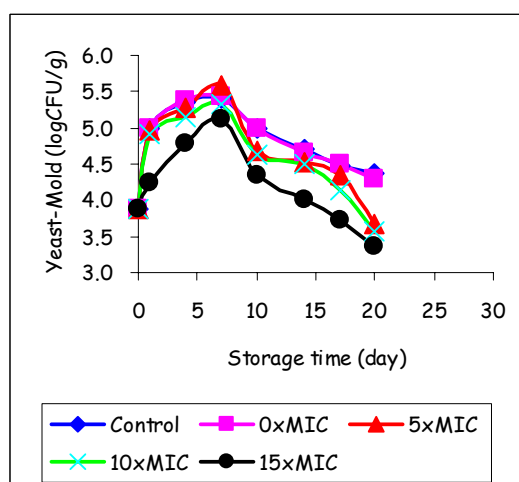
ค่าวอเตอร์แอกติวิตี (ณ อุณหภูมิแช่เย็น)



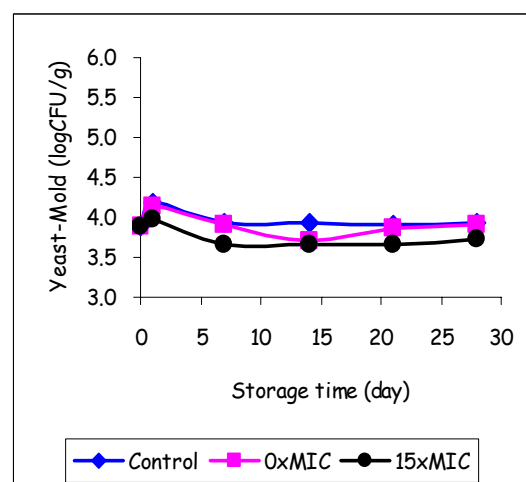
จุลินทรีย์ทั้งหมด (ณ อุณหภูมิห้อง)



จุลินทรีย์ทั้งหมด (ณ อุณหภูมิแช่เย็น)

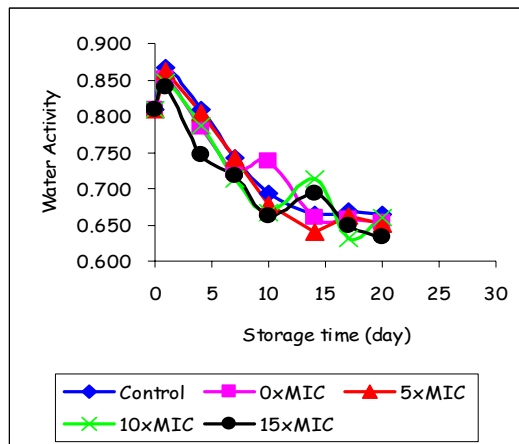


ยีสต์-รา (ณ อุณหภูมิห้อง)

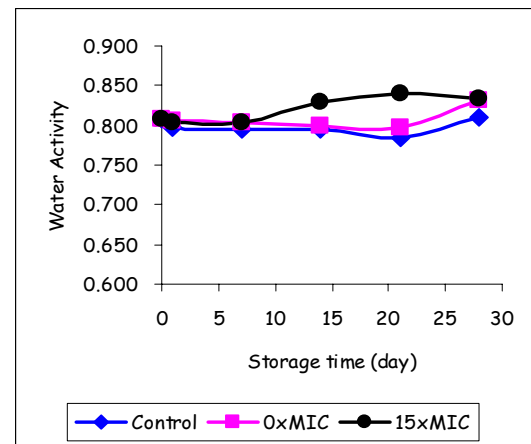


ยีสต์-รา (ณ อุณหภูมิแช่เย็น)

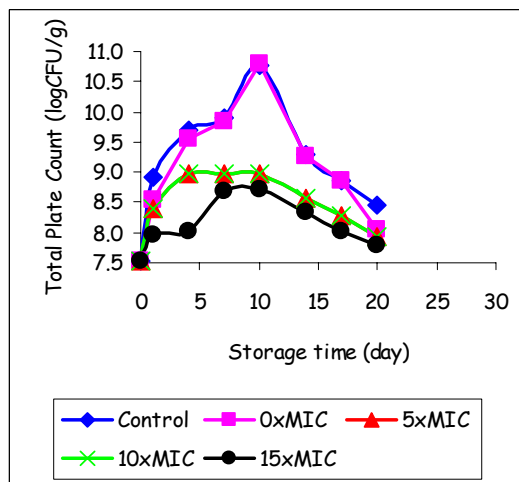
ภาพที่ 12 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์ของพลาสติกเคลือบสารบริโกลได้
ด้านจุลินทรีย์ที่ใส่สารสกัดจากอบเชยที่ความเข้มข้นต่างๆ (แหล่งตัวอย่างที่ 13)



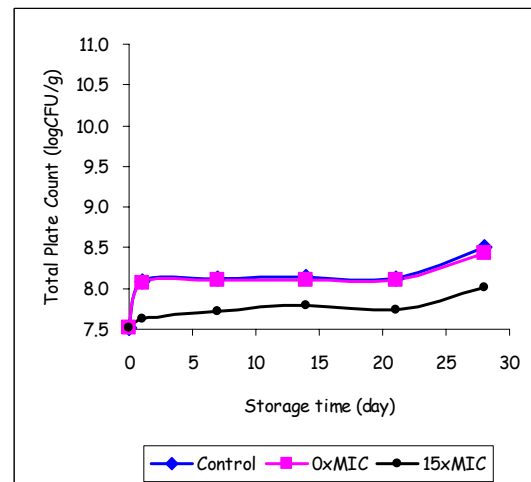
ค่าวอเตอร์แอกติวิตี (ฉ. อุณหภูมิห้อง)



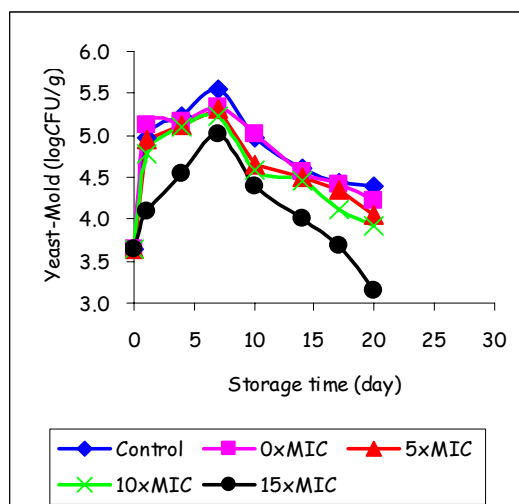
ค่าวอเตอร์แอกติวิตี (ฉ. อุณหภูมิแช่เย็น)



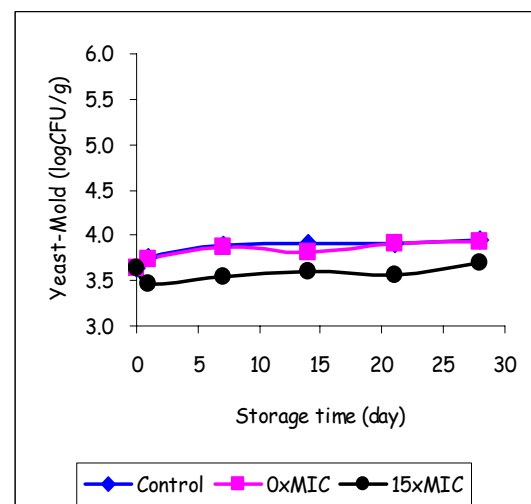
จุลินทรีย์ทั้งหมด (ฉ. อุณหภูมิห้อง)



จุลินทรีย์ทั้งหมด (ฉ. อุณหภูมิแช่เย็น)



ยีสต์-รา (ฉ. อุณหภูมิห้อง)



ยีสต์-รา (ฉ. อุณหภูมิแช่เย็น)

ภาพที่ 13 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์ของพลาสติกเค็มเคลือบสารบริโกลได้
ด้านจุลินทรีย์ที่ได้สารสกัดจากอบเชยที่ความเข้มข้นต่างๆ (แหล่งตัวอย่างที่ 14)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ ของพลาสติกเค็ม ที่วางจำหน่ายจำนวน 14 แห่งตัวอย่าง พบว่า คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของ สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ทั้งจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด *S. aureus* และรา นอกจากนี้ยังพบจุลินทรีย์ที่บ่งชี้ทางด้านสุขอนามัย คือ *Salmonella* sp. ซึ่งอาจปนเปื้อนมาจากการเลี้ยงปลา กรรมวิธีการผลิต ภาชนะบรรจุ การวางจำหน่าย ระหว่างขนส่ง และสุขลักษณะอนามัยจากผู้ผลิต และผู้จำหน่าย

จากการศึกษาความสามารถด้านแบคทีเรียของสารสกัดจากสมุนไพร 4 ชนิด คือ กระชาย กระเทียม กานพลู และอบเชย ด้วยน้ำกลั่น และเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ที่มีความเข้มข้นของสารสกัด 31.25-1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แบคทีเรียทดสอบ 4 ชนิด คือ *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus* และ *P. aeruginosa* พบว่าสารสกัดจากกานพลู และอบเชย สามารถด้านการเติบโตของแบคทีเรียทดสอบทุกชนิดได้ดี ยกเว้นสารสกัดจากกระชายที่ด้าน *Staphylococcus* sp. เพียงเล็กน้อย และสารสกัดจากกระเทียมที่ไม่สามารถด้านการเติบโตของแบคทีเรียทดสอบได้ และสอดคล้องกับการด้านจุลินทรีย์จากพลาสติกเค็ม (คอกเทลแบคทีเรีย และคอกเทลยีสต์-รา) ที่สารสกัดจากอบเชยมีประสิทธิภาพสูงที่สุด รองลงมาคือ กานพลู และกระชายตามลำดับ

การวิจัยขั้นต่อมาซึ่งเป็นการประยุกต์สารสกัดมาใช้กับสารเคลือบอาหารบริโภคได้ที่สามารถด้านจุลินทรีย์ โดยเลือกสารสกัดจากกานพลู หรืออบเชย ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งมีบริเวณด้านขนาดใหญ่ ค่า MIC ต่ำ และ มีความเสถียรในระหว่างการเก็บรักษา พบว่า สารเคลือบบริโภคได้ที่มีสารสกัดจากอบเชยมีประสิทธิภาพสูงกว่ากานพลู ที่ด้านแบคทีเรียทดสอบและจุลินทรีย์คอกเทลจากพลาสติกเค็ม (คอกเทลแบคทีเรีย และคอกเทลยีสต์-รา) จึงเลือกสารเคลือบบริโภคได้ที่มีสารสกัดจากอบเชยชุบพลาสติกเค็มในการทดลองขั้นต่อไป

สารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการเคลือบผิวพลาสติกเค็ม คือ แครร์ราจีแน ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ใส่สารสกัดจากอบเชยที่มีความเข้มข้น 15 เท่าของค่า MIC พบว่า สามารถด้านจุลินทรีย์ทดสอบ และจุลินทรีย์คอกเทล กล่าวได้ว่า สารสกัดจากอบเชยสามารถด้านการเติบโตของจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และการเก็บรักษาพลาสติกเคลือบสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์ ณ อุณหภูมิแช่เย็น สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ 28 วันซึ่งนานกว่าการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิห้องซึ่งเก็บได้ 10 วัน โดยคุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์มีค่าใกล้เคียงกับวันเริ่มต้นที่เริ่มเก็บรักษา และมีคุณภาพ ลักษณะปรากฏที่ดี นอกจากนี้ กลิ่นของสารสกัดจากอบเชย ไม่ส่งผลกระทบต่อกลิ่นของตัวอย่างอาหาร เนื่องจากพลาสติกเค็มมีกลิ่นเฉพาะตัวที่แรงกว่า

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจาก ไม่มีข้อมูลจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่สำรวจถึงชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำให้พลาสติกเค็มเน่าเสียโดยไม่ผ่านกระบวนการใดก่อนตรวจสอบ ดังนั้นจึงคัดเลือกชนิดของจุลินทรีย์บริสุทธิ์ ที่อ้างอิงจากงานวิจัยที่ใกล้เคียงที่สุดที่มีการใช้เฉพาะเจาะจง หรือปลาเค็มเหมือนกัน แต่ชนิดของปลาแตกต่างกัน ด้วยเหตุนี้จึงตรวจสอบชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำให้พลาสติกเค็มเน่าเสีย ควบคู่ไปกับการหาค่า MIC ของสารสกัดจากสมุนไพรที่ด้านจุลินทรีย์ เนื่องจากตรวจสอบชนิดของจุลินทรีย์จากพลาสติก จำนวน 14 แห่ง ต้องใช้เวลานานในการวิเคราะห์ ถึง 2-3 เดือน จึงไม่สามารถที่จะรอผลก่อนคัดเลือกชนิดของจุลินทรีย์ทดสอบ ดังนั้นจึงควรศึกษาถึงความสามารถของสารสกัดจากสมุนไพรที่ด้านจุลินทรีย์ชนิด *Salmonella* sp. เพิ่มเติม แต่ทั้งนี้การรวบรวมข้อมูลจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ สรุปได้ว่า อบเชยมีความสามารถที่ด้านจุลินทรีย์ได้ครอบคลุมชนิดของจุลินทรีย์ที่พบในพลาสติกเค็ม

ตรวจวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างพลาสติกเค็มซ้ำ และสุ่มแหล่งตัวอย่างเพิ่ม และให้ความรู้แก่ผู้ผลิต เรื่องการจัดการ และควบคุมระบบการผลิตที่ดี

วิเคราะห์หาชนิดจุลินทรีย์ *Micrococcus* sp. ในพลาสติกเค็มเพิ่ม เนื่องจากการวิเคราะห์จุลินทรีย์ชนิดนี้ ต้องใช้วิธีทางเทคนิคเฉพาะทาง

ศึกษาอัตราการแพร่ของสารสกัดจากสมุนไพรจากสารเคลือบบริโกลได้ด้านจุลินทรีย์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กรรณิการ์ นทีรมณ์ และฐิติพร พิทักษ์กมลพันธ์. 2544. สารสกัดจากพืชที่มีผลที่ต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- กรมประมง. 2535. ภาพปลา และสัตว์น้ำของไทย. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว, กรุงเทพฯ.
- งามทิพย์ ภู่วโรดม. 2550. การบรรจุอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท เอส.พี.เอ็ม. การพิมพ์ จำกัด, กรุงเทพฯ.
- จารนัย พณิชกุล. 2540. ปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์เชิงปริมาณ. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ชัยวัฒน์ โตอนันต์. 2528. อิทธิพลของพืชสมุนไพรและเครื่องเทศบางชนิดที่มีผลต่อการเติบโตของรา *Aspergillus*. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เดมศักดิ์ ส่วงวัฒนา. 2526. การถนอมรักษาปลาสดเค็มโดยการใช้โปแตสเซียมซอร์เบตและการฉายรังสี. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นันทนา พฤษัยคุ้มวงศ์. 2528. เทคโนโลยีการทำยาสมุนไพร. คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล.
- นิจศิริ เรืองรังษี. 2542. เครื่องเทศ. พิมพ์ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- นิจศิริ เรืองรังษี และพะยอม ตันติวัฒน์. 2534. พืชสมุนไพร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527. **เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพร**. เล่ม 2. บุรพาสาน์, กรุงเทพฯ.

พฤษอำไพ. 2531. **คำแนะนำการเพาะเลี้ยงปลาสลิด**. จัดพิมพ์โดยกลุ่มเกษตรสัญจร
สำนักพิมพ์สหมิตรออฟเซต, กรุงเทพฯ.

มัทนา แสงจินดาวงษ์. 2523. การตรวจหาโคลิฟอร์มแบคทีเรียจากผลิตภัณฑ์ประมงบางชนิด.
วารสารอาหาร 12 (2): 157-167.

มัทนา แสงจินดาวงษ์. 2533. สารประกอบไนโตรซามีนและแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเกิด
สารไนโตรซามีนในปลาเค็มของไทย. วารสารอาหาร 20 (2): 69–104.

มัทนา แสงจินดาวงษ์. 2545. **ผลิตภัณฑ์ประมงของไทย**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

มหาวิทยาลัยมหิดล. ม.ป.ป. **ก้าวไปกับสมุนไพร**. ศูนย์ข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

รังสิณี โสธรวิทย์. 2550. **เคมีและจุลชีววิทยาเบื้องต้นของอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2540. **พืชเครื่องเทศและสมุนไพร**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์
โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

วาทีณี จตุรพรชัย. 2546. **การสกัดและผลการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรและ
เครื่องเทศไทย**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศิวาพร ศิวเวช. 2542. **การสุขาภิบาลโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร**. ภาควิชาวิทยาศาสตร์
และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.

ศิริญา ตูลารักษ์. 2545. การต้านจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารของสารสกัดจากลูกใต้ใบ (*Phyllanthus niruri*). เทคนิควิจัยปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศรียาญนา คล้ายเรือง. 2541. การคัดเลือกสมุนไพรไทยเพื่อต้านการเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สิริพร สธนเสาวภาคย์, พรทิพย์ เติบโตธรรมวัฒน์, มัลลย์ บุญรัตนกรกิจ และปทุมพร จิมอเนก. 2539. ผลของเครื่องเทศและสมุนไพรบางชนิดที่ต้านการเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดใหม่ที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร. รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการวิจัย รหัส ท-อ 6.39.

สุนทรี สิงหนุตตรา. 2535. สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด. พิมพ์ครั้งที่ 1, บริษัทคุณ 39. กรุงเทพฯ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2536. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ปลาเค็ม: ปลาสลิด. มอก. 1199-2536.

สำนักงานพาณิชย์ จังหวัดสมุทรปราการ. 2535. ข้อมูลการตลาดจังหวัดสมุทรปราการ ประจำปี 2534. สำนักงานพาณิชย์ จังหวัดสมุทรปราการ กระทรวงพาณิชย์, สมุทรปราการ.

อดิศักดิ์ เอกโสวรรณ. 2540. การผลิตไส้กรอกหมูไขมันต่ำจากแป้งบุก. วารสารอาหาร 27 (1): 36-43.

อุดม สุนทรวินาต และอารีย์ วานิช. 2517. รายงานผลการทดลองแผนกอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ. กองสำรวจและค้นคว้า, กรมประมง

Ahmed, A.M., S.A. Ismail and H.A.-E.-L. Abd-El-Rahman. 2005. Quantitative, qualitative and toxigenic evaluations of xerophilic mold in traditional Egyptian salted fish, molouha. **J. Food Safety** 25: 9-18.

- Alzoreky, N.S. and K. Nakahara. 2003. Antimicrobial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. **Int. J. Food Microb.** 80: 223-230.
- Aristippos, G., M.A. Hanna and L.B. Kurth. 1997. Application of edible coatings on meats poultry and seafoods: A review. **Lebensm.-Wiss. u.-Tech.** 30: 337–350.
- Arora, D.S. and J. Kaur. 1999. Antimicrobial activity of spices. **Int. J. Antimicrobial Agent** 12: 257–262.
- Benkeblia, N. 2004. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). **Lebensm.-Wiss. u.-Tech.** 37: 263–268.
- Bentley, D.J. 2001. Will we soon be eating the film along with the food. **Tech. Rev.** 5: 11–13.
- Beuchat, L.R., R. Zhuang, M.S. Chinnan, R.L. Shewfelt and Y.-W. Huang. 1996. Inactivation of *Salmonella* Montevideo on tomatoes by applying cellulose-based edible films. **J. Food Prot.** 59: 808-812.
- Bhurinder, S.M., B. Falahee and M.R. Adams. 2001. Synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* by nisin and garlic extract. **Food Microb.** 18: 133-139.
- Bower, C.K. and M.A. Daeschel. 1999. Resistance responses of microorganism in food environments. **Int. J. Food Microb.** 50: 33-44.
- Bullerman, L.B., F.Y. Lien and S.A. Seier. 1977. Inhibition of growth and Aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. **J. Food Sci.** 42: 1,107-1,109.
- Burt, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential application in foods: A review. **Int. J. Food Microb.** 94: 223-253.

- Cagri, Z.U. and E.T. Ryser. 2001. Antimicrobial, mechanical and moisture barrier properties of low pH whey protein-based edible films containing *p*-aminobenzoic or sorbic acids. **J. Food Sci.** 66: 865–870.
- Chang, C.-H., W.-L. Chang, S.-T. Chang and S.-S. Cheng. 2008. Antibacterial activities of plant essential oils against *Legionella pneumophila*. **Water Res.** 42: 278-286.
- Chang, S.T., P.F. Chen and S.C. Chang. 2001. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. **J. Ethnopharmacol.** 77: 123-127.
- Chick, J. and Z. Ustunol. 1998. Mechanical and barrier properties of lactic acid and rennet precipitated casein-based edibles films. **J. Food Sci.** 63: 1,024–1,027.
- Choi, J.H., W.Y. Choi, D.S. Cha, M.J. Chinnan, H.J. Park, D.S. Lee and J.M. Park. 2005. Diffusivity of potassium sorbate in *k*-carrageenan based antimicrobial film. **Lebensm.-Wiss. u.-Tech.** 38: 417–423.
- Clara, R., A.A. Vicente, J.A. Teixeira and C. Miranda. 2007. Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. **Postharv. Biol. Tech.** 44: 63–70.
- Clem, M., D. Allan and H. Iain. 2006. A study into the antimicrobial effects of cloves and cinnamon using disc-diffusion assay. **Nutrit. Food Sci.** 36: 225-230.
- Cooksey, K., N.B. Franklin and K.J.K. Getty. 2004. Inhibition of *Listeria monocytogenes* on the surface of individually packaged hot dogs with a packaging films coating containing nisin. **J. Food Prot.** 67: 480-485.
- Davidson, P.M. and A.L. Branen. 1993. **Antimicrobial in Foods**. 2nd ed. Marcel Dekker Inc., New York.

- Dong, S.C., J.H. Choi, M.S. Chinnan and H.J. Park. 2002. Antimicrobial films based on Na-alginate and k-carrageenan. **Lebensm.-Wiss. u.-Tech.** 35: 715–719.
- Fabian, D., S. Marian, D. Katarina and B. Dobroslava. 2006. Essential oils-their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. **Toxicol. in Vitro** 20: 1,435–1,445.
- Fernandez-Saiz, P., J.M. Lagaron, P. Hernandez-Munoz and M.J. Ocio. 2008. Characterization of antimicrobial properties on the growth of *S. aureus* of novel renewable blends of gliadins and chitosan of interest in food packaging and coating applications. **Int. J. Food Microb.** doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.019.
- Garcia, M.A., C. Ferrero, N. Bertola, M. Martino and N. Zaritzky. 2002. Edible coatings from cellulose derivatives to reduce oil uptake in fried products. **Innov. Food Sci. Emerg. Tech.** 3: 391–397.
- Garnier, C., C. Michon, S. Durand, G. Cuvelier, J.L. Doublier and B. Launay. 2003. Iota-carrageenan/casein micelles interactions: evidence at different scales. **Colloids Surfaces B: Biointerfaces** 31: 177–184.
- Gallo, L.I., A.M.R. Pilosof and R.J. Jagus. 2007. Effective control of *Listeria innocue* by combination of nisin, pH and low temperature in liquid cheese whey. **Food Control** 18: 1,086-1,092.
- Gennadios, A., T.H. Mchaugh, C.L. Weller and J.M. Kroachta. 1994. Edible coatings and films based on protein, pp. 250-265. In J.M. Krochta, E.A. Baldwin and M.O. Nisperos-Carriedo, eds. **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality**. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, Pennsylvania.
- Giese, J. 1992. Developing low-fat meat products. **Food Tech.** 50: 100–108.

Glicksman, M. 1982. **Food Hydrocolloids**. Vol 1. CRC Prs, Boca Raton Inc., Florida.

Grant, G.T., E.R. Morris, D.A. Rees, P.J. Smith and C.D. Thom. 1973. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. **Febs Lett.** 32: 195–198.

Grower, J.L., K. Cooksey and K.J. Getty. 2004. Development and characterization of an antimicrobial packaging film coating containing nisin for inhibition of *Listeria monocytogenes*. **J. Food Protect.** 67: 475–479.

Guilbert, S. 1986. Technology and application of edible protective films, pp. 371-394. *In* M. Mathlouthi, ed. **Food Packaging and Preservation-Theory and Practice**. Elsevier Applied Science Publishers Co., London.

Gurdip, S., S. Maurya, M.P. deLampasona and C.A.N. Catalan. 2007. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. **Food Chem. Toxicol.** 45: 1,650–1,661.

Ha, J.U., Y.M. Kim and D.S. Lee. 2001. Multilayered antimicrobial polyethylene films applied to the packaging of ground beef. **Packag. Tech. Sci.** 15: 55-62.

Han, J.H. 2003. Antimicrobial food packaging, pp. 50-70. *In* R. Ahvenainen, ed. **Novel Food Packaging Technique**. Woodhead Publishing, Cambridge.

Hannah, C., U. Noll, J. Stormann and A.J. Slusarenko. 2004. Broad-spectrum activity of the volatile phytoanticipin allicin in extracts of garlic (*Allium sativum* L.) against plant pathogenic bacteria fungi and oomycetes. **Physiol. Molecular Plant Pathol.** 65: 79–89.

- Hernandez, E. 1994. Edible coatings from lipids and resins, pp. 279–300. *In* J.M. Krochta, E.A. Baldwin and M.O. Nisperos–Carriedo, eds. **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality**. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, Pennsylvania.
- Hili, P., C.S. Evans and R.G. Veness. 1997. Antimicrobial action of essential oils: The effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. **Lett. Appl. Microb.** 24: 269-275.
- Holley, R.A. and D. Patel. 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microb.** 22: 273-292.
- Jay, J.M., M.J. Loessner and D.A. Golden. 2005. **Modern Food Microbiology**. 17th ed. Springer Publishers, Inc., Maryland, USA.
- Kampf, N. and A. Nussinovit. 2000. Hydrocolloid coating of cheeses. **Food Hydrocoll.** 14: 531-537.
- Kester, J.J. and O.R. Fennema. 1986. Edible films and coatings: A review. **Food Tech.** 40: 47–59.
- Kim, H.-O., S.-W. Park and H.-D. Park. 2004. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 by cinnamic aldehyde purified from *Cinnamomum cassia* shoot. **Food Microb.** 21: 105–110.
- Kim, S.J. and Z. Ustunol. 2000. Sensory attributes of whey protein isolate and candelilla wax emulsion edible films. **J. Food Sci.** 66: 909–911.
- King, A.H. 1983. Brown seaweed extracts (alginates). **Food Hydrocoll.** 2: 115–188.

- Krochta, J.M. and C. De Mulder-Johnston. 1997. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Tech.** 51: 61–74.
- Lee, C.H., A.N.D. Soon, S.C. Lee, H.J. Park and D.S. Lee. 2004. A coating for use as an antimicrobial and antioxidative packaging material incorporating nisin and α -tocopherol. **J. Food Eng.** 62: 323–329.
- Lee, S.-H., K.-S. Chang, M.-S. Su, Y.-S. Huang and H.-D. Jang. 2006. Effects of some Chinese medicinal plant extracts on five different fungi. **Food Control** 18: 1,547-1,554.
- Limjaroen, P., E. Ryser, H. Lockhart and B. Harte. 2003. Development of a food packaging coating material with antimicrobial properties. **J. Plastic Film Sheet.** 19: 95–109.
- Maizura, M., A. Fazilah, M.H. Norziah, and A.A. Karim. 2007. Antibacterial activity and mechanical properties of partially hydrolyzed sago starch–alginate edible film containing lemongrass oil. **J. Food Sci.** 72: 334-330.
- Matan, N., H. Rimkeeree, A.J. Mawson, P. Chompreeda, V. Haruthaithanasan and M. Parker. 2006. Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. **Int. J. Food Microb.** 107: 180–185.
- Montes-Belmont, R. and M. Carvajal. 1998. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. **J. Food Prot.** 61: 616-619.
- Moorthi, P.S., K.P. Kumar, N.K. Vaidyanat, M. Deccaraman and P.T. Kalaichelvan. 2008. Incorporation of partially purified antimicrobial enzymes into sodium alginate films for carrot preservation. **Innov. Food Sci. Emerg. Tech.** doi:10.1016/j.ifset.2007.12.004.
- Moreira, M.R., A.G Ponce, C.E. del Valle and S.I. Roura. 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. **LWT-Food Sci. Tech.** 38: 565–570.

- Mosqueda-Melgar, J., R.M. Raybaudi-Massilia and O. Martin-Belloso. 2008. Non-thermal pasteurization of fruit juices by combining high-intensity pulsed electric fields with natural antimicrobials. **Innov. Food Sci. Emerg. Tech.** doi:10.1016/j.ifset.2007.09.003.
- Mytle, N., G.L. Anderson, M.P. Doyle and M.A. Smith. 2006. Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. **Food Control** 17: 102–107.
- Nascimento, G.G.F., L. Juliana, P.C. Freitas and G.L. Silva. 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Braz. J. Microb.** 31: 247-256.
- Nisperos–Carriedo, M.O. 1995. Edible coatings and films based on polysaccharides, pp. 305–335. In J.M. Krochta, E.A. Baldwin and M.O. Nisperos–Carriedo, eds. **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality**. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, Pennsylvania.
- Nychas, G.J.E. 1995. Natural antimicrobial from plants, pp. 59–89. In G.W. Gould, ed. **New Methods of Food Preservation**. Glasgow: Blackie Academic Professional.
- Okeke, M.I., C.U. Iroegbu, E.N. Eze, A.S. Okoli and C.O. Esimone. 2001. Evaluation of extracts of the root of *Landolphin owerrience* for antibacterial activity. **J. Ethnopharmacol.** 78: 119–127.
- Olivas, G.I., D.S. Mattinson and G.V. Barbosa-Canovas. 2007. Alginate coatings for preservation of minimally processed ‘Gala’ apples. **Postharv. Biol. Tech.** 45: 89–96.
- Onyeagba, R.A., O.C. Ugbogu, C.U. Okeke and O. Iroakasi. 2004. Studies on the antimicrobial effects of garlic (*Allium sativum* Linn), ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and lime (*Citrus aurantifolia* Linn). **African J. Biotech.** 3: 552-554.

- Oonmetta-aree, J., T. Suzuki, P. Gasaluck and G. Eumkeb. 2006. Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. **LWT-Food Sci. Tech.** 39: 1,214–1,220.
- Ouattara, B., M. Giroux, R. Yefsah, W. Smoragiewicz, L. Saucier, J. Borsaf and M. Lacroixa. 2002. Microbiological and biochemical characteristics of ground beef as affected by gamma irradiation, food additives and edible coating film. **Radiation Phys. Chem.** 63: 299–304.
- Ouattara, B., R.E. Simard, G. Piette, A. Begin and R.A. Holley. 2000a. Diffusion of acetic acid and propionic acids from chitosan–based antimicrobial packaging films. **J. Food Sci.** 65: 768–773.
- Ouattara, B., R.E. Simard, G. Piette, A. Begin and R. Holley. 2000b. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. **Int. J. Food Microb.** 62: 139-144.
- Pena, D.C.R. and J.A. Torres. 1991. Sorbic acid and potassium sorbate permeability of an edible methycellulose–palmitic acid films: Water activity and pH effects. **J. Food Sci.** 56: 497–499.
- Per, V.N. and R. Rios. 2000. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. **Int. J. Food Microb.** 60: 219–229.
- Perez–Gago, M.B. and J.M. Krochta. 1999. Water vapor permeability of whey protein emulsion films as affected by pH. **J. Food Sci.** 64: 695–698.

- Petinaki, E., I. Spiliopoulou and P. Liakos. 2006. Antimicrobial activities of plant compounds against antibiotic-resistant *Micrococcus luteus*. **Int. J. Antimicrobial Agents**. 28: 151-158.
- Phillips, S. and A. Wallbridge. 1979. The mycofloras associated with dry salt tropical fish. **Food Sci. Tech. Abst.** 10: 25-48.
- Pranoto, Y., S.K. Rakshit and V.M. Salokhe. 2005a. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. **LWT-Food Sci. Tech.** 38: 859–865.
- Pranoto, Y., V.M. Salokhe and S.K. Rakshit. 2005b. Physical and antimicrobial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. **Food Res. Int.** 38: 267–272.
- Rauha, J., S.Remes, M. Heinone, A. Hopia, M. Kahkonen, T. Kujala, K. Pihlaja, H. Vuorela and P. Vuorela. 2000. Antimicrobial effects of finish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **Int. J. Food Microb.** 56: 3–12.
- Raybaudi-Massilia, R.M., J. Mosqueda-Melgar and O. Martin-Belloso. 2008. Edible alginate-based coating as carrier of antimicrobials to improve shelf-life and safety of fresh-cut melon. **Int. J. Food Microb.** 121: 313–327.
- Renata, G.K.L. and J. Zamparini. 2002. Effects of spices on growth and survival of *Escherichia coli* 0157 and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in broth model systems and mayonnaise. **Food Control** 13: 399–404.
- Rojas-Grau, M.A., R.J. Avena-Bustillos, C. Olsen, M. Friedman, P.R. Henika, O. Martin-Belloso, Z. Pan and T.H. McHugh. 2007. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. **J. Food Eng.** 81: 634-641.

- Rojas-Grau, M.A., M.S.Tapia, and O. Martin-Belloso. 2008. Using polysaccharide-based edible coatings to maintain quality of fresh-cut Fuji apples. **LWT-Food Sci. Tech.** 41: 139-147.
- Rojo-Bezares, B., Y. Zaenz, M. Zarazaga and F. Ruiz-Larrea. 2007. Antimicrobial activity of nisin against *Oenococcus oeni* and other wine bacteria. **Int. J. Food Microb.** 116: 32-36.
- Salvador, A., T. Sanz and S.M. Fiszman. 2008. Performance of methyl cellulose in coating batters for fried products. **Food Hydrocoll.** 22: 1,062–1,067.
- Serge, A. and D. Mirelman. 1999. Antimicrobial properties of allicin from garlic. **Microbes Infect.** 2: 125-129.
- Seydim, A.C. and G. Sarikus. 2006. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. **Food Res. Int.** 39: 639–644.
- Shewry, P.R. and B.J. Miflin. 1985. Seed storage proteins of economically important cereals. **Adv. Cereal Sci. Tech.** Vol. 7. American of association of cereal chemists.
- Sigurasa, G.R. and J.A. Dickson. 1992. Inhibition of *Listeria monocytogenes* on beef tissue by application of organic acids immobilized in a calcium alginate gel. **J. Food Sci.** 57: 293–296.
- Siripongvutikorn, S., P. Thummaratwasikb and Y.-W. Huang. 2005. Antimicrobial and antioxidation effects of Thai seasoning, Tom-Yum. **LWT-Food Sci. Tech.** 38: 347–352.

Smidsrod, O. 1974. Molecular basis for some physical properties of alginates in the gel state.

Faraday Discuss. Chem. Society 57: 263–274.

Soares, N.F.F., D.M. Rutishauser, N. Melo, R.S. Cruz and N.J. Andrade. 2002. Inhibition of microbial growth in bread through active packaging. **Packag. Tech. Sci.** 15: 129–132.

Stecchini, M.L., I. Sarais and P. Giavedoni. 1993. Effect of essential oils on *Aeromonas hydrophila* in a culture medium and in cooked pork. **J. Food Prot.** 56: 406–409.

Tapia, M.S., M.A. Rojas-Grau, A. Carmona, F.J. Rodriguez, R. Soliva-Fortuny and O. Martin-Belloso. 2008. Use of alginate- and gellan-based coatings for improving barrier, texture and nutritional properties of fresh-cut. **Food Hydrocoll.** doi:10.1016/j.foodhyd.2007.10.004.

Thongson, C., P.M. Davidson, W. Mahakarnchanakul and J. Weiss. 2004. Antimicrobial activity of ultrasound-assisted solvent-extracted spices. **Lett. Appl. Microb.** 39: 401–406.

Thongson, C., P.M. Davidson, W. Mahakarnchanakul and P. Vibulsresth. 2005. Antimicrobial effect of Thai spices against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium DT104. **J. Food Prot.** 68: 2,054–2,058.

Torres, J.A., J.O. Bouzas and M. Karel. 1985. Microbial stabilization of intermediate moisture food surface II. Control of surface pH. **J. Food Proc. Preserv.** 9: 93–106.

Unal, R., H.P. Fleming, R.F. McFeeters, R.L. Thompson, F. Breidt, and J.F.G. Giesbrecht. 2001. Novel quantitative assays for estimating the antimicrobial activity of fresh garlic juice. **J. Food Prot.** 64: 189–194.

Valero, M. and M.C. Salmeron. 2003. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. **Int. J. Food Microb.** 85: 73–81.

- Vega, C., D.G. Dalgleish and H.D. Goff. 2005. Effect of k-carrageenan addition to dairy emulsions containing sodium caseinate and locust bean gum. **Food Hydrocoll.** 19: 187–195.
- Wanchaitanawong, P., P. Chaungwanit, N. Poovarodom and S. Nitisinprasert. 2005. *In vitro* antifungal activity of Thai herb and spice extracts against food spoilage fungi. **Kasetsart J. (Nat. Sci.)** 39: 400-405.
- Wendakoon, N. and M. Sakaguchi. 1993. Combined effect of sodium chloride and clove on growth and biogenic amine formation of *Enterobacter aerogenes* in mackerel muscle extract. **J. Food Prot.** 56: 410-413.
- Zactiti, E.M. and T.G. Kieckbusch. 2006. Potassium sorbate permeability in biodegradable alginate films: effect of the antimicrobial agent concentration and crosslinking degree. **J. Food Eng.** 77: 462-467.
- Zaika, L.L. 1998. Spices and herb: their antimicrobial activity and its determination. **J. Food safety** 9: 97–118.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การหาปริมาณเกลือโดยวิธีไทเทรต

การหาปริมาณเกลือคลอไรด์เป็นเปอร์เซ็นต์ โดยการไทเทรตวิธีของมอห์ร (Mohr's Method)

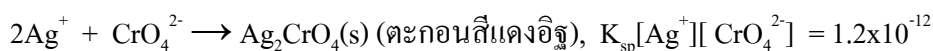
เป็นการไทเทรตหาปริมาณของคลอไรด์ โดยอาศัยหลักการเกี่ยวกับการตกตะกอนที่แตกต่างกันระหว่างซิลเวอร์คลอไรด์ (AgCl) และซิลเวอร์โครเมต (Ag_2CrO_4) ซิลเวอร์คลอไรด์เป็นสารละลายที่ละลายได้ยากกว่าซิลเวอร์โครเมต ในทางปฏิบัติต้องทำให้คลอไรด์ตกตะกอนเป็นซิลเวอร์คลอไรด์หมดก่อนที่โครเมตไอออนจะเริ่มตกตะกอนเป็นซิลเวอร์โครเมตซึ่งมีสีแดงอิฐ การที่ซิลเวอร์โครเมตจะตกตะกอนได้นั้น ผลคูณของซิลเวอร์ไอออน $[\text{Ag}^+]^2$ และโครเมตไอออน $[\text{CrO}_4^{2-}]$ จะต้องเกินกว่าค่า K_{sp} (1.1×10^{-12}) ดังนั้น ความเข้มข้นของโครเมตไอออนในสารละลายจึงมีความสำคัญ ถ้าโครเมตไอออนมีค่าน้อยไป ทำให้ต้องใช้ซิลเวอร์ไอออนมากขึ้น จึงจะทำให้เกิดตะกอนซิลเวอร์โครเมต แต่ถ้าใช้โครเมตไอออนที่มีค่าสูงก็จะทำให้ยากแก่การดูจุดยุติ เพราะสีเหลืองของโครเมตไอออนจะเข้มข้นมาก ยากที่ตาจะมองเห็นความเปลี่ยนแปลงได้ จากการคำนวณโครเมตไอออนที่ทำให้เกิดซิลเวอร์โครเมตพอดี เมื่อซิลเวอร์คลอไรด์ตกตะกอนหมดจะมีค่าเท่ากับ 6.0×10^{-3} โมลต่อลิตร ซึ่งในทางปฏิบัติ ใช้โครเมตไอออนที่จุดยุติมีค่าต่ำกว่า 5.0×10^{-3} โมลต่อลิตร (จารนัย, 2540)

ดังนั้นการลดความเข้มข้นของโครเมตไอออนให้น้อยลงไป เป็นผลให้ใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (AgNO_3) มากกว่าความเป็นจริง จึงต้องทำการหาปริมาตรของสารละลายซิลเวอร์ไอออนที่มากเกินไป โดยการไทเทรตสารละลายผสมไว้ตัวอย่าง

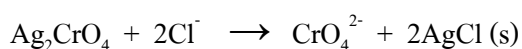
ปฏิกิริยาการเกิดตะกอน



ปฏิกิริยาที่จุดยุติ



ในขณะที่ไทเทรตถ้าเติมซิลเวอร์ไนเตรตมาก จะเกิดซิลเวอร์ไอออนเฉพาะแห่ง เกิดตะกอนสีแดงของซิลเวอร์โครเมตถ้าเขย่าจะเกิดปฏิกิริยา ดังนี้



ดังนั้นต้องเขย่าสารละลายขณะไทเทรตเพื่อจะได้จุดยุติที่ถูกต้อง

1. การเตรียมสารละลาย

1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรด โดยชั่งซิลเวอร์ไนเตรดหนัก 8.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วเก็บสารละลายลงในขวดสีน้ำตาลที่มีจุกปิด

1.2 การเตรียมสารละลายอินดิเคเตอร์ ชั่งโพแทสเซียมโครเมต (K_2CrO_4) 4.2 กรัม และ โพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) 0.7 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ใช้สารละลายประมาณ 1-2 มิลลิลิตร ต่อสารละลาย 50 มิลลิลิตร

1.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมคลอไรด์ให้มีความเข้มข้นใกล้เคียงกับ 0.10 โมลต่อลิตร โดยนำโซเดียมคลอไรด์ที่เป็นรีเอเจนต์เกรด ออบแห้งที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำมาทำให้เย็นในเคซิเคเตอร์ ชั่งโซเดียมคลอไรด์ที่ได้ให้มึน้ำหนักใกล้เคียงกับ 0.5850 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร

2. การทดลอง

2.1 ปิเปตดูดสารละลายมาตรฐานโซเดียมคลอไรด์มา 5 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปกรวย ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายอินดิเคเตอร์ 0.125 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้สารละลายเข้ากัน แล้วนำไปไทเทรตกับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรดจากบิวเรต ซึ่งจะต้องเขย่าสารละลายในขวดอยู่ ตลอด ให้สังเกตสีของสารละลายเมื่อเติมซิลเวอร์ไนเตรดลงไป ถ้าใกล้จุดยุติ สีแดงที่เกิดขึ้นจะ ค่อยๆ จางหายไปอย่างช้าๆ แล้วไทเทรตต่อไปจนได้สีแดงอิฐเกิดขึ้นบนตะกอน และไม่จางหายไป เมื่อเขย่า เมื่อสารละลายเปลี่ยนสีแล้วให้บันทึกค่าเป็น V_1

ซิลเวอร์โครเมตที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับคลอไรด์ไอออนได้ช้ามาก ดังนั้นจึงต้อง เขย่าสารละลายเสมอขณะไทเทรต และการหยดสารละลายซิลเวอร์ไนเตรดต้องไม่เร็วเกินไป เพราะ จะทำให้เกิดตะกอนซิลเวอร์โครเมตมากเกินไปไม่สามารถทำปฏิกิริยากับไอออนของคลอไรด์ไอออน ได้ทัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใกล้จุดยุติ ดังนั้นในการไทเทรตจะต้องเขย่าจนสีแดงอิฐจางหายไป แล้วจึงหยดสารละลายซิลเวอร์ไนเตรดหยดต่อไป

2.2 นำเนื้พลาสติกเค็ม 5 กรัม ตีปนให้เข้ากันกับน้ำกลั่นปริมาตร 45 มิลลิลิตร ใช้ปิเปตดูดสารละลายจากพลาสติกเค็ม 5 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายอินดิเคเตอร์ 0.125 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้สารละลายเข้ากัน แล้วนำไปไทเทรตกับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรดจากบิวเรต ซึ่งจะต้องเขย่าสารละลายในขวดอยู่ตลอด ให้สังเกตจุดสีแดงของสารละลายเมื่อเติมซิลเวอร์ไนเตรดลงไป ถ้าใกล้จุดยุติ สีแดงที่เกิดขึ้นจะค่อยๆ จางหายไปอย่างช้าๆ แล้วไทเทรตต่อไปจนได้สีแดงอิฐเกิดขึ้นบนตะกอนและไม่จางหายไปเมื่อเขย่า เมื่อสารละลายเปลี่ยนสีแล้วให้บันทึกค่าเป็น V_2

2.3 สำหรับการไทเทรตสารละลายผสมไว้ตัวอย่าง ให้ใส่แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) ที่ปราศจากคลอไรด์ให้มีปริมาณเท่ากับตะกอนซิลเวอร์คลอไรด์ที่เกิดขึ้นจากการไทเทรตโซเดียมคลอไรด์ แล้วทำปริมาตรให้เท่ากันโดยเติมน้ำกลั่น จากนั้นเติมสารละลายอินดิเคเตอร์ลงไป 0.125 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรตกับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรดจนถึงสีของสารละลายใกล้เคียงกับสีของตะกอนจากการไทเทรตครั้งก่อนๆ มากที่สุด บันทึกปริมาตรซิลเวอร์ไนเตรดที่ใช้เป็น V_b

3. การคำนวณ

3.1 ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรด

$$\begin{aligned} \text{จำนวนโมล AgNO}_3 &= \text{จำนวนโมล NaCl} \\ \text{ความเข้มข้น AgNO}_3 &= \frac{\text{น้ำหนักของ NaCl (กรัม)} \times 1000 \text{ มล./ลิตร}}{\text{น้ำหนักสูตร NaCl (กรัม/โมล)} \times (V_1 - V_b) (\text{มล.})} \end{aligned}$$

3.2 การหาปริมาณเกลือคลอไรด์ในตัวอย่าง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์

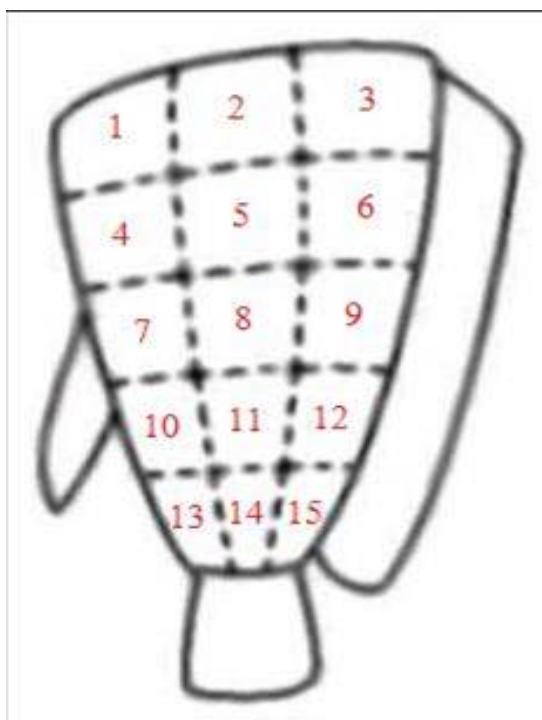
$$\begin{aligned} \text{จำนวนโมล MCl} &= \text{จำนวนโมลของ AgNO}_3 \\ \text{น้ำหนักของ MCl} &= [\text{AgNO}_3] (\text{โมล/ลิตร}) \times (V_2 - V_b) (\text{มล.}) \times \text{น้ำหนักสูตร NaCl (กรัม/โมล)} \\ &\quad 1000 \text{ มล./ลิตร} \end{aligned}$$

ภาคผนวก ข

การคำนวณความเข้มข้นสารสกัดจากพืชสมุนไพรในสารเคลือบบริโภคนได้

การคำนวณความเข้มข้นสารสกัดจากพืชสมุนไพรในสารเคลือบบริโภคได้

นำพลาสติกเค็มเคลือบแครร่าจิแนน 2.5 เปอร์เซนต์ มาลอกออก เพื่อตรวจวัดความหนาเฉลี่ยทั้งตัวปลา สุ่มวัดความหนา 15 ตำแหน่ง ในแต่ละด้านของตัวปลา เพื่อใช้ในการคำนวณปริมาณสารสกัดที่ต้องเติมในสารละลายแครร่าจิแนน เพื่อให้ได้สารเคลือบบนตัวปลา มีความเข้มข้นของสารสกัด เทียบเท่ากับค่า MIC ที่ได้ พบว่า ได้ความหนาเฉลี่ยของสารเคลือบบนตัวอย่างพลาสติกเค็มอยู่ในช่วง 0.2-0.3 มิลลิเมตร



ภาพผนวกที่ ข1 ตำแหน่งการวัดความหนาของสารเคลือบบริโภคได้บนตัวอย่างพลาสติกเค็ม

สารละลาย สารเคลือบบริโภคได้ แครร่าจิแนน 2.5 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)

มีค่าความหนืด (% Scale Viscosity) 636 Centipoise

เตรียมสารละลาย 100 มิลลิลิตร มีปริมาตร 83.25 มิลลิลิตร น้ำหนัก 82.075 กรัม

ใช้อุณหภูมิในการปาดฟิล์มที่ 65 องศาเซลเซียส

ปาดฟิล์มได้พื้นที่ประมาณ 180x220 มิลลิเมตร = 39,600 ตารางมิลลิเมตร

ผึ่งพัสดมไว้ 3-4 ชั่วโมง เพื่อให้ได้ความหนาเฉลี่ยได้อยู่ในช่วง 0.2-0.3 มิลลิเมตร
 ตัดฟิล์มพื้นที่ 25x25 มิลลิเมตร = 625 ตารางมิลลิเมตร
 มีน้ำหนัก 0.784 กรัม ปริมาณความชื้น 79.57 เปอร์เซ็นต์

จากการทดสอบสารสกัดจากสมุนไพรด้วยวิธีการแพร่บนอาหารแข็ง (Well Assay)
 หลุมที่เจาะใส่สารสกัด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร โดยคำนวณเป็นพื้นที่วงกลม
 เนื่องจากสารสกัดจะตกตะกอนไปที่ก้นหลุม จึงไม่คิดค่าความลึกของหลุม
 คิดเป็นพื้นที่ 19.64 ตารางมิลลิเมตร (ประมาณ 20 ตารางมิลลิเมตร)

จากค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดที่สามารถต้านจุลินทรีย์ที่ได้จากการทดสอบ
 มีค่า 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่สารลงไป 40 ไมโครลิตร
 ดังนั้น ความเข้มข้นของสารสกัด 5 มิลลิกรัม

ดังนั้น พื้นที่ของฟิล์ม 39,600 ตารางมิลลิเมตร ใช้สารละลาย 83.25 มิลลิลิตร
 ถ้าพื้นที่ของฟิล์ม 20 ตารางมิลลิเมตร ใช้สารละลาย 0.042 มิลลิลิตร

ดังนั้น สารละลาย 0.042 มิลลิลิตร ใช้สารสกัด 5 มิลลิกรัม
 ถ้าสารละลาย 83.25 มิลลิลิตร ใช้สารสกัด 9,910.7 มิลลิกรัม (ประมาณ 9.9 กรัม)

ดังนั้นในการเตรียมสารละลายแคร์ราจีแนน 2.5 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร ที่ใส่สารสกัดจาก
 สมุนไพรที่ต้องการความเข้มข้นเป็น 1 เท่าของค่า MIC (125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ต้องใส่สารสกัด
 จากสมุนไพรที่ความเข้มข้น 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงไปในสารละลาย 9.9 กรัม
 คิดเป็นความเข้มข้นของสารสกัดจากสมุนไพรในสารละลาย 9.9 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
 หรือประมาณ 0.1 กรัมต่อมิลลิลิตร

การคำนวณปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดจากสมุนไพรในสารเคลือบบริโภคน้ำได้

จำนวนเท่า ของ MIC	ค่า MIC (mg/ml)	ค่าความเข้มข้น ที่ได้ (mg/ml)	ค่าความเข้มข้น ที่ใช้ (mg/ml)	ปริมาตร ที่ใช้ (g/100ml)	ความเข้มข้น ของสารสกัด ในสารเคลือบ (g/ml)
1xMIC	125	125	125	10.0	0.1
5xMIC	125	625	500	12.5	0.5
10xMIC	125	1,250	1,000	12.5	1.0
15xMIC	125	1,875	2,000	9.4	1.5

ภาคผนวก ค
ตารางผลการทดลอง

ตารางผนวกที่ ค1 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี และจุลินทรีย์ของตัวอย่างปลาสดเค็ม

แหล่งตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน				ปริมาณจุลินทรีย์ (logCFU/g)			
	ค่า a_w	เปอร์เซ็นต์ความชื้น	เปอร์เซ็นต์เกลือ	เปอร์เซ็นต์เกลือ	จุลินทรีย์ทั้งหมด	ยีสต์และรา	จุลินทรีย์	แบคทีเรีย
			(เครื่อง Salometer)	(วิธีไทเทรต)				
					(PCA)	(PDA pH3.5)	(PDA pH5.5)	(NA)
1	0.867 $\pm$ 0.020	47.11 $\pm$ 1.86	20.00 $\pm$ 0.00	28.12	8.9	-	9.0	9.0
2	0.859 $\pm$ 0.009	46.85 $\pm$ 1.46	20.00 $\pm$ 2.00	27.83	6.7	-	6.6	6.7
3	0.819 $\pm$ 0.010	34.28 $\pm$ 1.54	22.00 $\pm$ 0.00	34.21	9.0	-	8.8	9.1
4	0.844 $\pm$ 0.008	34.20 $\pm$ 2.56	20.67 $\pm$ 1.15	27.69	8.6	-	8.1	9.6
5	0.861 $\pm$ 0.014	39.61 $\pm$ 1.15	21.33 $\pm$ 1.15	39.85	6.8	-	6.9	6.5
6	0.829 $\pm$ 0.023	42.91 $\pm$ 2.78	22.00 $\pm$ 0.00	42.60	7.1	-	7.1	7.2
7	0.854 $\pm$ 0.024	43.45 $\pm$ 2.91	32.00 $\pm$ 0.00	45.41	7.4	-	8.0	7.9
8	0.862 $\pm$ 0.026	44.48 $\pm$ 1.84	30.67 $\pm$ 0.00	26.43	7.5	-	7.8	7.9
9	0.811 $\pm$ 0.018	42.95 $\pm$ 1.15	29.33 $\pm$ 1.15	18.70	7.3	-	7.4	7.6
10	0.823 $\pm$ 0.030	46.77 $\pm$ 2.99	25.33 $\pm$ 1.15	29.80	9.4	-	9.5	9.5
11	0.846 $\pm$ 0.011	37.55 $\pm$ 1.49	26.67 $\pm$ 1.15	38.94	7.3	-	7.6	7.4
12	0.818 $\pm$ 0.016	37.66 $\pm$ 1.57	20.00 $\pm$ 0.00	33.46	7.5	3.8	8.5	8.4
13	0.875 $\pm$ 0.012	39.86 $\pm$ 1.62	22.00 $\pm$ 2.00	41.89	7.6	3.9	8.4	9.0
14	0.808 $\pm$ 0.010	35.86 $\pm$ 1.94	24.00 $\pm$ 0.00	41.89	7.5	3.6	8.8	8.9

หมายเหตุ - ตรวจไม่พบจุลินทรีย์

ตารางผนวกที่ ค2 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างปลาสดเค็ม ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

แหล่ง ตัวอย่าง	ปริมาณจุลินทรีย์ (logCFU/g)								
	Total Plate Count	Yeast-Mold	Bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i>	Enterobacteriaceae	<i>E. coli</i>	Coliform	<i>Pseudomonas</i>	<i>Salmonella</i>
1	8.9	-	9.09	-	-	-	-	-	negative
2	6.7	-	6.7	-	-	-	-	-	positive
3	9.0	-	9.1	7.3	-	-	-	-	negative
4	8.6	-	9.6	5.3	-	-	-	-	positive
5	6.8	-	6.5	-	-	-	-	-	negative
6	7.1	-	7.2	5.7	-	-	-	-	positive
7	7.4	-	7.9	5.7	-	-	-	-	positive
8	7.5	-	7.9	-	-	-	-	-	negative
9	7.3	-	7.6	6.8	-	-	-	-	positive
10	9.4	-	9.5	-	-	-	-	-	positive
11	7.3	-	7.4	-	-	-	-	-	positive
12	7.5	3.8	8.4	-	-	-	-	-	positive
13	7.6	3.9	9.0	7.3	-	-	-	-	positive
14	7.5	3.6	8.9	6.3	-	-	-	-	positive

หมายเหตุ - ตรวจไม่พบจุลินทรีย์

ตารางผนวกที่ ๑3 การด้านการเติบโตของ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดจากสมุนไพร

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
กระชาย	น้ำกลั่น	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เอทิลแอลกอฮอล์	-	-	-	-	-	-	8.78±0.03 ^a	9.87±0.04 ^b	10.20±0.03 ^c
กระเทียม	น้ำกลั่น	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เอทิลแอลกอฮอล์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กานพลู	น้ำกลั่น	-	-	-	-	-	-	10.68±0.42 ^{aA}	11.43±0.16 ^{aA}	12.59±0.24 ^{bA}
	เอทิลแอลกอฮอล์	-	-	7.70±0.06 ^a	9.41±0.04 ^b	9.94±0.03 ^c	10.61±0.10 ^d	11.29±0.01 ^{cA}	12.80±0.11 ^{fA}	14.00±0.08 ^{gB}
อบเชย	น้ำกลั่น	-	8.38±0.06 ^{aA}	9.14±0.06 ^{abA}	9.46±0.06 ^{bA}	11.88±0.06 ^{cA}	12.11±0.33 ^{dA}	13.17±0.24 ^{dA}	14.42±0.14 ^{cA}	16.54±0.59 ^{fA}
	เอทิลแอลกอฮอล์	9.79±0.04 ^a	10.42±0.03 ^{bb}	11.06±0.08 ^{cb}	11.86±0.03 ^{db}	12.82±0.06 ^{cb}	13.52±0.08 ^{fb}	15.52±0.03 ^{gb}	16.00±0.06 ^{hb}	17.97±0.07 ^{ib}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงถึงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ ๑๔ การด้านการเติบโตของ *Staphylococcus epidermidis* ของสารสกัดจากสมุนไพร

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
กระชาย	น้ำกลั่น	-	-	-	-	-	-	-	8.24±0.06 ^{aA}	9.96±0.06 ^{bA}
	เอทิลแอลกอฮอล์	-	-	-	-	7.61±0.04 ^a	7.73±0.04 ^{ab}	7.85±0.04 ^b	8.28±0.06 ^{cA}	8.88±0.06 ^{dB}
กระเทียม	น้ำกลั่น	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เอทิลแอลกอฮอล์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กานพลู	น้ำกลั่น	-	-	-	-	-	-	9.73±0.01 ^{aA}	12.47±0.07 ^{bA}	14.45±0.10 ^{cA}
	เอทิลแอลกอฮอล์	-	-	-	-	9.86±0.20 ^a	10.61±0.04 ^b	12.71±0.07 ^{cB}	12.99±0.18 ^{cA}	14.58±0.37 ^{dA}
อบเชย	น้ำกลั่น	-	-	-	-	10.20±0.03 ^{aA}	10.78±0.08 ^{aA}	12.02±0.08 ^{bA}	13.62±0.06 ^{cA}	15.83±0.04 ^{dA}
	เอทิลแอลกอฮอล์	-	9.83±0.04 ^a	10.66±0.06 ^b	11.20±0.03 ^c	12.08±0.03 ^{dB}	14.05±0.08 ^{eB}	14.76±0.08 ^{fB}	17.43±0.01 ^{gB}	18.12±0.22 ^{hB}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงถึงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางผนวกที่ ค5 การดำเนินการเติบโตของ *Micrococcus luteus* ของสารสกัดจากสมุนไพร

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
กระชาย	น้ำกลั่น	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เอทิลแอลกอฮอล์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระเทียม	น้ำกลั่น	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เอทิลแอลกอฮอล์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กานพลู	น้ำกลั่น	-	-	-	-	-	9.90±0.23 ^{aA}	10.83±0.01 ^{bA}	11.24±0.37 ^{bA}	15.05±0.13 ^{cA}
	เอทิลแอลกอฮอล์	-	-	-	10.76±0.06 ^a	12.22±0.08 ^b	14.53±0.13 ^{cB}	16.03±0.16 ^{dB}	16.95±0.16 ^{cB}	18.48±0.06 ^{fB}
อบเชย	น้ำกลั่น	-	-	10.98±0.08 ^{aA}	11.28±0.06 ^{bA}	12.51±0.04 ^{cA}	13.28±0.06 ^{dA}	13.55±0.10 ^{cA}	14.81±0.07 ^{fA}	15.78±0.11 ^{gA}
	เอทิลแอลกอฮอล์	-	-	10.94±0.17 ^{aA}	11.83±0.04 ^{bB}	12.29±0.04 ^{cB}	13.36±0.08 ^{dA}	16.73±0.13 ^{cB}	17.77±0.18 ^{fB}	18.32±0.14 ^{gB}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการด้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ ๑๖ การด้านการเติบโตของ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารสกัดจากสมุนไพร

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
กระชาย	น้ำกลั่น	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เอทิลแอลกอฮอล์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระเทียม	น้ำกลั่น	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เอทิลแอลกอฮอล์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กานพลู	น้ำกลั่น	-	-	-	-	-	7.58±0.23 ^{aA}	10.00±0.03 ^{bA}	10.49±0.18 ^{cA}	13.11±0.01 ^{dA}
	เอทิลแอลกอฮอล์	-	-	-	-	-	10.27±0.18 ^{aB}	10.91±0.04 ^{bB}	12.06±0.17 ^{cB}	13.28±0.08 ^{dA}
อบเชย	น้ำกลั่น	7.74±0.03 ^a	8.01±0.07 ^{bA}	9.21±0.01 ^{cA}	10.09±0.04 ^{dA}	10.40±0.06 ^{eA}	11.19±0.01 ^{fA}	11.89±0.01 ^{gA}	12.10±0.03 ^{hA}	14.82±0.03 ^{iA}
	เอทิลแอลกอฮอล์	-	9.77±0.35 ^{aB}	10.56±0.03 ^{bB}	11.60±0.03 ^{cB}	12.69±0.04 ^{dB}	13.58±0.06 ^{eB}	14.21±0.04 ^{fB}	15.11±0.01 ^{gB}	17.02±0.06 ^{hB}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงถึงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ ๗ ความเข้มข้นของสารสกัดจากกระชายที่ด้านการเติบโตจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม

จำนวนจุลินทรีย์คอกเทล จากตัวอย่างพลาสติกเค็ม	แหล่งตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
		คอกเทลแบคทีเรีย (NA)			คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)		
(logCFU/g)		250	500	1000	250	500	1000
แบคทีเรีย, จุลินทรีย์							
7.9, 8.0	1	-	-	-	8.85±0.03 ^{aD}	10.65±0.03 ^{bD}	12.96±0.04 ^{cG}
5.6, 5.7	2	-	-	-	7.69±0.15 ^{aA}	8.69±0.52 ^{bAB}	10.59±0.34 ^{cC}
8.1, 7.8	3	-	-	-	8.51±0.03 ^{aC}	9.03±0.06 ^{bB}	10.35±0.06 ^{cB}
8.6, 7.0	4	-	-	-	8.45±0.05 ^{aC}	8.87±0.03 ^{bAB}	10.43±0.06 ^{cBC}
5.5, 5.9	5	-	-	-	8.00±0.04 ^{aB}	8.89±0.03 ^{bAB}	10.23±0.03 ^{cB}
6.2, 6.1	6	-	-	-	9.27±0.03 ^{aE}	10.96±0.04 ^{bD}	12.65±0.05 ^{cF}
6.9, 7.0	7	-	-	-	8.55±0.03 ^{aC}	9.97±0.03 ^{bC}	11.17±0.03 ^{cD}
6.9, 6.8	8	-	-	-	-	-	-
6.6, 6.4	9	-	-	-	8.44±0.05 ^{aC}	8.97±0.08 ^{bB}	11.46±0.04 ^{cE}
8.4, 8.5	10	-	-	-	8.03±0.05 ^{aB}	8.61±0.03 ^{bA}	9.97±0.03 ^{cA}

ตารางผนวกที่ ๗ (ต่อ)

จำนวนจุลินทรีย์คอกเทล จากตัวอย่างพลาสติกเค็ม	แหล่งตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
		คอกเทลแบคทีเรีย (NA)			คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)		
(logCFU/g)		250	500	1000	250	500	1000
แบคทีเรีย, จุลินทรีย์							
6.9, 7.0	1	-	-	-	9.92±0.02 ^{aE}	11.64±0.04 ^{bH}	13.27±0.03 ^{cG}
4.6, 4.7	2	-	-	-	8.51±0.31 ^{aAB}	10.22±0.13 ^{bE}	12.39±0.33 ^{cF}
7.1, 6.8	3	-	-	-	8.61±0.03 ^{aBC}	9.44±0.11 ^{bC}	11.58±0.04 ^{cC}
7.6, 6.0	4	-	-	-	8.73±0.04 ^{aC}	9.71±0.04 ^{bD}	11.80±0.02 ^{cD}
4.5, 4.9	5	-	-	-	8.72±0.02 ^{aC}	9.21±0.03 ^{bB}	10.36±0.04 ^{cB}
5.2, 5.1	6	-	-	-	9.47±0.04 ^{aD}	11.33±0.03 ^{bG}	13.09±0.04 ^{cG}
5.9, 6.0	7	-	-	-	9.98±0.05 ^{aE}	10.88±0.02 ^{bF}	12.07±0.03 ^{cE}
5.9, 5.8	8	-	-	-	-	-	-
5.6, 5.4	9	-	-	-	10.05±0.05 ^{aE}	11.88±0.02 ^{bI}	17.53±0.03 ^{cH}
7.4, 7.5	10	-	-	-	8.36±0.04 ^{aA}	8.75±0.04 ^{bA}	10.07±0.03 ^{cA}

ตารางผนวกที่ ๗ (ต่อ)

จำนวนจุลินทรีย์คอกเทล จากตัวอย่างพลาสติกเค็ม	แหล่งตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
		คอกเทลแบคทีเรีย (NA)			คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)		
(logCFU/g)		250	500	1000	250	500	1000
แบคทีเรีย, จุลินทรีย์							
5.9, 6.0	1	-	-	-	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
3.6, 3.7	2	-	-	-	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
6.1, 5.8	3	-	-	-	9.79±0.06 ^{aC}	10.36±0.04 ^{bC}	12.01±0.04 ^{cB}
6.6, 5.0	4	-	-	-	8.93±0.04 ^{aB}	9.87±0.03 ^{bB}	12.51±0.05 ^{cC}
3.5, 3.9	5	-	-	-	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
4.2, 4.1	6	-	-	-	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
4.9, 5.0	7	-	-	-	10.39±0.03 ^{aD}	11.55±0.03 ^{bD}	14.30±0.02 ^{cD}
4.9, 4.8	8	-	-	-	-	-	-
4.6, 4.4	9	-	-	-	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
6.4, 6.5	10	-	-	-	8.62±0.04 ^{aA}	8.91±0.03 ^{bA}	10.18±0.02 ^{cA}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการด้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงถึงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ ๑๘ ความเข้มข้นของสารสกัดจากกระเทียมที่ด้านการเติบโตจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม

จำนวนจุลินทรีย์คอกเทล จากตัวอย่างพลาสติกเค็ม (logCFU/g)	แหล่งตัวอย่าง แบคทีเรีย, จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
		คอกเทลแบคทีเรีย (NA)			คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)		
		250	500	1000	250	500	1000
7.9, 8.0	1	-	-	-	-	7.95±0.03 ^{aA}	9.49±0.03 ^{bD}
5.6, 5.7	2	-	-	-	-	-	-
8.1, 7.8	3	-	-	-	-	-	9.15±0.05 ^C
8.6, 7.0	4	-	-	-	-	8.25±0.05 ^{aB}	9.96±0.04 ^{bE}
5.5, 5.9	5	-	-	-	-	-	-
6.2, 6.1	6	-	-	-	8.49±0.04 ^a	10.54±0.02 ^{bC}	11.77±0.04 ^{cF}
6.9, 7.0	7	-	-	-	-	-	8.58±0.04 ^A
6.9, 6.8	8	-	-	-	-	7.92±0.05 ^{aA}	8.83±0.03 ^{biB}
6.6, 6.4	9	-	-	-	-	-	9.58±0.31 ^D
8.4, 8.5	10	-	-	-	-	-	-

ตารางผนวกที่ ค8 (ต่อ)

จำนวนจุลินทรีย์คอกเทล จากตัวอย่างพลาสติกเค็ม (logCFU/g) แบคทีเรีย, จุลินทรีย์	แหล่งตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
		คอกเทลแบคทีเรีย (NA)			คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)		
		250	500	1000	250	500	1000
6.9, 7.0	1	-	-	-	-	9.46±0.04 ^{aC}	10.98±0.02 ^{bD}
4.6, 4.7	2	-	-	-	-	-	-
7.1, 6.8	3	-	-	-	-	-	9.55±0.06 ^B
7.6, 6.0	4	-	-	-	-	8.96±0.04 ^{aB}	10.29±0.06 ^{bC}
4.5, 4.9	5	-	-	-	-	-	-
5.2, 5.1	6	-	-	-	9.64±0.02 ^a	12.83±0.04 ^{bD}	14.69±0.03 ^{cF}
5.9, 6.0	7	-	-	-	-	-	9.50±0.02 ^B
5.9, 5.8	8	-	-	-	-	8.12±0.02 ^{aA}	9.05±0.04 ^{bA}
5.6, 5.4	9	-	-	-	-	-	12.17±0.03 ^E
7.4, 7.5	10	-	-	-	-	-	-

ตารางผนวกที่ ค8 (ต่อ)

จำนวนจุลินทรีย์คอกเทล จากตัวอย่างพลาสติกเค็ม (logCFU/g) แบคทีเรีย, จุลินทรีย์	แหล่งตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
		คอกเทลแบคทีเรีย (NA)			คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)		
		250	500	1000	250	500	1000
5.9, 6.0	1	-	-	-	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
3.6, 3.7	2	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
6.1, 5.8	3	-	-	-	-	-	10.28±0.12 ^B
6.6, 5.0	4	-	-	-	-	9.19±0.05 ^a	11.27±0.04 ^{bD}
3.5, 3.9	5	-	-	-	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
4.2, 4.1	6	-	-	-	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
4.9, 5.0	7	-	-	-	-	-	10.86±0.02 ^C
4.9, 4.8	8	-	-	-	-	8.31±0.01 ^a	9.27±0.02 ^{bA}
4.6, 4.4	9	-	-	-	-	-	13.77±0.04 ^E
6.4, 6.5	10	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการด้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ ๑๑ ความเข้มข้นของสารสกัดจากานพลูที่ด้านการเติบโตจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม

จำนวนจุลินทรีย์คอกเทล จากตัวอย่างพลาสติกเค็ม (logCFU/g)	แหล่งตัวอย่าง แบคทีเรีย, จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
		คอกเทลแบคทีเรีย (NA)			คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)		
		250	500	1000	250	500	1000
7.9, 8.0	1	9.94±0.02 ^{aG}	10.33±0.03 ^{bG}	13.25±0.05 ^{cF}	14.05±0.04 ^{dH}	17.83±0.04 ^{eH}	19.66±0.05 ^{fH}
5.6, 5.7	2	8.58±0.18 ^{aE}	9.66±0.03 ^{bE}	11.64±0.18 ^{cE}	13.27±0.14 ^{dF}	16.79±0.14 ^{eF}	17.65±0.16 ^{fD}
8.1, 7.8	3	7.37±0.10 ^{aB}	8.56±0.08 ^{bB}	10.97±0.03 ^{cD}	12.35±0.09 ^{dD}	15.78±0.09 ^{eE}	18.32±0.13 ^{fF}
8.6, 7.0	4	7.11±0.04 ^{aA}	9.05±0.04 ^{bC}	10.30±0.04 ^{cB}	12.92±0.02 ^{dE}	16.81±0.03 ^{eF}	22.63±0.07 ^{fJ}
5.5, 5.9	5	7.63±0.04 ^{aC}	8.26±0.04 ^{bA}	9.03±0.03 ^{cA}	11.76±0.02 ^{dC}	13.89±0.02 ^{eC}	14.18±0.05 ^{fB}
6.2, 6.1	6	9.46±0.04 ^{aF}	9.88±0.02 ^{bF}	13.28±0.02 ^{cF}	13.53±0.03 ^{cG}	15.60±0.02 ^{dD}	18.05±0.05 ^{eE}
6.9, 7.0	7	8.23±0.03 ^{aD}	9.37±0.03 ^{bD}	10.83±0.03 ^{cC}	12.30±0.04 ^{dD}	15.73±0.03 ^{eE}	18.78±0.04 ^{fG}
6.9, 6.8	8	11.72±0.02 ^{bi}	12.25±0.03 ^{cH}	14.59±0.03 ^{fI}	10.65±0.03 ^{aB}	13.03±0.03 ^{dB}	14.51±0.04 ^{eC}
6.6, 6.4	9	12.17±0.03 ^{aj}	12.98±0.02 ^{bi}	14.23±0.03 ^{eH}	14.04±0.04 ^{dH}	17.43±0.03 ^{cG}	19.96±0.04 ^{fI}
8.4, 8.5	10	10.80±0.02 ^{cH}	12.33±0.03 ^{cH}	14.10±0.02 ^{fG}	8.07±0.03 ^{aA}	9.97±0.03 ^{bA}	11.05±0.04 ^{dA}

ตารางผนวกที่ ๑๑ (ต่อ)

จำนวนจุลินทรีย์คอกเทล จากตัวอย่างพลาสติกเค็ม (logCFU/g)	แหล่งตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
		คอกเทลแบคทีเรีย (NA)			คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)		
แบคทีเรีย, จุลินทรีย์		250	500	1000	250	500	1000
6.9, 7.0	1	10.24±0.04 ^{aG}	11.43±0.03 ^{bE}	14.53±0.04 ^{cF}	17.03±0.03 ^{dJ}	19.57±0.04 ^{eI}	22.32±0.02 ^{fH}
4.6, 4.7	2	8.92±0.11 ^{aE}	11.57±0.14 ^{bF}	12.94±0.07 ^{cD}	14.73±0.25 ^{dF}	17.74±0.25 ^{eG}	19.99±0.17 ^{eD}
7.1, 6.8	3	7.67±0.10 ^{aB}	9.01±0.08 ^{bA}	11.04±0.07 ^{cB}	13.03±0.06 ^{dC}	16.24±0.11 ^{eD}	21.07±0.07 ^{fG}
7.6, 6.0	4	7.47±0.03 ^{aA}	9.23±0.03 ^{bB}	10.71±0.08 ^{cA}	13.61±0.03 ^{dE}	17.55±0.05 ^{eF}	23.90±0.04 ^{fI}
4.5, 4.9	5	7.96±0.04 ^{aC}	8.92±0.04 ^{bA}	11.05±0.05 ^{cB}	13.31±0.03 ^{dD}	14.73±0.03 ^{eC}	15.07±0.05 ^{fA}
5.2, 5.1	6	9.55±0.04 ^{aF}	10.04±0.02 ^{bD}	14.07±0.06 ^{cE}	15.27±0.03 ^{dG}	17.03±0.04 ^{eE}	18.87±0.03 ^{fC}
5.9, 6.0	7	8.51±0.04 ^{aD}	9.92±0.02 ^{bC}	11.89±0.03 ^{cC}	15.57±0.03 ^{dH}	18.16±0.04 ^{eH}	20.90±0.02 ^{fF}
5.9, 5.8	8	12.07±0.03 ^{bI}	13.37±0.03 ^{cH}	15.04±0.04 ^{dI}	10.91±0.03 ^{aA}	13.37±0.04 ^{cA}	15.05±0.03 ^{dA}
5.6, 5.4	9	12.53±0.03 ^{aJ}	13.42±0.02 ^{bH}	14.64±0.04 ^{cG}	16.32±0.02 ^{dI}	19.64±0.02 ^{eI}	20.59±0.06 ^{fE}
7.4, 7.5	10	11.03±0.03 ^{aH}	12.97±0.03 ^{cG}	14.95±0.02 ^{eH}	11.58±0.02 ^{bB}	14.17±0.03 ^{dB}	17.87±0.03 ^{fB}

ตารางผนวกที่ ๑๑ (ต่อ)

จำนวนจุลินทรีย์คอกเทล จากตัวอย่างพลาสติกเค็ม	แหล่งตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
		คอกเทลแบคทีเรีย (NA)			คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)		
(logCFU/g)							
แบคทีเรีย, จุลินทรีย์		250	500	1000	250	500	1000
5.9, 6.0	1	12.37±0.03 ^{aE}	15.30±0.28 ^{bG}	16.93±0.03 ^{cH}	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
3.6, 3.7	2	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
6.1, 5.8	3	8.71±0.03 ^{aC}	9.61±0.21 ^{bA}	12.57±0.10 ^{cB}	13.27±0.03 ^{dC}	16.45±0.03 ^{eC}	22.19±0.12 ^{fC}
6.6, 5.0	4	7.91±0.03 ^{aA}	9.73±0.03 ^{bAB}	12.58±0.02 ^{cB}	15.00±0.04 ^{dD}	19.16±0.04 ^{eF}	24.82±0.09 ^{fF}
3.5, 3.9	5	8.05±0.05 ^{aB}	9.93±0.06 ^{bBC}	12.85±0.05 ^{cC}	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
4.2, 4.1	6	11.36±0.02 ^{aD}	12.48±0.02 ^{bD}	14.60±0.02 ^{cD}	16.15±0.03 ^{dE}	17.85±0.03 ^{eD}	22.47±0.03 ^{fD}
4.9, 5.0	7	8.69±0.03 ^{aC}	10.09±0.03 ^{bC}	12.21±0.03 ^{cA}	16.33±0.03 ^{dF}	18.98±0.02 ^{eE}	23.05±0.03 ^{fE}
4.9, 4.8	8	12.66±0.02 ^{bF}	13.97±0.03 ^{dF}	15.85±0.03 ^{eG}	11.29±0.03 ^{aA}	13.65±0.03 ^{cA}	15.87±0.03 ^{cA}
4.6, 4.4	9	12.78±0.02 ^{aG}	13.88±0.02 ^{bF}	15.23±0.03 ^{cE}	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
6.4, 6.5	10	11.41±0.03 ^{aD}	13.63±0.03 ^{cE}	15.47±0.04 ^{dF}	13.12±0.02 ^{bB}	15.93±0.03 ^{cB}	18.62±0.19 ^{fB}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง
หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร
^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์
^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 10 ความเข้มข้นของสารสกัดจากอบเชยที่ด้านการเติบโตจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างปลาสดเค็ม

จำนวนจุลินทรีย์คอกเทล จากตัวอย่างปลาสดเค็ม (logCFU/g)	แหล่งตัวอย่าง แบคทีเรีย, จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
		คอกเทลแบคทีเรีย (NA)			คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)		
		250	500	1000	250	500	1000
7.9, 8.0	1	8.96±0.04 ^{aC}	10.42±0.02 ^{bE}	11.76±0.02 ^{cE}	14.10±0.02 ^{dG}	15.72±0.02 ^{eG}	18.37±0.03 ^{fH}
5.6, 5.7	2	8.27±0.08 ^{aA}	9.85±0.17 ^{bC}	12.03±0.12 ^{cF}	13.52±0.36 ^{dF}	14.52±0.23 ^{eF}	16.45±0.11 ^{fF}
8.1, 7.8	3	8.61±0.11 ^{aB}	9.36±0.06 ^{bB}	10.47±0.09 ^{cB}	12.08±0.02 ^{dC}	13.66±0.09 ^{eD}	15.25±0.05 ^{fE}
8.6, 7.0	4	9.09±0.03 ^{aD}	9.96±0.04 ^{bD}	10.85±0.08 ^{cC}	13.67±0.03 ^{dF}	15.79±0.03 ^{eG}	17.66±0.02 ^{fG}
5.5, 5.9	5	8.37±0.07 ^{aA}	9.06±0.05 ^{bA}	10.83±0.04 ^{cC}	11.45±0.03 ^{dB}	12.83±0.03 ^{eC}	14.95±0.03 ^{fC}
6.2, 6.1	6	10.08±0.02 ^{aG}	11.35±0.04 ^{bF}	12.37±0.03 ^{cG}	12.90±0.02 ^{dE}	13.95±0.05 ^{eE}	15.09±0.04 ^{fD}
6.9, 7.0	7	8.51±0.03 ^{aB}	9.41±0.03 ^{bB}	9.56±0.04 ^{cA}	12.65±0.03 ^{dD}	13.96±0.04 ^{eE}	15.20±0.02 ^{fE}
6.9, 6.8	8	9.79±0.06 ^{cF}	10.50±0.02 ^{dE}	13.61±0.03 ^{fH}	8.59±0.08 ^{aA}	9.21±0.03 ^{bA}	10.75±0.05 ^{cA}
6.6, 6.4	9	9.34±0.04 ^{aE}	10.41±0.05 ^{bE}	12.03±0.03 ^{cF}	14.10±0.02 ^{dG}	16.08±0.02 ^{eH}	18.49±0.03 ^{fI}
8.4, 8.5	10	8.37±0.03 ^{aA}	9.97±0.03 ^{bD}	11.55±0.03 ^{cD}	11.98±0.02 ^{dC}	12.65±0.03 ^{eB}	13.85±0.05 ^{fB}

ตารางผนวกที่ 10 (ต่อ)

จำนวนจุลินทรีย์คอกเทล จากตัวอย่างพลาสติกเค็ม (logCFU/g)	แหล่งตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
		คอกเทลแบคทีเรีย (NA)			คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)		
แบคทีเรีย, จุลินทรีย์		250	500	1000	250	500	1000
6.9, 7.0	1	10.03±0.03 ^{aE}	11.73±0.04 ^{bF}	14.67±0.04 ^{cH}	14.97±0.03 ^{dEF}	16.95±0.04 ^{eH}	19.05±0.03 ^{fH}
4.6, 4.7	2	9.80±0.09 ^{aD}	11.27±0.09 ^{bE}	14.35±0.25 ^{cG}	14.89±0.15 ^{dE}	17.17±0.09 ^{eI}	20.45±0.06 ^{fI}
7.1, 6.8	3	8.77±0.07 ^{aA}	11.03±0.13 ^{bC}	13.11±0.20 ^{dE}	12.67±0.03 ^{cB}	14.45±0.03 ^{eC}	15.61±0.03 ^{fC}
7.6, 6.0	4	9.49±0.03 ^{aC}	10.89±0.06 ^{bB}	12.89±0.03 ^{cD}	14.08±0.02 ^{dC}	15.99±0.03 ^{eE}	17.88±0.02 ^{fD}
4.5, 4.9	5	10.70±0.02 ^{aG}	11.75±0.03 ^{bFG}	12.29±0.03 ^{cC}	14.02±0.04 ^{dC}	14.91±0.03 ^{eD}	18.51±0.03 ^{fE}
5.2, 5.1	6	10.63±0.04 ^{aG}	11.85±0.04 ^{bG}	13.95±0.05 ^{cF}	14.32±0.02 ^{dD}	16.63±0.04 ^{eF}	18.72±0.02 ^{fG}
5.9, 6.0	7	8.92±0.09 ^{aB}	9.98±0.02 ^{bA}	10.97±0.03 ^{cA}	15.03±0.03 ^{dF}	16.86±0.02 ^{eG}	18.62±0.02 ^{fF}
5.9, 5.8	8	10.50±0.04 ^{cF}	12.05±0.03 ^{cH}	14.06±0.05 ^{fF}	8.88±0.02 ^{aA}	9.99±0.03 ^{bA}	11.43±0.04 ^{dA}
5.6, 5.4	9	10.44±0.04 ^{aF}	11.17±0.04 ^{bD}	13.27±0.03 ^{cE}	14.96±0.04 ^{dEF}	17.94±0.04 ^{eJ}	19.49±0.07 ^{fI}
7.4, 7.5	10	8.76±0.04 ^{aA}	10.07±0.03 ^{bA}	12.05±0.04 ^{cB}	12.63±0.03 ^{dB}	13.53±0.03 ^{eB}	14.87±0.03 ^{fB}

ตารางผนวกที่ 10 (ต่อ)

จำนวนจุลินทรีย์คอกเทล จากตัวอย่างพลาสติกเค็ม	แหล่งตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
		คอกเทลแบคทีเรีย (NA)			คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)		
(logCFU/g)		250	500	1000	250	500	1000
แบคทีเรีย, จุลินทรีย์							
5.9, 6.0	1	11.33±0.03 ^{aG}	12.53±0.03 ^{bD}	16.17±0.03 ^{cH}	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
3.6, 3.7	2	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
6.1, 5.8	3	10.24±0.08 ^{aD}	11.76±0.05 ^{bC}	13.85±0.05 ^{dC}	13.53±0.06 ^{cB}	16.56±0.04 ^{cC}	17.22±0.04 ^{iC}
6.6, 5.0	4	9.89±0.06 ^{aB}	12.47±0.03 ^{bD}	14.20±0.05 ^{cD}	14.65±0.03 ^{dD}	16.73±0.04 ^{cD}	18.58±0.04 ^{iD}
3.5, 3.9	5	10.40±0.02 ^{aE}	12.91±0.04 ^{bF}	14.19±0.03 ^{cD}	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
4.2, 4.1	6	12.48±0.02 ^{aH}	13.94±0.04 ^{bG}	15.95±0.05 ^{dG}	15.14±0.02 ^{cE}	17.24±0.04 ^{cE}	18.97±0.03 ^{iE}
4.9, 5.0	7	10.11±0.03 ^{aC}	11.14±0.05 ^{bB}	11.74±0.02 ^{cA}	16.08±0.02 ^{dF}	17.65±0.03 ^{cF}	19.37±0.04 ^{iF}
4.9, 4.8	8	10.92±0.04 ^{cF}	12.63±0.03 ^{cE}	14.56±0.02 ^{iE}	8.98±0.02 ^{aA}	10.33±0.04 ^{bA}	12.06±0.05 ^{dA}
4.6, 4.4	9	12.95±0.05 ^{aI}	15.05±0.05 ^{bH}	15.60±0.02 ^{cF}	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย	เชื่อน้อย
6.4, 6.5	10	9.06±0.04 ^{aA}	10.25±0.03 ^{bA}	12.52±0.02 ^{cB}	13.66±0.02 ^{dC}	14.23±0.03 ^{cB}	16.53±0.03 ^{iB}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงถึงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ ค11 ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกระชายที่ด้านการเติบโตของ *Staphylococcus aureus*

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลา เก็บ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
กระชาย (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระชาย (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	8.78±0.03 ^{aA}	9.87±0.04 ^{bA}	10.20±0.03 ^{cA}
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	8.16±0.06 ^{aB}	8.50±0.03 ^{bB}	9.03±0.01 ^{cB}
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	8.09±0.01 ^{aB}	8.40±0.03 ^{bBC}	8.87±0.07 ^{cC}
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	8.02±0.03 ^{aB}	8.33±0.04 ^{bC}	8.78±0.03 ^{cC}
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	6.73±0.13 ^{aC}	7.74±0.11 ^{bD}	8.40±0.06 ^{cD}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ ค12 ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกระเทียมที่ด้านการเติบโตของ *Staphylococcus aureus*

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลา เก็บ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
กระเทียม (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระเทียม (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

ตารางผนวกที่ ค13 ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกานพลูที่ด้านการเติบโตของ *Staphylococcus aureus*

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลาเก็บ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
กานพลู (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	10.68±0.42 ^{aA}	11.43±0.16 ^{aA}	12.59±0.24 ^{bA}
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	9.65±0.04 ^{aB}	10.50±0.11 ^{bB}	10.92±0.06 ^{cB}
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	8.99±0.01 ^{aC}	9.73±0.13 ^{bC}	10.40±0.20 ^{cC}
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	8.89±0.10 ^{aC}	9.14±0.03 ^{bD}	10.35±0.04 ^{cD}
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	8.09±0.01 ^{aD}	8.67±0.04 ^{bE}	10.00±0.06 ^{cD}
กานพลู (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	-	-	7.70±0.06 ^a	9.41±0.04 ^b	9.94±0.03 ^{cA}	10.61±0.10 ^{dA}	11.29±0.01 ^{eA}	12.80±0.11 ^{fA}	14.00±0.08 ^{gA}
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	9.87±0.01 ^{aA}	10.49±0.01 ^{bAB}	11.06±0.03 ^{cB}	12.05±0.04 ^{dB}	13.34±0.11 ^{cB}
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	9.71±0.04 ^{aB}	10.42±0.06 ^{bBC}	10.97±0.01 ^{cB}	11.71±0.04 ^{dC}	12.88±0.08 ^{cC}
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	9.57±0.07 ^{aC}	10.3±0.03 ^{bC}	10.63±0.07 ^{cC}	11.29±0.10 ^{dD}	12.71±0.04 ^{cD}
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	8.20±0.03 ^{aD}	9.06±0.06 ^{bD}	9.23±0.04 ^{cD}	10.02±0.06 ^{dE}	12.54±0.03 ^{eD}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ ๑๑๔ ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากอบเชยที่ด้านการเติบโตของ *Staphylococcus aureus*

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลาเก็บ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
อบเชย (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	8.38±0.06 ^a	9.14±0.06 ^{abA}	9.46±0.06 ^{bA}	11.88±0.06 ^{cA}	12.11±0.33 ^{dA}	13.17±0.24 ^{dA}	14.42±0.14 ^{eA}	16.54±0.59 ^{fA}
	1 สัปดาห์	-	-	8.90±0.03 ^{aB}	9.08±0.06 ^{bB}	11.10±0.03 ^{cB}	11.61±0.04 ^{dB}	13.20±0.03 ^{eA}	14.90±0.03 ^{fB}	15.88±0.03 ^{gB}
	2 สัปดาห์	-	-	8.44±0.03 ^{aC}	8.84±0.06 ^{bC}	9.85±0.04 ^{cC}	11.00±0.06 ^{dC}	12.97±0.04 ^{eA}	14.26±0.03 ^{fB}	15.68±0.08 ^{gBC}
	6 สัปดาห์	-	-	8.29±0.04 ^{aC}	8.50±0.03 ^{aD}	8.64±0.11 ^{abD}	8.92±0.06 ^{bD}	9.65±0.33 ^{cB}	10.93±0.27 ^{dC}	12.89±0.04 ^{eC}
	8 สัปดาห์	-	-	7.64±0.11 ^{aD}	8.30±0.03 ^{aE}	8.40±0.06 ^{bE}	8.79±0.04 ^{cD}	10.05±0.04 ^{dB}	10.51±0.04 ^{eD}	12.70±0.06 ^{fC}
อบเชย (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	9.79±0.04 ^a	10.42±0.03 ^b	11.06±0.08 ^{cA}	11.86±0.03 ^{dA}	12.82±0.06 ^{eA}	13.52±0.08 ^{fA}	15.52±0.03 ^{gA}	16.00±0.06 ^{hA}	17.97±0.07 ^{iA}
	1 สัปดาห์	-	-	10.22±0.11 ^{aB}	11.30±0.08 ^{bB}	12.48±0.17 ^{cB}	12.92±0.06 ^{dB}	13.98±0.20 ^{dB}	16.56±0.51 ^{eA}	17.94±0.11 ^{fA}
	2 สัปดาห์	-	-	10.02±0.03 ^{aB}	11.04±0.03 ^{bC}	12.20±0.03 ^{cB}	12.90±0.06 ^{dB}	13.58±0.06 ^{cC}	15.28±0.06 ^{fB}	15.78±0.06 ^{gB}
	6 สัปดาห์	-	-	9.17±0.07 ^{aC}	9.56±0.06 ^{bD}	10.82±0.03 ^{cC}	11.97±0.04 ^{dC}	12.35±0.01 ^{eD}	13.65±0.04 ^{fC}	14.28±0.03 ^{gC}
	8 สัปดาห์	-	-	8.43±0.27 ^{aD}	9.20±0.03 ^{bE}	10.59±0.18 ^{cC}	11.15±0.10 ^{dD}	11.98±0.03 ^{eE}	12.89±0.04 ^{fD}	13.71±0.04 ^{gD}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 15 ความเข้มข้นและระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกระชายที่ด้านการเติบโตของ *Staphylococcus epidermidis*

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลาเก็บ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
กระชาย (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	-	8.24±0.06 ^{aA}	9.96±0.06 ^{bA}
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	7.91±0.01 ^{aB}	8.88±0.08 ^{bB}
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	7.52±0.14 ^{aC}	8.52±0.06 ^{bC}
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	7.30±0.06 ^{aC}	8.48±0.06 ^{bC}
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	8.05±0.04 ^D
กระชาย (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	-	-	-	-	7.61±0.04 ^a	7.73±0.04 ^{ab}	7.85±0.04 ^{bA}	8.28±0.06 ^{cA}	8.88±0.06 ^{dA}
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	7.70±0.08 ^{aA}	8.18±0.06 ^{bAB}	8.63±0.01 ^{bB}
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	8.09±0.01 ^{aC}	8.28±0.06 ^{aC}
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	7.99±0.04 ^D
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	7.32±0.06 ^E

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ ค16 ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกระเทียมที่ด้านการเติบโตของ *Staphylococcus epidermidis*

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลาเก็บ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
กระเทียม (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระเทียม (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

ตารางผนวกที่ ค17 ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกานพลูที่ด้านการเติบโตของ *Staphylococcus epidermidis*

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลาเก็บ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
กานพลู (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	9.73±0.01 ^{aA}	12.47±0.07 ^{bA}	14.45±0.10 ^{cA}
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	9.67±0.03 ^{aA}	12.24±0.04 ^{bB}	14.14±0.19 ^{cA}
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	9.53±0.09 ^{aB}	11.57±0.16 ^{bC}	12.77±0.49 ^{cB}
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	8.68±0.04 ^{aC}	10.26±0.22 ^{bD}	11.92±0.09 ^{cC}
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	8.29±0.06 ^{aD}	8.97±0.03 ^{bE}	9.85±0.05 ^{cD}
กานพลู (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	-	-	-	-	9.86±0.20 ^{aA}	10.61±0.04 ^{bA}	12.71±0.07 ^{cA}	12.99±0.18 ^{cA}	14.58±0.37 ^{dA}
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	8.25±0.04 ^{aB}	10.23±0.01 ^{bB}	12.49±0.04 ^{cA}	12.79±0.04 ^{dA}	14.05±0.10 ^{cB}
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	8.13±0.04 ^{aB}	10.11±0.04 ^{bB}	11.82±0.08 ^{cB}	12.17±0.04 ^{dB}	12.60±0.03 ^{cC}
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	8.05±0.04 ^{aB}	9.98±0.03 ^{bC}	11.51±0.04 ^{cB}	12.02±0.03 ^{dB}	12.29±0.01 ^{cC}
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	8.20±0.08 ^{aD}	9.76±0.32 ^{bC}	10.5±0.03 ^{cC}	10.75±0.16 ^{cD}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ ค18 ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากอบเชยที่ด้านการเติบโตของ *Staphylococcus epidermidis*

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลา เก็บ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
อบเชย (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	-	-	-	10.20±0.03 ^{aA}	10.78±0.08 ^{aA}	12.37±0.04 ^{bA}	13.62±0.06 ^{cA}	15.83±0.04 ^{dA}
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	9.49±0.10 ^{aB}	9.98±0.03 ^{bB}	12.29±0.21 ^{cAB}	14.03±0.13 ^{dA}	14.67±0.07 ^{eB}
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	9.18±0.06 ^{aC}	9.91±0.04 ^{bBC}	11.79±0.24 ^{cB}	12.57±0.13 ^{dB}	14.51±0.01 ^{eB}
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	9.09±0.01 ^{aC}	9.66±0.17 ^{bC}	11.16±0.26 ^{cC}	11.99±0.12 ^{dB}	13.30±0.09 ^{eC}
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	9.19±0.13 ^{aD}	10.20±0.03 ^{bC}	10.67±0.05 ^{cD}
อบเชย (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	-	9.83±0.04 ^a	10.66±0.06 ^{bA}	11.20±0.03 ^{cA}	12.08±0.03 ^{dA}	14.05±0.08 ^{eA}	14.76±0.08 ^{fA}	17.43±0.01 ^{gA}	18.12±0.22 ^{hA}
	1 สัปดาห์	-	-	10.33±0.27 ^{aA}	11.02±0.07 ^{bB}	11.62±0.20 ^{cAB}	13.06±0.23 ^{dB}	14.00±0.06 ^{eB}	15.84±0.06 ^{fB}	17.60±0.09 ^{gA}
	2 สัปดาห์	-	-	9.89±0.04 ^{aB}	10.69±0.07 ^{bC}	11.31±0.04 ^{cB}	12.61±0.07 ^{dC}	13.78±0.06 ^{eC}	15.55±0.04 ^{fC}	16.91±0.13 ^{gB}
	6 สัปดาห์	-	-	9.70±0.06 ^{aB}	10.16±0.08 ^{bD}	10.64±0.31 ^{cC}	12.28±0.06 ^{dD}	13.34±0.11 ^{eD}	15.18±0.06 ^{fD}	16.05±0.10 ^{gC}
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	8.49±0.04 ^{aE}	9.59±0.18 ^{bE}	10.45±0.04 ^{cE}	11.73±0.33 ^{dD}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงถึงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ ค19 ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกระชายที่ด้านการเติบโตของ *Micrococcus luteus*

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลาเก็บ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
กระชาย (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระชาย (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

ตารางผนวกที่ ค20 ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกระเทียมที่ด้านการเติบโตของ *Micrococcus luteus*

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลาเก็บ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
กระเทียม (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระเทียม (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

- ไม่สามารถตรวจวัดการด้าน

ตารางผนวกที่ ค21 ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกานพลูที่ด้านการเติบโตของ *Micrococcus luteus*

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลาเก็บ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
กานพลู (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	-	-	-	-	9.90±0.23 ^a	10.83±0.01 ^{bA}	11.24±0.37 ^{bA}	15.05±0.13 ^{cA}
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	10.70±0.11 ^{aA}	11.04±0.11 ^{bAB}	13.19±0.07 ^{cB}
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	9.28±0.08 ^{aB}	10.71±0.04 ^{bB}	11.97±0.01 ^{cC}
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	8.82±0.06 ^{aC}	9.34±0.03 ^{bC}	11.81±0.04 ^{cC}
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	7.33±0.13 ^{aD}	9.03±0.07 ^{bC}	10.77±0.16 ^{cD}
กานพลู (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	-	-	-	10.76±0.06 ^{aA}	12.22±0.08 ^{bA}	14.53±0.13 ^{cA}	16.03±0.16 ^{dA}	16.95±0.16 ^{eA}	18.48±0.06 ^{fA}
	1 สัปดาห์	-	-	-	9.12±0.23 ^{aB}	12.03±0.04 ^{bB}	12.56±0.60 ^{bB}	13.92±0.14 ^{cB}	15.82±0.20 ^{dB}	18.33±0.13 ^{eA}
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	10.59±0.04 ^{aC}	12.08±0.03 ^{bB}	15.00±0.06 ^{cC}	15.29±0.04 ^{dC}	16.81±0.04 ^{eB}
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	9.52±0.06 ^{aD}	10.81±0.10 ^{bC}	11.09±0.18 ^{bD}	13.43±0.13 ^{cD}	14.49±0.10 ^{dC}
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	8.64±0.03 ^{aE}	9.01±0.01 ^{bD}	9.41±0.04 ^{cE}	10.75±0.04 ^{dE}	11.98±0.03 ^{eD}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ ค22 ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากอบเชยที่ด้านการเติบโตของ *Micrococcus luteus*

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลาเก็บ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
อบเชย (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	-	10.98±0.08 ^{aA}	11.28±0.06 ^{bA}	12.51±0.04 ^{cA}	13.28±0.06 ^{dA}	13.55±0.10 ^{cA}	14.81±0.07 ^{fA}	15.78±0.11 ^{gA}
	1 สัปดาห์	-	-	9.91±0.07 ^{aB}	10.91±0.04 ^{bB}	11.28±0.08 ^{cB}	12.2±0.03 ^{dB}	13.62±0.08 ^{cA}	14.62±0.17 ^{fA}	15.3±0.17 ^{gB}
	2 สัปดาห์	-	-	9.83±0.01 ^{aB}	10.76±0.03 ^{bC}	11.04±0.03 ^{cC}	11.90±0.03 ^{dC}	13.06±0.06 ^{eB}	14.30±0.06 ^{fB}	15.12±0.06 ^{gB}
	6 สัปดาห์	-	-	9.52±0.06 ^{aC}	10.19±0.04 ^{bD}	10.73±0.13 ^{cD}	11.56±0.11 ^{dD}	12.43±0.01 ^{eC}	13.73±0.16 ^{fC}	14.52±0.30 ^{gC}
	8 สัปดาห์	-	-	-	8.10±0.03 ^{aE}	8.89±0.01 ^{bE}	9.21±0.01 ^{cE}	9.76±0.03 ^{dD}	10.08±0.03 ^{eD}	12.48±0.03 ^{fD}
อบเชย (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	-	-	10.94±0.17 ^{aA}	11.83±0.04 ^{bA}	12.29±0.04 ^{cA}	13.36±0.08 ^{dA}	16.73±0.13 ^{cA}	17.77±0.18 ^{fA}	18.32±0.14 ^{gA}
	1 สัปดาห์	-	-	10.62±0.06 ^{aB}	11.68±0.06 ^{bA}	12.19±0.04 ^{cA}	13.22±0.03 ^{dAB}	14.70±0.03 ^{eB}	16.92±0.06 ^{fB}	18.02±0.14 ^{gA}
	2 สัปดาห์	-	-	10.39±0.07 ^{aB}	10.99±0.04 ^{bB}	11.11±0.10 ^{bB}	12.98±0.17 ^{cB}	13.95±0.14 ^{dC}	15.17±0.41 ^{eC}	16.71±0.41 ^{fB}
	6 สัปดาห์	-	-	9.57±0.13 ^{aC}	10.10±0.03 ^{bC}	10.90±0.03 ^{cC}	12.61±0.04 ^{dC}	13.08±0.06 ^{eD}	13.19±0.04 ^{eD}	15.94±0.03 ^{fC}
	8 สัปดาห์	-	-	8.10±0.03 ^{aD}	9.11±0.10 ^{bD}	9.49±0.04 ^{cD}	10.05±0.08 ^{dD}	11.31±0.01 ^{eE}	11.93±0.01 ^{fE}	14.11±0.01 ^{gD}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางผนวกที่ ค23 ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกระชายที่ด้านการเติบโตของ *Pseudomonas aeruginosa*

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลาเก็บ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
กระชาย (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระชาย (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

ตารางผนวกที่ ค24 ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกระเทียมที่ด้านการเติบโตของ *Pseudomonas aeruginosa*

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลาเก็บ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
กระเทียม (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กระเทียม (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

ตารางผนวกที่ ค25 ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากกานพลูที่ด้านการเติบโตของ *Pseudomonas aeruginosa*

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลาเก็บ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
กานพลู (น้ำกลั่น)	1 วัน	-	-	-	-	-	7.58±0.23 ^a	10.00±0.03 ^{bA}	10.49±0.18 ^{cA}	13.11±0.01 ^{dA}
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	9.06±0.08 ^{aB}	9.67±0.21 ^{bB}	10.87±0.18 ^{cB}
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	8.35±0.13 ^{aC}	9.45±0.01 ^{bBC}	10.50±0.08 ^{cC}
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	9.34±0.06 ^{aBC}	10.33±0.04 ^{bC}
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	-	9.16±0.06 ^{aC}	9.95±0.04 ^{bD}
กานพลู (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	-	-	-	-	-	10.27±0.18 ^{aA}	10.91±0.04 ^{bA}	12.06±0.17 ^{cA}	13.28±0.08 ^{dA}
	1 สัปดาห์	-	-	-	-	-	9.16±0.06 ^{aB}	10.43±0.21 ^{bB}	11.54±0.45 ^{cAB}	13.39±0.24 ^{dA}
	2 สัปดาห์	-	-	-	-	-	8.76±0.20 ^{aB}	9.90±0.03 ^{bC}	11.02±0.14 ^{cBC}	12.88±0.08 ^{dB}
	6 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	9.22±0.06 ^{aD}	10.82±0.06 ^{bC}	12.31±0.04 ^{cC}
	8 สัปดาห์	-	-	-	-	-	-	8.30±0.06 ^{aE}	10.18±0.03 ^{bD}	11.54±0.03 ^{cD}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ ค26 ความเข้มข้น และระยะเวลาการเก็บรักษาของสารสกัดจากอบเชยที่ด้านการเติบโตของ *Pseudomonas aeruginosa*

สมุนไพร (ตัวทำละลาย)	ระยะเวลาเก็บ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน ¹ (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)								
		31.25	62.5	100	125	200	250	500	750	1000
อบเชย (น้ำกลั่น)	1 วัน	7.74±0.03 ^a	8.01±0.07 ^b	9.21±0.01 ^{cA}	10.09±0.04 ^{dA}	10.40±0.06 ^{cA}	11.19±0.01 ^{fA}	11.89±0.01 ^{gA}	12.80±0.23 ^{hA}	14.82±0.03 ^{iA}
	1 สัปดาห์	-	-	8.80±0.03 ^{aB}	9.22±0.06 ^{bB}	10.19±0.04 ^{cB}	10.54±0.03 ^{dB}	11.82±0.03 ^{eA}	12.60±0.06 ^{fAB}	14.57±0.07 ^{gA}
	2 สัปดาห์	-	-	8.35±0.01 ^{aC}	8.50±0.08 ^{aC}	9.93±0.13 ^{bC}	10.30±0.17 ^{cC}	11.80±0.11 ^{dA}	12.48±0.06 ^{eB}	13.77±0.21 ^{fB}
	6 สัปดาห์	-	-	7.68±0.23 ^{aD}	8.40±0.06 ^{bC}	9.48±0.03 ^{cD}	9.93±0.07 ^{dD}	10.96±0.03 ^{eB}	12.10±0.03 ^{fC}	13.30±0.06 ^{gC}
	8 สัปดาห์	-	-	7.10±0.06 ^{aE}	8.07±0.04 ^{bD}	9.35±0.04 ^{cD}	9.79±0.04 ^{dD}	10.79±0.04 ^{eC}	10.90±0.03 ^{fD}	12.68±0.03 ^{gD}
อบเชย (เอทิลแอลกอฮอล์)	1 วัน	-	9.77±0.35 ^a	10.56±0.03 ^{bA}	11.60±0.03 ^{cA}	12.69±0.04 ^{dA}	13.58±0.06 ^{eA}	14.21±0.04 ^{fA}	15.11±0.01 ^{gA}	17.02±0.06 ^{hA}
	1 สัปดาห์	-	-	10.44±0.03 ^{aB}	11.17±0.04 ^{bB}	11.80±0.06 ^{cB}	12.4±0.06 ^{dB}	13.68±0.08 ^{eB}	14.90±0.25 ^{fA}	16.60±0.03 ^{gB}
	2 สัปดาห์	-	-	10.30±0.06 ^{aC}	10.60±0.08 ^{abC}	10.83±0.16 ^{bC}	11.90±0.03 ^{cC}	12.70±0.11 ^{dC}	13.99±0.30 ^{eB}	16.58±0.06 ^{fB}
	6 สัปดาห์	-	-	10.10±0.03 ^{aD}	10.25±0.04 ^{aD}	10.88±0.06 ^{bC}	11.18±0.06 ^{cD}	12.26±0.08 ^{dD}	12.75±0.01 ^{eC}	14.42±0.14 ^{fC}
	8 สัปดาห์	-	-	8.53±0.01 ^{aE}	9.10±0.03 ^{bE}	10.11±0.01 ^{cD}	10.51±0.04 ^{dE}	11.37±0.01 ^{eE}	12.55±0.01 ^{fC}	13.72±0.03 ^{gD}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการด้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ ค27 ค่า MIC ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร ที่ด้านการเติบโตจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเค็ม

จำนวน จุลินทรีย์ logCFU/g (NA, PDA)	สมุนไพร	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณต้าน (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน											
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)											
		คอกเทลแบคทีเรีย (NA)						คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)					
		31.25	62.5	125	250	500	1000	31.25	62.5	125	250	500	1000
6.4, 6.6	กระชาย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.49±0.04 ^{aA}	8.02±0.02 ^{bA}	9.65±0.03 ^{cA}
	กระเทียม	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	กานพลู	-	-	7.98±0.02 ^{aA}	8.36±0.04 ^{bA}	9.17±0.04 ^{dA}	12.03±0.03 ^{eA}	-	-	8.72±0.04 ^{cA}	11.03±0.03 ^{fB}	14.01±0.05 ^{gC}	16.70±0.02 ^{hC}
	อบเชย	-	-	9.05±0.05 ^{aB}	9.33±0.04 ^{bB}	10.23±0.03 ^{cB}	13.05±0.04 ^{fB}	-	-	10.55±0.03 ^{dB}	11.47±0.03 ^{eC}	13.47±0.03 ^{gB}	14.95±0.05 ^{hB}
5.4, 5.6	กระชาย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.36±0.06 ^{aA}	9.72±0.02 ^{bA}	11.13±0.04 ^{cA}
	กระเทียม	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	กานพลู	-	-	8.25±0.04 ^{aA}	9.46±0.04 ^{cA}	11.31±0.03 ^{dA}	13.00±0.02 ^{fA}	-	-	9.23±0.03 ^{bA}	11.92±0.04 ^{cB}	15.60±0.02 ^{gC}	18.66±0.02 ^{hC}
	อบเชย	-	-	9.34±0.04 ^{aB}	10.04±0.04 ^{bB}	11.74±0.04 ^{cB}	13.56±0.04 ^{eB}	-	-	12.79±0.03 ^{dB}	13.77±0.03 ^{fC}	14.60±0.02 ^{gB}	17.52±0.04 ^{hB}

ตารางผนวกที่ ค27 (ต่อ)

จำนวน จุลินทรีย์ logCFU/g (NA, PDA)	สมุนไพร	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน											
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)											
		คอกเทลแบคทีเรีย (NA)						คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)					
		31.25	62.5	125	250	500	1000	31.25	62.5	125	250	500	1000
4.4, 4.6	กระชาย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.93±0.04 ^{aA}	10.25±0.03 ^{bA}	12.07±0.03 ^{cA}
	กระเทียม	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	กานพลู	-	-	8.87±0.03 ^{aA}	10.51±0.04 ^{cA}	11.81±0.03 ^{dA}	13.34±0.04 ^{eA}	-	-	9.84±0.02 ^{bA}	13.53±0.03 ^{fb}	16.74±0.02 ^{gC}	19.95±0.03 ^{hC}
	อบเชย	-	-	9.83±0.03 ^{abB}	10.84±0.04 ^{bbB}	12.40±0.04 ^{cbB}	13.89±0.04 ^{ebB}	-	-	13.03±0.04 ^{dbB}	13.98±0.02 ^{fc}	15.20±0.02 ^{gbB}	18.69±0.03 ^{hbB}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

หลุม Well มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการต้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ ค28 ความเข้มข้นของสารเคลือบที่ได้สารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ด้านการเติบโตของ จุลินทรีย์ทดสอบ และจุลินทรีย์คอกเทลจากตัวอย่างพลาสติกเดิม

สมุนไพร	จุลินทรีย์	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณด้าน (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
		ความเข้มข้นของสารสกัดจากสมุนไพรในสารเคลือบ		
		1xMIC	5xMIC	10xMIC
กานพลู	<i>S. aureus</i>	-	-	11.71±0.10 ^B
	<i>S. epidermidis</i>	-	-	-
	<i>M. luteus</i>	-	-	10.83±0.14 ^A
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	11.81±0.05 ^B
	คอกเทลแบคทีเรีย (NA)	-	-	-
	คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)	-	14.43±0.05 ^a	14.91±0.05 ^{bc}
อบเชย	<i>S. aureus</i>	-	-	11.99±0.07 ^B
	<i>S. epidermidis</i>	-	-	-
	<i>M. luteus</i>	-	12.77±0.18 ^{ab}	14.90±0.07 ^{bd}
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	12.20±0.06 ^C
	คอกเทลแบคทีเรีย (NA)	-	10.68±0.08 ^{aA}	11.88±0.14 ^{bA}
	คอกเทลจุลินทรีย์ (PDA pH 5.5)	10.94±0.04 ^a	14.72±0.04 ^{bc}	15.15±0.03 ^{ce}

หมายเหตุ ¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ครั้ง ในแต่ละซ้ำการทดลอง

แผ่นสารเคลือบ มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร

- ไม่สามารถตรวจวัดการด้าน

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{A-G} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ ค29 ความเข้มข้นของสารเคลือบบริโภคน้ำที่ได้ที่ใส่สารสกัดจากอบเชยต่อ
ค่าออกฤทธิ์แอคทีวิตี ในตัวอย่างพลาสติกเค็ม ณ อุณหภูมิห้อง

แหล่ง ตัวอย่าง ทดลอง	ความเข้มข้นของ สารสกัดจากอบเชย ในสารเคลือบ	ค่าออกฤทธิ์แอคทีวิตี (a_w)							
		ระยะเวลาเก็บรักษา							
		วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 10	วันที่ 14	วันที่ 17	วันที่ 20
12	ควบคุม	0.818	0.867	0.803	0.734	0.717	0.691	0.658	0.654
	0xMIC	0.818	0.856	0.762	0.712	0.700	0.658	0.636	0.639
	5xMIC	0.818	0.832	0.711	0.734	0.749	0.613	0.663	0.651
	10xMIC	0.818	0.853	0.819	0.752	0.730	0.694	0.666	0.650
	15xMIC	0.818	0.851	0.748	0.698	0.691	0.691	0.683	0.664
13	ควบคุม	0.875	0.838	0.788	0.754	0.684	0.661	0.668	0.643
	0xMIC	0.875	0.898	0.768	0.707	0.662	0.654	0.670	0.649
	5xMIC	0.875	0.865	0.771	0.728	0.708	0.689	0.668	0.652
	10xMIC	0.875	0.889	0.795	0.762	0.668	0.675	0.680	0.650
	15xMIC	0.875	0.879	0.797	0.723	0.698	0.678	0.703	0.649
14	ควบคุม	0.808	0.867	0.808	0.743	0.693	0.664	0.669	0.664
	0xMIC	0.808	0.851	0.785	0.724	0.738	0.660	0.658	0.653
	5xMIC	0.808	0.863	0.804	0.742	0.678	0.641	0.663	0.651
	10xMIC	0.808	0.847	0.786	0.714	0.666	0.714	0.630	0.661
	15xMIC	0.808	0.841	0.747	0.717	0.663	0.693	0.648	0.634

ตารางผนวกที่ ค30 ความเข้มข้นของสารเคลือบบริโกลได้ใส่สารสกัดจากอบเชยที่ด้าน
จุลินทรีย์ทั้งหมด ในตัวอย่างพลาสติกเค็ม ณ อุณหภูมิห้อง

แหล่ง ตัวอย่าง ทดลอง	ความเข้มข้นของ สารสกัดจากอบเชย ในสารเคลือบ	จุลินทรีย์ทั้งหมด (logCFU/g)							
		ระยะเวลาเก็บรักษา							
		วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 10	วันที่ 14	วันที่ 17	วันที่ 20
12	ควบคุม	7.8	8.6	9.4	10.0	10.9	9.4	9.0	8.5
	0xMIC	7.8	8.5	9.7	9.9	10.9	9.3	8.9	8.1
	5xMIC	7.8	8.4	8.9	8.9	9.0	8.5	8.3	7.9
	10xMIC	7.8	8.1	8.9	8.9	9.0	8.5	8.2	7.9
	15xMIC	7.8	8.0	8.7	8.7	8.8	8.3	8.0	7.8
13	ควบคุม	7.6	8.4	9.6	10.1	10.9	9.4	9.0	8.5
	0xMIC	7.6	8.4	9.7	10.1	11.0	9.3	9.0	8.1
	5xMIC	7.6	8.4	9.0	9.1	9.1	8.6	8.3	7.9
	10xMIC	7.6	8.1	9.0	9.1	9.1	8.5	8.2	7.9
	15xMIC	7.6	8.0	8.3	9.0	9.0	8.4	8.1	7.7
14	ควบคุม	7.5	8.9	9.7	9.9	10.8	9.3	8.9	8.4
	0xMIC	7.5	8.5	9.6	9.8	10.8	9.3	8.9	8.1
	5xMIC	7.5	8.4	9.0	9.0	9.0	8.6	8.3	7.9
	10xMIC	7.5	8.1	8.9	8.9	8.9	8.6	8.2	7.9
	15xMIC	7.5	8.0	8.0	8.7	8.7	8.3	8.0	7.8

ตารางผนวกที่ ค31 ความเข้มข้นของสารเคลือบบริโกลได้บริโกลได้ใส่สารสกัดจากอบเชย
ที่ด้านอีสต์-รา ในตัวอย่างพลาสติกเต็ม ณ อุณหภูมิห้อง

แหล่ง ตัวอย่าง ทดลอง	ความเข้มข้นของ สารสกัดจากอบเชย ในสารเคลือบ	อีสต์-รา (logCFU/g)							
		ระยะเวลาเก็บรักษา							
		วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 10	วันที่ 14	วันที่ 17	วันที่ 20
12	ควบคุม	3.8	4.9	5.2	5.5	4.9	4.7	4.5	4.3
	0xMIC	3.8	4.6	5.3	5.5	4.9	4.7	4.5	4.3
	5xMIC	3.8	4.9	5.2	5.3	4.6	4.5	4.3	3.7
	10xMIC	3.8	4.9	5.1	5.2	4.6	4.5	4.2	3.3
	15xMIC	3.8	4.7	4.8	5.0	4.4	4.0	3.9	3.2
13	ควบคุม	3.9	5.0	5.4	5.4	5.0	4.7	4.5	4.4
	0xMIC	3.9	5.0	5.4	5.4	5.0	4.7	4.5	4.3
	5xMIC	3.9	5.0	5.3	5.6	4.7	4.5	4.3	3.7
	10xMIC	3.9	4.9	5.2	5.3	4.6	4.5	4.1	3.6
	15xMIC	3.9	4.2	4.8	5.1	4.3	4.0	3.7	3.4
14	ควบคุม	3.6	5.0	5.2	5.5	5.0	4.6	4.4	4.4
	0xMIC	3.6	5.1	5.2	5.3	5.0	4.6	4.4	4.2
	5xMIC	3.6	4.9	5.1	5.3	4.6	4.5	4.4	4.0
	10xMIC	3.6	4.8	5.1	5.2	4.6	4.5	4.1	3.9
	15xMIC	3.6	4.1	4.5	5.0	4.4	4.0	3.7	3.2

ตารางผนวกที่ ค32 ความเข้มข้นของสารเคลือบบริโภคน้ำได้ใส่สารสกัดจากอบเชยต่อ
ค่าวอเตอร์แอกติวิตี ในตัวอย่างพลาสติกเก็บ ณ อุณหภูมิแช่เย็น

แหล่ง ตัวอย่าง ทดลอง	ความเข้มข้นของ สารสกัดจากอบเชย ในสารเคลือบ	ค่าวอเตอร์แอกติวิตี (a_w)					
		ระยะเวลาเก็บรักษา					
		วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
12	ควบคุม	0.818	0.814	0.809	0.802	0.787	0.789
	0xMIC	0.818	0.804	0.793	0.799	0.828	0.839
	15xMIC	0.818	0.801	0.780	0.794	0.815	0.823
13	ควบคุม	0.875	0.836	0.827	0.782	0.748	0.763
	0xMIC	0.875	0.823	0.816	0.814	0.814	0.831
	15xMIC	0.875	0.823	0.803	0.827	0.852	0.832
14	ควบคุม	0.808	0.797	0.796	0.795	0.785	0.811
	0xMIC	0.808	0.806	0.803	0.799	0.798	0.831
	15xMIC	0.808	0.804	0.804	0.829	0.839	0.834

ตารางผนวกที่ ค33 ความเข้มข้นของสารเคลือบบริโภคน้ำได้ใส่สารสกัดจากอบเชยที่ต้านจุลินทรีย์ทั้งหมด ในตัวอย่างพลาสติกเค็ม ณ อุณหภูมิแช่เย็น

แหล่ง ตัวอย่าง ทดลอง	ความเข้มข้นของ สารสกัดจากอบเชย ในสารเคลือบ	จุลินทรีย์ทั้งหมด (logCFU/g)					
		ระยะเวลาเก็บรักษา					
		วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
12	ควบคุม	7.8	8.1	8.1	8.2	8.2	8.8
	0xMIC	7.8	8.1	8.1	8.1	8.2	8.8
	15xMIC	7.8	7.9	7.8	7.9	7.9	8.0
13	ควบคุม	7.6	8.1	8.1	8.3	8.2	8.6
	0xMIC	7.6	8.1	8.1	8.2	8.2	8.5
	15xMIC	7.6	7.8	7.9	7.9	7.8	8.1
14	ควบคุม	7.5	8.1	8.1	8.1	8.1	8.5
	0xMIC	7.5	8.1	8.1	8.1	8.1	8.4
	15xMIC	7.5	7.6	7.7	7.8	7.7	8.0

ตารางผนวกที่ ค34 ความเข้มข้นของสารเคลือบบริโภคน้ำได้ใส่สารสกัดจากอบเชยที่ต้าน
ยีสต์-รา ในตัวอย่างพลาสติกเค็ม ณ อุณหภูมิแช่เย็น

แหล่ง ตัวอย่าง ทดลอง	ความเข้มข้นของ สารสกัดจากอบเชย ในสารเคลือบ	ยีสต์-รา (logCFU/g)					
		ระยะเวลาเก็บรักษา					
		วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
12	ควบคุม	3.8	3.8	3.9	4.0	3.9	4.0
	0xMIC	3.8	3.8	3.9	3.8	3.9	3.9
	15xMIC	3.8	3.5	3.6	3.6	3.6	3.7
13	ควบคุม	3.9	4.2	3.9	3.9	3.9	3.9
	0xMIC	3.9	4.1	3.9	3.7	3.9	3.9
	15xMIC	3.9	4.0	3.7	3.7	3.7	3.7
14	ควบคุม	3.6	3.8	3.9	3.9	3.9	4.0
	0xMIC	3.6	3.7	3.9	3.8	3.9	3.9
	15xMIC	3.6	3.5	3.5	3.6	3.6	3.7

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาววิภาวีร์ ธารเขตร์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	14 ตุลาคม 2524
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร) ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	1. ทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ทุนวิจัยมหบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภายใต้โครงการสร้างกำลังคนเพื่อพัฒนา อุตสาหกรรมระดับปริญญาโท (สกว.-สว.) ประจำปี 2550 2. ทุนวิจัย จากโครงการ SRU สถาบันวิจัยและพัฒนา แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

