บรรจุภัณฑ์ห่อผลไม้ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

Development of Antifungal Packaging for Fruit

โดย

นางสาวอิสริยาภรณ์ ประเสริฐวิริยะ

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2558

เรื่อง บรรจุภัณฑ์ห่อผลไม้ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

โดย นางสาวอิสริยาภรณ์ ประเสริฐวิริยะ

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

.....ประธานกรรมการ

(อาจารย์ ดร.ภัสสร์พล งามอุโฆษ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(อาจารย์ ดร.ลักษณา ดูบาส)

.....กรรมการ

(อาจารย์ ดร.นวพร วินยเวคิน)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิชัย พาราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วัน..... เดือน..... พ.ศ. .....

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ☑ ดีมาก ☐ดี ☐พอใช้

ชื่อโครงการ บรรจุภัณฑ์ห่อผลไม้ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวอิสริยาภรณ์ ประเสริฐวิริยะ เลขประจำตัว 5533176123

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร. ลักษณา ดูบาส

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2558

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะพัฒนากระดาษห่อผลไม้ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้กระดาษเคลือบด้วยสารสกัดจากขมิ้นชัน กาแฟ และกากกาแฟ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นสาเหตุการเกิดโรคแอนแทรคโนส ซึ่งเป็นโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญในมะม่วง เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลผลิตทางการเกษตรให้นานขึ้น โดยงานวิจัยนี้แบ่งออกเป็นสองส่วน คือ ส่วนแรกทำการ ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารเคอร์คูมินจากผงขมิ้นชัน ภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมกระดาษกรองชุบสารสกัดขมิ้นชัน และศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อรา พบว่า ภาวะที่เหมาะสมในการสกัด คือ อัตราการกวน 500 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 40 °c เป็นเวลา 4 ชั่วโมง สารสกัดขมิ้นชันสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และการเตรียมกระดาษกรองชุบสารสกัดขมิ้นชัน 5 นาทีเพียงพอต่อการยับยั้งการเจริยของเชื้อรา ส่วนที่สองทำการศึกษาสารสกัดจากกาแฟและกากกาแฟ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการต้านเชื้อรา พบว่า สารสกัดกาแฟไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา แต่สารสกัดกากกาแฟสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้

คำสำคัญ: โรคแอนแทรคโนส, ขมิ้นชัน, เคอร์คูมิน, กาแฟ, กากกาแฟ, การสกัดด้วยเอทานอล

Title Development of Antifungal Packaging for Fruit

Student name Miss Aissariyapron Prasertviriya ID 5533176123

Advisor name Dr. Luxsana Dubas

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkron University, Academic year 2015

Abstract

To extend the shelf life of agricultural products, the research was aimed at developing a fruit wrapping paper, which has anti-microbial properties. The paper was coated with turmeric, ground coffee and spent coffee ground (SCG) extraction that inhibit the growth of fungus *Colletotrichum gloeosporioides*, causes of Anthracnose disease, which is an important postharvest disease in mango. In this work, the researcher was divided into two parts. The first past focused on the study of turmeric powder extraction, dipping time and antifungal activity. The results showed that optimum condition for extraction of curcumin from turmeric powder is stirring rate of 500 revolutions per minute at 40 °c for 4 hours. The turmeric extract can inhibit the growth of fungus *Colletotrichum gloeosporioides* and five minutes for dipping in turmeric extract is enough to inhibit fungi. The second part studied ground coffee and spent coffee ground (SCG) extracts for their abilities to inhibit the growth of fungi. The result showed that spent coffee ground (SCG) extract could inhibit the growth of fungi *Colletotrichum gloeosporioides* while coffee ground extract could not.

Keywords: Anthracnose disease, turmeric, curcumin, coffee, spent coffee ground, ethanol extraction

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานวิจัยและรายงานฉบับนี้จะสำเร็จไม่ได้ หากไม่ได้รับความอนุเคราะห์อย่างสูงจาก อาจารย์ ดร.ลักษณา ดูบาส อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ซึ่งได้ให้ความรู้ คำแนะนำ กำลังใจ ตลอดจนความช่วยเหลือด้านต่างๆ อย่างดียิ่ง และขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.ภัสสร์พล งามอุโฆษ และอาจารย์ ดร.นวพร วินยเวคิน ที่ให้ความกรุณาสละเวลาอันมีค่าและให้เกียรติมาเป็นประธาน และคณะกรรมการสอบโครงงานวิจัย รวมถึงให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์ รวมทั้งพี่ๆ ในหน่วยงานวิจัยที่ภาควิชาพฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความรู้ คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ ตลอดจนเอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมีที่จำเป็นในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณกำลังใจ และความช่วยเหลือจากครอบครัว รวมทั้งเพื่อนๆ และพี่ๆ ในภาควิชาเคมี ผู้วิจัยขอระลึกในความกรุณาของทุกท่านที่ได้กล่าวมาข้างต้น และบุคคลที่มิได้เอ่ยนามไว้ ณ ที่นี้ ที่ให้ความช่วยเหลือ และให้กำลังใจ จนสำเร็จการศึกษา ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่ง

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความรู้ต่างๆ อันมีค่าเป็นอย่างยิ่งต่อผู้ทำวิจัย รวมทั้งให้การสนับสนุนในด้านต่างๆในการทำวิจัยนี้

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ง

กิตติกรรมประกาศ จ

สารบัญรูปภาพ ซ

สารบัญตาราง ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 โรคแอนแทรคโนส 2

1.3 ขมิ้นชัน 3

1.4 กาแฟและกากกาแฟ 5

1.5 สารประกอบฟีนอล 6

1.6 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ 7

1.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 8

1.8 วัตถุประสงค์งานวิจัย 10

1.9 ขอบเขตงานวิจัย 10

1.10 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย 10

บทที่ 2 วิธีการทดลอง 11

2.1 เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 11

2.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ 11

2.1.2 สารเคมี 12

2.2 วิธีการทดลอง 12

2.2.1 การพิสูจน์หาสารองค์ประกอบหลักของสารสกัดขมิ้นชัน 12

2.2.2 การสกัดสารจากขมิ้นชัน กาแฟและกากกาแฟ (spent coffee grounds, SCG) 12

2.2.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารเคอร์คูมินจากผงขมิ้นชัน 13

2.2.4 ศึกษาประสิทธิภาพการสกัดสารเคอร์คูมินจากผงขมิ้นชัน 14

2.2.5 ศึกษาภาวะการเตรียมกระดาษที่มีสารสกัดเคอร์คูมินที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 14

2.2.6 ศึกษาผลของปริมาณสารสกัดหยาบที่แตกต่างกันต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 15

2.2.7 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ 15

บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปลายผลการทดลอง 17

3.1 การพิสูจน์หาสารองค์ประกอบหลักของสารสกัดขมิ้นชัน 18

3.2 การศึกษาปริมาณสารต่ำสุดบนกระดาษกรองที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ 19

3.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารเคอร์คูมินจากผงขมิ้นชัน 21

3.3.1 ศึกษาความเร็วรอบต่อนาทีที่เหมาะสมในการสกัด 21

3.3.2 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัด 21

3.3.3 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการสกัด 22

3.4 ศึกษาประสิทธิภาพการสกัดสารเคอร์คูมินจากผงขมิ้นชัน 23

3.5 ศึกษาภาวะการเตรียมกระดาษที่มีสารสกัดเคอร์คูมินที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 23

3.6 ศึกษาผลของปริมาณสารสกัดหยาบที่แตกต่างกันต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา 25

3.7 ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราของกระดาษเคลือบด้วยสารสกัดหยาบขมิ้นชัน 25

3.8 ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราของกระดาษเคลือบด้วยสารสกัดหยาบกาแฟและกากกาแฟ 30

บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง 33

4.1 สรุปผลการทดลอง 33

4.2 งานวิจัยที่คาดว่าจะทำต่อไปในอนาคต 34

เอกสารอ้างอิง 35

ภาคผนวก 39

ประวัติผู้วิจัย 44

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 1.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะเหง้าของขมิ้นชัน 3
รูปที่ 1.2 สูตรโครงสร้างของสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ 4
รูปที่ 1.3 สูตรโครงสร้างเทอร์เมอโรนและซิงจิเบอรีน 4
รูปที่ 1.4 สูตรโครงสร้างของคาเฟอีน 5
รูปที่ 1.5 สูตรโครงสร้างของกรดคลอโรจีนิก 5
รูปที่ 1.6 แสดงโครงสร้างของพอลิฟีนอลจำแนกตามโครงสร้าง 6
รูปที่ 1.7 วิธีการทำ Disc diffusion method 8
รูปที่ 3.2 กราฟแสดงสเปกตรัมของสารสกัดหยาบขมิ้นชัน 18
รูปที่ 3.3 กราฟแสดงสเปกตรัมของสารสกัดหยาบขมิ้นชัน บนแผ่น CA membrane 19
รูปที่ 3.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง และความเข้มข้นของสารละลายเคอร์คูมิน 20
รูปที่ 3.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายเคอร์คูมิน และอัตราการกวน 21
รูปที่ 3.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายเคอร์คูมิน และอุณหภูมิ 22
รูปที่ 3.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายเคอร์คูมิน และเวลา 23
รูปที่ 3.7 แสดงลักษณะเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน เป็นจานเพาะอ้างอิง 27
รูปที่ 3.8 แสดงการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน ของกระดาษกรองหยดสารสกัดหยาบขมิ้นชัน 20 µL 27
รูปที่ 3.9 แสดงการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน ของกระดาษกรองหยดสารสกัดหยาบขมิ้นชัน 60 µL 28
รูปที่ 3.10 แสดงการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน ของกระดาษกรองชุบสารสกัดหยาบ ขมิ้นชัน 5 นาที 28
รูปที่ 3.11 แสดงการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน ของกระดาษกรองชุบสารสกัดหยาบขมิ้นชัน 10 นาที 2 ครั้ง 29
รูปที่ 3.12 แสดงการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน ของกระดาษกรองชุบสารสกัดหยาบขมิ้นชัน 30 นาที 29
รูปที่ 3.13 แสดงลักษณะเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน เป็นจานเพาะอ้างอิง 31
รูปที่ 3.14 แสดงการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน ของกระดาษกรองหยดสารสกัดหยาบกาแฟ 20 และ60 µL 31

รูปที่ 3.15 แสดงลักษณะเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน เป็นจานเพาะอ้างอิง 32
รูปที่ 3.16 แสดงการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน ของกระดาษกรองหยดสารสกัดหยาบกากกาแฟ 20 และ60 µL 32
รูปที่ 1 กราฟแสดงสเปกตราของสารละลายมาตรฐานเคอร์คูมิน ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 423 นาโนเมตร 40

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ 3.1 แสดงปริมาณที่หยดสารสกัดหยาบบนกระดาษกรอง ที่สามารถต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* 19
ตารางที่ 3.2 แสดงปริมาณสารเคอร์คูมินที่สกัด 20
ตารางที่ 3.3 แสดงปริมาณสารเคอร์คูมินบนกระดาษกรอง เมื่อชุบกระดาษกรองที่ระยะเวลา และ จำนวนครั้งแตกต่างกันและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 24
ตารางที่ 3.4 แสดงปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินจากการคำนวณ เปรียบเทียบกับปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินโดยการชะกระดาษกรอง 25
ตารางที่ 3.5 แสดงเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* 26
ตารางที่ 3.6 แสดงปริมาณสารสกัดหยาบบนกระดาษกรองที่สามารถต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* 30
ตารางที่ 1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 423 นาโนเมตรของสารละลายมาตรฐานเคอร์คูมิน ที่ละลายด้วยตัวทำละลายเอทานอล 40
ตารางที่ 2 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่อัตราการกวนต่างๆ และความเข้มข้นของสารสกัดเคอร์คูมิน 41
ตารางที่ 3 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่อุณหภูมิต่างๆ และความเข้มข้นของสารสกัดเคอร์คูมิน 42
ตารางที่ 4 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่อุณหภูมิต่างๆ และความเข้มข้นของสารสกัดเคอร์คูมิน 43

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม และเป็นผู้ผลิตพืชผลทางการเกษตรรายใหญ่ ผลผลิตทางการเกษตรที่สำคัญและสามารถทำรายได้เข้าประเทศปีละหลายพันล้านบาท คือ ผลไม้ แต่ในปัจจุบันพบปัญหาการขนส่ง และส่งออกผลไม้ เนื่องจากผลไม้มีอายุการเก็บรักษาสั้น และถ้าการเก็บรักษาไม่ดี ผลไม้อาจเน่า หรือผิวของผลไม้อาจเป็นแผลและไม่สวยงาม เนื่องจากแบคทีเรีย และเชื้อราที่เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ดังนั้นแนวทางในการรักษาสภาพความสดของผลไม้ จึงต้องมีการบริหารจัดการตั้งแต่ต้นทางจนถึงปลายทาง ประกอบด้วย การจัดการระหว่างการปลูก เพื่อลดปัญหาเชื้อโรคที่จะทำให้เกิดการเน่าเสีย และการสูญเสียผลผลิต การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว ได้แก่ การทำความสะอาด การเก็บรักษา และการบรรจุหีบห่อ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลไม้[1]

ในงานวิจัยนี้ผู้ทำการวิจัยสนใจการยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) ซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญในมะม่วง เนื่องจากมะม่วงเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีมูลค่าการส่งออกสูง การเกิดโรคแอนแทรคโนสส่งผลต่อการเก็บรักษาคุณภาพของผลไม้[2] ในปัจจุบันนิยมใช้สารฆ่าเชื้อราสังเคราะห์ เช่น เบโนมิล (benomy) คาร์เบนดาซิม (carbendazim) ไทอะเบนดาโซล (thiabendazole) เป็นต้น ในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว อย่างไรก็ตามการใช้สารฆ่าเชื้อราเป็นระยะเวลานาน อาจนำไปสู่การเกิดขึ้นของสายพันธุ์ที่ทนทานสารเคมีที่ใช้ในการกำจัดเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยว นอกจากนี้การตกค้างของสารฆ่าเชื้อที่อยู่ในผลไม้อาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และความเป็นพิษของสารฆ่าเชื้อรายังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม[3] การพัฒนาวิธีการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่ไม่เป็นพิษไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมจึงเป็นสิ่งที่สำคัญ[4] การควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวมีได้หลายวิธี เช่น การใช้โอโซนยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อรา[5] การห่อผลไม้ด้วยฟิล์มที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์[6] หรือการเคลือบผิวผลไม้ด้วยน้ำมันหอมระเหย[7] แต่ยังมีข้อจำกัดในแง่ของ ขั้นตอนที่ยุ่งยาก กลิ่นรสของน้ำมันหอมระเหยอาจทำให้ผลไม้เสียรสชาติ เป็นต้น ดังนั้นการพัฒนาบรรจุภัณฑ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial packaging) จึงได้รับความสนใจจากนักวิจัยเป็นอย่างยิ่ง บรรจุภัณฑ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่เคลือบด้วยสารที่

มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยสารแพร่ออกจากบรรจุภัณฑ์ที่ห่อผลไม้จะส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบริเวณผิวด้านนอกของผลไม้นั้นเจริญเติบโตไม่ได้ และอาจส่งผลให้เซลล์จุลินทรีย์บาดเจ็บ และตายได้ซึ่งจะลดปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนลงได้ โดยจะส่งผลให้ผลไม้เกิดการเน่าเสียช้าลง ช่วยยืดอายุการเก็บรักษา และรักษาคุณภาพที่ดีของผลไม้ให้นานขึ้น[8] อย่างไรก็ตามบรรจุภัณฑ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ห่อผลไม้ ควรมีการคำนึงถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เช่น การนำพลาสติกมาใช้ในการยืดอายุของผลผลิตอาจทำให้เกิดขยะเพิ่มขึ้น หากสามารถปรับเปลี่ยนวัสดุที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมก็จะเป็นทางเลือกที่ดีในการผลิตบรรจุภัณฑ์จากธรรมชาติ

1.2 โรคแอนแทรคโนส (anthracnose)[9]

แอนแทรคโนสเป็นโรคที่สำคัญของมะม่วง เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นโรคที่ทำความเสียหายทั้งปริมาณและคุณภาพของผลผลิตมะม่วงเป็นอย่างมาก สามารถเข้าทำลายได้เกือบทุกส่วนของมะม่วงไม่ว่าจะเป็นต้นกล้า ยอดอ่อน ใบอ่อน ช่อดอก ดอก ผลอ่อนจนถึงผลแก่ และผลหลังการเก็บเกี่ยว ทำให้เกิดอาการเป็นจุดแผลตกค้างอยู่บนใบ กิ่ง ผล และหากการเข้าทำลายของโรครุนแรงก็จะเกิดอาการใบแห้ง ใบบิดเบี้ยว และร่วงหล่น ช่อดอกแห้งไม่ติดผล ผลเน่าร่วงตลอดจนผลเน่าหลังเก็บเกี่ยว โดยลักษณะอาการบนผล จะเป็นจุดสีดำ รูปร่างกลม บริเวณแผลจะพบรอยแตกและมีเม็ดเล็กๆ สีดำเรียงรายเป็นวงภายใน แผล เมื่อมะม่วงเริ่มแก่ในระหว่างการบ่มหรือขนส่งจุดแผลเหล่านี้จะขยายใหญ่ขึ้น และลุกลามออกไป ทำให้ผลเน่าทั้งผลได้ อาการจุดเน่าดำบนผลนี้พบทำความเสียหายกับมะม่วงเกือบทุกพันธุ์ เชื้อราโรคแอนแทรคโนส ยังสามารถติดอยู่กับผลโดยไม่แสดงอาการใด ๆ แต่เมื่อสภาพแวดล้อมภายหลังเหมาะสม เช่น ผลสุก หรือมีความชื้นสูง ในระหว่างการเก็บรักษา หรือบรรจุหีบห่อเพื่อการขนส่ง ก็จะแสดงอาการได้ ซึ่งจะเป็นผลเสียหายต่อการส่งมะม่วงไปจำหน่ายต่างประเทศ

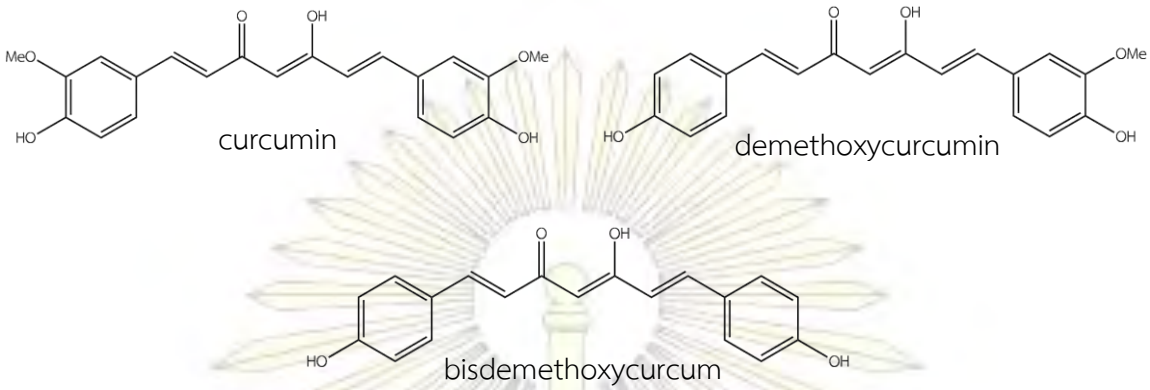
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.3 ขมิ้นชัน[10]

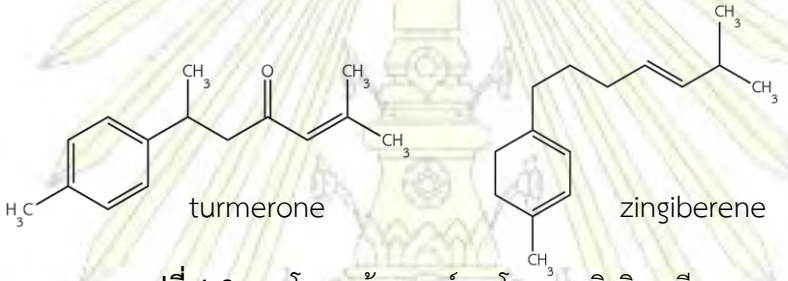
ขมิ้นชันมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma longa Linnaeus* อยู่ในวงศ์ ZINGIBERACEAE เป็นพืชสมุนไพรที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย มีการใช้ประโยชน์ในรูปแบบต่างๆ เช่น นำมาประกอบอาหาร นำมาใช้ทางการแพทย์ในการต้านการอักเสบ รักษาอาการท้องอืด[11] นอกจากนี้ยังมีรายงาน สารกลุ่มสำคัญซึ่งอยู่ในขมิ้นชัน คือ เคอร์คูมิน มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ต้านไวรัส HIV และต้านอนุมูลอิสระ

รูปที่ 1.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะเหง้าของขมิ้นชัน[12]

สารเคมีที่พบในขมิ้นชัน ประกอบด้วยสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ (curcuminoids) 3-4% เป็นผลึกสีเหลืองถึงแดง ประกอบด้วย เคอร์คูมิน (curcumin) 94% ดีเมท็อกซี่เคอร์คูมิ (demethoxycurcumin) 6% และบิสดีเมท็อกซี่เคอร์คูมิน (bisdemethoxycurcumin) 0.3% สารกลุ่มเคอร์คูมินไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์และกรดแอซิตริก 2. น้ำมันหอมระเหย (volatile oil) 2-4% (v/w) มีกลิ่นเฉพาะตัวสีเหลืองปนส้มถึงสีเหลืองอ่อน สารหลักคือเทอร์เมอโรน (turmerone) 60% รองลงมาซิงจิเบอรีน (zingiberene) 25% นอกจากนี้ยังพบสารต่างๆอีกหลายชนิด ได้แก่ ซาบินีน (sabinene), บอร์นีออล (borneol), ซินีออล (cineol), เทอร์มีรอล (termerol), เคอร์คูโมน (curcumone) และฟิลแลนดรีน (phellandrene)[13] จากการศึกษาพบว่า สารเคอร์คูมินมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด ลดไขมันในเลือด ขับน้ำดี สมานแผล ยับยั้งการเกิดพิษต่อตับ ต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร และต้านมะเร็ง เป็นต้น[14]



รูปที่ 1.2 สูตรโครงสร้างของสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์



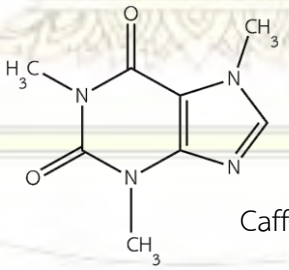
รูปที่ 1.3 สูตรโครงสร้างเทอร์เมอโรนและซิงจิเบอรีน

การสกัดพืชสมุนไพรใช้วิธีการสกัดโดยการหมักด้วยตัวทำละลาย (maceration) เช่น เฮกเซน เมทานอล เอทานอล เป็นต้น การกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) และการสกัดแบบซอกหซ์เลต (soxhlet extraction) ส่วนอีกวิธีคือการสกัดพืชสมุนไพรด้วยของไหลวิกฤติยิ่งยวด (supercritical fluid) ซึ่งไม่ค่อยมีงานวิจัยใช้วิธีนี้ในการสกัดสารจากพืชสมุนไพร เนื่องจากอุปกรณ์เครื่องมือมีราคาค่อนข้างสูง ดังนั้นงานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดสารจากสมุนไพร จึงนิยมใช้วิธี การสกัดโดยการหมักด้วยตัวทำละลาย และการกลั่นด้วยไอน้ำ เช่น งานวิจัยของ Vudhivanich[15] ได้สกัดสารจากขมิ้นชันด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ พบว่าสารที่สกัดได้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ งานวิจัยของ Kajorncheappunngam[16] ศึกษาการสกัดสารเคอร์คูมิน จากขมิ้นชันโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ 2 ชนิด ได้แก่ เมทานอลและเอทานอล ศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* ของสารสกัดเคอร์คูมิน พบว่า เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารเคอร์คูมินมากกว่าเมทานอล และสารสกัดเคอร์คูมินจากขมิ้นชันสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus niger* ได้

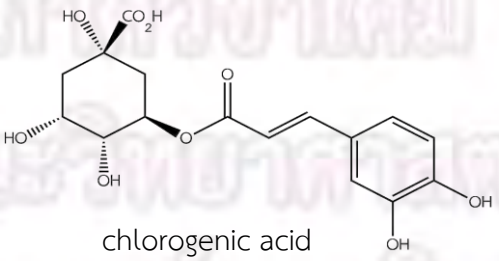
1.4 กาแฟและกากกาแฟ

กาแฟมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Coffea spp.* อยู่ในวงศ์ RUBIACEAE ปัจจุบันกาแฟเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคเป็นจำนวนมาก เนื่องจากมีรายงานวิจัยระบุว่า กาแฟมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชา หรือไวท์แดงถึง 10 เท่า[17] นอกจากนี้ กากกาแฟ (spent coffee ground, SCG) ซึ่งเป็นผงกาแฟที่ผ่านการใช้งาน และเป็นของเหลือทิ้ง มีการศึกษาและรายงานว่ากากกาแฟมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบ สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ และต้านเชื้อจุลินทรีย์[18] แต่ยังไม่มีการศึกษาสมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของกากกาแฟโดยตรงมากนัก

ในกาแฟ และกากกาแฟมีสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบมากมายหลายชนิด แต่มีสารองค์ประกอบหลักที่สำคัญ คือ คาเฟอีน (caffeine) และสารประกอบฟีนอล คือ กรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) กรดคาเฟอิก (caffeic acid)[19] จากการศึกษามีรายงานว่า พบสารองค์ประกอบหลักที่สำคัญทั้งในกาแฟและกากกาแฟ[18] จากงานวิจัย Nonthakaew และคณะ[20] ได้ทำการสกัดสารออกจากกาแฟโดยทำการสกัด 3 ครั้ง พบว่าสารสกัดจากกาแฟรอบที่ 2 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากกว่ารอบแรก และมีปริมาณมากที่สุด และมีมากกว่ากากกาแฟ นอกจากนี้รายงานการสกัดสาระสำคัญออกจากกาแฟยังพบว่า การสกัดด้วยน้ำร้อนจะสามารถสกัดคาเฟอีนออกมาได้ดี ส่วนการสกัดด้วยเอทานอลจะสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลออกมาได้ดี[21]



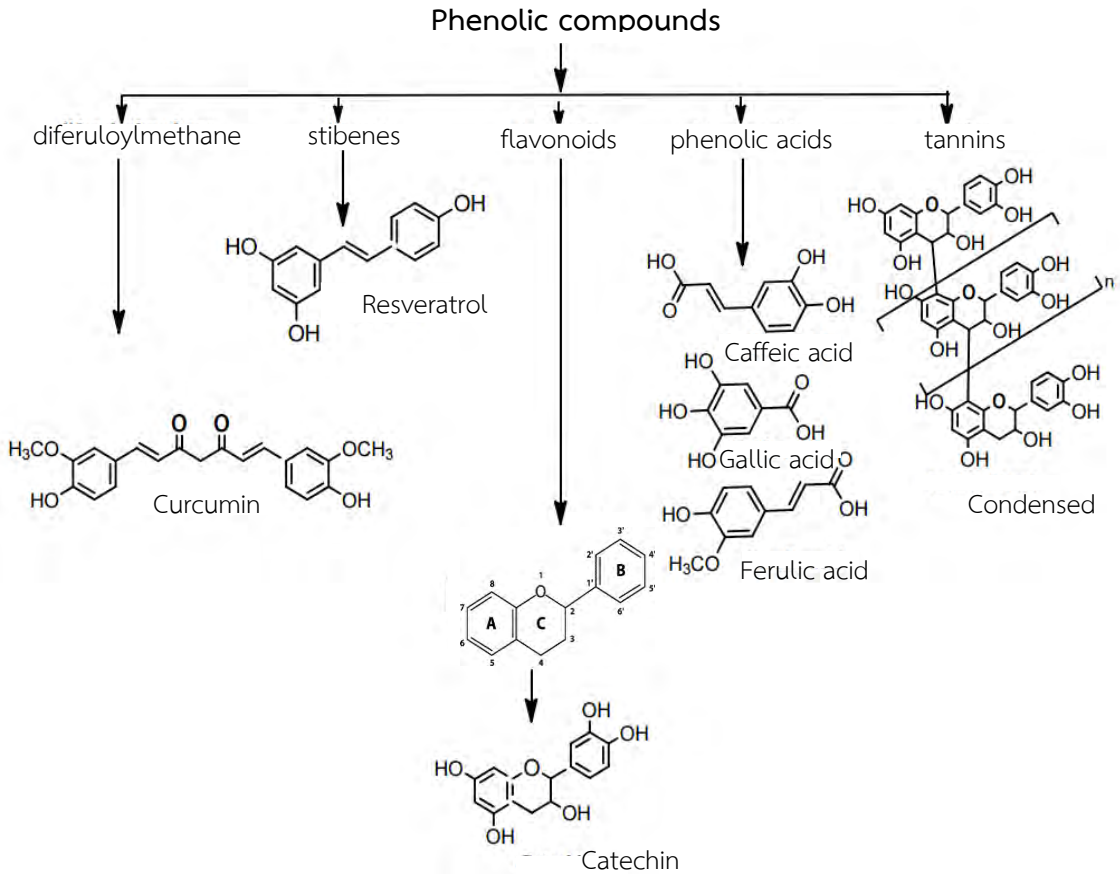
รูปที่ 1.4 สูตรโครงสร้างของคาเฟอีน



รูปที่ 1.5 สูตรโครงสร้างของกรดคลอโรจีนิก

1.5 สารประกอบฟีนอล (phenolic compounds)[22]

สารประกอบฟีนอล คือ สารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีหมู่วงแหวนอะโรมาติก และหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อย 1 หมู่เป็นองค์ประกอบ เป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไปส่วนมากพบในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycosides) ซึ่งสารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด จำแนกตามโครงสร้างออกเป็น 5 ประเภทขึ้นอยู่กับจำนวนของวงแหวนฟีนอล และองค์ประกอบอื่นของโครงสร้างที่เชื่อมวงแหวนซึ่งแสดงในรูปที่2.3 ได้แก่ 1. ไดเฟอรูโลอิลมีเทน (diferuloylmethane) เช่น สารเคอร์คูมิน ในขมิ้น 2. สทิลบีน (stilbenes) เช่น เรสเวอราทรอล (resveratrol) ในเปลือกองุ่น และถั่วลิสง 3. ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ที่โครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วย วงแหวนเอ (A ring) และวงแหวนบี (B ring) เชื่อมกันด้วยวงแหวนไนแรน หรือวงแหวนซี (C ring) เช่น แคทเทชิน (catechin) ในชา โกโก้ ไวน์แดง 4. กรดฟีโนลิก (phenolic acids) เช่น กรดคาเฟอิค (caffeic acid) กรดแกลลิค (gallic acid) กรดเฟอรูริก (ferulic acid) พบในผลกาแฟ ผลไม้ทั่วไป 5. แทนนิน (tannins) โดยพอลิฟีนอลกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบจะเป็นสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และกรดฟีโนลิก (phenolic acid)



รูปที่ 1.6 แสดงโครงสร้างของพอลิฟีนอลจำแนกตามโครงสร้าง[23]

สารประกอบฟีนอลมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสารประกอบฟีนอลทำหน้าที่เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระ โดยมีกลไก 2 แบบคือ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์ สารประกอบฟีนอลจะป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น และอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่เสถียร นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลมีสมบัติเป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย

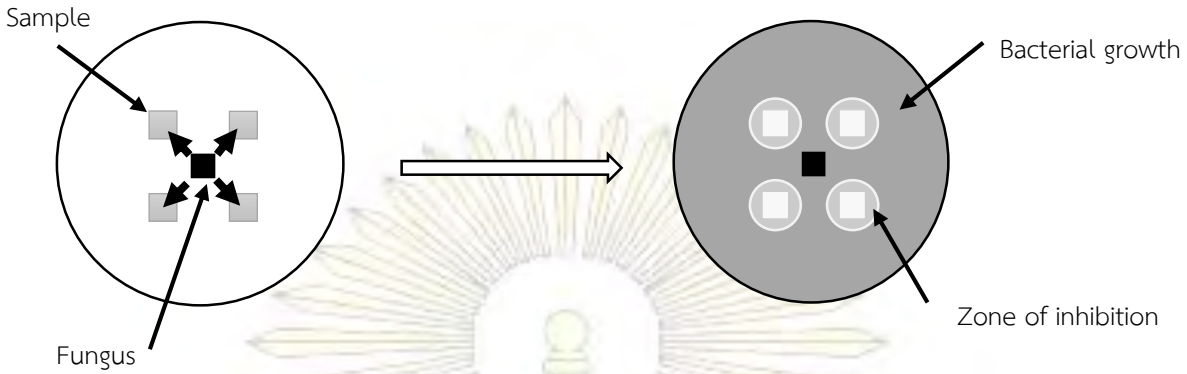
1.6 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์[24]

ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ คือ ความสามารถในการยับยั้งการเจริญ (micro biostatic) หรือการฆ่าเชื้อจุลชีพ The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) ประเทศสหรัฐอเมริกาได้กำหนดวิธีการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพเป็นวิธีมาตรฐานไว้โดยมีขั้นตอนที่ชัดเจนตามชนิดของเชื้อจุลชีพ ได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อ ความหนาของอาหารเลี้ยงเชื้อ การเตรียมเชื้อ อุณหภูมิ เวลา และสภาวะในการบ่มเพาะเชื้อ ตลอดจนการอ่าน และแปรผล

การทดสอบการต้านเชื้อจุลินทรีย์สามารถทำได้ทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (broth medium) และอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (agar medium) โดยมีวิธีหลักอยู่ 2 รูปแบบ คือ Diffusion method และ Dilution method

Diffusion method

วิธีที่นิยมมากที่สุด คือ disc diffusion method เป็นการทดสอบในเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลได้ว่าเชื้อจุลชีพมีความไวต่อการทดสอบหรือไม่ วิธีนี้ไม่สามารถใช้เพื่อหาค่า MIC (minimal inhibitory concentration) หรือMLC (minimal lethal concentration) ได้ และไม่เหมาะต่อการทดสอบเชื้อที่เจริญช้า และเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้อากาศในการดำรงชีพ หลักการทั่วไป คือ ทำให้แผ่นกระดาษกรอง (paper disc) มีสารบรรจุอยู่ภายในไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้กระจายเชื้อ (spread) ในจำนวนที่เหมาะสมไว้ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงเชื้อให้เชื้อเจริญ อ่านผลการทดสอบโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone หรือclear zone คือ วงใสไม่มีโคโลนีปรากฏรอบกระดาษกรอง โดยขนาดของ inhibition zone หรือ clear zone แปรตามความสามารถในการยับยั้งเชื้อ



รูปที่ 1.7 วิธีการทำ Disc diffusion method

เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา (%inhibition)[25]

$$\%\text{inhibition} = \frac{a - b}{a} \times 100$$

โดย a คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราในจานอาหารที่ไม่มีสารสกัด

b คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราในจานอาหารที่มีสารสกัด

1.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากงานวิจัยของ Liu และคณะ[26] ได้ศึกษาสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราของการทำฟิล์มผสมระหว่างไคโตซาน และเคอร์คูมินเปรียบเทียบกับฟิล์มไคโตซานบริสุทธิ์ พบว่าการผสมเคอร์คูมินในฟิล์มไคโตซานเพิ่มคุณสมบัติทางกายภาพของฟิล์มให้มีความแข็งแรงขึ้น และมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ และเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ซึ่งเป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืช ได้ดีกว่าฟิล์มไคโตซานบริสุทธิ์ ดังนั้นฟิล์มผสมระหว่างไคโตซาน และเคอร์คูมิน เหมาะต่อการนำไปประยุกต์เป็นบรรจุภัณฑ์ห่ออาหาร และการเก็บรักษาสินค้าทางการเกษตร

ในปี ค.ศ. 2009 Wang และคณะ[27] ได้ศึกษาการต้านเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคที่เกิดจากอาหารของ สารเคอร์คูมิน โดยทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli, Yersinia enterocolitica, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis และ Bacillus cereus* ทดสอบกับเชื้อ

รา *Aspergillus niger และPenicllium notatum* พบว่ามีค่าปริมาณสารน้อยที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของเชื้อได้อยู่ระหว่าง 15.7 ถึง 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และพบว่ามีคุณสมบัติการต้านเชื้อราได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรีย

ในปี ค.ศ. 2014 Mohamed และคณะ[28] ได้ศึกษาสมบัติของสารสกัดกลุ่มเคอร์คูมินอย (curcuminoid) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของขมิ้นชันที่สามารถสกัดได้จากขมิ้นชัน ผู้ทำการวิจัยได้ แยกสารสกัดจากขมิ้นชันได้ 3 องค์ประกอบ ได้แก่ เคอร์คูมิน (curcumin) ดีเมท็อกซี่เคอร์คูมิน (demethoxycurcumin) และบิสดีเมท็อกซี่เคอร์คูมิน (bisdemethoxycurcumin) มีสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum acutatum, Colletotrichum fragariae และ Colletotrichum gloeosporioides* จากงานวิจัยพบว่าสารสกัดจากขมิ้นชันมีฤทธิ์ในการยับยั้งโรคแอนแทรคโนสซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้

ในปี ค.ศ. 2015 Ana Jiménez และคณะ[29] ได้ศึกษาสมบัติของสารสกัดจากกาแฟ และกากกาแฟ พบว่า มีสารประกอบพอลิฟีนอล (polyphenol) เป็นองค์ประกอบตามธรรมชาติ ซึ่งสารประกอบพอลิฟีนอล มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*

ในปี ค.ศ. 2015 Nonthakaew และคณะ[22] ได้ศึกษาคุณสมบัติการต้านเชื้อรา *Aspergillus sp., Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Penicillum citrinum, Penicillum chrysogenum* และ *Eurotium amstelodami* ของสารสกัดจากกาแฟ และกากกาแฟ โดยสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำและเมทานอล พบว่าการสกัดด้วยเมทานอลมีประสิทธิภาพดีกว่าค่าปริมาณสารน้อยที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของเชื้อได้อยู่ระหว่าง 100 ถึง 230 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ของสารสกัดกาแฟ และค่าปริมาณสารน้อยที่สุดที่สามารถต้านการเจริญของเชื้อได้อยู่ระหว่าง 300 ถึง 460 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ของสารสกัดกากกาแฟ

ดังนั้นในงานวิจัยนี้สนใจพัฒนากระดาษห่อผลไม้ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้กระดาษเคลือบด้วยสารที่สามารถช่วยต้านการเจริญของเชื้อราที่ทำลายผิวของมะม่วงให้ช้าลง โดยใช้สารสกัดจากขมิ้น สารสกัดจากกาแฟ และสารสกัดจากกากกาแฟ นำมาทดสอบการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสในมะม่วง

1.8 วัตถุประสงค์งานวิจัย

เพื่อพัฒนาบรรจุภัณฑ์ห่อผลไม้ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสในมะม่วง โดยใช้กระดาษเคลือบด้วยสารสกัดจากขมิ้น สารสกัดจากกาแฟ และสารสกัดจากกากกาแฟ

1.9 ขอบเขตงานวิจัย

1.9.1 พิสูจน์เอกลักษณ์องค์ประกอบหลักของสารที่สกัดจากขมิ้นชัน

1.9.2 การหาอัตราการกวน อุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารจากขมิ้นชัน

1.9.3 ศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อของกระดาษชุบด้วยสารสกัดจากขมิ้นชัน โดยศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการชุบกระดาษ และจำนวนครั้งที่ใช้ในการชุบกระดาษ

1.9.4 ศึกษาประสิทธิภาพในการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของสารสกัดจากขมิ้นชัน กาแฟ และกากกาแฟ

1.10 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย

1.10.1 ได้ทราบถึงสมบัติการต้านเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ของสารสกัดจากขมิ้น สารสกัดจากกาแฟ และสารสกัดจากกากกาแฟ

1.10.2 ได้บรรจุภัณฑ์ห่อผลไม้ที่มีประสิทธิภาพในการต้านโรคแอนแทรคโนสในมะม่วง ทำให้ผิวของมะม่วงถูกทำลายช้าลง

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

วิธีการทดลอง

2.1 เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

2.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง, Mettler Toledo
2. เครื่องกวนแม่เหล็ก (Magnetic stirrer), ASONE magnetic stirrer REMIX RS-60
3. เครื่องกวนแม่เหล็กแบบให้ความร้อน (Hotplate and stirrer), HS7
4. เครื่องเขย่าสาร (Shaker), HS700
5. ไมโครปิเปตขนาด 10, 100, 1000 และ 5000 ไมโครลิตร, Eppendorf
6. กระดาษกรอง, Whatman
7. เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS spectrophotometer), HP8453
8. เครื่องอินฟา-เรดสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy), NICOLET 6700
9. ตู้นึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave), HIRAYAMA
10. ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar air flow hood), Augusta Safety Cabinet

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.1.2 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้	ผู้ผลิต
1. ผงขมิ้น	ร้านเจ้ากรมเป่อ
2. กาแฟ อาราบิก้า	ร้านกาแฟ O'coffee
3. กากกาแฟ อาราบิก้า	ร้านกาแฟ O'coffee
4. เอทานอล	Merck
5. เคอร์คูมิน	Aldrich
6. น้ำตาลเด็กซ์โทรส	Enterprise.Co., Ltd.
7. วุ้นเลี้ยงเชื้อ	Enterprise.Co., Ltd.

2.2 วิธีการทดลอง

2.2.1 การพิสูจน์หาสารองค์ประกอบหลักของสารสกัดขมิ้นชัน

ทำการพิสูจน์สารองค์ประกอบหลักของสารสกัดหยาบขมิ้นชันบนกระดาษกรองด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี โดยชะสารสกัดเคอร์คูมินออกจากกระดาษกรองด้วยเอทานอล แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง และเทคนิคอินฟา-เรดสเปกโทรสโกปี (ATR FTIR) โดยนำแผ่น Cellulose acetate membrane filter (CA membrane) ชุบในสารสกัดขมิ้นชัน

2.2.2 การสกัดสารจากขมิ้นชัน กาแฟและกากกาแฟ (spent coffee grounds, SCG)

ในการสกัดสารนั้น จะทำการชั่งผงขมิ้น หรือกาแฟ หรือกากกาแฟในช่วง 10.0000 ± 0.0050 กรัม ลงในบีกเกอร์ สกัดด้วยเอทานอล 50 มิลลิลิตร กวนด้วยแท่งแม่เหล็กโดยกวนด้วยความเร็ว 500 รอบ/นาที อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ปิดด้วยพาราฟิล์มเพื่อป้องกันการระเหยของเอทานอล แล้วนำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรองเพื่อแยกเอากากออก ทั้งนี้ในกรณีที่เป็นกากกาแฟ จะทำการอบกากกาแฟที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อระเหยน้ำออกจากกากกาแฟ จึงนำมาสกัดต่อดังขั้นตอนข้างต้น

ทั้งนี้ในการศึกษาการสกัดจากผงขมิ้นชันนั้น มุ่งที่จะหาปริมาณต่ำสุดบนกระดาษกรองที่สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยหยดสารสกัดหยาบขมิ้นชัน 10,

20 และ60 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรองขนาด 1×1 เซนติเมตร จากนั้นทำการชะปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินออกจากกระดาษด้วยเอทานอล แล้ววิเคราะห์ปริมาณของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้จากผงขมิ้น โดยวัดการค่าดูดกลืนแสงที่ 423 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดแสงของสารที่สกัดได้ไปคำนวณค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน

2.2.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารเคอร์คูมินจากผงขมิ้นชัน

ในการศึกษาภาวะการสกัดที่เหมาะสมนั้น จะต้องหาความเข้มข้นของเคอร์คูมินที่สกัดได้ในภาวะต่างๆ โดยเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสดง ที่ความยาวคลื่น 423 นาโนเมตร ระหว่างสารที่สกัดได้กับกราฟมาตรฐาน

2.2.3.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลาย เคอร์คูมิน 0.1 เปอร์เซ็น (w/v) เพื่อใช้เป็น stock solution โดยชั่ง curcumin 0.0500 ± 0.005 กรัม ละลายด้วยเอทานอลในขวดกำหนดปริมาตร 50.00 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐาน curcumin จากstock solotion โดยความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเคอร์คูมิน มีค่าดังนี้ คือ 20, 40, 60, 80, 100 และ150 ppm ละลายในเอทานอล

2.2.3.2 ศึกษาความเร็วรอบต่อนาทีที่เหมาะสมในการสกัด

ในการทดลองนี้ศึกษาความเร็วรอบต่อนาทีที่เหมาะสมต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสาร ซึ่งการสกัดใช้ปริมาณสารต่อเอทานอลดังที่แสดงไว้ในหัวข้อ 2.2.1 และทำการสกัดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยศึกษาอัตราการกวนที่ 0, 250, 500 และ 750 รอบ/นาที ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และติดตามประสิทธิภาพการสกัดด้วยค่าการดูดกลืนแสง แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงของสารที่สกัดได้ไปคำนวณค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานในหัวข้อ 2.2.2.1

2.2.3.3 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัด

ในการทดลองนี้ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสาร ซึ่งการสกัดใช้ปริมาณสารต่อเอทานอลดังที่แสดงไว้ในหัวข้อ 2.2.1 โดยศึกษาที่อุณหภูมิ 25, 30, 40, และ 50 °c ทำการสกัดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ซึ่งติดตามประสิทธิภาพการสกัดด้วยค่าการดูดกลืนแสง แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงของสารที่สกัดได้ไปคำนวณค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานในหัวข้อ 2.2.2.1

2.2.3.4 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการสกัด

ในการทดลองนี้ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสาร ซึ่งการสกัดใช้ปริมาณสารต่อเอทานอลดังที่แสดงไว้ในหัวข้อ 2.2.1 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ซึ่งติดตามประสิทธิภาพการสกัดด้วยค่าการดูดกลืนแสง โดยทำการวัดทุกๆ 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 และ12 ชั่วโมง แล้วนำค่าการดูดแสงของสารที่สกัดได้ไปคำนวณค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานในหัวข้อ 2.2.2.1

2.2.4 ศึกษาประสิทธิภาพการสกัดสารเคอร์คูมินจากผงขมิ้นชัน

ในการศึกษาส่วนนี้ สารเคอร์คูมินจะถูกสกัดออกจากผงขมิ้นชันโดยใช้ภาวะการสกัดที่เหมาะสมซึ่งได้จากผลการทดลองในหัวข้อ 2.2.2 ซึ่งการสกัดใช้ปริมาณสารต่อเอทานอลดังที่แสดงไว้ในหัวข้อ 2.2.1 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง วิเคราะห์ปริมาณของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้จากผงขมิ้น โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 423 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงของสารที่สกัดได้ไปคำนวณค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานในหัวข้อ 2.2.2.1

2.2.5 ศึกษาภาวะการเตรียมกระดาษที่มีสารสกัดเคอร์คูมินที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

ในการทดลองนี้ศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการชุบกระดาษ, จำนวนครั้งที่ใช้ในการชุบกระดาษต่อปริมาณสารเคอร์คูมินบนกระดาษ และฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ในหัวข้อ 2.2.6

2.2.5.1 ศึกษาปริมาณของสารสกัดเคอร์คูมินที่อยู่บนกระดาษกรอง เมื่อชุบกระดาษกรองที่ระยะเวลา และจำนวนครั้งแตกต่างกัน

จุ่มกระดาษกรองขนาด 1×1 เซนติเมตรในสารสกัดหยาบขมิ้นชันเป็นเวลา 5 นาที, 10 นาที, 30 นาที, และ60 นาที เปรียบเทียบกับการจุ่ม 10 นาที 2 ครั้ง และ 60 นาที 2 ครั้ง ปล่อยให้กระดาษแห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการชะปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินออกจากกระดาษด้วยเอทานอล แล้ววิเคราะห์ปริมาณของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้จากผงขมิ้น โดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 423 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดแสงของสารที่สกัดได้ไปคำนวณค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานในหัวข้อ 2.2.2.1

ทั้งนี้ในการตรวจสอบการชะสารสกัดเคอร์คูมินออกจากกระดาษ ได้ทำการทดลองหยดสารสกัดหยาบลงบนกระดาษกรอง 1×1 เซนติเมตร ปริมาณ 10, 20 และ 60 ไมโครลิตร จากนั้นทำการชะปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินออกจากกระดาษ แล้ววิเคราะห์ปริมาณของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้เปรียบเทียบกับวิธีการคำนวณ

2.2.6 ศึกษาผลของปริมาณสารสกัดหยาบที่แตกต่างกันต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

จากการทดลองนี้เป็นการตรวจสอบว่าปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลต่อความสามารถในการต้านเชื้อราได้ดีขึ้น ทำการทดลองโดยหยดสารสกัดหยาบลงบนกระดาษกรอง 1×1 เซนติเมตร ปริมาณ 10, 20 และ 60 ไมโครลิตร แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา (%inhibition) ตามในหัวข้อ 1.6

2.2.7 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

2.2.7.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA)

หั่นมันฝรั่งเป็นสีเหลี่ยมลูกเต๋านำไปต้มในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร จนสุกแล้วกรองเอาแต่น้ำ จากนั้นต้มวุ้น (Agar) ในน้ำกลั่นจนสุกแล้วเติม Dextrose คนให้ละลาย นำน้ำจากมันฝรั่งที่เตรียมไว้มาผสมให้เข้ากันปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ตู้นึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave)

2.2.7.2 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากขมิ้นชัน กาแฟ และกากาแฟ ในการต้านการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ทดสอบด้วยวิธี disc diffusion method ซึ่งทำการตรวจเพาะเชื้อซ้ำ 3 ครั้ง โดยใส่เชื้อราที่โตเต็มที่ลงตรงกลางจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ (potato dextrose agar, PDA) แล้วใส่กระดาษกรองที่อิ่มตัวด้วยสารสกัดที่ต้องการทดสอบลงในจานเพาะเชื้อเก็บไว้เป็นเวลา 3 วัน สังเกตและบันทึกผล

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของกระดาษเคลือบด้วยสารสกัดหยาบขมิ้นชัน ใส่กระดาษกรองที่อิ่มตัวด้วยสารสกัดที่ต้องการทดสอบ จากข้อ 2.2.1 และ 2.2.4.1

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของกระดาษเคลือบด้วยสารสกัดหยาบกาแฟ และกากกาแฟโดยหยดสารสกัดหยาบกาแฟ และกากกาแฟจากข้อ 2.2.1 ปริมาณ 20 และ60 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรองขนาด 1×1 เซนติเมตร นำกระดาษกรองใส่ในจานทดสอบ ทำซ้ำ 5 ซ้ำ

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3
ผลการทดลองและอภิปลายผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้เพื่อพัฒนาบรรจุภัณฑ์ห่อผลไม้โดยใช้กระดาษเคลือบด้วยสารสกัดจากผงขมิ้นชัน สารสกัดจากกาแฟ และสารสกัดจากกากกาแฟ ในการศึกษาครั้งนี้แบ่งการทดลองออกเป็นสองส่วน ได้แก่ ส่วนแรกเป็นการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากผงขมิ้นชัน และศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ส่วนที่สอง คือ การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของสารสกัดจากกาแฟ และกากกาแฟ

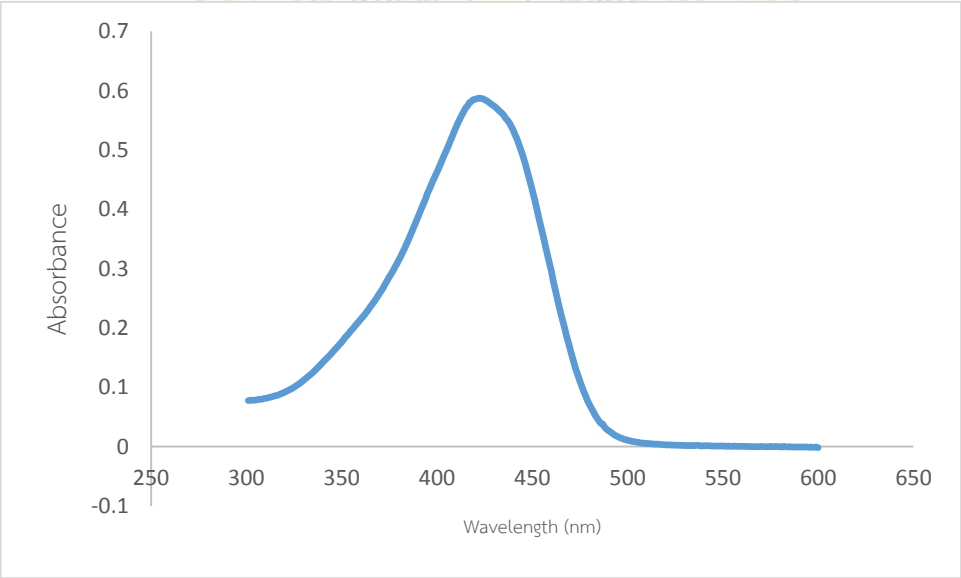
ส่วนที่หนึ่ง: ศึกษาสารสกัดจากผงขมิ้นชันต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

ในการศึกษาประสิทธิภาพการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของสารสกัดหยาบ (crude extract) จากผงขมิ้นชัน ได้สารสกัดหยาบจากผงขมิ้นชันมีลักษณะเป็นของเหลวสีเหลืองเข้มเกือบสีน้ำตาลเข้ม โดยการศึกษาครั้งนี้ได้เลือกวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยใช้เอทานอลเป็นตัวสกัด จากการศึกษามีรายงานว่า เอทานอลเป็นตัวทำละลายสารเคอร์คูมินออกจากผงขมิ้นชันได้ดีกว่าเมทานอล นอกจากนี้ทั้งเมทานอล และเอทานอลยังเป็นตัวทำละลายที่ดีกว่าน้ำ[32] โดยที่การละลายเกิดขึ้นเนื่องจากการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวทำละลาย กับสารเคอร์คูมิน ซึ่งเมทานอล และเอทานอลต่างก็มีความสามารถในการสร้างพันธะไฮโดรเจนได้ดีทั้งคู่ แตเนื่องจากโมเลกุลเมทานอลมีขนาดเล็กจึงสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างโปรตอนของเมทานอลโมเลกุลหนึ่ง กับออกซิเจนอะตอมของเมทานอลอีกโมเลกุลหนึ่งได้ดี จึงสงผลให้ความสามารถในการละลายสารเคอรคูมินลดลงเมื่อเทียบกับเอทานอล[33] ดังนั้นในงานวิจัยนี้ได้เลือกเอทานอลเป็นตัวทำละลาย

3.1 การพิสูจน์หาสารองค์ประกอบหลักของสารสกัดขมิ้นชัน

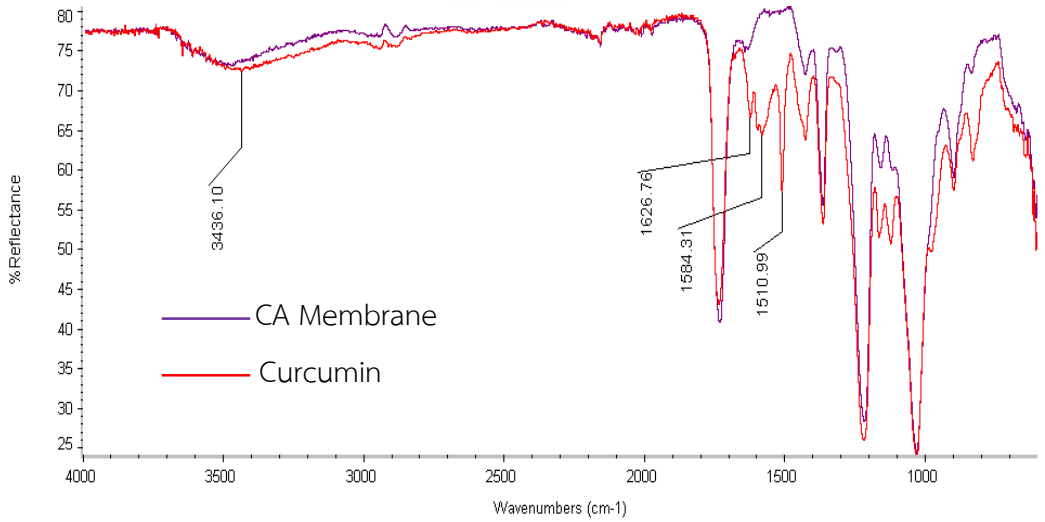
ในการศึกษาส่วนนี้มุ่งหาสารองค์ประกอบที่อยู่บนกระดาษที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้โดยชะสารสกัดหยาบขมิ้นชันออกจากกระดาษแล้วนำไปทดสอบ

การพิสูจน์สารเคอร์คูมินด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี พบว่าสารที่ได้จากการชะกระดาษที่มีสารสกัดหยาบจากผงขมิ้นชัน มีค่า λ_{max} ที่ 423 นาโนเมตร ซึ่งค่า λ_{max} สอดคล้องกับสารละลายเคอร์คูมินมาตรฐานและงานวิจัยของ Singh และคณะ[34] ดังนั้นสารองค์ประกอบหลักของสารสกัดหยาบขมิ้นชัน คือ เคอร์คูมิน



รูปที่ 3.8 กราฟแสดงสเปกตรัมของสารสกัดหยาบขมิ้นชัน

นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราในสารสกัดหยาบโดยใช้เทคนิค ATR-FTIR เนื่องจากกระดาษกรองให้สัญญาณในตำแหน่งของเคอร์คูมิน จึงทำการเตรียมสารบนแผ่น Cellulose acetate membrane filter (CA membrane) จากสเปกตรัม IR พบพีกบริเวณ 3400-3450 cm^{-1} เป็นสัญญาณของหมู่ไฮดรอกซิลในเคอร์คูมิน พีกบริเวณ 1625 cm^{-1} เป็นสัญญาณของ C=O พีกบริเวณ 1585 cm^{-1} เป็นสัญญาณของ C=C สเตรชชิง (stretching) ดังนั้นสารองค์ประกอบหลักของสารสกัดหยาบจากผงขมิ้นชัน คือเคอร์คูมิน ซึ่งสเปกตรัมสอดคล้องกับงานวิจัยของ Singh และคณะ[34]



รูปที่ 3.9 กราฟแสดงสเปกตรัมของสารสกัดหยาบขมิ้นชัน บนแผ่น CA membrane

3.2 การศึกษาปริมาณสารต่ำสุดบนกระดาษกรองที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้

จากการศึกษาปริมาณสารต่ำสุดบนกระดาษกรองที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยสกัดผงขมิ้นชันด้วยตัวทำละลายเอทานอล 1:5 (w/v) ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าการหยดสารสกัดหยาบขมิ้นชัน 10 µL ลงบนกระดาษกรองไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* อาจเป็นเพราะมีปริมาณของสารสกัดเคอร์คูมินที่น้อยเกินไปจึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา แต่กระดาษกรองที่หยดสารสกัดหยาบตั้งแต่ 20 µL ขึ้นไปสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้

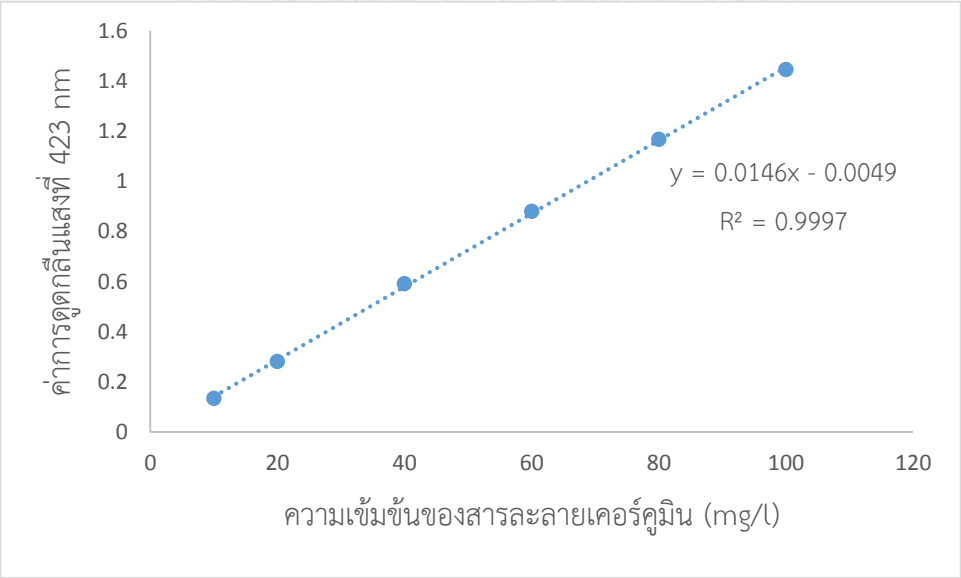
ตารางที่ 3.1 แสดงปริมาณที่หยดสารสกัดหยาบบนกระดาษกรอง ที่สามารถต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

สาร	สารสกัดขมิ้นชัน		
	10 µL	20 µL	60 µL
Colletotrichum gloeosporioides	-	+	+

หมายเหตุ : + คือ สามารถต้านการเจริญเชื้อรา

- คือ ไม่สามารถต้านการเจริญเชื้อรา

จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้จากผงขมิ้นด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี โดยวัดจากค่าการดูดกลืนแสงที่ 423 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงของสารที่สกัดได้ไปคำนวณค่าความเข้มข้นของเคอร์คูมินจากกราฟมาตรฐาน**รูปที่ 3.3** พบว่าปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินบนกระดาษกรองที่หยดสารสกัดขมิ้นชัน 20 µL มีปริมาณสารเคอร์คูมินต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เท่ากับ 2.95 มิลลิกรัม



รูปที่ 3.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง และความเข้มข้นของสารละลายเคอร์คูมิน

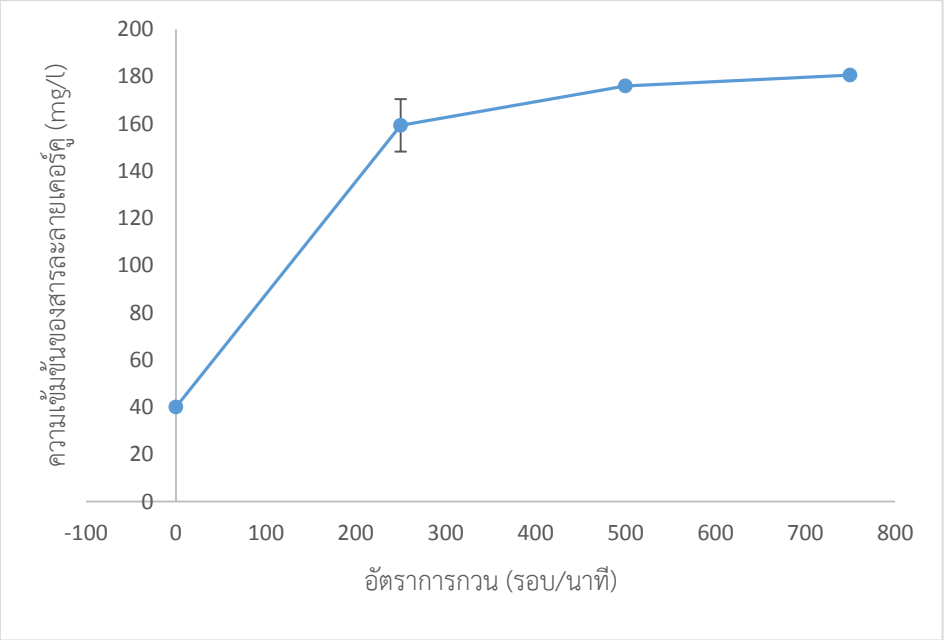
ตารางที่ 3.2 แสดงปริมาณสารเคอร์คูมินที่สกัด

สาร	ปริมาณสารเคอร์คูมินที่สกัดบนกระดาษกรอง (mg)		
	10 µL	20 µL	60 µL
สารสกัดหยาบขมิ้นชัน	1.79	2.95	8.39

3.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารเคอร์คูมินจากผงขมิ้นชัน

3.3.1 ศึกษาความเร็วรอบต่อนาทีที่เหมาะสมในการสกัด

ในการศึกษาส่วนนี้เพื่อหาความเร็วรอบต่อนาทีที่เหมาะสมในการสกัด โดยศึกษาอัตราการกวนที่ 0, 250, 500 และ 750 รอบ/นาที จาก**รูปที่ 3.4** พบว่าที่ระยะเวลาสกัดเท่ากัน 1 ชั่วโมง เมื่อเพิ่มอัตราการกวนในการสกัดมากขึ้น ปริมาณของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื่องจากการกวนที่อัตราการกวนที่เร็วขึ้นทำให้ตัวทำละลายสามารถสัมผัสกับสารที่ต้องการสกัดมากขึ้น ซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดได้ดีขึ้น แต่อย่างไรก็ตามแม้ว่าผลการทดลองจะแสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มอัตราการกวนในการสกัดมากขึ้นทำให้ได้ปริมาณสารสกัดเคอรคูมินมากขึ้นก็ตาม แต่เมื่อพิจารณาจากกราฟพบว่าอัตราการกวนที่ 250 รอบ/นาที มีค่าความคลาดเคลื่อนมากเมื่อเทียบกับอัตราการกวนอื่นๆ ดังนั้นอัตราการกวนที่เหมาะสมในการสกัดอยู่ที่ 500 รอบ/นาที

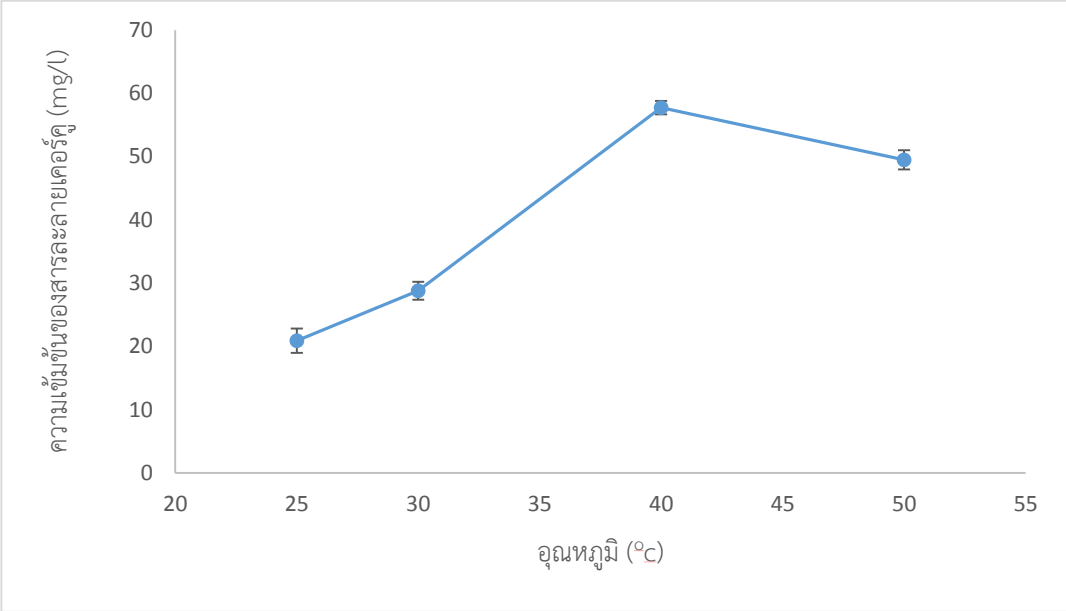


รูปที่ 3.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายเคอร์คูมิน และอัตราการกวน

3.3.2 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัด

ในการศึกษาส่วนนี้เพื่อหาอิทธิพลของอุณหภูมิที่ส่งผลต่อการสกัด ทำการศึกษาที่อุณหภูมิ 25, 30, 40 และ 50 °c เมื่อพิจารณาจากกราฟ**รูปที่ 3.5** พบว่าเมื่ออุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้นความเข้มข้นของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่ที่อุณหภูมิ 50 °c พบว่าความเข้มข้นของสาร

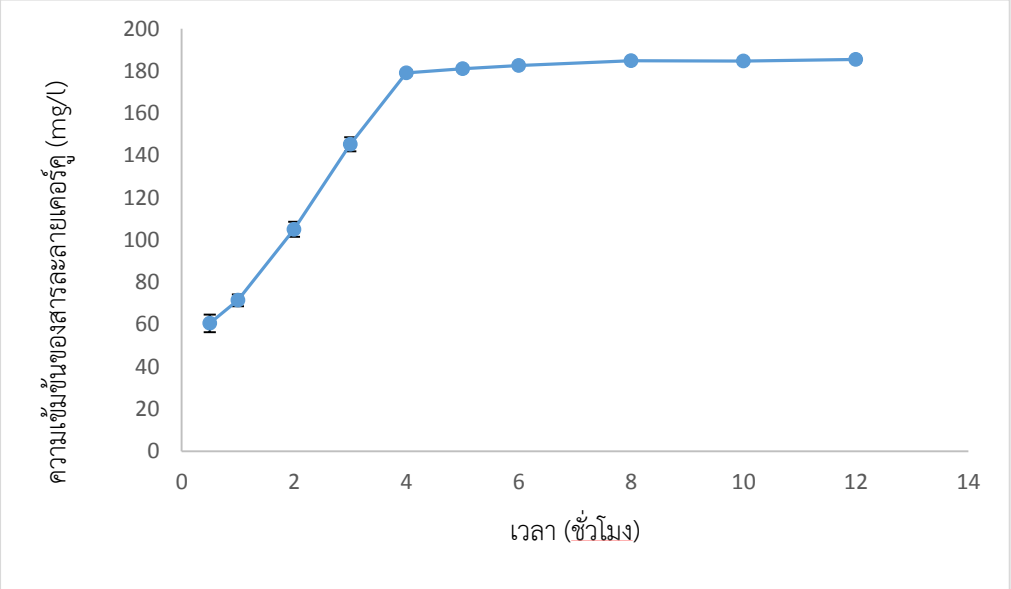
เคอร์คูมินที่สกัดได้จะมีแนวโน้มลดลง เนื่องจากที่อุณหภูมิสูงมากๆ เคอร์คูมินไม่เสถียรสารเคอร์คูมินเสื่อมสภาพไป[34] จึงทำให้ปริมาณสารเคอร์คูมินที่สกัดได้ลดลงที่อุณหภูมิสูงขึ้น ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดสารเคอร์คูมินจากผงขมิ้นชัน คือ 40 °c



รูปที่ 3.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายเคอร์คูมิน และอุณหภูมิ

3.3.3 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการสกัด

ในการศึกษาเพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารเคอร์คูมิน โดยศึกษาที่เวลา 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 และ12 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาจากกราฟ**รูปที่ 3.6** พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดมากขึ้น ปริมาณของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเพิ่มระยะเวลาในการสกัดให้นานขึ้น ทำให้ตัวทำละลายเอทานอลสามารถซึมผ่านเข้าไปในเนื้อเยื่อของขมิ้นชันได้มากขึ้นทำให้ได้ปริมาณสารเคอร์คูมินละลายออกมามากขึ้น อย่างไรก็ตาม แม้ว่าผลการทดลองจะแสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดมากขึ้นทำให้ได้ปริมาณสารสกัดเคอรคูมินมากขึ้นก็ตาม แต่เมื่อพิจารณาจากกราฟ**รูปที่3.6** พบว่าระยะเวลาในการสกัดที่เหมาะสม คือ 4 ชั่วโมง



รูปที่ 3.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายเคอร์คูมิน และเวลา

3.4 ศึกษาประสิทธิภาพการสกัดสารเคอร์คูมินจากผงขมิ้นชัน

จากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารเคอร์คูมินจากผงขมิ้นชัน คือ สกัดที่อัตราการกวนที่ 500 รอบ/นาที อุณหภูมิ 40°c และระยะเวลาในการสกัด 4 ชั่วโมง แล้ววิเคราะห์ปริมาณของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้จากผงขมิ้นด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี โดยวัดการค่าการดูดกลืนแสงที่ 423 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงของสารที่สกัดได้ไปคำนวณค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน $y = 0.0148x - 0.0069$, $R^2 = 0.9995$ พบว่ามีความเข้มข้นของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้เท่ากับ 301.88 g/l

3.5 ศึกษาภาวะการเตรียมกระดาษที่มีสารสกัดเคอร์คูมินที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

ในการศึกษาส่วนนี้มุ่งที่จะศึกษาปริมาณของสารสกัดเคอร์คูมินที่อยู่บนกระดาษกรอง เมื่อชุบกระดาษกรองที่ระยะเวลา และจำนวนครั้งแตกต่างกัน พบว่าการชุบกระดาษกรองในสารสกัดหยาบขมิ้นชัน 5 นาที และ10 นาที มีปริมาณสารเคอร์คูมินบนกระดาษกรองใกล้เคียงกัน และปริมาณสารเคอร์คูมินบนกระดาษกรองมากกว่าปริมาณสารต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และการเพิ่มขึ้นของระยะเวลาในการชุบกระดาษกรอง กับจำนวนครั้งที่ชุบ พบว่ามี

ปริมาณสารเคอร์คูมิน บนกระดาษกรองไม่แตกต่างกันมากนัก ดูค่าปริมาณสารเคอร์คูมินบนกระดาษกรองได้จาก**ตารางที่ 3.3**

ดังนั้นการชุบกระดาษกรอง 5 นาที จะมีปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินเพียงพอต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

ตารางที่ 3.3 แสดงปริมาณสารเคอร์คูมินบนกระดาษกรอง เมื่อชุบกระดาษกรองที่ระยะเวลา และจำนวนครั้งแตกต่างกันและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ระยะเวลา+จำนวนครั้งที่ชุบกระดาษกรองในสารสกัดหยาบ	ปริมาณสารเคอร์คูมินที่สกัดบนกระดาษกรอง (mg)	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
5 นาที	4.33	0.11
10 นาที	4.37	0.14
10 นาที 2 ครั้ง	5.11	0.09
30 นาที	5.16	0.08
60 นาที	5.26	0.10
60 นาที 2 ครั้ง	5.29	0.13

ทั้งนี้ในการตรวจสอบการชะสารสกัดเคอร์คูมินออกจากกระดาษ พบว่า ปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินจากการคำนวณ ของการหยดสารสกัด 20 µL เท่ากับ 6.92 มิลลิกรัม ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินโดยการวัดค่าดูดกลืนแสง

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.4 แสดงปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินจากการคำนวณ เปรียบเทียบกับปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินโดยการชะกระดาษกรอง

ปริมาณสารสกัดหยาบที่หยดบนกระดาษกรอง (µL)	ปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินจากการคำนวณ (mg)	ปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินโดยการชะกระดาษกรอง (mg)
10	3.42	3.09
20	6.92	6.85
60	20.64	20.58

3.6 ศึกษาผลของปริมาณสารสกัดหยาบที่แตกต่างกันต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา

การศึกษาเพื่อตรวจสอบว่าปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลต่อความสามารถในการต้านเชื้อราได้ดีขึ้น พบว่าการเพิ่มของปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินไม่ได้ส่งผลต่อความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราให้เพิ่มมากขึ้น โดยดูได้จากเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราดังแสดงใน**ตารางที่ 3.5** จะพบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

3.7 ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราของกระดาษเคลือบด้วยสารสกัดหยาบขมิ้นชัน

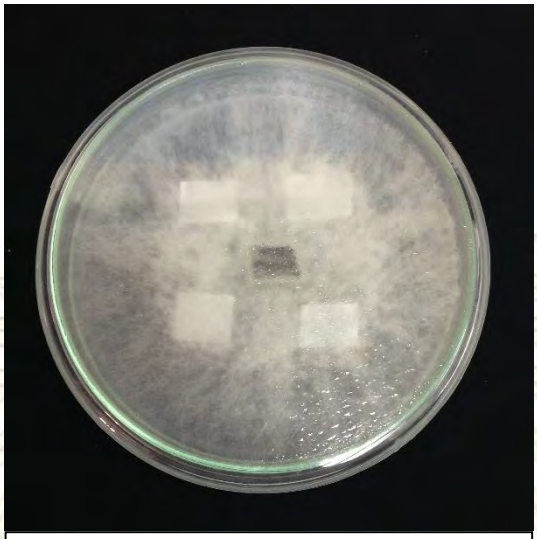
จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของกระดาษเคลือบด้วยสารสกัดหยาบขมิ้นชัน ด้วยวิธี disc diffusion method พบว่า การหยดสารสกัดหยาบลงบนกระดาษกรอง 60 µL มีเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสูงที่สุด คือ 66.50% ส่วนการชุบกระดาษ 5 นาที 10 นาที 2 ครั้ง และ 30นาที พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราไม่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.5 แสดงเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

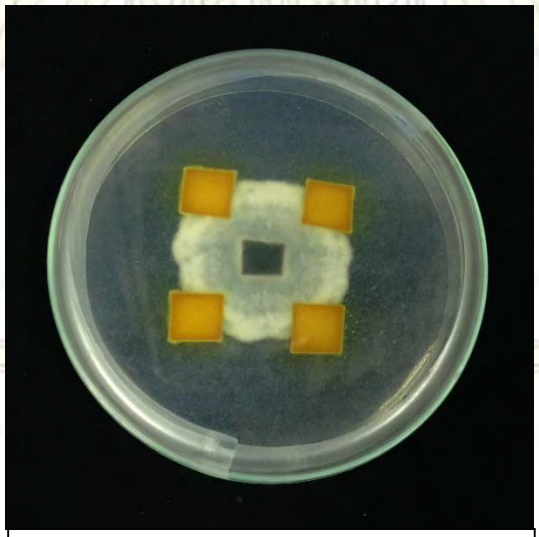
สาร	สารสกัดขมิ้นชัน				
	20 µl	60 µl	5 นาที	10 นาที 2 ครั้ง	30 นาที
%Inhibition	63.08	66.50	60.00	62.91	62.56
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	3.31	1.91	3.31	0.72	1.25
ปริมาณสารเคอร์คูมิน (mg)	6.93	20.64	4.33	5.11	5.16

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



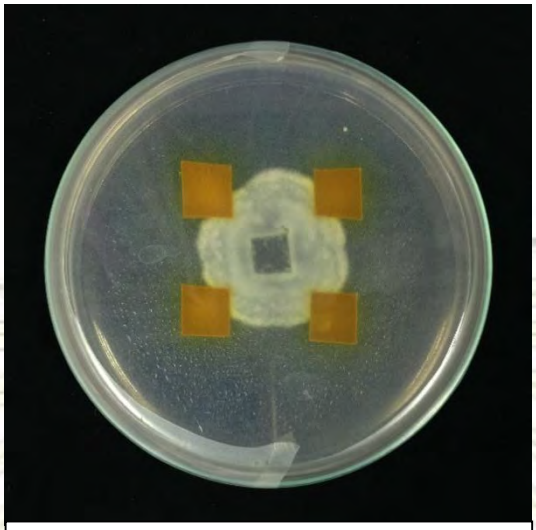
Blank + Anthracnose

รูปที่ 3.5 แสดงลักษณะเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน เป็นจานเพาะอ้างอิง



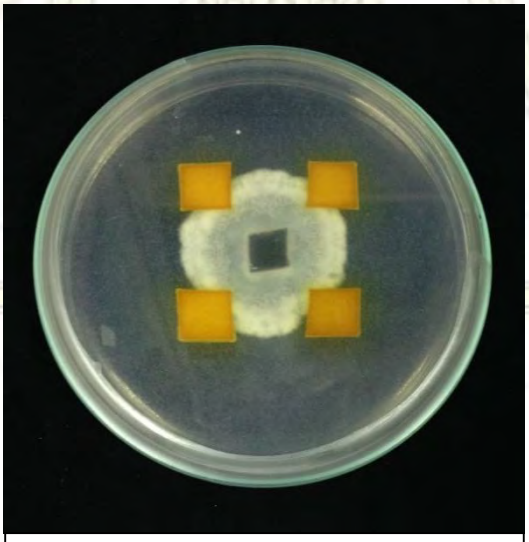
Turmeric 20µL + Anthracnose

รูปที่ 3.6 แสดงการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน ของกระดาษกรองหยดสารสกัดหยาบขมิ้นชัน 20 µL



Turmeric 60µL + Anthracnose

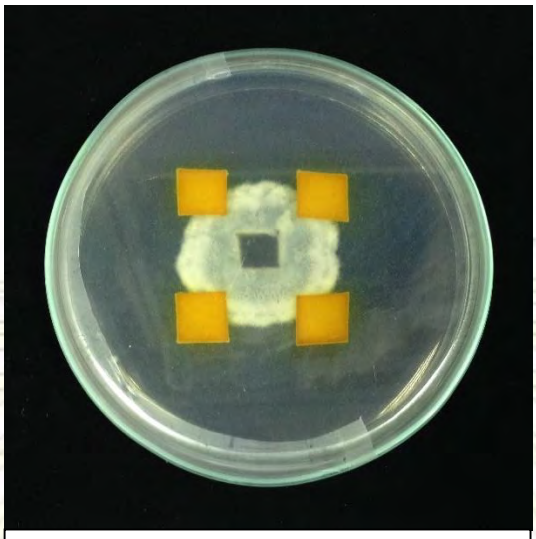
รูปที่ 3.7 แสดงการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน ของกระดาษกรองหยดสารสกัดหยาบขมิ้นชัน 60 µL



Turmeric 5 min + Anthracnose

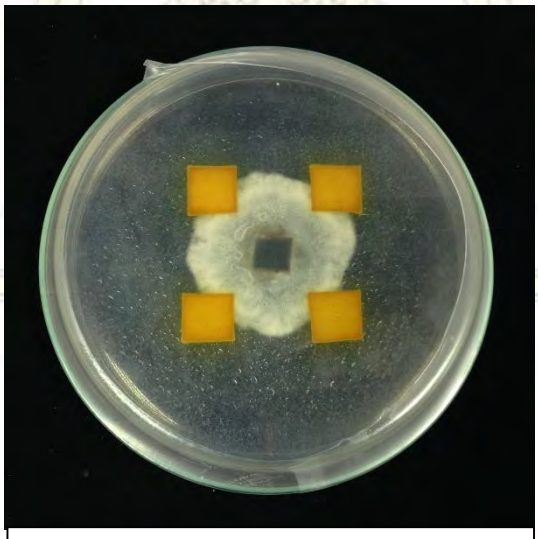
รูปที่ 3.8 แสดงการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน ของกระดาษกรองชุบสารสกัดหยาบ ขมิ้นชัน 5 นาที

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Turmeric 10 min 2time + Anthracnose

รูปที่ 3.9 แสดงการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน ของกระดาษกรองชุบสารสกัดหยาบขมิ้นชัน 10 นาที 2 ครั้ง



Turmeric 30min + Anthracnose

รูปที่ 3.10 แสดงการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน ของกระดาษกรองชุบสารสกัดหยาบขมิ้นชัน 30 นาที

ส่วนที่สอง: ศึกษาสารสกัดจากกาแฟและกากกาแฟ

ในการศึกษาประสิทธิภาพการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของสารสกัดหยาบ จากกาแฟและกากกาแฟ ได้สารสกัดหยาบจากกาแฟ และกากกาแฟมีลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำตาล การศึกษาครั้งนี้ได้เลือกเอทานอลเนื่องจากเอทานอลจะสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลออกมาได้ดี[23] จากการศึกษามีรายงานว่า สารประกอบฟีนอลมีสมบัติเป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์[24] ดังนั้นผู้ทำการวิจัยจึงสนใจสกัดสารสกัดจากกาแฟและกากกาแฟ เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

3.8 ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราของกระดาษเคลือบด้วยสารสกัดหยาบกาแฟและกากกาแฟ

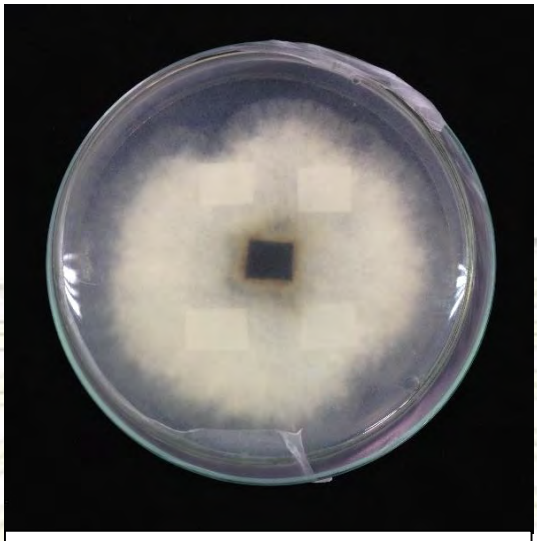
จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของกระดาษเคลือบด้วยสารสกัดหยาบกาแฟและกากกาแฟ ด้วยวิธี disc diffusion method พบว่าสารสกัดหยาบกาแฟไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* แต่สารสกัดหยาบกากกาแฟมีแนวโน้มที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* คาดว่ากาแฟมีสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลายชนิด สารออกฤทธิ์ (สารประกอบฟีนอล, คาเฟอีน) จึงอาจจะละลายออกมากับตัวทำละลายได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับกากกาแฟ ดังนั้นสารสกัดหยาบกาแฟจึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อราได้ เพราะมีปริมาณของสารออกฤทธิ์ที่น้อยเกินไป ส่วนสารสารสกัดหยาบกากกาแฟมีแนวโน้มที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ เนื่องจากการสกัดกากกาแฟน่าจะมีปริมาณสารออกฤทธิ์ที่เพียงพอต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

ตารางที่ 3.6 แสดงปริมาณสารสกัดหยาบบนกระดาษกรองที่สามารถต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

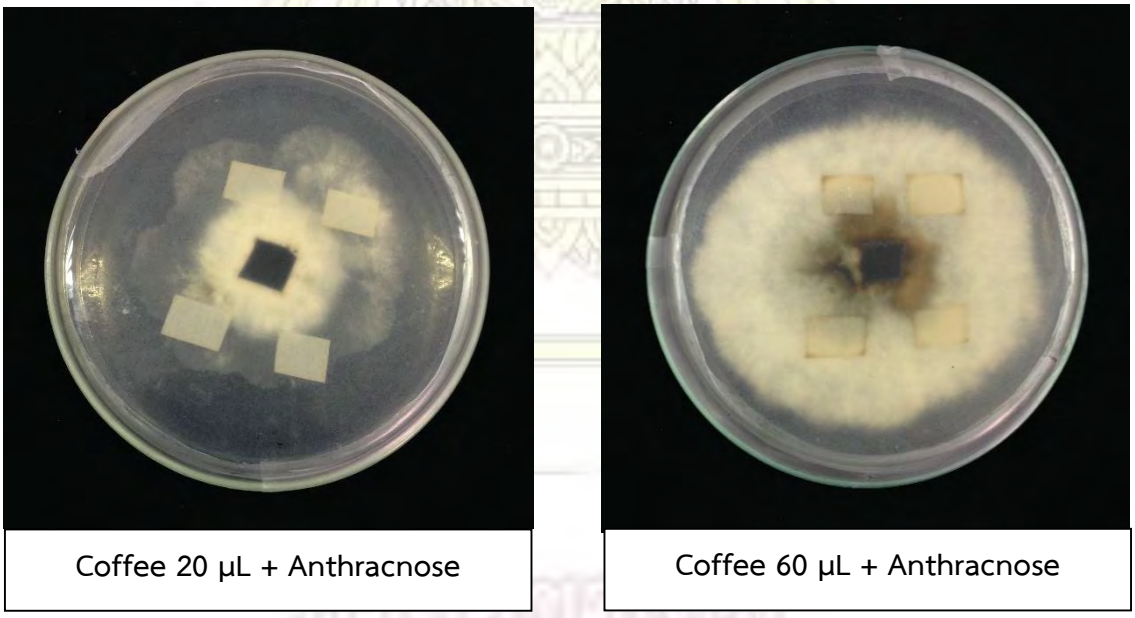
สาร	สารสกัดหยาบกาแฟ		สารสกัดหยายกากกาแฟ	
	20 µL	60 µL	20 µL	60 µL
C. gloeosporioides	-	-	+	+

หมายเหตุ : + คือ สามารถต้านการเจริญเชื้อรา

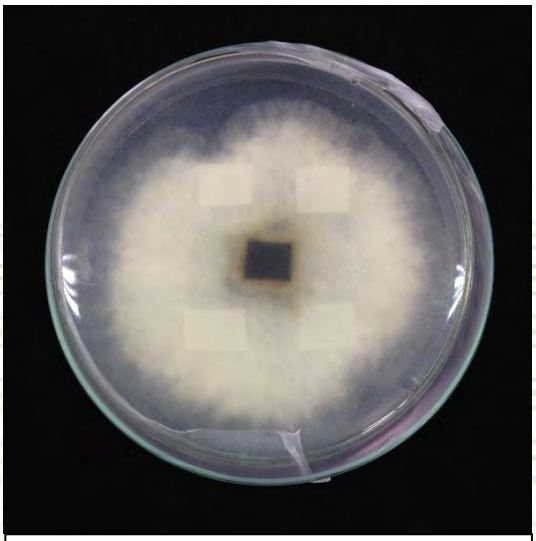
- คือ ไม่สามารถต้านการเจริญเชื้อรา



รูปที่ 3.11 แสดงลักษณะเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน เป็นจานเพาะอ้างอิง

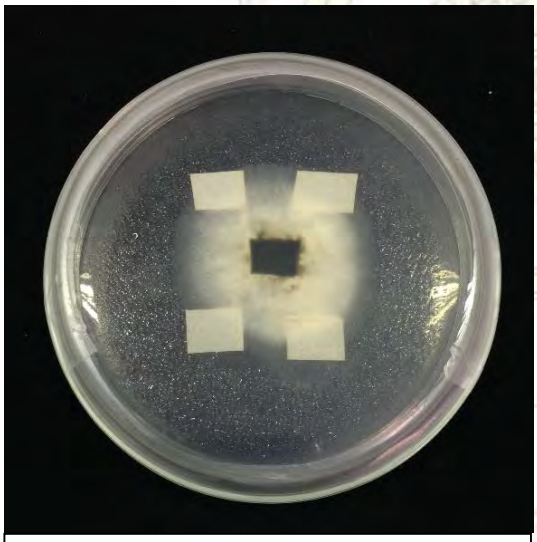


รูปที่ 3.12 แสดงการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน ของกระดาษกรองหยดสารสกัดหยาบกาแฟ 20 และ60 µL

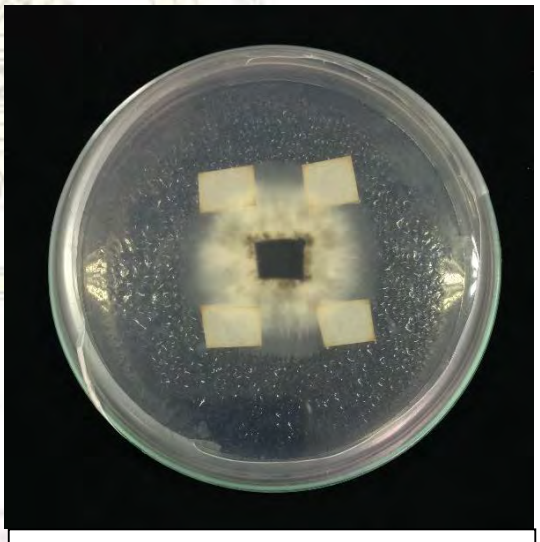


Blank + Anthracnose

รูปที่ 3.13 แสดงลักษณะเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน เป็นจานเพาะอ้างอิง



SCG 20 µL + Anthracnose



SCG 20 µL + Anthracnose

รูปที่ 3.14 แสดงการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เวลา 3 วัน ของกระดาษกรองหยดสารสกัดหยาบกากกาแฟ 20 และ60 µL

บทที่ 4
สรุปผลการทดลอง

4.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็นสองส่วน ส่วนแรก คือ ศึกษาสารสกัดจากผงขมิ้นชัน พบว่าสารองค์ประกอบหลักของสารสกัดหยาบจากผงขมิ้นชัน คือ เคอร์คูมิน ปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินบนกระดาษกรองต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เท่ากับ 2.95 มิลลิกรัม จากนั้นได้ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารเคอร์คูมินจากผงขมิ้นชัน พบว่าอัตราการกวนที่เหมาะสมในการสกัดอยู่ที่ 500 รอบ/นาที อุณหภูมิในการสกัด คือ 40 °c และเวลาในการสกัดที่เหมาะสม คือ 4 ชั่วโมง จากการศึกษาปริมาณของสารสกัดเคอร์คูมินที่อยู่บนกระดาษกรอง เมื่อชุบกระดาษกรองที่ระยะเวลา และจำนวนครั้งแตกต่างกัน พบว่า การเพิ่มขึ้นของระยะเวลาในการชุบกระดาษกรอง กับจำนวนครั้งที่ชุบ ไปส่งผลต่อปริมาณสารเคอร์คูมิน บนกระดาษกรองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นการชุบกระดาษกรอง 5 นาที จะมีปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินเพียงพอต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จากการศึกษาปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินที่เพิ่มขึ้นบนกระดาษกรองจะส่งผลต่อความสามารถในการต้านเชื้อราได้ดีขึ้น พบว่าการเพิ่มของปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินไม่ได้ส่งผลต่อความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราให้มากขึ้น จากนั้นศึกษาศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของกระดาษกรองเคลือบด้วยสารสกัดหยาบขมิ้นชัน 5 นาที, 10 นาที 2 ครั้ง และ30นาที พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราไม่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ส่วนที่ 2 คือ ศึกษาสารสกัดจากกาแฟและกากกาแฟ ในการศึกษาเบื้องต้นศึกษาประสิทธิภาพการต้านเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของสารสกัดหยาบ จากกาแฟและกากกาแฟ พบว่าการหยดสารสกัดหยาบกาแฟ 20 µL และ 60 µL บนกระดาษกรอง ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ส่วนการหยดสารสกัดหยาบกากกาแฟ 20 µL และ 60 µL บนกระดาษกรองมีแนวโน้มที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้

4.2 งานวิจัยที่คาดว่าจะทำต่อไปในอนาคต

1. ศึกษาปริมาณสารสกัดหยาบจากกาแฟและกากกาแฟต่ำสุดบนกระดาษกรองที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้
2. ศึกษาสารออกฤทธิ์ (สารประกอบฟีนอล, คาเฟอีน) จากกาแฟและกากกาแฟว่า สารออกฤทธิ์ใดส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อรา
3. ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดกาแฟและกากกาแฟ เช่น ใช้ตัวทำละลายผสม ระหว่างน้ำและแอลกอฮอล์

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. สถาบัญวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย หลักการทั่วไปของการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวผัก ผลไม้ และดอกไม้เพื่อการส่งออก. www.tistr-foodprocess.net/vegetable/vegetable_home/eg_home2.html (accessed 24 March 2016).

2. Zhang, Z.; Yang, D.; Yang, B.; Gao, Z.; Li, M.; Jiang, Y.; Hu, M. β-Aminobutyric Acid Induces Resistance of Mango Fruit to Postharvest Anthracnose Caused by Colletotrichum Gloeosporioides and Enhances Activity of Fruit Defense Mechanisms. *Sci. Hortic-Amsterdam*. **2013**, *160*, 78-84.

3. Terry, L. A. and Joyce, D. C. Elicitors of Induced Disease Resistance in Postharvest Horticultural Crops: a Brief Review. *Postharvest. Biol. Tec.* **2004**, *32*, 1-13.

4. Ali, A.; Muhammad, M. T. M.; Sijam, K.; Siddiqui, Y. Potential of Chitosan Coating in Delaying the Postharvest Anthracnose (Colletotrichum Gloeosporioides Penz.) of Eksotika II Papaya. *Int. J. Food. Sci. Tech.* **2010**, *45*, 2134-2140.

5. Ong, M. K.; Ali, A. Antifungal Action of Ozone Against Colletotrichum Gloeosporioides and Control of Papaya Anthracnose. *Postharvest. Biol. Tec.* **2015**, *100*, 113-119.

6. Perdones, A.; Sánchez-González, L.; Chiralt, A.; Vargas, M. Effect of Chitosan–Lemon Essential Oil Ooatings on Storage-Keeping Quality of Strawberry. *Postharvest. Biol. Tec.* **2012**, *70*, 32-41.

7. Bosquez-Molina, E.; Jesús, E. R.-d.; Bautista-Baños, S.; Verde-Calvo, J. R.; Morales-López, J. Inhibitory Effect of Essential Oils Against Colletotrichum Gloeosporioides and Rhizopus Stolonifer in Stored Papaya Fruit and Their Possible Application in Coatings. *Postharvest. Biol. Tec.* **2010**, *57*, 132-137.

8. บุษกร ทองใบ. การผลิตที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์จากน้ำมะพร้าว สารวิจัยเพื่อชุมชน. 2555, 2.

9. http://www.agriqua.doae.go.th/plantclinic/Clinic/plant/mango/anthracnose.htm (accessed 24 March 2016)

10. ณัฐนนท์ บุญเรือง และวิชุมา จิราโรจน์. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกระชายดำ, ขมิ้นชัน, ไพลดำ, ว่านชักมดลูก, และขมิ้นดำ. โครงการการเประสบการณ์รียนการสอนเพื่อประสบการณ์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2552

11. Pfeiffer, E.; Hohle, S.; Solyom, A. M.; Metzler, M. Studies on the stability of turmeric constituents. J Food Eng. **2003**, *56*, 257-259.

12. http://www.xn--12cg1cxchd0a2gzc1c5d5a.net/wp-content/uploads/2015/05/turmeric-content-powder.jpg (accessed 24 March 2016)

13. Ramirez-Ahumada, M.; Timmermann, N.; Gang, D. Biosynthesis of Curcuminiod and Gingerols in Termeric (Curcuma Longa) and Ginger (Zingiber Officinale): Identification of Curcuminoid Synthase and Hydroxycinnamoyl-CoA Thioesterases. Phytochemistry. **2006**, *67*, 2017-2029.

14. สมุนไพรไทยที่ใช้ในงานสาธารณสุขมูลฐาน. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 2547.

15. Vudhivanich, S. Potential of Some Thai Herbal Extracts for Inhibiting Growth of Ralstonia solanacearum, the Causal Agent of Bacterial Wilt of Tomato. *Kamphaengsaen Acad. J.* **2003**, *2*, 70-76.

16. Kajorncheappunngam, S. The Effect of Temperature, Time and Solvent on an Extraction of Curcumin. *KKU Engineering Journal*. **2006**, *3*, 225-236.

17. Borrelli, R. C.; Visconti, A.; Mennella, C.; Anese, M.; Fogliano, V. Chemical Characterization and Antioxidant Properties of Coffee Melanoidins. *J AGR FOOD CHEM*. **2002**, *50*, 6527-6533.

18. Mussatto, S. I.; Ballesteros, L. F.; Martins, S.; Teixeira, J. A. Extraction of Antioxidant Phenolic Compounds from Spent Coffee Grounds. *SEP PURIF TECHNOL*. **2011**, *83*, 173-179.

19. http://science.thepbodint.ac.th/topmenu.php?c=listknowledge&q_id=88 (accessed 27 March 2016).

20. Nonthakaew, A.; Matan, N.; Aewsiri, T.; Matan, N. Antifungal Activity of Crude Extracts of Coffee and Spent Coffee Ground on Areca Palm Leaf Sheath (Areca catechu) Based Food Packaging. Packag. Technol. Sci. **2015**, *28*, 633-645.

21. Budryn, G.; Nebesny, E.; Podsêdek, A.; Żyżelewicz, D.; Materska, M.; Jankowski, S.; Janda, B. Effect of Different Extraction Methods on The Recovery of Chlorogenic Acids, Caffeine and Maillard Reaction Products in Coffee Beans. *European Food Research and Technol.* **2009**, *228*, 913-922.

22. Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jime´nez, L. Polyphenols: Food Sources and Bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*. **2004**, *79*, 727-747.

23. Han, X., Shen, T., & Lou, H. Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. INT J MOL SCI. **2007**, *8*, 950-988.

24. Brantner, A.; Pfeiffer, K.; Brantner, H. Application of Diffusion Methods Required by The Pharmacopoeias for Testing Antibacterial Activity of Natural Compounds. *Pharmazie*. **1994**, *49*, 512-516.

25. https://www.researchgate.net/post/When_you_calculate_the_Inhibition_ in_DPPH_is_it_enough_use_the_absorbances_obtained_or_is_better_first_transform_them_to_concentration (accessed 27 March 2016)

26. Liu, Y.; Cai, Y.; Jiang, X.; Wu, J.; Le, X. Molecular Interactions, Characterization and Antimicrobial Activity of Curcumin–Chitosan Blend Films. *Food Hydrocolloids*. **2016**, *52*, 564-572.

27. Wang, Y.; Lu, Z.; Wu, H.; Lv, F. Study on The Antibiotic Activity of Microcapsule Curcumin Against Foodborne Pathogens. INT J FOOD MICROBIOL. **2009**, *136*, 71-4.

28. Radwan, M. M.; Tabanca, N.; Wedge, D. E.; Tarawneh, A. H.; Cutler, S. J. Antifungal Compounds from Turmeric and Nutmeg with Activity Against Plant Pathogens. *Fitoterapia*. **2014**, *99*, 341-6.

29. Jiménez-Zamora, A.; Pastoriza, S.; Rufián-Henares, J. A. Revalorization of Coffee by-Products. Prebiotic, Antimicrobial and Antioxidant Properties. *Int. J. Food. Sci. Tech.* **2015**, *61*, 12-18.

30. Chassagnez–Mendez, A. L.; Correa, N. C. F.; Franca, L. F.; Machado, N. T.; Arujo, M. E. A Mass Transfer Model Applied toThe Supercritical Extraction with CO2 of Curcumins from Turmeric Rhizomes (Curcuma longa L). *BRAZ J CHEM ENG*. **2000**, *17*, 1-19.

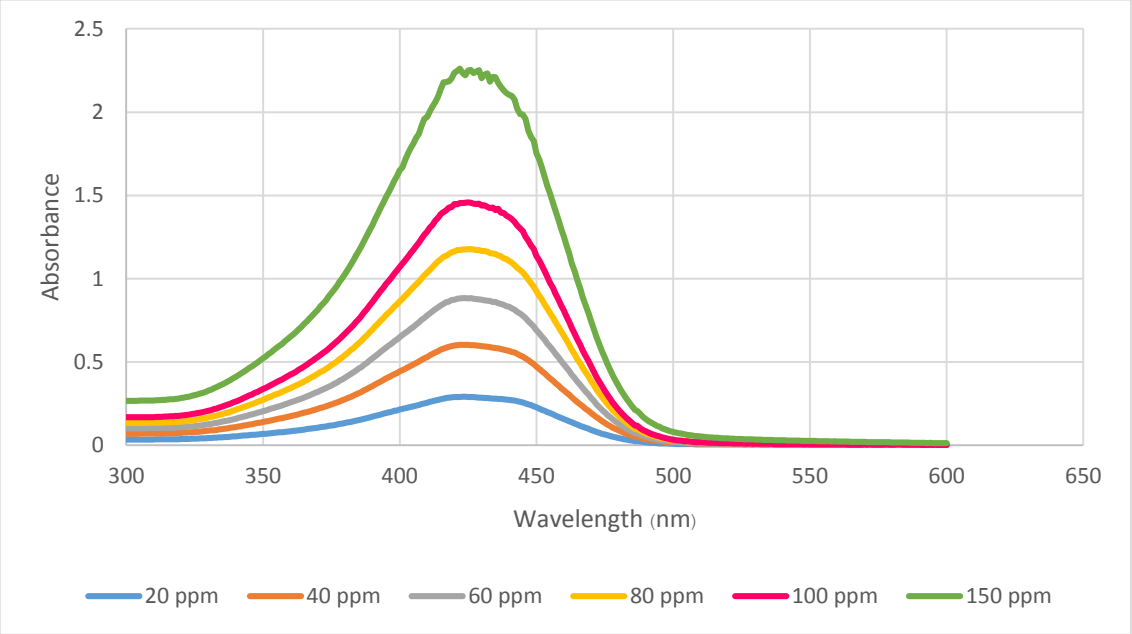
31. http://www.scientia.org/cadonline/ Organic_Chem/alcohols/properties.ASP (accessed 5 April 2016).

32. Singh, P. K.; Wani, K.; Kaul-Ghanekar, R.; Prabhune, A.; Ogale, S. From Micron to Nano-Curcumin by Sophorolipid Co-Processing: Highly Enhanced Bioavailability, Fluorescence, and Anti-Cancer Efficacy. *RSC Adv*. **2014**, *4*, 60334-60341.

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1 กราฟแสดงสเปกตราของสารละลายมาตรฐานเคอร์คูมิน ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 423 นาโนเมตร

ตารางที่ 1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 423 นาโนเมตรของสารละลายมาตรฐานเคอร์คูมิน ที่ละลายด้วยตัวทำละลายเอทานอล

ค่าความเข้มข้นของสารละลายเคอร์คูมิน (mg/l)	ค่าการดูดกลืนแสง
10	0.1343
20	0.2808
40	0.5919
60	0.8802
80	1.1673
100	1.4455
150	2.1911

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่อัตราการกวนต่างๆ และความเข้มข้นของสารสกัดเคอร์คูมิน

อัตราการกวน (รอบ/นาที)	ค่าการดูดกลืนแสง 1	ค่าการดูดกลืนแสง2	ค่าการดูดกลืนแสง3	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง	ความเข้มข้นสารสกัดเคอร์คูมิน (mg/l)
0	0.57832	0.57727	0.57727	0.57762	39.29934
	0.60161	0.60312	0.60370	0.60281	40.96755
	0.58346	0.58285	0.58392	0.58341	39.68278
250	0.20601	0.20624	0.20659	0.20628	147.0728
	0.22938	0.22894	0.22884	0.22905	162.1545
	0.23908	0.23910	0.23938	0.23919	168.8653
500	0.24930	0.25094	0.24841	0.24955	175.7285
	0.24891	0.24965	0.25131	0.24996	175.9978
	0.25031	0.25018	0.25137	0.25062	176.4371
750	0.25567	0.25543	0.25607	0.25572	179.8168
	0.25675	0.25643	0.25615	0.25644	180.2936
	0.25836	0.25864	0.25850	0.25850	181.6556

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่อุณหภูมิต่างๆ และความเข้มข้นของสารสกัดเคอร์คูมิน

อุณหภูมิ °c	ค่าการดูดกลืนแสง 1	ค่าการดูดกลืนแสง 2	ค่าการดูดกลืนแสง 3	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง	ความเข้มข้นสารสกัดเคอร์คูมิน (mg/l)
25	0.31734	0.31717	0.31708	0.31720	22.05276
	0.31583	0.31666	0.31647	0.31632	21.99470
	0.26523	0.26753	0.26584	0.26620	18.6755
30	0.41307	0.41321	0.41410	0.41346	28.42781
	0.40210	0.40031	0.40070	0.40104	27.60508
	0.44227	0.44262	0.44281	0.44257	30.35541
40	0.85130	0.85127	0.85027	0.85095	57.40044
	0.84938	0.84991	0.84862	0.84930	57.29161
	0.87512	0.87485	0.87384	0.87460	58.96711
50	0.73521	0.73246	0.73245	0.73337	49.61413
	0.72512	0.72543	0.72642	0.72566	49.10309
	0.74865	0.74654	0.74202	0.74574	50.43289

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่อุณหภูมิต่างๆ และความเข้มข้นของสารสกัดเคอร์คูมิน

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง1	ค่าการดูดกลืนแสง2	ค่าการดูดกลืนแสง3	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง	ความเข้มข้นสารสกัดเคอร์คูมิน (mg/l)
0.5	0.45330	0.45186	0.45142	0.45219	61.99
	0.43212	0.43220	0.43042	0.43158	59.26
	0.46518	0.46804	0.46024	0.46449	63.61
1	0.52570	0.52716	0.52250	0.52512	71.65
	0.50242	0.50744	0.50660	0.50549	69.04
	0.53998	0.54080	0.54410	0.54163	73.83
2	0.75465	0.75654	0.75856	0.75658	102.30
	0.78634	0.75866	0.75834	0.76778	103.79
	0.76934	0.77523	0.77965	0.77474	104.71
3	1.07590	1.07480	1.06324	1.07131	143.99
	1.00190	1.07132	1.11520	1.06281	142.86
	1.06920	1.06319	1.06780	1.06673	143.38
4	1.33750	1.33960	1.33780	1.33830	179.35
	1.32500	1.32340	1.32910	1.32583	177.70
	1.34540	1.34380	1.34170	1.34363	180.06
5	1.35280	1.35820	1.36020	1.35707	181.84
	1.33970	1.34860	1.33950	1.34260	179.92
	1.35300	1.34910	1.35890	1.35367	181.39
6	1.36850	1.36540	1.36980	1.36790	183.27
	1.35040	1.35720	1.35860	1.35540	181.62
	1.36690	1.36560	1.36420	1.36557	182.96
8	1.38420	1.38520	1.38290	1.38410	185.42
	1.37920	1.38760	1.38420	1.38367	185.36
	1.36450	1.36760	1.38550	1.37253	183.89
10	1.38230	1.37980	1.38590	1.38267	185.23
	1.37560	1.37420	1.37872	1.37617	184.37
	1.37980	1.37650	1.37840	1.37823	184.64
12	1.39240	1.39580	1.40200	1.39673	187.09
	1.37650	1.37560	1.37990	1.37733	184.52
	1.38100	1.38130	1.38240	1.38157	185.08

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวอิสริยาภรณ์ ประเสริฐวิระยะ เกิดเมื่อวันที่ 9 ธันวาคม พ.ศ. 2536 สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย แผนกวิทยาศาสตร์ – คณิตศาสตร์ จากโรงเรียนสตรีวิทยา๒ ในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระศรีนครินทราบรมราชชนนี จังหวัดกรุงเทพมหานคร และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2555 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้หลังจบการศึกษาปริญญาตรี บ้านเลขที่ 62/160 ซอยประเสริฐมนูกิจ 27 ถนนประเสริฐมนูกิจ แขวงจรเข้บัว เขตลาดพร้าว กรุงเทพมหานคร 10230 เบอร์โทรศัพท์ 085-9515944

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย