

การเปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีสกัด
และตัวทำละลายที่แตกต่างกันเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp.
(A comparison of polyphenol contents extracted from spinach and cocoa beans using
different extraction methods and solvents to inhibit the growth of *Salmonella* spp.)

โรงเรียนอุทัยวิทยาคม
จังหวัดอุทัยธานี

คณะผู้จัดทำโครงการ

- | | |
|--------------------|-------------|
| 1. นางสาวชวิศา | เกล้าวิกรณ์ |
| 2. นางสาวบัณฑิติกา | รักอุ |
| 3. นางสาวพัทธ์จิรา | นานาวัน |

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการสาขาวิชาเคมี
การนำเสนอโครงการของนักเรียนจากโรงเรียนในโครงการห้องเรียนพิเศษวิทยาศาสตร์ คณิตศาสตร์
เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม เครือข่ายภาคกลางตอนบน ประจำปีการศึกษา 2567

การเปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีสกัด
และตัวทำละลายที่แตกต่างกันเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp.
(A comparison of polyphenol contents extracted from spinach and cocoa beans
using different extraction methods and solvents to inhibit the growth of
Salmonella spp.)

โรงเรียนอุทัยวิทยาคม
จังหวัดอุทัยธานี

คณะผู้จัดทำโครงการ

- | | |
|--------------------|-------------|
| 1. นางสาวชวิศา | เกล้าวิกรณ์ |
| 2. นางสาวบัณฑิติกา | รักอุ |
| 3. นางสาวพัทธ์จิรา | นานาวัน |

ครูที่ปรึกษาโครงการ

- | | |
|-----------------|----------|
| 1. นางสาววีรณดา | บางแบ่ง |
| 2. นายภค | อินสิงห์ |

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงงานสาขาวิชาเคมี
การนำเสนอโครงงานของนักเรียนจากโรงเรียนในโครงการห้องเรียนพิเศษวิทยาศาสตร์ คณิตศาสตร์
เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม เครือข่ายภาคกลางตอนบน ประจำปีการศึกษา 2567

บทคัดย่อ

โครงการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1. ศึกษาวิธีการสกัดโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 2. เปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 3. เปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Salmonella* spp. จากโพลีฟีนอลที่ได้ โดยมีวิธีการทดลอง 3 ขั้นตอน คือนำเนื้อโกโก้มาเพาะเลี้ยงเชื้อ *Salmonella* spp. และเตรียมโกโก้โดยนำเมล็ดโกโก้มาหมักและทำการเตรียมผักโขมให้น้ำไปอบ และนำพืชทั้งสองชนิดปั่นจนละเอียดพร้อมนำไปสกัด ซึ่งการสกัดมี 2 วิธี คือ สกัดแบบแช่ (Solking) และสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับ (Reflux extraction) จากนั้นนำไปตรวจสอบหาโพลีฟีนอลด้วยวิธี UV-Vis Spectrophotometer โดยวัดค่าดูดกลืน UV เพื่อนำไปหา ค่าปริมาณความเข้มข้นโพลีฟีนอล โดยสร้างกราฟเพื่อเปรียบเทียบผล จากการทดลองวัดค่าการดูดกลืน UV ที่ความยาวคลื่น 190-400 นาโนเมตร ซึ่งโพลีฟีนอลอยู่ในช่วงคลื่นที่ 280 นาโนเมตร โดยจะตรวจสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดย Disc diffusion test ซึ่งเป็นการหา Clear zone โดยเปรียบเทียบกับโพลีฟีนอลที่สกัดได้จากการสกัดแบบแช่และการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน คือ น้ำ เอทานอล 70% และเฮกเซน

จากการทดลองพบว่า ลักษณะของสารที่สกัดได้จะแตกต่างกันตามวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่ใช้สกัด โดยสารสกัดจากผักโขมด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ในตัวทำละลายน้ำ มีปริมาณความเข้มข้นของโพลีฟีนอลมากที่สุด และประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. สามารถยับยั้งได้ สารสกัดที่สามารถยับยั้งได้มาจากการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอล 70% โดยสารสกัดจากผักโขมด้วยการสกัดแบบแช่ในตัวทำละลายเอทานอล 70% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้มากที่สุด และรองลงมา คือ สารสกัดจากผักโขมด้วยการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับในตัวทำละลายน้ำ

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาโครงการเรื่องการเปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ ด้วยวิธีสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกันเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. สามารถดำเนินการไปอย่างสำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์ เนื่องจากได้รับความช่วยเหลือและการสนับสนุนจากคุณครูวิรัชดา บางแบ่ง และคุณครูภัค อินสิงห์ ในการให้คำแนะนำตลอดจนตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ จนโครงการนี้สำเร็จเรียบร้อยไปด้วยดี คณะผู้จัดทำรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างมากและขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณคุณครูภัทรภรณ์ เจริญศิลป์ ที่ได้ให้คำปรึกษาและคำแนะนำวิธีใช้อุปกรณ์และให้ความช่วยเหลือในการดำเนินโครงการ

ขอขอบคุณคุณแม่ผู้สนับสนุนค่าใช้จ่ายในการทำโครงการครั้งนี้รวมทั้งเป็นกำลังใจและให้โอกาสการศึกษาอันมีค่าอย่างยิ่ง

สุดท้ายนี้คณะผู้จัดทำขอขอบคุณเพื่อนร่วมงานทุกคนที่อำนวยความสะดวกและให้ความช่วยเหลือในการดำเนินโครงการครั้งนี้ และหวังว่าโครงการฉบับนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องและผู้สนใจในการศึกษาต่อไป

คณะผู้จัดทำ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูปภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
ที่มาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์	2
สมมติฐาน	2
ตัวแปรที่ศึกษา	2
ขอบเขตการศึกษาและการค้นคว้า	2
นิยามเชิงปฏิบัติการ	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
ผักโขม	4
เมล็ดโกโก้	4
โพลีฟีนอล	5
การสกัดสาร	6
เชื้อแบคทีเรีย <i>Salmonella</i> spp.	6
Disc diffusion test	7
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	8
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการทดลอง	
วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี	9
ขั้นตอนการดำเนินงาน	10

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
การสกัดโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้	12
ด้วยวิธีการสกัดแบบแช่และวิธีการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับ	
การเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดโพลีฟีนอล	14
จากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน	
ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของ	16
แบคทีเรีย <i>Salmonella</i> spp. ของโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้	
บทที่ 5 สรุป อภิปราย และข้อเสนอแนะ	
สรุปผลการทดลอง	19
อภิปรายผลการทดลอง	19
ข้อเสนอแนะ	20
บรรณานุกรม	21
ภาคผนวก	22

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
ตารางที่ 4.1 แสดงลักษณะโพลิฟีนอลจากการสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน	12
ตารางที่ 4.2 แสดงลักษณะของโพลิฟีนอลจากการสกัดด้วยวิธีการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน	13
ตารางที่ 4.3 แสดงค่ากราฟค่าดูดกลืนรังสี UV ของโพลิฟีนอลที่สกัดด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน	14
ตารางที่ 4.4 แสดงค่ากราฟค่าดูดกลืนรังสี UV ของโพลิฟีนอลที่สกัดด้วยวิธีการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน	15
ตารางที่ 4.5 แสดงผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย <i>Salmonella</i> spp.	16
ตารางที่ 4.6 แสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณการยับยั้งแบคทีเรีย <i>Salmonella</i> spp. ด้วยโพลิฟีนอลในตัวทำละลายน้ำ	17
ตารางที่ 4.7 แสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย <i>Salmonella</i> spp. ด้วยสารสกัดจากตัวทำละลายเอทานอล 70%	18

สารบัญรูปภาพ

ภาพ	หน้า
ภาพที่ 2.1 ผักโขม	4
ภาพที่ 2.2 เมล็ดโกโก้	5
ภาพที่ 2.3 โพลีฟินอล	5
ภาพที่ 2.4 การสกัดสารแบบแช่	6
ภาพที่ 2.5 การสกัดสารแบบร้อนแบบไหลย้อนกลับ	6
ภาพที่ 2.6 เชื้อแบคทีเรีย <i>Salmonella</i> spp.	7
ภาพที่ 2.7 Disc diffusion test	7

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

อาหารเป็นปัจจัยสี่ที่ใช้ในการดำรงชีวิต ในอาหารแต่ละชนิดจะมีสารอาหารที่แบ่งเป็น 5 หมู่ คือ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน แร่ธาตุ และวิตามิน สิ่งมีชีวิตบนโลกล้วนต้องรับประทานอาหารเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตของร่างกาย ทั้งในวัยเด็กและผู้ใหญ่ โดยคาร์โบไฮเดรต และไขมัน ให้พลังงานและความอบอุ่นกับร่างกาย ส่วนแร่ธาตุและวิตามิน ช่วยทำให้ให้กลไกการทำงานของเซลล์ต่าง ๆ ในร่างกายเป็นไปอย่างปกติ และโปรตีนที่มีส่วนช่วยเสริมสร้างการเจริญเติบโต และซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของเซลล์ต่าง ๆ ในร่างกาย โดยสารอาหารแต่ละประเภทนี้มีส่วนช่วยในสร้างสมดุลให้ร่างกาย โดยเฉพาะอาหารจำพวกโปรตีน ได้แก่ เนื้อ นม ไข่ ถั่ว ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญต่อร่างกายของมนุษย์มาก เนื้อไก่ที่มีการจัดจำหน่ายอาจมีแบคทีเรีย ซึ่งจะทำให้ผู้ที่รับประทานมีอาการเป็นไข้ ท้องเสีย ปวดเกร็ง ปวดบิด ร่วมกับคลื่นไส้ อาเจียน อาการรุนแรงอาจทำให้ผู้ที่รับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียอยู่นั้นอาจเสียชีวิตได้ ในเนื้อไก่มีแบคทีเรียที่ชื่อว่า *Salmonella* spp. อาศัยอยู่ กลุ่มนักวิจัยอังสุมา แก้วคต และคณะ ได้ตรวจพบ *Salmonella* spp. ในเนื้อไก่จากตลาดจำนวน 10 ตัวอย่างจากทั้งหมด 15 ตัวอย่างคิดเป็น 66.67% จากซุเปอร์มาร์เก็ต ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 3 ตัวอย่างจากทั้งหมด 15 ตัวอย่างคิดเป็น 20%

โพลีฟีนอล เป็นกลุ่มของสารพฤษเคมีที่มีขนาดใหญ่ที่สุดที่พบในพืชผักผลไม้ทั้งหมด มีคุณสมบัติในการต่อต้านสารอนุมูลอิสระและมีส่วนช่วยควบคุมการทำงานของร่างกายให้เป็นปกติ เนื่องจากสารประกอบในผักโขมและเมล็ดโกโก้มีมากมายหลายชนิด รวมถึงมีประโยชน์ที่หลากหลาย และสารแต่ละตัวมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันมาก แต่ในผักโขมและเมล็ดโกโก้มีโพลีฟีนอลเหมือนกัน หากต้องการสกัดโพลีฟีนอล จะมีผลดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับวิธีการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม

คณะผู้จัดทำจึงมีความสนใจในการศึกษาสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในเนื้อไก่โดยใช้โพลีฟีนอลที่สกัดได้จากผักโขมและเมล็ดโกโก้รวมถึงเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. ที่มีอยู่ในเนื้อไก่ เพื่อนำผลการเปรียบเทียบไปใช้ในการถนอมอาหาร ให้อาหารอยู่ได้นานขึ้น ไม่เน่าเสียง่าย เนื่องจากทางด้านภูมิศาสตร์ ประเทศไทยอยู่ในเขตร้อน ทำให้สภาพอากาศส่วนใหญ่มีอากาศร้อน ซึ่งแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศร้อนอีกทั้งโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยตัวทำละลายน้ำ เอทานอล 70% และเฮกเซน ซึ่งเป็นสารที่ได้มาจากธรรมชาติ

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน
2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน
3. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Salmonella* spp. จากโพลีฟีนอลที่ได้

1.3 สมมติฐาน

1. ลักษณะของสารที่สกัดได้จะแตกต่างกันตามวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่ใช้สกัด
2. วิธีการสกัดผักโขม วิธีการสกัดแบบแช่ ด้วยตัวทำละลายน้ำ มีปริมาณความเข้มข้นของโพลีฟีนอลมากที่สุด
3. สารสกัดจากผักโขมด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 70% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้มากที่สุด

1.4 ตัวแปรที่ศึกษา

- ตัวแปรต้น : วิธีการสกัด น้ำ เอทานอล 70% และเฮกเซน
- ตัวแปรตาม : ปริมาณค่าดูดกลืน UV ของโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้
ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp.
- ตัวแปรควบคุม : ผักโขม เมล็ดโกโก้ เวลาที่ใช้ในการสกัด

1.5 ขอบเขตการศึกษาค้นคว้า

- เนื้อหา : โพลีฟีนอล วิธีการสกัดแบบแช่ และแบบร้อนไหลย้อนกลับ น้ำ เอทานอล 70% และเฮกเซน การยับยั้งแบคทีเรีย *Salmonella* spp.
- สถานที่ : โรงเรียนอุทัยวิทยาคม
- ระยะเวลา : ตั้งแต่เดือนกันยายน พ.ศ.2566 ถึง เดือนสิงหาคม พ.ศ.2567

1.6 นิยามเชิงปฏิบัติการ

1. โพลีฟีนอล คือ กลุ่มของสารพฤษเคมีที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในบรรดากลุ่มของสารพฤษเคมีที่พบในพืชผักผลไม้ทั้งหมด สารในกลุ่ม โพลีฟีนอล ทุกตัวนั้นจะมีคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระ (Anti-oxidant) และมีส่วนช่วยควบคุมการทำงานต่างๆ ในร่างกายให้เป็นปกติ

2. *Salmonella* spp. คือ เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิร่างกายของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น อุณหภูมิที่เจริญได้คือ 5.2 - 54 องศาเซลเซียส

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โครงการเรื่องการเปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกันเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. คณะผู้จัดทำได้ศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

2.1 ผักโขม (Spinach)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Amaranthus viridis* L.

วงศ์ : Amaranthaceae

ผักโขมเป็นผักที่ขึ้นได้ทั่วไปตามแหล่งธรรมชาติ เช่น ริมทาง ป่าละเมาะ ป่ากร้าง สวนผัก เป็นต้น ขึ้นมากในฤดูฝน เป็นพืชล้มลุก ต้นสีเขียวตรง แตกกิ่งก้านสาขามาก ใบเดี่ยวรูปไข่คล้ายโล่ กว้าง 0.02-0.08 เมตร ยาว 0.03-0.1 เมตร ขอบใบเรียบ สายพันธุ์ที่นิยมนำมารับประทานเป็นอาหาร ได้แก่ ผักโขมสวน ผักโขมหัด ผักโขมหาม เป็นต้น มีกรดอะมิโน วิตามิน และแร่ธาตุ ผักโขมมีปริมาณของสารออกซาเลต (Oxalate) ค่อนข้างสูง



ภาพที่ 2.1 ผักโขม

ที่มา : <https://www.tops.co.th/th/my-choice-spinach-special>

2.2 เมล็ดโกโก้ (Cacao)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Theobroma cacao* L.

วงศ์ : Sterculiaceae

โกโก้เป็นพืชขนาดเล็ก สูง 3-10 เมตร ผลโกโก้เป็นรูปไข่ขนาดใหญ่ ยาว 0.2 – 0.25 เมตร กว้าง 0.1 เมตร แห้งแล้วไม่แตกส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์เพื่อเป็นวัตถุดิบในการแปรรูป คือ เมล็ดในผล ซึ่งนำมาผ่านกระบวนการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ เช่น โกโก้ผง เนยโกโก้ เนือโกโก้ ช็อกโกแลต เป็นต้น โกโก้เป็นแหล่งสำคัญของโพลีฟีนอล ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ



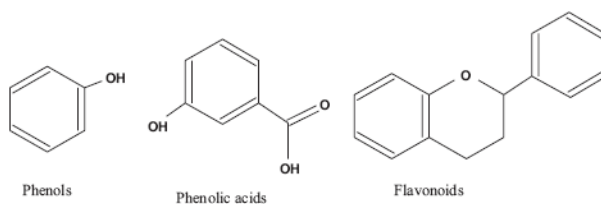
ภาพที่ 2.2 เมล็ดโกโก้

ที่มา : <https://bromsupersnack.com/?p=410>

2.3 โพลีฟีนอล (Polyphenols)

โพลีฟีนอล คือ เป็นสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนแอโรแมติกที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลรวมอยู่ในโมเลกุล ตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป เป็นกลุ่มของสารพฤกษเคมีที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ในบรรดากลุ่มของสารพฤกษเคมีที่พบในพืชผักผลไม้ทั้งหมด มีคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ ช่วยควบคุมการทำงานต่าง ๆ ในร่างกายและช่วยพืชดูดซับแสงแดดที่จำเป็นต้องใช้ เพื่อเติบโตและปกป้องพืชจากโรค แบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ เช่น

- ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของเซลล์ในร่างกาย หาได้จาก การผักเคล ชา ช็อกโกแลต และอาหารเสริม
- กรดฟีนอลิก (Phenolic Acids) เช่น สารลิกแนน (Lignans) มีคุณสมบัติต้านการอักเสบ
- โพลีฟีนอลิก เอไมด์ (Polyphenolic Amides) เช่น แคปไซซินอยด์ (Capsaicinoids) ซึ่งเป็นสารให้รสเผ็ดร้อน และอะเวนันทรามาไมด์ (Avenanthramides) ช่วยลดคอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบโพลีฟีนอล

ที่มา : <https://www.foodnetworksolution.com/word/2585/>

2.4 การสกัดสาร

2.4.1 การสกัดแบบแช่ (Soaking)

การสกัดเย็น คือ การแยกส่วนของน้ำมันออกมาจากส่วนของพืชโดยการบีบอัดที่อุณหภูมิปกติ โดยพืชที่นำมาสกัดเย็นจะต้องไม่ผ่านความร้อนหรือสารเคมี ตั้งทิ้งไว้จนตกตะกอน จากนั้นจึงกรอง

เอาเฉพาะส่วนของน้ำมันที่บริสุทธิ์มาใช้ น้ำมันที่ได้ยังคงสภาพวิตามินต่าง ๆ ตามธรรมชาติไว้อย่างครบถ้วน



ภาพที่ 2.4 การสกัดแบบแช่โดยใช้กรวยแยกสาร

ที่มา : <https://www.scimath.org/lesson-chemistry/item/>

2.4.2 การสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับ (Reflux extraction)

การสกัดแบบไหลย้อนกลับ คือ ใช้ในการสกัดสารสำคัญออกจากสมุนไพรโดยแช่ด้วยแอลกอฮอล์ เฮกเซน หรือน้ำ และให้ความร้อนเพื่อทำการละลาย สารจะถูกต้มจนเดือดระเหยขึ้นไวด้านบน แล้วจะถูกควบแน่นด้วยคอนเดนเซอร์กลับลงมาทำละลายหมุนเวียนต่อเนื่อง

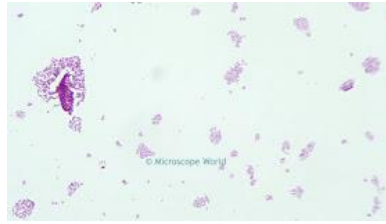


ภาพที่ 2.5 ชุดกลั่นน้ำมันหอมระเหย

ที่มา : <https://www.wallerchem.com/product/>

2.6 เชื้อแบคทีเรีย *Salmonella* spp.

พบตามธรรมชาติในสภาพแวดล้อมและในสัตว์ที่เลี้ยงเป็นอาหารของมนุษย์ รวมทั้งสุนัข แมว หนู และสัตว์เลื้อยคลาน แบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดโรค Salmonellosis ทำให้เกิดปัญหาสุขภาพของผู้บริโภคและเสียชีวิตได้ มีลักษณะของเชื้อมีรูปร่างเป็นท่อน เคลื่อนที่โดยใช้ flagelis ที่อยู่รอบเซลล์ ขนาดประมาณ 0.7-1.5 ไมโครเมตร ยาว 2.0-5.0 ไมโครเมตร อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญ คือ 37 องศาเซลเซียส จะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 55-100 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย



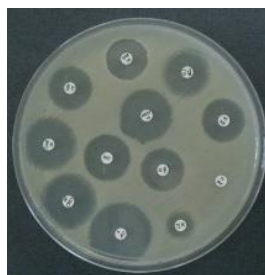
ภาพที่ 2.6 *Salmonella* spp.

ที่มา : <https://blog.microscopeworld.com/2015/08/salmonella>

ก่อให้เกิดพิษต่อระบบทางเดินอาหาร ได้รับเชื้อเข้าไปจะทำให้เกิดโรค เกิดอาการภายใน 8-48 ชั่วโมง มีอาการเป็นไข้ ปวดบิดในท้อง คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง นาน 1-8 วัน ในรายที่รุนแรงอาจติดเชื้อเข้าไปในกระแสเลือด เยื่อหุ้มสมอง ถึงแก่ชีวิต เมื่อรักษาหายแล้วผู้ป่วยจะเป็นพาหะนำโรค และสามารถแพร่โรคสู่คนอื่นได้

2.7 Disc diffusion test

เป็นวิธีที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็วรวมทั้งสามารถให้ผลที่แน่นอนและถูกต้อง วิธีการทดสอบนี้ใช้หลักการแพร่ โดยนำสารที่ต้องการทดสอบหยดลงบนกระดาษกรอง (filter paper disc) แล้วนำไปวางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้เพาะเลี้ยงเชื้อไว้ สารทดสอบดังกล่าวจะแพร่จากกระดาษกรองไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเข้มข้นของสารทดสอบจะลดลงตามระยะทาง เชื้อจุลินทรีย์บนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ถูกยับยั้ง จะเจริญและเพิ่มจำนวนจนเห็นชัด โดยบริเวณใกล้กระดาษกรองซึ่งมีความเข้มข้นของสารทดสอบมากพอจะยับยั้งเชื้อได้ เห็นเป็นบริเวณใส (Clear zone) เกิดขึ้น เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส แสดงถึงความสามารถของสารทดสอบว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้มากน้อยเพียงใด



ภาพที่ 2.7 การทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion test

ที่มา : <https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology>

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สัมพันธ์ สร้อยกล่อม (2557) งานวิจัยนี้ศึกษาปริมาณสารโพลีฟีนอลและประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ในใบสดและใบอบแห้งของผักโขม 5 ชนิดคือ ผักโขมแดง ผักโขมแก้ว ผักโขมจีน ผักโขมขาว และผักโขมไทย เปรียบเทียบวิธีการสกัด 2 วิธีคือ การสกัดร้อนแบบไพลและการสกัดเย็นแบบแช่ วิเคราะห์ปริมาณโพลีฟีนอลด้วยวิธี Folin-Ciocalteu's phenol reagent และประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS assay) พบว่าผักโขมขาวอบแห้งสกัดร้อนมีปริมาณโพลีฟีนอลสูงที่สุดเท่ากับ 131.0 mg/L GAE และผักโขมจีนสดสกัดเย็น มีปริมาณโพลีฟีนอลน้อยที่สุดคือ 69.59 mg/L GAE ผักโขมขาวสดสกัดร้อนและผักโขมไทยแห้งสกัดเย็นมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด และน้อยที่สุดตามลำดับ โดยมีค่าการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 0.631 mM GAE และ 0.168 mM GAE ตามลำดับ ทั้งนี้ตัวอย่างพืชสดและแห้งมีผลต่อปริมาณโพลีฟีนอลและสารต้านอนุมูลอิสระ

วนิดา ชื่นชื่น (2563) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลการยับยั้งของสารสกัดจากชา 4 ชนิด คือ ชาขาว ชาเขียว ชาดำ และชาอู่หลง ต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae* และ *Pseudomonas aeruginosa* ด้วยวิธี agar well diffusion technique ผลการทดลองพบว่า สารสกัดชาขาว ยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. flexneri* และ *S. typhi* ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ ชาอู่หลงและชาเขียว ในระดับความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากัน ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง บริเวณยับยั้งของสารสกัดชาขาว ต่อการเจริญของ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. flexneri* และ *S. typhi* มีค่าเท่ากับ 31.50- 0.50, 15.50+0.50, 13.58+0.38 และ 11.58:0.38 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดชาอู่หลงมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 27.33-0.57, 12:33+0.28, 10:83+0.28 และ 6.33:0.57 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดชาเขียว มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 23.67±125, 11.67:0.76, 9.50+0.50 และ 5.17-0.28 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดชาดำไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เลย นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดชาทั้ง 4 ชนิดไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ได้ การศึกษาครั้งนี้จึงสนับสนุนแนวคิดในการค้นคว้าพัฒนาการใช้สารสกัดจากชาขาว ชาอู่หลง และชาเขียว เพื่อใช้ในการป้องกันและรักษาโรคในระบบทางเดินอาหาร

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

โครงการเรื่องการเปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกันเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการสกัดโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันเพื่อเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน และเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Salmonella* spp. จากโพลีฟีนอลที่ได้ คณะผู้จัดทำมีวิธีการดำเนินการตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.1 วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัสดุอุปกรณ์

- | | |
|------------------------------|---|
| 1) กรวยแยกสาร | 7) ภาชนะใส่สารตัวอย่าง (คิเวท) |
| 2) ตู้อบความร้อน | 8) เชื้อ <i>Salmonella</i> spp. ในอาหารเหลว |
| 3) ชุดสกัดน้ำมันหอมระเหย | 9) อาหารเลี้ยงเชื้อ NA |
| 4) เตาหลุมให้ความร้อน | 10) กระดาษกรอง |
| 5) ชุดฐานตั้งหลักพร้อมที่จับ | 11) ตู้บ่มเชื้อ |
| 6) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ | |

3.1.2 สารเคมี

- 1) น้ำ (Water)
- 2) เอทานอล 70% (Ethanol 70%)
- 3) เฮกเซน (Hexane)

3.1.3 พืช

- 1) ผักโขม
- 2) เมล็ดโกโก้

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

ตอนที่ 1 เพื่อศึกษาวิธีการสกัดโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

1. การเตรียมตัวอย่างผักโขม

1.1 อบผักโขมในเครื่องอบลมร้อน ให้ความร้อน 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา

3 ชั่วโมง

1.2 ปั่นผักโขมที่แห้งให้ละเอียดในเครื่องปั่น

2. การเตรียมตัวอย่างเมล็ดโกโก้

2.1 นำใบตองวางในภาชนะ วางให้ค่อนข้างหนาโดยไม่ต้องชิดฝั่งท้องใบ (เนื่องจากท้องใบตองมีน้ำตาลที่ช่วยให้เกิดปฏิกิริยาการหมัก) ล้างผลโกโก้ให้สะอาดและทำความสะอาดอุปกรณ์ ใส่ถุงมือขณะปฏิบัติ

2.2 หั่นผลโกโก้และนำเมล็ดโกโก้ออกมาวางบนใบตองที่วางไว้ นำเมล็ดโกโก้โดยไม่ให้ส่วนแกนกลางของเมล็ดโกโก้ติดออกมาด้วย

2.3 ห่อใบตองปิดเมล็ดโกโก้ให้สนิท และใช้เชือกมัดห่อใบตองข้างนอกให้แน่นและไม่ให้อากาศเข้าได้ เจาะรูข้างล่างห่อเพื่อให้ น้ำจากการหมักไหลออกทิ้งไว้ 3 วัน จากนั้นนำเมล็ดโกโก้ออกมาหมักแบบให้มีอากาศเข้าหมักต่ออีก 4 วัน

2.4 นำเมล็ดที่หมักมาวางตากแดดอีก 5-7 วัน และนำมาคั่วให้เมล็ดไม่มีกลิ่นหมักและแกะเปลือกเมล็ดโกโก้ ปั่นจนละเอียด

3. การสกัดโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้

3.1 การสกัดโดยวิธีการสกัดแบบแช่

1) นำผักโขมแห้งที่บดละเอียดซึ่ง 2.45 กรัม นำเอทานอล 70% (v/v) ในอัตราส่วนตัวอย่างพืชต่อเอทานอล 1:30 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) ผสมผักโขมกับเอทานอล จากนั้นเทใส่กรวยแยกสาร เขย่ากรวยแยกสารในแนวนอนประมาณ 30 รอบ จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็น 6 ชั่วโมง

2) เปิดกรวยแยกสารเพื่อให้สารไหลลงในขวดรูปชมพู่โดยผ่านกรวยกรองและกระดาษกรองสาร จากนั้นทำซ้ำทั้งหมดแต่เปลี่ยนพืชเป็นเมล็ดโกโก้

3) ทำซ้ำข้อ 1-2 โดยเปลี่ยนตัวทำละลายเป็นเฮกเซน และน้ำ

3.2 การสกัดสารด้วยวิธีสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับ

1) นำผักโขมแห้งที่บดละเอียดซึ่ง 2.45 กรัม นำเอทานอล 70% (v/v) ในอัตราส่วนตัวอย่างพืชต่อเอทานอล 1:30 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) ผสมผักโขมกับเอทานอล จากนั้นเทใส่ขวดก้นกลม เริ่มสกัดด้วยชุดสกัดน้ำมันหอมระเหย ให้ความร้อนระดับ 5 แก่สารตัวอย่างเพื่อให้ไอสารละลายควบแน่นแล้วย้อนกลับลงมาใหม่แล้วให้ความร้อนไปเรื่อย ๆ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

2) เปิดอุปกรณ์สกัดให้สารไหลลงในขวดรูปชมพู่ จากนั้นทำซ้ำแต่เปลี่ยนพืชเป็นเมล็ดโกโก้

3) ทำซ้ำข้อ 1-2 โดยเปลี่ยนตัวทำละลายเป็นเฮกเซน และน้ำ

ตอนที่ 2 เพื่อเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นโพลิฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

1. การตรวจสอบหาโพลิฟีนอลโดยกระบวนการ UV-Vis Spectrophotometer

1.1 เตรียมเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

1.2 ใช้หลอดหยดสารใส่สารสกัดโพลิฟีนอลที่ได้ลงในภาชนะใส่สารตัวอย่าง

1.3 ใส่ภาชนะตัวอย่างลงในเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์จากนั้นตั้งค่าตรวจสอบความยาวคลื่นที่ 190 – 400 นาโนเมตร จากนั้นสังเกตผลจากกราฟที่แสดงจุดพีกของโพลิฟีนอล ซึ่งทราบได้โดยสังเกตช่วงความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

1.4 บันทึกข้อมูลกราฟทุกกราฟหลังตรวจเสร็จ นำข้อมูลมาพลอตกราฟและเปรียบเทียบกราฟของโพลิฟีนอลที่ได้

ตอนที่ 3 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Salmonella* spp. ของโพลิฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้

1. เตรียมเชื้อ *Salmonella* spp. เชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างเนื้อไก่

2. ตรวจสอบยืนยันเชื้อ *Salmonella* spp. โดยวิธีการตรวจย้อมเชื้อ (smear and stain)

3. นำเชื้อ *Salmonella* spp. มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการ cross streak plate

4. ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* spp. ด้วยวิธี Disc diffusion test

4.1 ใช้คัตเตอร์ตัดจุ่มอาหารเหลว นำมาทำให้ทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ NA จากนั้นนำกระดาษกรองไปชุบกับสารที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีสกัดแบบแช่และวิธีสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

4.2 สังเกตดู Clear zone ที่เกิดขึ้น วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Clear zone นำมาคำนวณและบันทึกผล

บทที่ 4

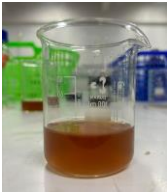
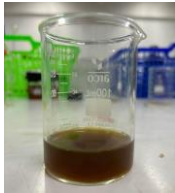
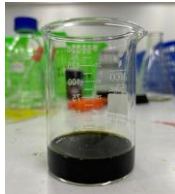
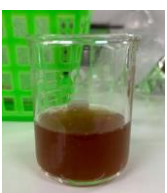
ผลการทดลอง

โครงการเรื่องการเปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกันเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. คณะผู้จัดทำได้ดำเนินการตามขั้นตอน มีผลการทดลองดังนี้

4.1 การสกัดโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีการสกัดแบบแช่และวิธีการสกัดร่อนแบบไหลย้อนกลับ

4.1.1 การเปรียบเทียบลักษณะของสารที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบแช่

ตารางที่ 4.1 แสดงลักษณะของสารจากการสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

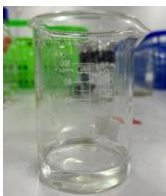
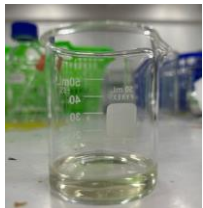
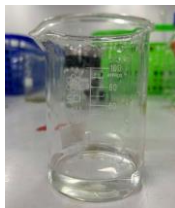
ตัวทำละลาย	ลักษณะของสาร			
	เมล็ดโกโก้		ผักโขม	
	ภาพการทดลอง	คำอธิบาย	ภาพการทดลอง	คำอธิบาย
น้ำ		สีน้ำตาล มีความขุ่นเล็กน้อย มีกลิ่นโกโก้ชัดเจน		สีเขียวแก่ มีความขุ่นเล็กน้อย มีกลิ่นผักโขมชัดเจน
เอทานอล70%		มีน้ำตาลเข้ม มีกลิ่นโกโก้มาก ผสมกับเอทานอลที่มีกลิ่นเล็กน้อย		สีเขียวเข้ม มีกลิ่นผักโขมมาก ผสมกับเอทานอลที่มีกลิ่นเล็กน้อย
เฮกเซน		สีน้ำตาล มีกลิ่นโกโก้เล็กน้อย ไม่มีกลิ่นเฮกเซน		สีเขียว มีกลิ่นเฮกเซนมาก กลบกลิ่นของผักโขม

จากตารางที่ 4.1 พบว่าหลังจากการสกัดโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ลักษณะของสารจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ลักษณะของสารที่สกัดด้วยน้ำ จากผักโขมจะมีสีเขียวแก่ จากเมล็ดโกโก้จะมีสีน้ำตาลและกลิ่นของผักโขมและโกโก้ชัดเจน โพลีฟีนอลที่สกัดด้วยเอทานอล70% จากผักโขมที่มีสีเขียวเข้ม จาก

เมล็ดโกโก้จะเป็นสีน้ำตาลเข้ม และมีกลิ่นของเอทานอลน้อยเหมือนกัน และสารที่สกัดด้วยเฮกเซนจากผักโขมจะมีสีเขียว มีกลิ่นของเฮกเซนมากกว่ากลิ่นของผักโขมจนหมดและจากเมล็ดโกโก้จะเป็นสีน้ำตาลมีกลิ่นโกโก้เล็กน้อยกลิ่นไม่มีกลิ่นเฮกเซน

4.1.2 การเปรียบเทียบลักษณะของสารที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับ

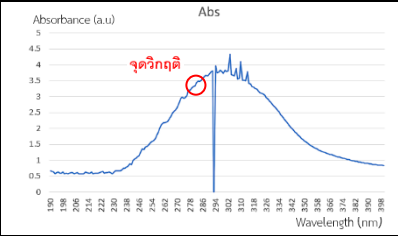
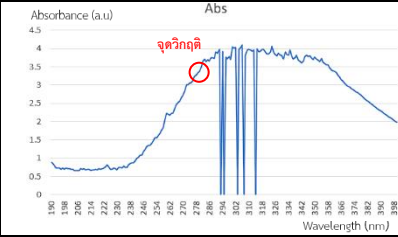
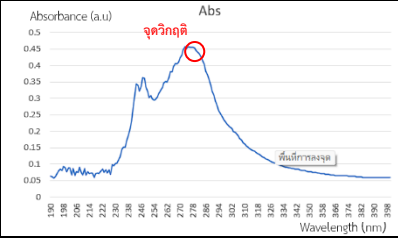
ตารางที่ 4.2 แสดงลักษณะของสารจากการสกัดด้วยวิธีการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

ตัวทำละลาย	ลักษณะของสาร			
	เมล็ดโกโก้		ผักโขม	
	ภาพการทดลอง	คำอธิบาย	ภาพการทดลอง	คำอธิบาย
น้ำ		ใสไม่มีสี มีกลิ่นโกโก้เล็กน้อย		ใสไม่มีสี มีกลิ่น ผักโขมเล็กน้อย
เอทานอล70%		สีอมเหลืองเล็กน้อย มีกลิ่นโกโก้เล็กน้อย ผสมกับเอทานอลมี กลิ่นฉุนมาก		ใสไม่มีสี มีกลิ่น ผักโขมผสมกับ เอทานอลมีกลิ่นฉุน เล็กน้อย
เฮกเซน		ใสไม่มีสี มีกลิ่น โกโก้ผสมกับ เฮกเซนเล็กน้อย		ใสไม่มีสี มีกลิ่นผัก โขมเล็กน้อยผสม กับกลิ่นเฮกเซนมาก

จากตารางที่ 4.2 พบว่าหลังจากการสกัดโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ลักษณะของสารที่สกัดได้จากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ลักษณะของสารที่สกัดด้วยน้ำจะใสไม่มีสีเหมือนกันและมีกลิ่นสารที่สกัดด้วยเอทานอล70% จากผักโขมใสไม่มีสีและมีกลิ่นฉุนของเอทานอลน้อยต่างจากเมล็ดโกโก้จะเป็นสีอมเหลืองกลิ่นฉุนของเอทานอลมาก และสารที่สกัดด้วยเฮกเซนจากผักโขมจะใสไม่มีสีและมีกลิ่นของเฮกเซนมาก จากเมล็ดโกโก้จะใสไม่มีสีมีกลิ่นของเฮกเซนเล็กน้อย

4.2 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของโพลิฟินอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

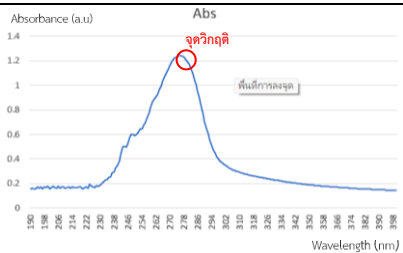
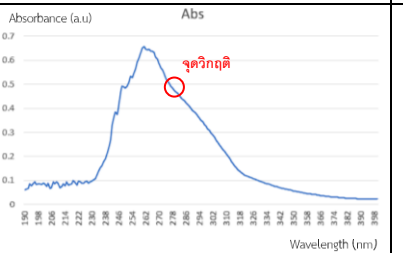
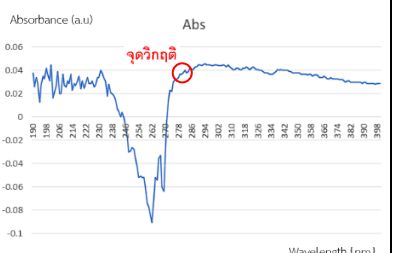
4.2.1 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของโพลิฟินอลที่ได้ในการสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบแช่
ตารางที่ 4.3 แสดงค่ากราฟค่าดูดกลืนรังสี UV ของโพลิฟินอลที่สกัดด้วยวิธีการสกัดแบบแช่
ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

ตัวทำ ละลาย	ลักษณะโพลิฟินอล		ค่าการดูดกลืนแสง ($\text{dm}^3 \text{cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	
	เมล็ดโกโก้	ผักโขม	เมล็ด โกโก้	ผักโขม
น้ำ			3.3	4.1
เอทานอล 70%			3.3	3.4
เฮกเซน			0.45	0.038

จากตารางที่ 4.3 พบว่าค่าดูดกลืนรังสี UV สูงสุดในช่วงคลื่น 280 nm. คือ สารสกัดจากตัว
ทำละลายน้ำที่สกัดจากผักโขม มีค่าดูดกลืนรังสี UV คือ $4.1 \text{ dm}^3 \text{cm}^{-1} \text{g}^{-1}$. ทราบจากการสังเกต
กราฟจะมีจุดวิกฤติที่สูงกว่า การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 70% และเฮกเซน

4.2.2 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของโพลิฟีนอลที่ได้ในการสกัดด้วยวิธีการสกัดร้อนแบบไพล์ย้อนกลับ

ตารางที่ 4.4 แสดงค่ากราฟค่าดูดกลืนรังสี UV ของโพลิฟีนอลจากวิธีการสกัดร้อนแบบไพล์ย้อนกลับในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

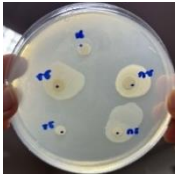
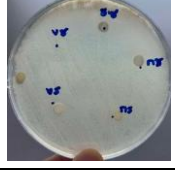
ตัวทำ ละลาย	ลักษณะโพลิฟีนอล		ค่าการดูดกลืนแสง ($\text{dm}^3 \text{cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	
	เมล็ดโกโก้	ผักโขม	เมล็ด โกโก้	ผักโขม
น้ำ			1.2	0.48
เอทานอล 70%			2.7	0.043
เฮกเซน			0.15	0.038

จากตารางที่ 4.4 พบว่าค่าดูดกลืนรังสี UV สูงสุดในช่วงคลื่น 280 nm. คือ การสกัดจากตัวทำละลายเอทานอล 70% ที่สกัดจากเมล็ดโกโก้ มีค่าดูดกลืนรังสี UV คือ $2.7 \text{ dm}^3 \text{cm}^{-1} \text{g}^{-1}$. ทราบจากการสังเกตกราฟ จะมีจุดวิกฤติที่สูงกว่า การสกัดด้วยตัวทำละลายที่เป็นเอทานอล 70% และเฮกเซน

4.3 ผลการเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. ของโพลิฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้

4.3.1 การเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. ของโพลิฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้

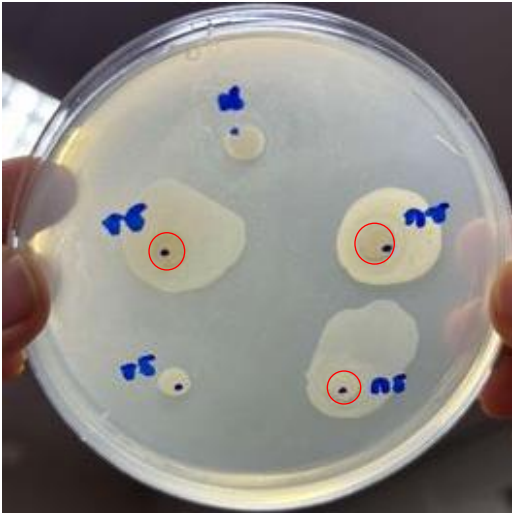
ตารางที่ 4.5 แสดงผลการเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp.

ตัวทำละลาย	ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย <i>Salmonella</i> spp.	
	ภาพการทดลอง	คำอธิบาย
น้ำ		การสกัดแบบแช่จากผักโขมและเมล็ดโกโก้เกิด Clear zone ส่วนการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับผักจากเมล็ดโกโก้เกิด Clear zone แต่จากผักโขมไม่เกิด Clear zone
เอทานอล70%		การสกัดแบบแช่และการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับจากผักโขมและเมล็ดโกโก้เกิด Clear zone
เฮกเซน		สารสกัดที่ทดสอบทั้งหมดไม่เกิด Clear zone

จากตารางที่ 4.5 พบว่าสารสกัดที่สามารถทำให้เกิด Clear zone ได้นั้นสกัดได้จากตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ น้ำ และเอทานอล70% แต่สารสกัดในตัวทำละลายเฮกเซนนั้นไม่สามารถทำให้เกิด Clear zone

4.3.2 การเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. ด้วยสารสกัดในตัวอย่างละลายน้ำ

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณการยับยั้งแบคทีเรีย *Salmonella* spp. ด้วยโพลิฟีนอลในตัวอย่างละลายน้ำ

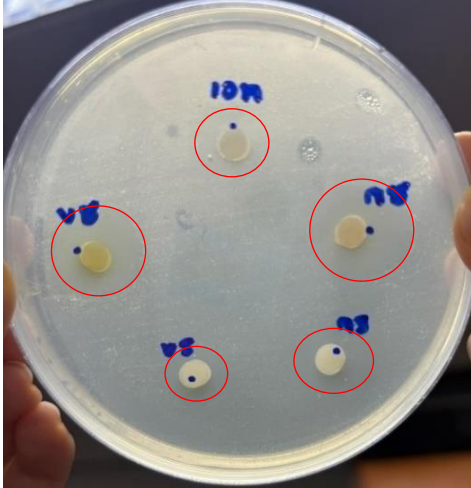
สารทดสอบ	บันทึกการเกิดบริเวณยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย <i>Salmonella</i> spp.	
	รูปภาพ	ค่าเฉลี่ย Inhibition zone $\pm$ SD (mm.) เส้นผ่านศูนย์กลาง
น้ำ (control)		NA
เมล็ดโกโก้ + สกัดแบบแช่		0.70 ± 0.10
ผักโขม + สกัดแบบแช่		0.75 ± 0.05
เมล็ดโกโก้ + สกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับ		0.53 ± 0.06
ผักโขม + สกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับ		NA

จากตาราง 4.6 พบว่าขนาดของ Clear zone โดยทราบจากรัศมี สารสกัดผักโขมด้วยการสกัดแบบแช่มีประสิทธิภาพมากที่สุด มีขนาด 0.75 ± 0.05 mm. รองลงมาคือ สารสกัดเมล็ดโกโก้ด้วยการสกัดแบบแช่ มีขนาด 0.70 ± 0.10 mm. สารสกัดเมล็ดโกโก้ด้วยการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับ มีขนาด 0.53 ± 0.06 mm. ส่วนน้ำและสารสกัดผักโขมด้วยการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับไม่เกิด Clear zone

หมายเหตุ : NA = No activity

4.3.3 การเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. ด้วยสารสกัดจากตัวทำละลายเอทานอล70%

ตารางที่ 4.7 แสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella* spp. ด้วยสารสกัดจากตัวทำละลายเอทานอล70%

สารทดสอบ	บันทึกการเกิดบริเวณยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย <i>Salmonella</i> spp.	
	รูปภาพ	ค่าเฉลี่ย Inhibition zone $\pm$ SD (mm.) เส้นผ่านศูนย์กลาง
เอทานอล70% (control)		1.16 ± 0.11
เมล็ดโกโก้ + สกัดแบบแช่		1.80 ± 0.20
ผักโขม + สกัดแบบแช่		1.85 ± 0.05
เมล็ดโกโก้ + สกัดร้อนแบบ ไหลย้อนกลับ		1.60 ± 0.17
ผักโขม + สกัดร้อนแบบไหล ย้อนกลับ		1.18 ± 0.07

จากตาราง 4.7 พบว่าขนาดของ Clear zone โดยทราบจากรัศมี สารสกัดผักโขมด้วยการสกัดแบบแช่มีประสิทธิภาพมากที่สุด มีขนาด 1.85 ± 0.05 mm. รองลงมา คือ สารสกัดเมล็ดโกโก้ด้วยการสกัดแบบแช่ มีขนาด 1.80 ± 0.20 mm. สารสกัดเมล็ดโกโก้ด้วยการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับ มีขนาด 1.60 ± 0.17 mm. สารสกัดผักโขมด้วยการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับ มีขนาด 1.18 ± 0.07 mm. และเอทานอล70% มีขนาด 1.16 ± 0.11 mm. ตามลำดับ

จากการทดสอบพบว่า ขนาดของ Clear zone โดยทราบจากรัศมี สารสกัดจากตัวทำละลายทั้งสองชนิด จากตัวทำละลายเอทานอลจะพบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งได้หลายสารสกัดและยังมีขนาดโดยเฉลี่ยที่มากกว่าสารสกัดจากตัวทำละลายน้ำ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเอทานอล70% เป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

โครงการเรื่องการเปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกันเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. สามารถสรุปและอภิปรายผลดังนี้

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 จากการศึกษาศักยภาพการสกัดโพลีฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ ด้วยวิธีการสกัดแบบแช่และวิธีการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำ เอทานอล 70% และเฮกเซน สามารถสกัดโพลีฟีนอลที่เป็นของเหลวออกมาได้ โดยลักษณะของโพลีฟีนอลที่สกัดได้จะแตกต่างกันตามวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่ใช้สกัด

5.1.2 จากการตรวจสอบหาปริมาณความเข้มข้นของโพลีฟีนอลที่ได้ โดยดูจากกราฟค่าดูดกลืนรังสี UV ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer สรุปได้ว่า สารสกัดจากผักโขมด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ในตัวทำละลายน้ำ มีปริมาณความเข้มข้นของโพลีฟีนอลมากที่สุด

5.1.3 จากผลการเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. โดยดูได้จากขนาด Clear zone ซึ่งสรุปได้ว่าโพลีฟีนอลสกัดที่สามารถยับยั้งได้มาจากการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอล 70% โดยโพลีฟีนอลจากผักโขมด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ในตัวทำละลายเอทานอล 70% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้มากที่สุด และรองลงมาคือ สารสกัดจากผักโขมด้วยวิธีการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับด้วยตัวทำละลายน้ำ

5.2 อภิปรายผล

5.2.1 จากการสกัดโพลีฟีนอล โดยวิธีการสกัดแบบแช่และวิธีการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับ โดยสกัดในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำ เอทานอล 70% และเฮกเซน โดยโพลีฟีนอลที่ได้จะมีลักษณะเป็นของเหลว มีกลิ่นแตกต่างกันไปตามตัวทำละลาย ซึ่งลักษณะของสารที่ได้ก็จะแตกต่างกันไปตามวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่ใช้ โดยการเลือกตัวทำละลายจากสมบัติการมีสภาพขั้วของสารแต่ละชนิด จากวิจัยของ อิศระวัฒน์ ฤทธนพงศธร และคณะ (2556: หน้า 898) กล่าวว่า โพลีฟีนอลเป็นสารที่ค่อนข้างมีสภาพขั้วสูง เนื่องจากมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

5.2.2 ผลการเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นของโพลีฟีนอลจากสารที่สกัดจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ที่สกัดด้วยวิธีและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน สามารถสรุปได้ว่า โพลีฟีนอลจากผักโขมด้วย

วิธีการสกัดแบบแช่ในตัวทำละลายน้ำ มีความเข้มข้นสูงที่สุด เนื่องจากมีค่าการดูดกลืน UV มากที่สุด ตามกฎของ Bouguer–Lambert–Beer การดูดกลืนแสงของสารจะแปรผันตามความเข้มข้นในตัวทำละลายที่กำหนด

และเป็นไปตามบทความเรื่อง กระบวนการเกิดสารละลาย ของ <https://il.mahidol.ac.th/> กล่าวว่า การที่ตัวถูกละลายจะละลายในตัวทำละลาย สารทั้งสองชนิดต้องมีสมบัติเหมือนกัน ตามกฎ like dissolves like ก็คือ ตัวถูกละลายที่มีสภาพขั้วจะละลายในตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วเหมือนกัน ซึ่งตัวทำละลายน้ำและโพลิฟีนอลมีสภาพขั้วสูงเหมือนกัน ส่วนเอทานอลมีสภาพขั้วกลาง และเฮกเซนไม่มีสภาพขั้ว

5.2.3 ผลการเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Salmonella* spp. โดยนำไปทดสอบเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพด้วยวิธี Disc diffusion test จากการศึกษาค้นคว้า ผักโขมและเมล็ดโกโก้สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ คือ มีสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารกลุ่มย่อยของโพลิฟีนอล จากบทความเรื่อง โพลิฟีนอล สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่ดีต่อสุขภาพ ของ Pobpad กล่าวว่า โพลิฟีนอลมีคุณสมบัติในการช่วยกำจัดแบคทีเรีย *E. coli* และ *Salmonella* spp.

จากการตรวจสอบปริมาณความเข้มข้นของโพลิฟีนอลด้วยกราฟค่าดูดกลืนรังสี UV และการตรวจสอบด้วยวิธี disc diffusion test เพื่อหา Clear zone ได้ผลลัพธ์ที่ไม่สัมพันธ์กันจากกราฟค่าดูดกลืนรังสี UV ผักโขมที่สกัดด้วยวิธีสกัดแบบแช่ในตัวทำละลายน้ำมีความเข้มข้นของโพลิฟีนอลมากที่สุด แต่การตรวจสอบด้วย Clear zone พบว่าโพลิฟีนอลจากผักโขมด้วยการสกัดร้อนแบบไหลย้อนกลับในตัวทำละลายเอทานอล 70% ดีที่สุด มีตัวแปรที่สำคัญหลายประการได้แก่ น้ำที่ใช้เป็นสารที่มีแร่ธาตุเจือปนอาจจะทำมีสารอื่นประกอบซึ่งทำให้ Clear zone ไม่เกิดตามความเข้มข้นของโพลิฟีนอล และ โพลิฟีนอลที่สกัดได้อาจมีหลายโครงสร้างทำให้การยับยั้งมีคุณสมบัติไม่เท่ากัน การที่ตัวทำละลายน้ำและเอทานอล 70% สามารถยับยั้งได้เพราะแต่เฮกเซนไม่มีขั้วจึงดึงสารโพลิฟีนอลออกมาได้น้อยมากทำให้การยับยั้งมีประสิทธิภาพไม่ดี

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ศึกษาเกี่ยวกับการสกัดโพลิฟีนอลด้วยวิธีการอื่นๆให้มีความหลากหลาย

5.3.1 สามารถนำข้อมูลเกี่ยวกับการสกัดโพลิฟีนอลไปต่อยอดเกี่ยวกับการทำงานด้านชีวภาพได้

บรรณานุกรม

- บุษยมาส รัตนดอน และคณะ. (2561). การวิเคราะห์ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากผักเพกา. สืบค้นเมื่อ 11 กันยายน 2566, จาก <http://research.rmu.ac.th/rdi-mis//upload/fullreport/1632636652.pdf>
- ปิยะดา พันธุ์สระน้อย. (2561). ปริมาณฟีนอลรวมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของส่วนสกัดจากโสน. สืบค้นเมื่อ 11 กันยายน 2566, จาก <http://www.thapra.lib.su.ac.th/objects/thesis/fulltext/snamcn/Fulltext.pdf>
- สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์. (2557). *Escherichia coli*. สืบค้นเมื่อ 10 กันยายน 2566, จาก http://nih.dmsc.moph.go.th/fact_sheet/.pdf
- สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม. (มปป.). แคมไพโลแบคเตอร์ เจจูไน (*Campylobacter jejuni*). สืบค้น 12 กันยายน 2566, จาก <https://fic.nfi.or.th/foodsafety/Campylobacter%20jejuni.pdf>
- สมาคมผู้เลี้ยงสุกรแห่งชาติ. (2564). แบคทีเรียก่อโรคทางอาหารที่สำคัญ ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์. สืบค้นเมื่อ 12 กันยายน 2566, จาก <https://www.swinethailand.com>
- สัมพันธ์ สร้อยกล่อมและคณะ (2557). ปริมาณสารโพลีฟีนอลและประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดผักโขม. สืบค้นเมื่อ 11 กันยายน 2566, จาก <https://agkb.lib.ku.ac.th/>
- Bunlue. (2566). อาหารที่มีสารโพลีฟีนอล (Polyphenols) สูง และมีความสำคัญอย่างไร? สืบค้นเมื่อ 11 กันยายน 2566, จาก <https://www.baramilab.com/post/>
- Entech. (2555). หลักการและการประยุกต์ใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer). สืบค้นเมื่อ 20 กันยายน 2566, จาก <https://www.entech.co.th/spectrophotometer/>
- Instrumental Asia. (2567). เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์. สืบค้นเมื่อ 20 กันยายน 2566, จาก <https://www.instrumentasia.com/product-category/>
- Pobpad. (2565). โพลีฟีนอล สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่ดีต่อสุขภาพ. สืบค้นเมื่อ 11 กันยายน 2566, จาก <https://www.pobpad.com/รู้จักกับโพลีฟีนอล>
- Manose. (2565). การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี Disc Diffusion. สืบค้นเมื่อ 20 กันยายน 2566, จาก <https://www.manose.co/PR-Disc-Diffusion.pdf>
- Tipco. (2559). POLYPHENOLS (โพลีฟีนอล) คืออะไร เกี่ยวข้องอย่างไรกับสุขภาพ. สืบค้นเมื่อ 11 กันยายน 2566, จาก <https://www.tipco.net/polyphenols/>

ภาคผนวก

การปรับปริมาตรตัวทำละลายให้ได้เอทานอล70%

1) คำนวณปริมาณเอทานอล95% ที่ต้องใช้เพื่อปรับปริมาตรเป็นเอทานอล70% โดยใช้สูตรดังนี้

$$C_1 V_2 = C_2 V_1$$

$$(95) V = 70 (500)$$

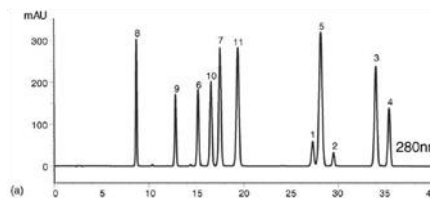
$$V = (70)(500)/95$$

$$V = 368.42 \text{ ml}$$

2) ตวงเอทานอล 95% ในกระบอกตวงปริมาณ 368 มิลลิลิตร และตวงน้ำให้ต้งน้ำถึงขีดในขวดปรับปริมาตรขนาด 500 ml จากนั้นพลิกขวดปรับปริมาตรประมาณ 3 รอบ

การเปรียบเทียบกราฟของโพลิฟีนอลที่สกัดมาเปรียบเทียบกับกราฟของโพลิฟีนอลมาตรฐาน

การตรวจสอบหาโพลิฟีนอลในสารสกัดที่ได้ โดยใช้วิธี UV-Vis spectrophotometer โดยใช้กราฟค่าดูดกลืนรังสี UV โพลิฟีนอลจากผักโขมและเมล็ดโกโก้ด้วยวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่แตกต่างกัน เมื่อนำกราฟของโพลิฟีนอลที่สกัดมาเปรียบเทียบกับกราฟของโพลิฟีนอลมาตรฐาน จะพบว่ากราฟมีความใกล้เคียงกัน สามารถพบโพลิฟีนอลได้ชัดเจนในช่วงคลื่น 280 นาโนเมตร ดังภาพ



ภาพที่ 1 กราฟของโพลิฟีนอลมาตรฐาน

ความสัมพันธ์ของกราฟเส้นตรงจะแปรผันตรงกับค่าดูดกลืนรังสี UV ยิ่งค่าดูดกลืนมาก ความเข้มข้นก็ยิ่งมาก ซึ่งเป็นไปตามวิจัยของ Julia A. H. Kaeswurm กล่าวว่า เนื่องจากโพลิฟีนอลเป็นสารอะโรมาติก ช่วงคลื่นที่ 280 นาโนเมตร ได้โดยใช้สเปกโตรสโคปี UV ตามกฎของ Bouguer–Lambert–Beer การดูดกลืนแสงของสารจะแปรผันตามความเข้มข้นในตัวทำละลายที่กำหนด



ภาพที่ 1 การเตรียมตัวอย่างผักโขม การอบผักโขมในเตาอบลมร้อน



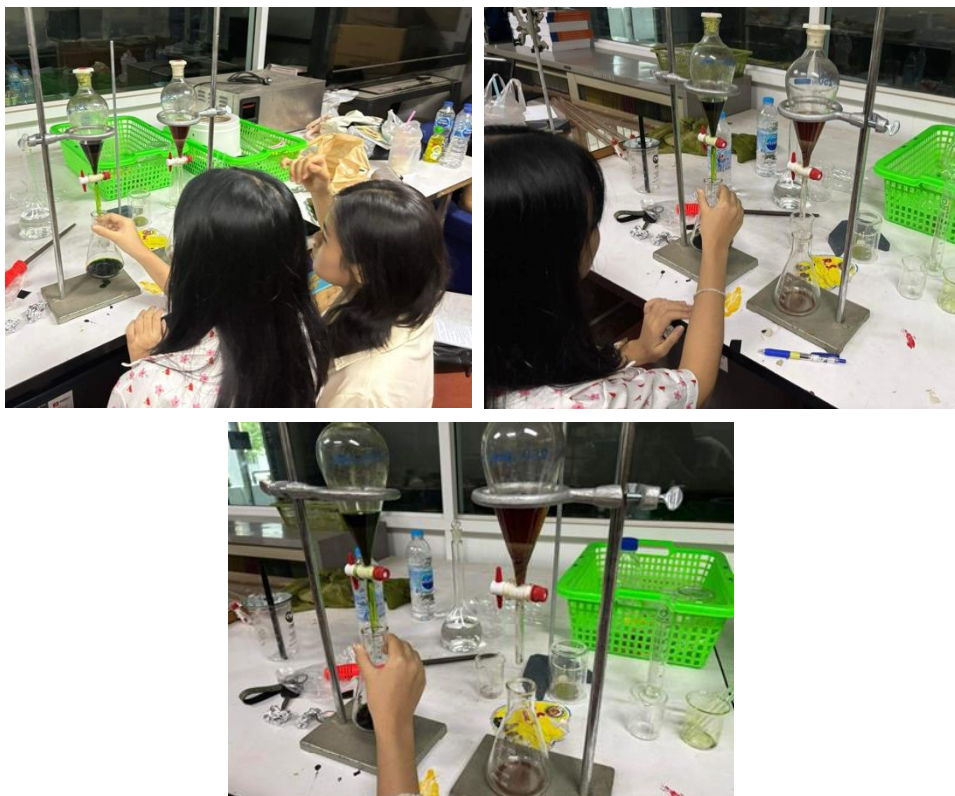
ภาพที่ 2 การเตรียมตัวอย่างโกโก้ การหมักและคั่วโกโก้



ภาพที่ 3 การเตรียมสารละลาย



ภาพที่ 4 การเตรียมการสกัดแบบแช่



ภาพที่ 5 การสกัดสารด้วยวิธีการสกัดแบบแช่



ภาพที่ 6 การเตรียมชุดสกัดน้ำมันหอมระเหย



ภาพที่ 7 การตรวจสอบโพลีฟีนอลด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์



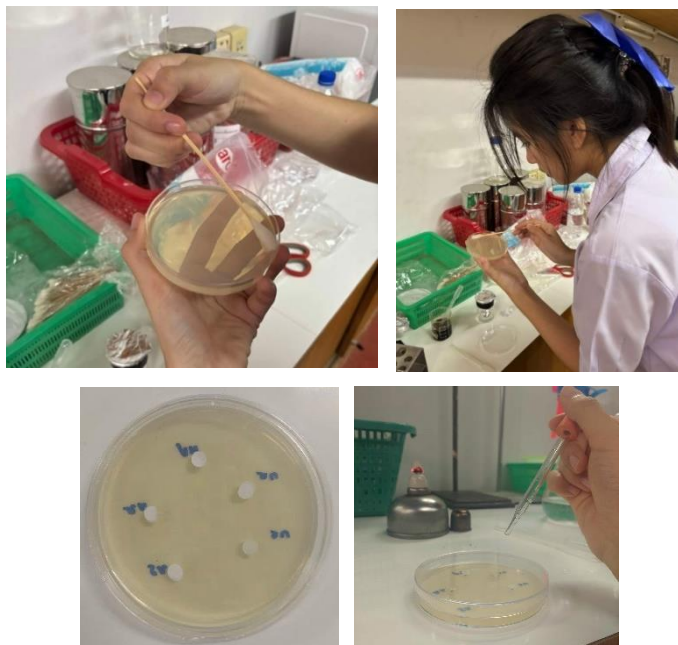
ภาพที่ 8 การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Salmonella* spp. จากเนื้อไก่



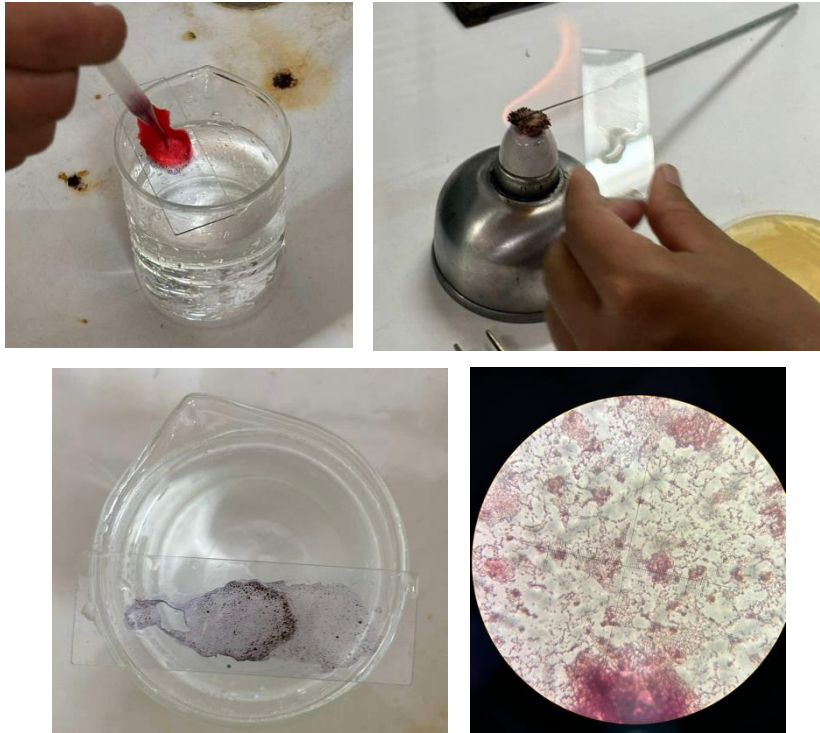
ภาพที่ 9 การแยกเชื้อ *Salmonella* spp. ให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี cross streak plate



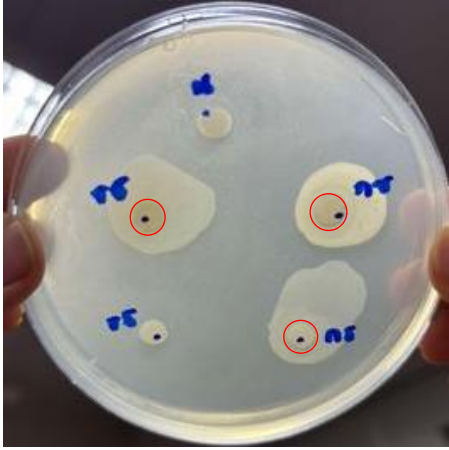
ภาพที่ 10 การเพิ่มปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp. โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว NB

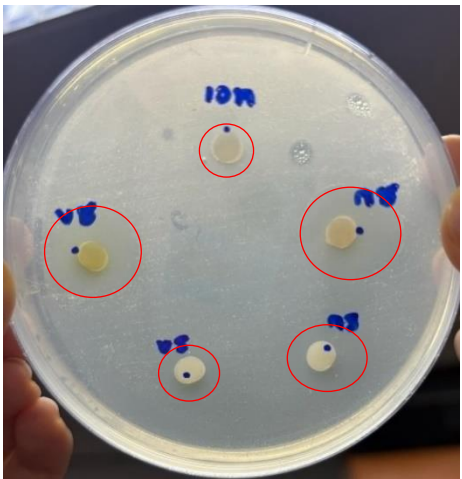


ภาพที่ 11 ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตแบคทีเรีย *Salmonella* spp.
ด้วยวิธี Disc Diffusion test



ภาพที่ 12 การตรวจสอบยืนยันเชื้อ *Salmonella* spp. ด้วยการตรวจย้อมสี

สารทดสอบ	บันทึกการเกิดบริเวณยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย <i>Salmonella</i> spp.				
	รูปภาพ	เส้นผ่านศูนย์กลาง Inhibition zone (mm.)			ค่าเฉลี่ย Inhibition zone $\pm$ SD (mm.)เส้นผ่าน ศูนย์กลาง
น้ำ (control)		NA	NA	NA	NA
เมล็ดโกโก้ + สกัดแบบแช่		0.8	0.6	0.7	0.70 ± 0.10
ผักโขม + สกัด แบบแช่		0.8	0.7	0.75	0.75 ± 0.05
เมล็ดโกโก้ + สกัดร้อนแบบ ไหลย้อนกลับ		0.6	0.5	0.5	0.53 ± 0.06
ผักโขม + สกัด ร้อนแบบไหล ย้อนกลับ		NA	NA	NA	NA

สารทดสอบ	บันทึกการเกิดบริเวณยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย <i>Salmonella</i> spp.				
	รูปภาพ	เส้นผ่านศูนย์กลาง Inhibition zone (mm.)			ค่าเฉลี่ย Inhibition zone $\pm$ SD (mm.)เส้นผ่าน ศูนย์กลาง
เอทานอล70% (control)		1.0	1.15	1.2	1.16 ± 0.11
เมล็ดโกโก้ + สกัดแบบแช่		2	1.6	1.8	1.80 ± 0.20
ผักโขม + สกัด แบบแช่		1.8	1.85	1.9	1.85 ± 0.05
เมล็ดโกโก้ + สกัดร้อนแบบ ไหลย้อนกลับ		1.8	1.7	1.5	1.60 ± 0.17
ผักโขม + สกัด ร้อนแบบไหล ย้อนกลับ		1.1	1.3	1.15	1.18 ± 0.07