บทที่ 2
เอกสารที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

คณะวิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการทำวิจัย เอกสารประกอบในงานวิจัยแบ่งออกเป็น 2 เอกสารดังนี้

2.1 เอกสารแนวความคิดการมีส่วนร่วมและการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

2.1.1 แนวคิดการมีส่วนร่วม

การมีส่วนร่วมในลักษณะที่เป็นกระบวนการพัฒนาของการพัฒนา ต้องมีการดำเนินการโดยให้ประชาชนเข้ามามีส่วนร่วมในกระบวนการพัฒนาตั้งแต่เริ่มต้นจนสิ้นสุดโครงการ ได้แก่ การร่วมกันค้นหาปัญหา การวางแผน การตัดสินใจ การระดมทรัพยากรและเทคโนโลยีในท้องถิ่น การบริหารจัดการ ติดตามประเมินผล รวมทั้งการรับผลประโยชน์ที่เกิดขึ้นจากโครงการ โดยโครงการพัฒนาดังกล่าวจะต้องมีความสอดคล้องกับวิถีชีวิตและวัฒนธรรมของชุมชน

กระบวนการมีส่วนร่วมของประชาชนในการพัฒนานั้น ปาริชาติ วลัยเสถียร (2543) กล่าวว่า ประชาชนจะต้องเข้ามามีส่วนร่วมในทุกขั้นตอนของการปฏิบัติงาน โดยมีนักพัฒนาหรือนักวิชาการจากภายนอกเป็นผู้ส่งเสริมและสนับสนุนในด้านต่างๆ เช่น ข้อมูลข่าวสารเทคโนโลยี

จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการมีส่วนร่วมพบว่า โดยส่วนใหญ่กระบวนการมีส่วนร่วมจะเริ่มจากการค้นหาปัญหาและสาเหตุ การวางแผนดำเนินการกิจกรรมแก้ไขปัญหา การปฏิบัติงาน การร่วมรับผลประโยชน์ และการติดตามประเมินผล และจากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับการมีส่วนร่วมจะพบว่ากระบวนการมีส่วนร่วมโดยทั่วไปมีดังต่อไปนี้

2.1.1.1 การมีส่วนร่วมในการค้นหาปัญหาและสาเหตุของปัญหา

การมีส่วนร่วมในการค้นหาปัญหาและสาเหตุของปัญหา และร่วมในการตัดสินใจ การมีส่วนร่วมในขั้นตอนนี้นับว่าเป็นขั้นตอนที่สำคัญ เพราะว่าถ้าหากว่าบุคคลในชุมชนยังไม่สามารถเข้าใจปัญหาและสาเหตุของปัญหาด้วยตัวของเขาเองแล้ว การจัดกิจกรรมเพื่อการเรียนรู้ต่างๆ ก็ไม่อาจจะเอื้ออำนวยประโยชน์ต่อบุคคลในชุมชนนั้นได้ เพราะบุคคลในชุมชนนั้นจะขาดความเข้าใจและมองไม่เห็นความสำคัญของกิจกรรมนั้น สิ่งหนึ่งที่ผู้ให้ความรู้จะต้องยอมรับคือบุคคลในชุมชน ซึ่งเป็นผู้อยู่กับปัญหาจะเป็นผู้ที่รู้จักปัญหาของตนเองดีที่สุด แต่เขาจะมองปัญหานั้นได้ไม่ชัดเจน หรือเข้าไม่ถึงแก่นแท้ของปัญหา ต่อเมื่อมีบุคคลซึ่งมาช่วยวิเคราะห์ชี้นำ เขาจึงมองเป็นสาเหตุของปัญหาของตนได้เด่นชัดขึ้น ดังนั้นบุคคลในชุมชนจึงต้องเข้ามามีส่วนร่วมเพื่อเรียนรู้

ปัญหาและวิเคราะห์ปัญหาด้วยกันเอง ทั้งการตัดสินใจในการดำเนินกิจกรรม เพื่อจะนำไปสู่การหาแนวทางแก้ไขปัญหานั้นๆ ต่อไป

2.1.1.2 การมีส่วนร่วมในการวางแผนและดำเนินกิจกรรม

การมีส่วนร่วมในการวางแผนและการดำเนินกิจกรรม เมื่อบุคคลในชุมชนได้เรียนรู้ปัญหาของตนเองแล้ว ขั้นตอนต่อไปของการมีส่วนร่วมคือ จะต้องให้บุคคลได้เรียนรู้ในเรื่องของการวางแผนและดำเนินกิจกรรม การแสวงหาแหล่งทรัพยากรหรือความช่วยเหลือ เพื่อที่จะนำมาสนับสนุนกิจกรรมให้เป็นไปตามเป้าหมายที่ได้กำหนดไว้ นอกจากนี้ บุคคลยังจะต้องมีส่วนร่วมในการกำหนดทางเลือกในการแก้ปัญหาร่วมกัน การแก้ปัญหาอาจจะกระทำได้หลายวิธี แต่จะมีวิธีที่ดีที่สุดในเรื่องดังกล่าว

2.1.1.3 การมีส่วนร่วมในการลงทุนและปฏิบัติงาน

การมีส่วนร่วมในการลงทุนและปฏิบัติงาน การมีส่วนร่วมในเรื่องดังกล่าวจะสร้างความรู้สึกร่วมเป็นเจ้าของให้เกิดขึ้นกับบุคคลและชุมชนได้เป็นอย่างดี นอกจากนั้น การปฏิบัติงานด้วยตนเองจะทำให้บุคคลและชุมชนได้เรียนรู้การดำเนินกิจกรรมอย่างใกล้ชิดเมื่อเห็นประโยชน์สามารถดำเนินกิจกรรมนั้นด้วยตนเอง พร้อมทั้งร่วมรับผลประโยชน์ที่เกิดขึ้นจากการดำเนินกิจกรรมนั้นๆ ด้วย

2.1.1.4 การมีส่วนร่วมในการติดตามและประเมินผล

การมีส่วนร่วมในการติดตามและประเมินผล การประเมินผลด้วยตนเองจะทำให้บุคคลและชุมชนมีความตระหนักว่า กิจกรรมที่ตนได้เข้ามามีส่วนร่วมในการดำเนินการมาทั้งหมดนั้นดีหรือไม่ดีเพียงไร และควรพิจารณาว่าจะดำเนินการต่อไปอย่างไร ทำให้บุคคลได้เรียนรู้และเห็นประโยชน์ของการดำเนินกิจกรรมร่วมกัน และจะส่งผลถึงการดำเนินกิจกรรมอย่างเดียวกันในโอกาสต่อๆ ไปให้ประสบความสำเร็จ และเป็นไปตามเป้าหมายที่ได้วางไว้มากขึ้น

2.1.2 แนวคิดในการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

The DPA/ROCHE CONSORTUIM (2539, อ้างใน สถาบันดำรงราชานุภาพ, 2542) ได้วิเคราะห์และนำเสนอหลักการที่สำคัญต่อการวางแผนการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมที่จะนำไปสู่การพัฒนาที่ยั่งยืน ประกอบด้วย 7 หลักการ คือ

2.1.2.1 หลักการทางนิเวศวิทยา (Ecosystem Approach)

เป็นแนวคิดที่ว่ามนุษย์เป็นส่วนหนึ่งของระบบนิเวศและไม่สามารถที่จะแยกออกจากกันได้ ซึ่งหลักการทางนิเวศวิทยาจำเป็นต้องพิจารณาปัจจัยต่างๆ ไปพร้อมๆ กันอย่างเป็นระบบ ซึ่งได้แก่ ปัจจัยทางด้านธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม สังคม เศรษฐกิจ ขนบธรรมเนียมประเพณี

วัฒนธรรม และปัจจัยทางด้านเทคนิควิชาการ เพื่อให้เห็นถึงการพิจารณาองค์ประกอบต่างๆ อย่างเป็นระบบ และช่วยให้การวางแผนมีความเข้าใจถึงความสัมพันธ์เชื่อมโยง และผลที่เกิดจากการกระทำของมนุษย์ ที่มีผลกระทบต่อทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

2.1.2.2 การปฏิบัติอย่างยั่งยืน (Sustainable Action)

ทรัพยากรธรรมชาติต่างๆ มีอยู่ในปริมาณที่จำกัดและมีความสามารถในการรองรับธรรมชาติและมีข้อจำกัดในตัวเอง จึงจำเป็นต้องศึกษาความเหมาะสมในการใช้ประโยชน์และการจัดการที่ชาญฉลาด สร้างความสมดุลกับความต้องการทางด้านสังคม เพื่อนำไปสู่การพัฒนาที่ยั่งยืน

2.1.2.3 วิธีการแบบมีส่วนร่วม (Participate Approach)

ต้องเป็นกระบวนการที่เปิดโอกาสให้สาธารณชน ทราบถึงการตัดสินใจเกี่ยวกับเรื่องต่างๆ โดยผ่านกระบวนการที่เปิดเผย มีระบบแลกเปลี่ยนข้อมูลข่าวสารและร่วมกันจัดทำงานโครงการต่างๆ เพื่อให้การปฏิบัติงานของแต่ละหน่วยงานและประชาชนในพื้นที่เป็นในทิศทางหรือเป้าหมายในด้านการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ

2.1.2.4 การเน้นปัญหาของประชาชนในพื้นที่ (People-Oriented Problem)

โดยให้ความสำคัญกับปัญหาที่แท้จริงที่ประชาชนประสบ เพื่อตอบสนองความต้องการ การแก้ไขปัญหาอย่างแท้จริง โดยให้มีการปฏิบัติการแก้ไขปัญหาอย่างถูกต้องและจริงจัง มีการจัดทำแผนแบบผสมผสานหรือบูรณาการ และมีการจัดทำแนวปฏิบัติสำหรับผู้มีหน้าที่รับผิดชอบในการบริหารจัดการเพื่อให้สามารถดำเนินการตามแผนงานต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

2.1.2.5 การจัดการอย่างเหมาะสม (Adaptive Management)

เป็นการตัดสินใจที่เกิดจากข้อมูลที่ถูกต้อง มีการประสานหรือรวมแนวคิดใหม่ๆ มีการติดตามประเมินผลเป็นระยะๆ และมีความยืดหยุ่น และสามารถปรับแผนได้ตามสภาพการณ์ที่เปลี่ยนแปลงไปและมีการดำเนินการอย่างต่อเนื่อง

2.1.2.6 ความเสมอภาค (Equal Emphasis)

เป็นการให้ความสำคัญกับปัจจัยต่างๆ ทั้งด้านทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม สังคม เศรษฐกิจ และปัจจัยทางด้านวิชาการในการจัดทำแผน โดยรวมไปถึงความเสมอภาคระหว่างเพศ และความเสมอภาคยังหมายถึงการสร้างความเท่าเทียมกันในภูมิภาค (Specific Regional) และในท้องถิ่นที่แตกต่างกัน (Local Difference) ในกระบวนการวางแผน และมีความยุติธรรมในการดำเนินการกับประเด็นต่างๆ

2.1.2.7 มองการณ์ในอนาคต (Future Orientation)

การวางแผนต้องมีเป้าหมายระยะยาวในอนาคต มีวิสัยทัศน์ที่กว้างไกล จนมีข้อตกลงและความเห็นชอบร่วมกันจากทุกฝ่ายที่มีส่วนเกี่ยวข้องในเรื่องเกี่ยวกับเป้าหมาย วัตถุประสงค์ จุดมุ่งหมาย พื้นที่ดำเนินการและวิธีการปฏิบัติ

2.2 เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาและการวิเคราะห์ทางเคมี

2.2.1 เอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.2.1.1 สมุนไพร

คำว่า สมุนไพร ตามพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถาน พ.ศ. 2525 หมายถึง พืชที่ใช้ ทำเป็นเครื่องยา สมุนไพรกำเนิดมาจากธรรมชาติและมีความหมายต่อชีวิตมนุษย์โดยเฉพาะในทางสุขภาพ อันหมายถึงทั้งการส่งเสริมสุขภาพและการรักษาโรค ความหมายของยาสมุนไพรในพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510 ได้ระบุว่า ยาสมุนไพร หมายความว่า ยาที่ได้จากพฤกษาชาติสัตว์หรือแร่ธาตุ ซึ่งมิได้ผสมปรุงหรือแปรสภาพ เช่น พืชก็ยังเป็นส่วนของราก ลำต้น ใบ ดอก ผล ฯลฯ ซึ่งมิได้ผ่านขั้นตอนการแปรรูปต่างกัน แต่ในทางการค้า สมุนไพรมักจะถูกดัดแปลงในรูปแบบต่าง ๆ เช่น ถูกหั่นให้เป็นชิ้นเล็กลง บดเป็นผงละเอียด หรืออัดเป็นแท่งแต่ในความรู้สึกของคนทั่วไปเมื่อกล่าวถึงสมุนไพร มักนึกถึงเฉพาะต้นไม้ที่นำมาใช้เป็นยาเท่านั้น(www.tistr.or.th, 22 ธันวาคม 2552)

สมุนไพร หมายถึง พืชที่มีสรรพคุณในการรักษาโรค หรืออาการเจ็บป่วยต่าง ๆ การใช้สมุนไพรสำหรับรักษาโรค หรืออาการเจ็บป่วยต่างๆ โดยนำเอาสมุนไพรตั้งแต่สองชนิดขึ้นไปมาผสมรวมกันเรียกว่า "ยา" ในตำรับยา นอกจากพืชสมุนไพรแล้วยังอาจประกอบด้วยสัตว์และแร่ธาตุ เรียกพืช สัตว์ หรือแร่ธาตุที่เป็นส่วนประกอบของยานี้ว่า "เภสัชวัตถุ" พืชสมุนไพรบางชนิด เช่น เร่ว กระวาน กานพลู และจันทน์เทศ เป็นต้น เป็นพืชที่มีกลิ่นหอมและมีรสเผ็ดร้อน ใช้เป็นยาสำหรับ ขับลม แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ พืชเหล่านี้ถ้านำมาปรุงอาหารเรียกว่า "เครื่องเทศ" ในพระราชบัญญัติยาฉบับที่ 3 ปีพุทธศักราช 2522 ได้แบ่งยาที่ได้จากเภสัชวัตถุนี้ไว้เป็น 2 ประเภท คือ

1) ยาแผนโบราณ หมายถึง ยาที่ใช้ในการประกอบโรคศิลปะแผนโบราณหรือในการบำบัดโรคของสัตว์ ซึ่งมีปรากฏอยู่ในตำรายาแผนโบราณที่รัฐมนตรีประกาศ หรือยาที่รัฐมนตรีประกาศให้เป็นยาแผนโบราณ หรือได้รับอนุญาตให้ขึ้นทะเบียนตำรับยาเป็นยาแผนโบราณ

2) ยาสมุนไพร หมายถึง ยาที่ได้จากพืชสัตว์แร่ธาตุที่ยังมิได้ผสมปรุงหรือแปรสภาพ สมุนไพรนอกจากจะใช้เป็นยาแล้ว ยังใช้ประโยชน์เป็นอาหาร ใช้เตรียมเป็นเครื่องดื่ม ใช้เป็นอาหารเสริม เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอาง ใช้แต่งกลิ่น แต่งสีอาหารและยา ตลอดจนใช้เป็นยาฆ่าแมลง

(1) คุณสมบัติของสมุนไพร

(1.1) ทำลายหรือยับยั้งเชื้อโรค

(1.2) ส่งเสริมการสร้างภูมิคุ้มกันโรค

(1.3) บรรเทาอาการเจ็บป่วย และปรับสภาพร่างกายให้เป็นปกติ

(1.4) มีผลข้างเคียงหรือตกค้างน้อยมาก เนื่องจากเป็นสารธรรมชาติ

(2) สารในสมุนไพร (รัตนา อิทรานปกรณ์, 2547)

ในสมุนไพรแต่ละชนิดประกอบด้วยสารเคมี หลายชนิดแบ่งกลุ่มใหญ่ได้ 7 กลุ่ม

(2.1) คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrates) เป็นสารอินทรีย์ที่ประกอยด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน คาร์โบไฮเดรตเป็นกลุ่มสารที่พบมากทั้งในพืชและสัตว์ สารที่เป็นคาร์โบไฮเดรต เช่น แป้ง น้ำตาล กัม วุ้น น้ำผึ้ง เปคติน เป็นต้น

(2.2) ไขมัน (Lipids) เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำแต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic Solvent) และเมื่อทำปฏิกิริยากับด่างจะกลายเป็นสบู่ น้ำมันในพืชหลายชนิดเป็นยาสมุนไพร เช่น น้ำมันละหุ่ง น้ำมันมะพร้าว เป็นต้น

(2.3) น้ำมันหอมระเหย (Volatile Oil หรือ Essential Oil) น้ำมันหอมระเหยเป็นสารที่พบมากในพืชเขตร้อน มีลักษณะเป็นน้ำมัน มีกลิ่นและรสเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายในอุณหภูมิธรรมดาเบากว่าน้ำสามรถสกัดออกมาจากส่วนของพืชได้ โดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ (Stream Distillation) หรือการบีบ(Expression) ประโยชน์คือเป็นตัวแต่งกลิ่นในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และ สมุนไพรมีประโยชน์ด้านขับลม ฆ่าเชื้อโรค พืชสมุนไพรที่มีน้ำมันหอมระเหย เช่น กระเทียม ขิง ไพล มะกรูด ตะไคร้ กานพลู อบเชย เป็นต้น

(2.4) เรซินและบาลซัม (Resins and Balsums) เรซินเป็นสารอินทรีย์หรือสารผสมประเภทโพลีเมอร์ มีรูปร่างไม่แน่นอนส่วนใหญ่จะเปราะแตกง่ายบางชนิดจะนิ่มไม่ละลายน้ำ ละลายได้ในตัวทำลายอินทรีย์ เมื่อเผาไฟจะหลอมเหลวได้สารที่ใสข้นและเหนียว เช่น ชันสน เป็นต้น บาลซัมเป็นสาร Resinous Mixture ซึ่งประกอบด้วย กรดซินนามิก (Cinamic Acid) หรือเอสเทอร์ของกรดสองชนิดนี้ เช่น กำยาน เป็นต้น

(2.5) แอลคาลอยด์ (Alkaloids) เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ (Organic Nitrigen Compound) มักพบในพืชชั้นสูง มีสูตรโครงสร้างซับซ้อน และแตกต่างกันมากมาย ปัจจุบันพบแอลคาลอยด์มากกว่า 5,000 ชนิด คุณสมบัติของแอลคาลอยด์ คือ ส่วนใหญ่มีรสขมไม่ละลายน้ำ ละลายได้ในสารละลายอินทรีย์ (Organic Solvent) มีฤทธิ์เป็นด่าง แอลคาลอยด์มีประโยชน์ในการรักษาโรคอย่างกว้างขวาง เช่น ใช้เป็นยาระงับปวด ยาชาเฉพาะที่ ยาแก้ไอ ยาแก้หอบหืด ยารักษาแผลในกระเพาะและลำไส้ ยาลดความดัน ยาควบคุมการเต้นของหัวใจ เป็นต้น

พืชสมุนไพรที่มีแอลคาลอยด์เป็นส่วนมาก เช่น หมากลำโพง ซิงโคนา ดองดึง ระย่อม ยาสูบ กลอย ฝิ่น แสลงใจ เป็นต้น

(2.6) กลัยโคไซด์ (Glycosides) กลัยโคไซด์เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่เกิดจาก Agycone (หรือ Genin) จับกับส่วนที่เป็นน้ำตาล (Glycone Part) ละลายน้ำได้ดี โครงสร้างของ Agycone มีความแตกต่างกันหลายแบบ ทำให้ประเภทและสรรพคุณทางเภสัชวิทยาของกลัยโคไซด์มีหลายชนิด ใช้เป็นยาที่มีประโยชน์และสารพิษที่มีโทษต่อร่างกาย กลัยโคไซด์จำแนกตามสูตรโครงสร้างของ Agycone ได้หลาย ประเภท คือ

คาร์ดิเอ็ก กลัยโคไซด์ (Cardiac Glycisides) มีฤทธิ์ต่อระบบกล้ามเนื้อหัวใจ และระบบการไหลเวียนของโลหิต เช่น ใบยี่โถ เป็นต้น

แอนทราควิโนน กลัยโคไซด์ (Anthraquinone Glycosides) มีฤทธิ์เป็นยาระบาย ยาฆ่าเชื้อ และสีย้อมผ้า เช่น ใบมะขามแขก ใบขี้เหล็ก ใบชุมเห็ดเทศ ใบว่านหางจระเข้ เป็นต้น

ซาโปนิน กลัยโคไซด์ (Saponin Glycosides) เป็นกลุ่มสารที่มีคุณสมบัติเกิดฟองเมื่อเขย่ากับน้ำ เช่น ลูกประคำดีควาย เป็นต้น

ไซยาโนเจนนีติก กลัยโคไซด์ (Cyanogenatic Glycosides) มีส่วนของ Agycone เช่น Cyanogenetic Nitrate สารกลุ่มนี้เมื่อถูกย่อยจะได้สารจำพวกไซนาไนด์ เช่น รากมันสำปะหลัง ผักสะตอ ผักหนาน ผักเสี้ยนผี กระเบาน้ำ เป็นต้น

ไอโซไทโอไซยาเนท กลัยโคไซด์ (Isothiocyanate Glycosides) มีส่วนของ Agkycone เป็นสารจำพวก Isothiocyanate

ฟลาโวนอล กลัยโคไซด์ (Favonol glycosides) เป็นสารสีที่พบในหลายส่วนของพืช ส่วนใหญ่สีออกไปทางสีแดง เหลือง ม่วง น้ำเงิน เช่น ดอกอัญชัน เป็นต้น

แอลกอฮอลิค กลัยโคไซด์ (Alcoholic Glycosides) มี Agycone เป็นแอลกอฮอล์ ยังมีกลัยโคไซด์อีกหลายชนิด เช่น ฟินอลิคกลัยโคไซด์ (Phenolic Glycosides) แอลดีไฮด์กลัยโคไซด์ (Aldehyde Glycosides) เป็นต้น

(2.7) แทนนิน (Tannins) เป็นสารที่พบได้ในพืชหลายชนิดมีโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน มีสถานะเป็นกรดอ่อนรสฝาด แทนนินใช้เป็นยาฝาดสมาน ยาแก้ท้องเสีย ช่วยรักษาแผลไฟไหม้ และใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง กรณีรับประทานแทนนินเป็นประจำอาจทำให้เกิดมะเร็งได้ สมุนไพรที่มีแทนนิน คือ เปลือกทับทิม เปลือกอบเชย ใบฝรั่ง ใบ / เปลือกสีเสียด ใบชา เป็นต้น นอกจากสารดังกล่าวในพืชสมุนไพรยังมีสารประกอบอีกหลายชนิด เช่น ไขมันสเตียรอยด์ (Steroid) เป็นต้น สารเหล่านี้บางชนิดมีสรรพคุณทางยาเช่นกัน

(3) ส่วนประกอบของพืชสมุนไพร

(3.1) รากจะมีหน้าที่สะสมและดูดซึมอาหารมาเลี้ยงต้นพืช ลักษณะของรากมีทั้งรากแท้และรากฝอย การสังเกตรากควรดูทั้งรากสดและรากแห้ง ลักษณะภายนอกขนาดของราก ความเปราะของเนื้อราก สี กลิ่น รสของราก การที่จะจำแนกราก สมุนไพรต้องใช้ความชำนาญ สมุนไพรที่ใช้รากมาทำยาจำเป็นต้องสังเกตอย่างละเอียด เพื่อไม่เก็บสมุนไพรผิดต้นไปรักษาโรค สมุนไพรส่วนที่ใช้ราก เช่น กระชาย แก้อาการท้องอืดท้องเฟ้อ ปลาไหลเผือก แก้ไข้ มะละกอ ใช้ขับปัสสาวะ เป็นต้น

(3.2) ลำต้นเป็นโครงค้ำที่สำคัญของพืช ปกติเกิดบนดินหรือมีบางส่วนอยู่ใต้ดิน จะประกอบด้วยตา ข้อ และปล้อง แบ่งตามลักษณะภายนอก เช่น ประเภทไม้ยืนต้นไม้พุ่ม ประเภทหญ้า ประเภทไม้เลื้อย เป็นต้น การสังเกตลำต้น ดูว่า ลำตันของพืชมีลักษณะเป็นอย่างไร ลักษณะตา ข้อ และปล้อง เป็นอย่างไร แตกต่างจากลำต้นของ ต้นพืชอื่นอย่างไร สมุนไพรส่วนที่ใช้ลำต้นเป็นยา เช่น อ้อยแดง ใช้แก้อาการขัดเบาชิงช้าชาลีบอระเพ็ดใช้แก้ไข้เป็นต้น

(3.3) ใบเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของพืช สังเกตรูปร่างของใบ ปลาย ริม เส้น และเนื้อของใย อย่างละเอียด และเปรียบเทียบลักษณะของใบที่คล้ายคลึงกัน จะทำให้จำแนกใบได้ชัดเจนขึ้น สมุนไพรที่ใช้ใบเป็นยา เช่น กะเพรา ใช้ได้ทั้งใบสดหรือใบแห้งแก้ปวดท้อง ท้องขึ้น จุกเสียด ขี้เหล็ก รักษาอาการท้องผูก ใบชุมเห็ดเทศ ขยี้หรือตำในครก ให้ละเอียดเติมน้ำเล็กน้อยใช้รักษาโรคกลากได้

(3.4) ดอกส่วนประกอบของดอกมีความแตกต่างกัน สังเกตลักษณะอย่างละเอียด เช่น จำนวนกลีบดอก การเรียงตัวของกลีบดอก รูปร่างของกลีบดอก สีกลิ่น เป็นต้น ส่วนของดอกที่ใช้เป็นยา เช่น กานพลู น้ำมันหอมระเหย ในดอกกานพลู มีฤทธิ์ขับลม ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ขับพยาธิดีปลี แก้ท้องอืดท้องเฟ้อเป็นต้น

(3.5) ผลที่เป็นยา เช่น มะเกลือ ดีปลี มะแว้งต้น กระวาน เป็นต้น สังเกตลักษณะ ผลทั้งภายนอกและภายใน นอกจาก ผลไม้เมล็ดภายในผลยังอาจเป็นยา เช่น สะแกฟักทอง ฉะนั้นในการสังเกตลักษณะของผลควรสังเกตลักษณะรูปร่างของเมล็ดไปด้วย

(4) พืชสมุนไพรสามารถแยกกลุ่มที่ใช้บำบัดโรคต่างๆ

พืชสมุนไพรพื้นบ้านในตำรับยาไทยมีหลายร้อยชนิด จะนำมากล่าวถึงเป็นตัวอย่างเพียงบางชนิด แยกตามกลุ่มพืชที่ใช้บำบัดโรคต่างๆ ดังนี้

(4.1) กลุ่มพืชสมุนไพรที่ใช้แก้ไข้และขับปัสสาวะ เช่น เปลือกพญาสัตบรรณ หรือตีนเป็ด (*Alsotonia Scholaris*.) เปลือกและใบทุ้งฟ้า (*Alstoniz Macrophylla*.) ใบหนาด (*Blumea Balsamifera*.) ราก เปลือก และใบ ขลู่ (*Pluchea Indica*.) ใบ เนื้อไม้ ผล และเมล็ดมะคำไก่ หรือ

ประคำไก่ (*Drypetes Roxburghii*.) ต้นและรากอ้อเล็ก (*Phragmites Australis*.) รากและใบกรุงเขมา (*Cissampelos Pareira*.)

(4.2) กลุ่มพืชสมุนไพรที่ใช้เป็นยาแก้ท้องเสีย เช่น เนื้อไม้สีเสียดหรือสีเสียดเหนือ (*Acacia Catechu*.) ใบและผลมะตูม (*Aegle Marmelos*.) เปลือกประดู่บ้าน (*Pterocarpus Indicus*.) เหง้าไพล (*Zingiber Purpureum*.) เหง้าและรากกระชาย (*Boesenbergia Rotunda*.) แก่นฝาง (*Caesalpinia Sappan*.) ราก เปลือก เนื้อไม้ ใบและดอกแก้ว (*Murraya Paniculata*.) เปลือกโมกหลวง (*Holarrhena Pubescens*.)

(4.3) กลุ่มพืชสมุนไพรที่ใช้เป็นยาระบายและขับพยาธิ เช่น ผลดิบมะเกลือ (*Diospyros Mollis*.) แก่นไม้มะหาด (*Artocarpus Lakoocha*.) เมล็ดเถาเล็กมือนาง (*Quisqualis Indica*.) เมล็ดสะแกนา (*Combretum Quadran-Gulare*.) เมล็ดแห้งฟักทอง (*Cucurbita Moschata*.) เนื้อในเมล็ดมะขาม (*Tamarindus Indica*.)

(4.4) กลุ่มพืชสมุนไพรที่ใช้เป็นยาขับลม เช่น เหง้าแก่ขิง (*Zingiber Officinale*.) เหง้าว่านน้ำ (*Acorus Calamus*.) ผลกระวาน (*Amomum Krevanh*.) เหง้าข่า (*Alpinia Galanga*.) ผลพริกไทย (*Piper Nigrum*.) ต้นตะไคร้ (*Cymbopogoncitratus*.)

(5) หลักการทั่วไปในการเก็บสมุนไพร

(5.1) ประเภทรากหรือหัว เก็บในช่วงที่พืชหยุดเจริญเติบโต ใบ ดอกร่วงหมดหรือในช่วงต้น ฤดูหนาวถึงปลายฤดูร้อน เพราะช่วงนี้ ราก หัว มีการสะสมปริมาณ ของตัวยาไว้ค่อนข้างสูง วิธีการเก็บใช้วิธีการขุดอย่างระมัดระวัง เช่น กระชาย กระทือ ข่า เป็นต้น

(5.2) ประเภทใบ เก็บทั้งต้น ควรเก็บในช่วงที่พืชเจริญเติบโตมากที่สุด หรือในช่วงที่ดอกตูม เริ่มบาน หรืออาจเก็บ ในช่วงที่ดอกบาน ผลยังไม่สุก วิธีเก็บใช้เด็ด เช่น กระเพรา ขลู่ ฝรั่ง ฟ้าทะลายโจร เป็นต้น ประเภทเปลือกต้นและเปลือกราก เปลือกต้นโดยมากเก็บระหว่างช่วงฤดูร้อน ต่อกับฤดูฝน ปริมาณยาในพืชสูงและลอกออกง่าย สำหรับการลอกเปลือกต้นนั้นอย่าลอกออกทั้งรอบต้น เพราะจะทำให้พืชตายได้ ทางที่ดีควรลอกจากส่วนกิ่งหรือแขนงย่อย ไม่ควรลอกออกจากลำต้นใหญ่ของต้นไม้ ส่วนเปลือกรากเก็บในช่วงต้นฤดูฝนเหมาะที่สุด

(5.3) ประเภทดอก เก็บในช่วงดอกเริ่มบาน แต่บางชนิดเก็บในช่วงดอกตูม เช่น กานพลู เป็นต้น

(5.4) ประเภทผลและเมล็ด พืชสมุนไพรบางชนิดอาจเก็บในช่วงผลยังไม่สุก เช่น ฝรั่ง เก็บผลอ่อนใช้แก้ท้องร่วง ผลแก่เต็มที่ เช่น มะแว้งต้น มะแว้งเครือ ดีปลี เมล็ดฟักทอง เมล็ดชุมเห็ดไทย เมล็ดสะแก เป็นต้น

(6) การแปรสภาพและการเก็บรักษาพืชสมุนไพร

สมุนไพรโดยทั่วไปมีทั้งการใช้สดและการใช้แห้งการใช้สดนั้นมีข้อดีตรงสะดวกใช้ง่าย แต่ว่าฤทธิ์การรักษาของยาสมุนไพรไม่คงที่บางครั้งฤทธิ์ดี บางครั้งฤทธิ์ไม่ดี ยาที่ใช้เคมีหลายอย่าง เช่นว่านหางจระเข้ รากหญ้าคา เป็นต้น แต่การใช้ยาสมุนไพรส่วนมากนิยมใช้แห้ง เพราะจะได้คุณภาพของยาที่คงที่ โดยเลือกเก็บยาสมุนไพรที่ต้องการตามฤดูกาลเก็บของพืช แล้วนำมาแปรสภาพโดยผ่านขบวนการที่เหมาะสมเพื่อเก็บยาไว้ได้เป็นเวลานาน

กระบวนการแปรสภาพยาสมุนไพรที่เหมาะสมนั้นโดยทั่วไป นำส่วนที่ใช้เป็นยามาแล้ว ผ่านการคัดเลือก การล้าง การตัดเป็นชิ้นที่เหมาะสม แล้วใช้ความร้อนทำให้แห้ง เพื่อสะดวกในการเก็บรักษา วิธีการแปรสภาพยาสมุนไพรนั้นแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช ส่วนที่ใช้เป็นยาและความเคยชินของแต่ละท้องที่ วิธีการที่ใช้บ่อย โดยแยกกล่าวตามส่วนที่ใช้เป็นยา มีดังนี้

(6.1) รากและส่วนที่อยู่ใต้ดิน ก่อนอื่นคัดขนาดที่พอ ๆ กัน เอาไว้ด้วยกัน เพื่อจะให้สะดวกในการแปรสภาพต่อไป จากนั้นล้างดินและสิ่งสกปรกที่ติดอยู่ให้สะอาด เอารากฝอยออกให้หมด ถ้าเป็นพืชที่มีเนื้อแข็ง แห้งได้ยาก ต้องหั่นเป็นชิ้นที่เหมาะสมก่อน ถ้าเป็นพืชที่เนื้อไม่แข็งนำมาผ่านกระบวนการให้ความร้อนตามแต่ชนิดของพืชนั้น พืชที่ใช้หัวและรากส่วนมากประกอบด้วย โปรตีน แป้ง เอนไซม์ การให้ความร้อนแบบต้มนึ่ง จะทำให้สะดวกในตอนทำให้แห้ง หลังจากผ่านความร้อน นำมาตัดเป็นชิ้น แล้วอบให้แห้งในอุณหภูมิที่เหมาะสม

(6.2) เปลือก หั่นเป็นชิ้น ขนาดพอดี ตากให้แห้ง

(6.3) ใบและทั้งต้น ใบพืชบางอย่างที่มีน้ำมันหอมระเหย ควรผึ่งไว้ในที่ร่ม ไม่ควรตากแดด และก่อนที่ยาจะแห้งสนิท ควรมัดเป็นกำป้องกันการหลุดร่วง เช่น กะเพราแดง สะระแหน่ เป็นต้น โดยทั่วไปเก็บใบหรือลำต้นมาล้างให้สะอาด แล้วนำมาตากแดดให้แห้งสนิท จากนั้นจึงเก็บให้มิดชิด ระวังอย่าให้ขึ้นราได้

(6.4) ดอก หลังจากเก็บมาแล้ว ตากแห้งหรืออบให้แห้ง แต่ควรรักษารูปดอกไว้ให้สมบูรณ์ ไม่ให้ตัวยาถูกทำลายสูญเสียไป เช่น ดอกกานพลู

(6.5) ผล โดยทั่วไปเก็บแล้วก็ตากแดดให้แห้ง มีเพียงบางชนิดต้องหั่นเป็นชิ้นก่อนตาก หรืออบด้วยความร้อนก่อน

(6.6) เมล็ด เก็บผลมาตากให้แห้ง แล้วจึงเอาเปลือกออก เอาเมล็ดออก เช่น ชุมเห็ดไทย บางชนิดเก็บแบบผลแห้ง พืชที่ใช้เป็นยาสมุนไพรนั้น การแปรสภาพในชั้นต้นโดยมากใช้วิธีทำให้แห้ง วิธีทำให้แห้งมีหลายวิธี คือ ตากแดด อบ ผึ่งในที่ร่ม เป็นต้น การเลือกใช้วิธีใดจะต้องคำนึงถึงอุณหภูมิที่ทำให้แห้ง โดยทั่วไปอุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียสเหมาะสมในการ

ทำให้แห้ง เพราะสามารถระงับบทบาทของเอนไซม์ที่มีอยู่ในต้นพืชได้ และทำให้สารสำคัญในพืชไม่สลายตัวไป เช่น ไกลโคไซด์ และอัลคาลอยด์

2.2.1.2 น้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยเป็นสารอินทรีย์ที่พืชผลิตขึ้นตามธรรมชาติ เก็บไว้ตามส่วนต่าง ๆ เช่น กลีบดอก ผิวของผล เกสร ราก หรือเปลือกของลำต้น มักมีกลิ่นหอมระเหยง่าย เวลาที่ได้รับความร้อนอนุภาพเล็กๆ ของน้ำมันหอมระเหยจะระเหยออกมาเป็นไอ ทำให้ได้กลิ่นหอม (www.rspg.thaigov.net, 1 พฤศจิกายน 2552)

(1) ประโยชน์ของน้ำมันหอมระเหย

กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยในส่วนของดอกไม้มีบทบาทสำคัญในการช่วยดึงดูดแมลงมาผสมเกสร ปกป้องการรุกรานจากศัตรู และรักษาความชุ่มชื้นแก่พืช สำหรับประโยชนต่อมนุษย์ น้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรค บรรเทาอาการอักเสบ หรือลดบวม คลายเครียด หรือกระตุ้นให้สดชื่น ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด

(2) องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

ประกอบด้วยสาระสำคัญ 2 กลุ่ม คือ เทอปีน (Terpenes) และ ฟีนิลโพรปานอยด์ (Phenyl Pro- Panoids) สารเทอปีนที่พบมากในน้ำมันหอมระเหย เป็นพวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำได้แก่ โมโนเทอปีน (Monoterpenes, C-10) เช่น Limonene, Citral, Geraniol, Menthol, Camphor และเสสควิเทอปีน (Sesquiterpenes, C-15) เช่น Bisabolene, Caryophyllene ส่วนฟีนิลโพรปานอยด์ (C6-C10) พบได้น้อยกว่าสารกลุ่มเทอปีน ได้แก่ Eugenol, Anethole

(3) พืชที่มีน้ำมันหอมระเหย

(3.1) พืชที่ให้น้ำมันหอมระเหยมีกระจายอยู่ในวงศ์พืชต่างๆ ไม่เกิน 60 วงศ์ ที่สำคัญได้แก่ มิ้นต์ (Labiatae) ส้ม (Rutaceae) ขิง (Zingiberaceae) ตะไคร้ (Gramineae)

(3.2) พืชที่ให้น้ำมันหอมระเหยที่ปลูกเป็นการค้ามีอยู่ไม่เกิน 100 ชนิด ที่สำคัญเช่นสะระแหน่ ตะไคร้ ตะไคร้หอม กระดังงา เบอร์กามอต โหระพา เป็นต้น

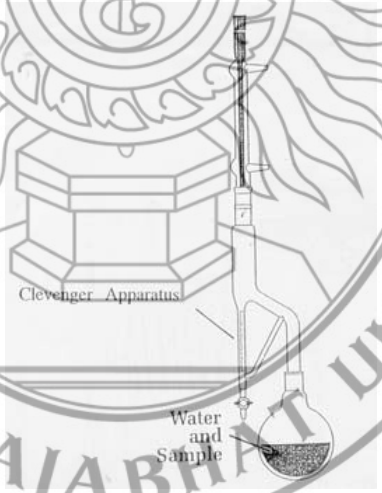
น้ำมันหอมระเหยไม่ได้มาจากพืชเท่านั้นแต่ได้มาจากสัตว์ 4 ชนิด คือ กลิ่นอำพัน มาจากปลาวาฬหัวทุน กลิ่นชะมด มาจากตัวชะมด กลิ่น Castoreum จากตัวบีเวอร์ และกลิ่นจากกวาง สารระเหยที่ได้จากสัตว์จะมีราคาแพงและหายาก เพราะต้องฆ่าสัตว์เหล่านั้นมาจึงจะได้กลิ่นหอม

(4) การสกัดน้ำมันหอมระเหย

การกลั่นเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการสกัดน้ำมันหอมระเหย หลักการของการกลั่น คือ ใช้น้ำร้อนหรือไอน้ำเข้าไปแยกน้ำมันหอมระเหยออกมาจากพืช โดยการแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อพืช ความร้อนจะทำให้สารออกปนมากับน้ำหรือไอน้ำ การกลั่นเพื่อให้ได้น้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพดีนั้น ต้องอาศัยเทคนิคและขบวนการทางเคมีและกายภาพหลายอย่างประกอบกัน โดยทั่วไปเทคนิคการกลั่นน้ำมันหอมระเหยที่ใช้กันอยู่มี 3 วิธี (เอื้อพร ไชยวรรณ, 2531) ได้แก่

(4.1) การกลั่นโดยใช้น้ำ

วิธีนี้สามารถทำได้โดยใช้อุปกรณ์สำหรับการกลั่นเช่น หม้อกลั่น, เครื่องควบแน่น และภาชนะรองรับน้ำมัน วิธีการก็คือ บรรจุพืชที่ต้องการสกัดน้ำมันหอมระเหยลงในหม้อกลั่น เติมน้ำพอท่วม แล้วต้มจนน้ำเดือด เมื่อน้ำเดือดระเหยเป็นไอ ไอน้ำจะช่วยพาน้ำมันหอมระเหยที่อยู่ในเนื้อเยื่อของพืชออกมาพร้อมกัน เมื่อผ่านเครื่องควบแน่นไอน้ำและไอของน้ำมันหอมระเหยจะควบแน่นเป็นของเหลว ได้น้ำมันหอมระเหยและน้ำแยกชั้นจากกัน สำหรับการกลั่นพืชปริมาณน้อยๆในห้องปฏิบัติการ สามารถทำได้โดยใช้ชุดกลั่นที่ทำจากแก้ว เรียกว่า ชุดกลั่นชนิด Clevenger แสดงดังรูป 2.1



รูป 2.1 การกลั่นโดยใช้น้ำ

ที่มา : www. tistr.or.th

(4.2) การกลั่นโดยใช้น้ำและไอน้ำ (Water And Steam Distillation)

วิธีนี้มีหลักการคล้ายกับการกลั่นโดยใช้น้ำ แต่แตกต่างตรงที่ ภายในหม้อกลั่นจะมีตะแกรงสำหรับวางพืชไว้เหนือระดับน้ำ เมื่อให้ความร้อน โดยเปลวไฟ หรือไอน้ำจากเครื่องกำเนิดไอน้ำ(Boiler), น้ำภายในหม้อกลั่น จะเดือดกลายเป็นไอ แสดงดังรูป 2.2

การกลั่นโดยวิธีนี้ พืชที่ใช้กลั่นจะไม่สัมผัสกับความร้อนโดยตรง ทำให้คุณภาพของน้ำมันหอมระเหยดีกว่าวิธีแรก

รูป 2.2 การกลั่นโดยใช้น้ำและไอน้ำ

ที่มา :www.tistr.or.th

(4.3) การกลั่นด้วยไอน้ำ (Direct Steam Distillation)

วิธีนี้ วางของอยู่บนตะแกรงในหม้อกลั่น ซึ่งไม่มีน้ำอยู่เลย ไอน้ำภายนอกที่อาจจะเป็นไอน้ำเปียก หรือไอร้อนจัดแต่ความดันสูงกว่าบรรยากาศ ส่งไปตามท่อใต้ตะแกรงให้ไอผ่านขึ้นไปถูกกับของบนตะแกรง ไอน้ำต้องมีปริมาณเพียงพอที่จะช่วยให้น้ำมันแพร่ระเหยออกมาจากตัวอย่าง ตัวอย่างบางชนิดอาจใช้ไอร้อนได้ แต่บางชนิดก็ใช้ไอเปียก น้ำมันจึงจะถูกปล่อยออกมา

ข้อดีของการกลั่นวิธีนี้ คือ สามารถกลั่นได้อย่างรวดเร็ว เมื่อเอาพืชใส่หม้อกลั่นไม่ต้องเสียเวลารอให้ร้อน ปล่อยไอร้อนเข้าไปได้เลย ปริมาณของสารที่นำเข้ากลั่นก็ได้มาก ปริมาณทำให้ได้น้ำมันหอมระเหยมาก

การกลั่นทั้ง 3 วิธี ควรพิจารณาด้วยว่า การแพร่กระจายของน้ำมันหอมระเหยและน้ำร้อนผ่านเยื่อบางๆ ของพืช การไฮโดรไลซ์สาร องค์ประกอบต่างๆ เนื่องจากสัมผัสกับน้ำตลอดเวลา ตลอดจนการสลายตัวของสารในน้ำมันหอมระเหย อันเนื่องมาจากความร้อน ถึงแม้ว่าก่อนนำพืชมากลั่นจะต้องหั่นหรือทำให้เซลล์แตกก่อน เพื่อให้ได้น้ำมันหอมระเหยออกมาจากเซลล์ได้ง่าย แต่ถึงกระนั้น ก็ยังมีน้ำมันหอมระเหยบางส่วนที่อยู่ที่ผิวและถูกทำให้กลายเป็นไออย่างรวดเร็วด้วยไอน้ำ น้ำมันส่วนที่เหลือภายในจะออกมาสู่ผิวได้ โดยการซึมผ่านผนังบางๆ ของพืช และจะดำเนินไปได้ดีที่อุณหภูมิสูง สารประกอบพวกเอสเทอร์จะถูกไฮโดรไลซ์ให้เป็นกรดและแอลกอฮอล์ได้ง่าย ดังนั้นเพื่อให้ได้น้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพดีที่สุด ควรกลั่นที่อุณหภูมิต่ำสุดเท่าที่จะทำได้ หากได้น้ำมันน้อย ควรใช้อุณหภูมิสูงขึ้น ใช้เวลาให้สั้นที่สุด การกลั่นจะต้องพิจารณาให้รอบคอบ วัดอุณหภูมิและเวลาให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมที่สุด

ในการกลั่นน้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 วิธีนี้ สามารถทำเองได้ อุปกรณ์ที่สำคัญสำหรับใช้กลั่น มี 3 อย่างคือ หม้อกลั่น (Still) เครื่องควบแน่น (Condenser) และภาชนะรองรับ (Receiver) การกลั่นด้วยไอน้ำจะต้องมีหม้อต้มน้ำ (Boiler) สำหรับทำไอน้ำเพิ่มอีกอย่างหนึ่ง

การกลั่นดังกล่าวแม้จะเป็นวิธีที่ใช้กันมาก แต่มีข้อเสียหลายประการอันเนื่องมาจากความร้อนทำให้ปฏิกิริยาสลายตัวต่างๆ เกิดขึ้น กลิ่นที่ได้อาจผิดเพี้ยนไปจากธรรมชาติ สารประกอบบางตัวในน้ำมันหอมระเหยที่ละลายได้ดี มีจุดเดือดสูง จะไม่ถูกพามาโดยไอน้ำ ดังนั้น น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นอาจไม่ใช่ที่เกิดในธรรมชาติเสมอไป โดยเฉพาะน้ำมันหอมระเหยจากดอกไม้ทั้งหลายซึ่งเสียได้ง่าย เช่น ซ่อนกลิ่น ไวโอเลต ดอกพุด ไฮยาซิน เป็นต้น เมื่อเวลากลั่นจะไม่ได้น้ำมันหรือน้ำมันที่ได้มีปริมาณน้อยมาก และคุณภาพไม่ดี การใช้วิธีกลั่นจึงไม่เหมาะสม ต้องใช้วิธีอื่นที่ทำให้ได้น้ำมันหอมระเหยใกล้เคียงที่เกิดในธรรมชาติมากที่สุด

(4.4) การสกัดด้วยน้ำมันสัตว์ (Extraction By Animal Fat)

ใช้กับน้ำมันหอมระเหยที่ระเหยได้ง่ายเมื่อใช้วิธีกลั่นด้วยไอน้ำ วิธีนี้จะใช้เวลานานเพราะต้องแช่พืชไว้ในน้ำมันหลายวัน ซึ่งน้ำมันจะช่วยดูดเอากลิ่นหอมของน้ำมันหอมระเหยออกมา วิธีนี้ใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกมะลิ ดอกกุหลาบ เป็นต้น

(4.5) การสกัดด้วยสารทำละลาย (Solvent Extraction)

วิธีนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้นสูง แต่คุณภาพไม่ดีเท่าการกลั่น เพราะหลังจากการสกัดจะได้สารอื่นปนออกมาด้วย การสกัดแบบนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยที่เรียกว่า Absolute Oil วิธีนี้ทนความร้อนสูงไม่ได้ เช่น มะลิ และที่สำคัญคือ หลังจากการสกัดต้องทำการระเหยสารเคมีที่ใช้เป็นตัวสกัดออกให้หมด สารเคมีที่นิยมใช้เป็นตัวสกัดคือ แอลกอฮอล์

(4.6) การคั้นหรือบีบ

วิธีนี้จะทำให้น้ำมันที่อยู่ในเปลือกของผลไม้ เช่น เปลือกพืชตระกูลส้ม ออกมาแต่น้ำมันหอมระเหยที่ได้จะมีปริมาณน้อยและไม่ค่อยบริสุทธิ์

(4.7) การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลว

วิธีนี้จะทำโดยปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกทำให้เป็นของเหลวที่ความดันสูงเป็นวิธีที่ปัจจุบันนิยมใช้มากเพราะจะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีกลิ่นดี มีความบริสุทธิ์สูง แต่วิธีนี้จะมีต้นทุนการผลิตที่สูง

2.2.1.3 อนุมูลอิสระ หรือ Free Radical หรือ ROS (Reactive Oxygen Species)

อนุมูลอิสระ หรือ Free Radical หรือ ROS (Reactive Oxygen Species) คือ โมเลกุลหรืออิออนที่มีอิเลคตรอนโดดเดี่ยว อยู่รอบนอกและมีอายุสั้นมากประมาณ 1 หรือ 10.3-10.10 วินาที จึงจัดว่าเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี โดยทั่วไปอนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยากับสารอื่นใน 2 รูปแบบ คือ โดยการดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนมาจากสารโมเลกุลอื่นที่อยู่ข้างเคียง และโดยการเพิ่มโมเลกุลของออกซิเจนเข้าไป เพื่อให้เกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซิล (Peroxyl Radical) เนื่องจากอนุมูลอิสระมีอิเลคตรอนที่ไม่ได้จับคู่อยู่ในโมเลกุล จึงมีความไวสูงในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลในร่างกาย ทำลายสมดุลของระบบต่างๆในร่างกาย โดยการทำลายองค์ประกอบหลักของเซลล์ เช่น ทำลายหน้าที่ของเซลล์เมมเบรนอันนำไปสู่การตายของเซลล์ ทำลายดีเอ็นเอโดยไปจับกับหมู่ฟอสเฟตและน้ำตาลดีออกซีไรโบส อนุมูลอิสระยังสามารถแตกพันธะเปปไทด์ของโปรตีน ทำให้โปรตีนไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นสาเหตุของการเกิดการกลายพันธุ์และการเกิดมะเร็ง นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดสภาวะทางพยาธิสภาพในโรคสำคัญบางโรค ได้แก่ โรคหัวใจ ไขมันอุดตันในเส้นเลือด ไขข้ออักเสบ ต้อกระจก เป็นต้น (อัญชนา เจนวิธีสุข, 2544)

(1) ชนิดของอนุมูลอิสระ สามารถแบ่งได้อย่างง่ายๆ คือ

(1.1) อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการเมทาบอลิซึมของร่างกายเอง

(1.2) อนุมูลอิสระจากภายนอกร่างกาย

(1.2.1) การติดเชื้อ ทั้งจากแบคทีเรียและไวรัส

(1.2.2) การอักเสบชนิดไม่ทราบสาเหตุ (Autoimmune Diseses) เช่น ข้ออักเสบ รูมาตอยด์ โรคเก๊าท์

(1.2.3) รังสี

(1.2.4) สิ่งแวดล้อมที่เป็นมลพิษ เช่น ควันเสียและเขม่าจากเครื่องยนต์ ควันบุหรี่ ยาฆ่าแมลง

(1.2.5) การออกกำลังกายอย่างหักโหม

(2) การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

วิธีที่นิยมทั่วไปมี 3 วิธี คือ วิธีที่1Antioxidant Activity เป็นการวิเคราะห์หาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีอิค **วิธีที่ 2** Reducing Power เป็นการวิเคราะห์หาความสามารถในการลดสารต้านอนุมูลอิสระ และ **วิธีที่ 3** Scavenging Effect on 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl Radicals (DPPH) เป็นการวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการกำจัดสาร DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระชนิดหนึ่ง โดยได้อธิบายรายละเอียดของแต่ละวิธีดังนี้

วิธีที่ 1 Antioxidant Activity เป็นการวิเคราะห์หาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ของกรดลิโนลีอิค แสดงดังรูป 2.3

รูป 2.3 สูตรโครงสร้างของกรดลิโนลีอิค

ที่มา : www.wikimedia.org

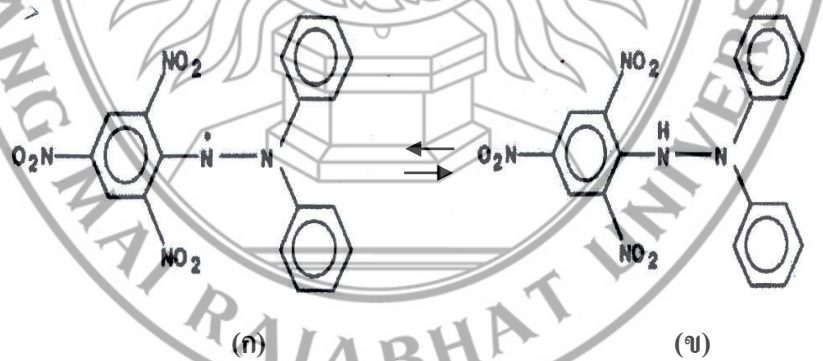
กรดลิโนลีอิคเป็นกรดไขมันชนิดหนึ่งที่มีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบ ซึ่งสามารถจับกับอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในระบบเป็นอนุมูลอิสระอื่น จากนั้นจึงทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศได้ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็น Conjugated Diene ที่เสถียร (Erikson,1987) สารต้านอนุมูลอิสระมีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบ ทำให้สารต้านนี้สามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระได้ จึงสามารถลดการเกิดเป็นอนุมูลอิสระของกรดลีโนลีอิกได้ ด้วยเหตุนี้ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีอิคจึงวัดโดยเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงในสารละลายที่มีกรดลิโนลีอิคผสมอยู่ ทิ้งไว้ระยะหนึ่ง จากนั้นใช้เครื่อง UV Spectrophotometer วัดค่า

การดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 234 นาโนเมตร ค่าที่ได้นี้แปรผันกับความเข้มข้นของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้น ดังนั้นการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงจึงบ่งบอกได้ถึงความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ได้

วิธีที่ 2 Reducing Power การวิเคราะห์หาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารที่เป็นรีดิวซิงเอเจนต์สามารถจ่ายอิเล็คตรอนให้กับอะตอมหรือโมเลกุลในตระกูลของโลหะที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ (เช่น เหล็ก ทองแดง เป็นต้น) (Halliwell And Gutteridge,1984) เหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์ริคไอออน (Fe^{3+}) มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนจากสารอื่นๆ ได้ดี ในด้านชีวเคมี อนุมูลอิสระที่พบมากที่สุดเป็นสารที่มีออกซิเจนและไวต่อปฏิกิริยา (ROS) ไอออนอิสระของเหล็กสามารถเป็นตัวเร่งการเกิด ROS เช่น อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และอนุมูลไฮดรอกซิล เป็นต้น เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการให้อิเลกตรอนของแต่ละสารที่สกัดได้ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเฟอร์ริคไอออนกับสารสกัดแต่ละชนิดมีค่าคงที่ และค่าของการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร จากเครื่องมือวิเคราะห์สารโดยใช้หลักการ ทางสเปคโทรโฟรโตเมเตอร์(UV Spectrophotometer) จะมีค่าแปรผันตามความเข้มข้นของเฟอร์รัสไอออนที่เกิดขึ้น ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงจึงบ่งบอกได้ถึงความสามารถของการเป็นรีดิวซิงเอเจนต์

วิธีที่ 3 Scavenging Effect on DPPH การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร 2,2- Diphenyl-1-Picrylhydrazyl Radicals (DPPH)



(ก) (ข)

รูป 2.4 สูตรโครงสร้างของ DPPH

DPPH คือ อนุภาคอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเลคตรอนได้อีก ดัง**รูป2.4 (ก)** เพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ และเมื่อได้รับอะตอมไฮโดเจนจากโมเลกุลอื่นจะทำให้สารดังกล่าวไม่เป็นอนุมูลอิสระ ดัง**รูป 2.4 (ข)**

ดังนั้นความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ศึกษานี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการรวมตัวกับ DPPH อยู่ในรูปอนุมูลอิสระเสถียรอยู่ในสารละลาย (นิยมใช้ DPPH อยู่ในรูปอนุมูลอิสระมาก เพราะใช้งานง่าย) โดยในการทดสอบนี้จะให้ DPPH (มีสีม่วงเข้ม) ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในระยะเวลาที่กำหนด ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จะแปรผันกับความเข้มข้นของ DPPH ดังนั้นการลดลงของความเข้มข้นของ DPPH (สีอ่อนลง) บ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ

(3) สารต้านอนุมูลอิสระ (นวลศรี รักอริยะธรรม และอัญชลี เจนวิถีสุข, 2546)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือสารที่มีสมบัติยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระที่ร่างกายได้รับ เช่น ควันบุหรี่ แอลกอฮอล์ รังสี UV เอ็กซเรย์ ให้กลายเป็นสารที่ไม่มีอันตรายต่อเซลล์ร่างกาย สามารถป้องกันหรือซ่อมแซมความเสียหายของเซลล์ร่างกายจากออกซิเจนได้เป็นต้น หรือสารเคมีที่ทำหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน รวมถึงสารที่สามารถยับยั้งและควบคุมอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ มีทั้งที่เป็นสารจากธรรมชาติ (Natural Antioxidant) เช่น Amino Acid, Ascorbic Acid, Carotenoid, Flavonoid, Melanoidin, Other Organic Acid, Peptides, Tannins, Tocopherols เป็นต้น และสารสังเคราะห์ (SyntheticAntioxidant) เช่น Tert-butyl-4-hydroxyanisol(BHA),Tert-butyl-4-hydroxytoluene(BHT) และ Tert-butyl-hydroquinone (TBHQ) เป็นต้น

(4) หน้าที่และประโยชน์ของสารต้านอนุมูลอิสระ

(4.1) สารต้านอนุมูลอิสระช่วยไม่ให้พวกอนุมูลอิสระก่อตัวขึ้นโดยสารแอนติออกซิเดนท์จะนำออกซิเจนซึ่งเป็นตัวที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันไปอยู่ที่ที่ควรจะอยู่ นอกจากนี้สารแอนติออกซิเดนท์ยังยับยั้งพวกโลหะ เช่น เหล็ก ซึ่งเป็นตัวเริ่มต้นในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้อนุมูลอิสระไม่มีโอกาสเกิดมาทำร้ายร่างกายได้

(4.2) สารต้านอนุมูลอิสระจะหยุดยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ โดยทำให้อนุมูลอิสระคงตัวและเป็นการหยุดการก่อตัวใหม่ของอนุมูลอิสระ

(4.3) สารต้านอนุมูลอิสระช่วยซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดจากตัวอนุมูลอิสระทำลายเซลล์ต่างๆในร่างกาย

(4.4) สารต้านอนุมูลอิสระช่วยกำจัดและแทนที่โมเลกุลที่ถูกทำลายเพราะสารเหล่านี้เป็นพิษต่อร่างกาย

(5) ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ

โดยทั่วไปสารต้านอนุมูลอิสระแบ่งเป็น 5 ประเภทใหญ่ๆ ดังนี้ (อรอุมา ไชยชนะ, 2548)

(5.1) Primary Antioxidant

สารในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ได้แก่สารประกอบฟีนอลิค (Phenolic Substance) ทำหน้าที่หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของไขมัน นอกจากนี้ยังรวมถึงสารโทโคฟีรอลธรรมชาติและสังเคราะห์ (Natural And Synthetic Tocopherol) ได้แก่ Alkyl Gallate, BHA, BHT, TBHQ และอื่นๆ ซึ่งสารในกลุ่มดังกล่าวทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเลคตรอน

(5.2) Oxygen Scavenger

สารในกลุ่มนี้ได้แก่ กรดแอสคอร์บิคหรือวิตามินซี Ascorbyl Palmitate Erythorbic Acid (Isoascorbic Acid) และ Sodium Erythorbate เป็นต้น สารในกลุ่มนี้จะเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจน จึงเป็นการช่วยกำจัดออกซิเจนในระบบปิดได้

(5.3) Secondary Antioxidant

สารในกลุ่มนี้ได้แก่ Dilauryl thiopropionate และ Thiopropionic Acid ทำหน้าที่สลายโมเลกุลของ Lipid Hydroperoxide ให้เป็นสารที่มีความเสถียร

(5.4) Enzymic Antioxidant

สารในกลุ่มนี้ได้แก่เอนไซม์ต่างๆซึ่งแบ่งเป็น Primary Antioxidant Enzyme และ Ancillary Antioxidant Enzyme สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่กำจัดออกซิเจนหรืออนุพันธ์ของออกซิเจน โดยเฉพาะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์(H_2O_2)

(5.5) Chelating Agent หรือ Sequestrant

สารในกลุ่มนี้ เช่น กรดซิตริค กรดอะมิโน Ethylene-diamine-tetra-acetic Acid (EDTA) เป็นต้น สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ไปจับกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็กและทองแดง ซึ่งไอออนเหล่านี้เป็นไอออนที่ส่งเสริมและเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียร

(6) ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ

(6.1) เบต้าแคโรทีน (Beta-Carotene) จัดอยู่ในกลุ่มแคโรทีนอยด์สามารถเปลี่ยนรูปเป็นเรตินอลได้ในทางเดินอาหารเชื่อว่า แคโรทีนอยด์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน

(6.2) วิตามินเอ (Vitamin A) มีความสำคัญต่อการมองเห็น การเจริญเติบโตของเซลล์ ระบบภูมิคุ้มกัน และการสร้างเม็ดเลือด ปริมาณที่แนะนำให้บริโภค ผู้ใหญ่เพศชายควรบริโภค 700 ไมโครกรัมต่อวัน เพศหญิงควรบริโภค 600 ไมโครกรัมต่อวัน

(6.3) วิตามินซี (Vitamin C) มีความสำคัญต่อการสังเคราะห์คอลลาเจน คาร์นิทีน สารเหนี่ยวนำกระแสประสาท เพิ่มภูมิต้านทานและช่วยในการดูดซึมเหล็ก มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณที่แนะนำให้บริโภค ผู้ใหญ่เพศชายควรรับประทาน 90 มิลลิกรัมต่อวัน ส่วนเพศหญิงควรรับประทาน 75 มิลลิกรัมต่อวัน

(6.4) ลูติน (Lutin) เป็นสารธรรมชาติพบได้มากในพืชผักที่มีสีเขียวเข้ม เช่น ผักกาดเขียว ใบหยิก ผักปวยเล้ง ในชีวิตประจำวันนอกจากจะต้องเผชิญกับรังสียูวีในแสงแดดที่กระทบต่อดวงตาโดยตรงแล้ว ยังต้องเจอกับแสงจ้าจากเครื่องคอมพิวเตอร์และทีวีวันละหลายชั่วโมง เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เซลล์ในตาอ่อนแอหรือเสื่อมสภาพและตาบอดได้ ซึ่งการรับประทานลูตินจะเป็นสารอาหารที่ช่วยป้องกันการเสื่อมของจุดรับภาพและจอประสาทตาได้ดี เพราะมีส่วนรวมในการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ที่สำคัญ ปริมาณการใช้ วันละ 6-20 มิลลิกรัม

(6.5) กรดอัลฟาไลโปอิค สารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาตินี้ทำหน้าที่สำคัญ ๆ หลายอย่างในร่างกาย การใช้เป็นอาหารเสริมจะมีบทบาทสำคัญในการช่วยปรับปรุงกระบวนการเผาผลาญน้ำตาลให้เป็นพลังงาน จึงช่วยป้องกันและบรรเทาโรคแทรกซ้อนในผู้ป่วยเบาหวานได้ดี

(6.6) แนทเชอรัลเบต้าคาโรทีน เป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ นอกจากประโยชน์ในการบำรุงสายตาและผิวพรรณแล้ว เบต้าแคโรทีนยังช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งที่ปอดจากการสูบบุหรี่จัด ลดการก่อเซลล์มะเร็งที่ผิวหนัง และทำให้ผิวหนังสามารถต้านทานต่อแสงแดดได้นานยิ่งขึ้น เบต้าแคโรทีนจากธรรมชาติที่สกัดได้จากสาหร่าย *D.Salina* จะเป็นแหล่งของเบต้า-แคโรทีนที่เข้มข้น และปลอดภัยกว่าชนิดทั่วไปที่เป็นเคมีสังเคราะห์ ปริมาณการใช้ วันละ 6-15 มิลลิกรัม

(6.7) โคเอ็นไซม์คิวเท็น มีหน้าที่หลักในกระบวนการสร้างพลังงานในระดับเซลล์ เพื่อให้เซลล์ต่าง ๆ ของร่างกายทำงานได้อย่างปกติ หากร่างกายขาดโคเอ็นไซม์คิวเท็นถึง 75 เปอร์เซ็นต์ ก็อาจเสียชีวิตได้ ทั้งนี้เซลล์ที่ต้องการพลังงานสูงและมีความต้องการโคเอ็นไซม์คิวเท็นมากเป็นพิเศษ ได้แก่ เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ เซลล์สมอง เพื่อให้มีความตื่นตัว เพิ่มทักษะในการจดจำ และผ่อนคลายจากความตึงเครียด ส่วนเซลล์ผิวหนังต้องการโคเอ็นไซม์คิวเท็นเพื่อช่วยฟื้นฟูความสดใส ปริมาณการใช้ วันละ 6-15 มิลลิกรัม

(6.8) แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มนี้จะช่วยป้องกันโรคมะเร็ง โรคหัวใจ และความเสื่อมของร่างกาย โดยปกติในธรรมชาติจะพบในรูปเบต้า-แคโรทีน (Beta-carotene) ซึ่งสามารถเปลี่ยนไปเป็นวิตามินเอ ที่เป็นวิตามินสำคัญต่อการทำงานของดวงตา นอกจากนี้ยังมีแคโรทีนอยด์ธรรมชาติในรูปของไลโคพีน (Lycopene) ซึ่งเป็นสารที่สามารถต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก ดังนั้นจึงเห็นได้ว่า สารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดนั้นมีบทบาทและกลไกการออกฤทธิ์ที่โดดเด่นแตกต่างกันออกไป ด้วยเหตุนี้การนำเอาคุณค่าจากสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใช้ร่วมกันนั้นจึงอาจเป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยให้ห่างไกลจากโรคภัยอันเกิดจากอนุมูลอิสระที่ต้องเผชิญอยู่ในชีวิตประจำวัน

(6.9) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) สารเชิงซ้อนชนิดนี้สามารถทำงานร่วมกับวิตามินซี โดยสามารถเปลี่ยนให้เป็นรูปแบบที่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีได้ นอกจากนี้ฟลาโวนอยด์ยังสัมพันธ์กับการควบคุมการสร้างไนตริกออกไซด์ (Nitric Oxide) ที่จำเป็นต่อการไหลเวียนโลหิตรวมทั้งการส่งผ่านสารอาหารให้กับเซลล์ประสาทอีกด้วยโดยปกติธรรมชาติอาจพบอนุพันธุ์ฟลาโวนอยด์ในรูปของ โพแอนโทไซยานิดิน (Proanthocyanidin) ในบิลเบอร์รี่ ซึ่งจะช่วยป้องกันการทำลายหลอดเลือดในดวงตา รวมทั้งยังช่วยส่งเสริมระบบไหลเวียนโลหิตอีกด้วย ขณะที่ในชาเขียวจะพบสารฟลาโวนอยด์ที่มีบทบาทสำคัญในการป้องกันการทำลายเซลล์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน แอลดีแอล

(6.10) ซีลีเนียม (Selenium) แร่ธาตุชนิดนี้จะทำงานร่วมกับวิตามินอี และเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์หลายชนิดที่ทำหน้าที่ทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น โดยทางการแพทย์มีการนำซีลีเนียมมาใช้ร่วมกับวิตามินอี เพื่อยับยั้งการโตของเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก รวมทั้งมะเร็งในส่วนอื่นๆเช่น ปอด ลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย ผิวหนังซึ่งอุบัติการณ์ของมะเร็งเหล่านี้พบว่า มีความเกี่ยวข้องกับระดับของเซเรเนี่ยมในกระแสเลือดที่ลดลงทั้งสิ้นนอกจากนี้ซีลีเนียมยังช่วยลดความเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจอันเนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันชนิดเลว ซึ่งก่อให้เกิดการสะสมของตะกอนและลิ่มเลือดบริเวณหลอดเลือดหัวใจ

(6.11) กลูทาไธโอน (Glutathione) เป็นอนุพันธ์ของโปรตีนที่พบในร่างกาย มีคุณสมบัติในการจับสารพิษและสารก่อมะเร็งได้มากกว่า 12 ชนิด โดยผ่านกระบวนการทางชีวเคมีระดับเซลล์ เพื่อกำจัดสารเหล่านั้นให้ออกไปทางปัสสาวะหรือทางน้ำดี นักวิจัยพบว่า ระดับกลูตาไทโอนที่ลดลงในผู้สูงอายุนี้จะสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งปอด ผิวหนัง ต่อมลูกหมากและกระเพาะปัสสาวะ รวมถึงโรคชรา กลูตาไทโอนนั้นสามารถพบได้ในผักและผลไม้หลายชนิด เช่น วอลนัต ผักโขม ดอกกะหล่ำ บร็อคเคอรี่ ผลไม้ตระกูลซิตรัส และเบอร์รี่

2.2.1.4 เชื้อแบคทีเรีย

แบคทีเรียเป็นประเภทของสิ่งมีชีวิตประเภทใหญ่ประเภทหนึ่ง มีขนาดเล็กมองด้วยตาเปล่าไม่เห็น ส่วนใหญ่มีเซลล์เดียวและมีโครงสร้างเซลล์ไม่ซับซ้อนมาก โดยทั่วไปแบคทีเรียแบ่งได้หลายรูปแบบ แบ่งตามรูปร่าง แบ่งได้หลายแบบทั้งกลม (Cocci), แบบท่อน (Bacilli, Rod), แบบเกลียว (Spiral)ซึ่งแต่ละแบบก็จะมีการจัดเรียงเซลล์ต่างกัน หรือแบ่งตามการย้อมติดสีแกรม (Gram's Strand) มีได้สองลักษณะ คือ พวกที่ติดสีแกรมบวก (Gram Positive) และที่ติดสีแกรมลบ (Gram Negative) แต่บางชนิดสามารถติดสีทั้งสองเรียกว่า Gram Variable ซึ่งเกี่ยวข้องกับผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (ศิวาพร ศิวเวช, 2542)

(1) เชื้อสแตปฟิโลคอคคัส ออเรียส (*Staphylococcus Aureus*)

รูป 2.5 เชื้อ *Staphylococcus Aureus*

ที่มา : www.wikipedia.0rg.

ลักษณะ เป็นแบคทีเรียรูปร่างกลม มักพบเป็นคู่เกาะกันด้วยสายสั้นๆ เป็นกิ่ง หรือลักษณะคล้ายพวงองุ่น ดังรูป 2.5

แหล่งที่พบ ในอากาศ ฝุ่นละออง ขยะมูลฝอย น้ำ อาหารและนม หรือ อาหารบรรจุเสร็จ สภาวะแวดล้อมภายนอกมนุษย์และสัตว์ โดยพบอยู่ทางระบบหายใจ ลำคอ เส้นผม และผิวหนัง

โทษ สาเหตุที่ทำให้เกิดโรค การรับประทานอาหารและการหายใจที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อน

อาการของโรค อาการทั่วไปที่พบคือผู้ป่วยมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้องและอ่อนเพลีย ในผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการอื่นแทรกซ้อน คือมีอาการปวด

หัว เป็นตะคริวที่กล้ามเนื้อ และมีการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเป็นระยะ ๆ รวมทั้งอาจมีการเต้นของชีพจรผิดปกติซึ่งโดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นภายใน 2-3 วัน

(2) เชื้อเครบซิลา นิวมูเนีย (*Klebsiella Pneumoniae*)

รูป 2.6 เชื้อ *Klebsiella Pneumoniae*

ที่มา : www.wikipedia.0rg.

ลักษณะ รูปร่างเป็นท่อนตรงยาวประมาณ 1-2 ไมโครเมตร กว้าง 0.5-0.8 ไมโครเมตร ดังรูป 2.6

แหล่งที่พบ ในอากาศ และ ฝุ่นละออง

โทษ สาเหตุที่ทำให้เกิดโรค การหายใจรับเชื้อนี้เข้าไป

อาการของโรค เกิดโพรงหนองและทำให้เสมหะมีเลือดและข้นเหนียว รวมทั้งเป็นสาเหตุของโรคปอดบวม การติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ การติดเชื้อที่แผลไฟไหม้ หรือติดเชื้อซ้ำในระบบหายใจในโรงพยาบาล

(3) เชื้อแซลโมเนลลา ไทฟี (*Salmonella Typhi*)

รูป 2.7 เชื้อ *Salmonella Typhi*

ที่มา :www. wikipedia.0rg.

ลักษณะของเชื้อ รูปแท่ง มีขนาด 0.7-1.5 ไมโครเมตร ยาว 2-5 ไมโครเมตร เจริญได้ดีทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่ยาว ดังรูป 2.7

แหล่งที่พบ อาหาร เครื่องดื่ม และ ขยะมูลฝอย

โทษ สาเหตุที่ทำให้เกิดโรค โดยการรับประทานอาหาร หรือเครื่องดื่มที่มีเชื้อปนเปื้อน

อาการของโรค เริ่มต้นด้วยอาการอ่อนเพลีย เบื่ออาหาร ปวดศีรษะ มีไข้ มักมีอาการท้องผูกหรือไม่ก็ถ่ายเหลวเสมอ อาจมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดแน่นท้อง ท้องอืดและกดเจ็บเล็กน้อย ต่อมาไข้จะสูงขึ้นทุกวัน และมีไข้ตลอดเวลา อาการไข้มักจะเรื้อรังเป็นสัปดาห์ถึงเดือน บางรายอาจเพ้อ หรือปวดท้องรุนแรง คนไข้จะซึมและเบื่ออาหารมาก ไข้พาราทัยฟอยด์มีอาการคล้ายกันแต่รุนแรงน้อยกว่า มักมีอาการท้องเดิน และอาเจียนนำมาก่อน ไม่ค่อยมีภาวะแทรกซ้อน อาการสำคัญแทรกซ้อน ลำไส้อักเสบ เป็นแผลมีเลือดออกในลำไส้ ลำไส้ทะลุ อักเสบในช่องท้อง ปอดบวม โลหิตเป็นพิษ กล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ

(4) เชื้อบาซิลลัส ซีเรียส (*Bacillus Cereus*)

รูป 2.8 เชื้อ *Bacillus Cereus*

ที่มา : www.wikipedia.0rg.

ลักษณะ ท่อนตรง ขนาด 0.3 – 2.2 × 1.2 – 7.0 ไมโครเมตร ดังรูป 2.8 ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้

แหล่งที่พบ พบทั่วไปในธรรมชาติ ในดิน ฝุ่นละออง ผลิตภัณฑ์จากพืช เช่น ข้าว ธัญพืช แป้ง ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ และเครื่องปรุงแต่งรสต่างๆ นอกจากนี้ยังพบในอุจจาระของคนที่มีสุขภาพปกติได้ประมาณ 15 %

โทษ สาเหตุที่ทำให้เกิดโรค สามารถถ่ายทอดเข้าสู่ร่างกายได้ โดยการรับประทานอาหารที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อน

อาการของโรค บาซิลลัส ซีเรียสเป็นแบคทีเรียที่สร้างสารพิษ

การเกิดพิษมี 2 ลักษณะ อาการ คือ ทำให้อาเจียน (Emetic Illness)โดยอาการอาเจียนเกิดจากการได้รับสารพิษชนิดที่มีความคงทน ที่สามารถมีชีวิตรอดได้ในอุณหภูมิสูงและค่าความเป็นกรด – ด่างสูง โดยผู้ป่วยเกิดอาการคลื่นไส้และอาเจียน ภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไป 11-15 ชั่วโมงทั่วไปมักปรากฏภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไป 30 นาทีถึง 6 ชั่วโมง และทำให้ท้องเสียโดยอาการท้องเสียเกิดจากสารพิษที่ไม่ทนความร้อนและกรด ตามปกติใช้เวลาฟักตัวประมาณ 6-12 ชั่วโมง หลังจากบริโภคอาหารที่มีปนเปื้อนสารพิษของเชื้ออาการประกอบด้วย การปวดท้องและถ่ายอุจจาระเหลว เนื่องจากมีน้ำมาก โดยทั่วไปอาการจะอยู่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง แล้วทุเลาลง

(5) เชื้อเอสเชอริเชียร์ โคไล (*Escherichia coli*)

รูป 2.9 เชื้อ *Escherichia coli*

ที่มา: Microbelibrary.org

ลักษณะ *Escherichia coli* หรือ อีโคไล (นิยมใช้ชื่อย่อ *E. coli*) เป็นแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์ม ดังรูป 2.9

แหล่งที่พบ เชื้อนี้มักปนเปื้อน มากับอาหาร น้ำ หรือ มือของผู้ประกอบอาหาร ทำให้ได้รับเชื้อเข้าไปทีละน้อยเป็นเวลาติดต่อกัน ปกติเชื้อเหล่านี้อาจพบในอุจจาระได้อยู่แล้วแม้จะไม่มีอาการอะไร

โทษ สาเหตุที่ทำให้เกิดโรค แบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดอาการท้องเสียบ่อยที่สุดทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ โดยการรับประทานอาหาร หรือเครื่องดื่มที่มีเชื้อปนเปื้อน

อาการของโรค ให้เกิดอาการท้องเสีย ทำให้ถ่ายอุจจาระเหลวหรือเป็นน้ำ แต่อาการมักไม่รุนแรง เพราะทั้งเด็ก และผู้ใหญ่มักมีภูมิต้านทานอยู่บ้างแล้ว

(6) การแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยการเขี่ยเชื้อในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Streak Plate)

การเขี่ยเชื้อในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Streak Plate) เป็นการเขี่ยเชื้อจุลชีพที่มีความเข้มข้นมาก ให้ค่อยๆกระจายออกไปหรือมีความเจือจางพอที่จะทำให้แต่ละเซลล์แยกออกจากกัน และแต่ละเซลล์จะเจริญแบ่งตัวมากขึ้นเป็นโคโลนีที่มองเห็นด้วยตาเปล่า จึงคาดหวังได้ว่าแต่ละโคโลนีน่าจะเป็นเชื้อบริสุทธิ์ ถ้าไม่แน่ใจให้ทำการขีดเชื้อในจานเพาะ เชื้อใหม่ซ้ำอีกหลายๆ รอบ การเขี่ยเชื้อในจานเพาะเชื้อ (ธัญญา สนธิคุณ, 2547) กระทำได้หลายแบบ คือ

(6.1) การเขี่ยเชื้อแบบง่าย (Simple Streak) เป็นการเขี่ยเชื้อ โดยใช้ Loop ลนไฟจนร้อนแดงและทิ้งให้เย็นสักครู่ แตะเชื้อที่ต้องการจะแยกเชื้อบริสุทธิ์ มาขีดบนผิววุ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อในจานใหม่ ที่จุดเริ่มต้นเชื้อจะมีความเข้มข้นมาก เมื่อขีดในจานเลี้ยงเชื้อไปเรื่อยๆ จำนวนเชื้อจะเหลือน้อยลงจนอาจแยกเป็นเซลล์เดี่ยวๆได้

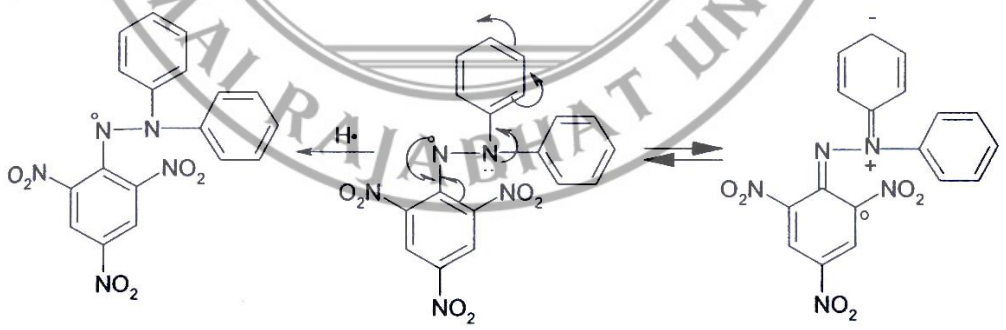
(6.2) การเขี่ยเชื้อแบบตัดกัน (Cross Streak) เป็นวิธีที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ Loop ที่เผาไฟและรอให้เย็น แล้วแตะเชื้อมาขีดบนอาหารวุ้นตามแนว 1-2 ประมาณ 3-4 เส้น เผา Loop ก่อนแล้วจึงนำมาเขี่ยบนอาหารจานเดิมอีก โดยให้มีรอยขีดตัดผ่านตอนปลายของแนวเล็กน้อย ทำนองเดียวกัน เผา Loop และขีดตามแนว 2 และแนว 3 ตามลำดับ ดังนั้นเชื้อจะหนาแน่นมากตามแนวขีดในตอนแรกๆแต่ตอนท้ายๆ เชื้อจะเจือจางลงและแยกแต่ละเซลล์ออกจากกันได้ เมื่อนำมาบ่มที่อุณหภูมิเหมาะสมเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แต่ละเซลล์นั้นจะเจริญเป็นโคโลนีเดี่ยวๆได้ ซึ่งสามารถตรวจสอบได้ด้วยการย้อมแกรม

(6.3) การทำให้เชื้อกระจาย (Spread Plate) มีหลักการเดียวกันโดยใช้แท่งแก้วงอเป็นรูปสามเลี่ยม และมีด้ามย่นออกมาให้จับได้ ก่อนใช้ต้องทำให้แท่งแก้วปราศจากเชื้อโดยจุ่มในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ และลนไฟให้ร้อนแดง หลังจากนั้นใช้แท่งแก้วนี้เกลี่ยเชื้อปริมาณเล็กน้อยให้ทั่วจานอาหารวุ้นเพื่อเป็นการทำให้เซลล์ต่างๆแยกและกระจายออกจากกัน

การแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธีนี้มีข้อดี คือ ใช้เครื่องมือน้อย สะดวก รวดเร็ว และใช้ตัวอย่างเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงนิยมใช้วิธีในห้องปฏิบัติการ

2.2.2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.2.2.1 การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระ(Antioxidant) ด้วยวิธี TLC Screening for DPPH Radical (รุ่งทิพย์ กาวารี, 2545)



สีม่วง สีม่วงเข้ม สีม่วงอ่อน

รูป 2.10 กลไกการเกิดสีของ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical

วิธีนี้เป็นการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการพ่นสารละลาย DPPH ลงไปที่แผ่น TLC ตำแหน่งของสารที่ทำปฏิกิริยากับ DPPH Radical จะทำให้สีม่วงของ DPPH หายไปจึงปรากฏการฟอกจางสีของสารบนพื้น Silica Gel บนแผ่น TLC และควรมองเห็นสีที่ตำแหน่งเดิมของสารนั้นๆ แสดงดังรูป 2.11

ก่อนพ่น DPPH หลังพ่น DPPH

รูป 2.11 ลักษณะของแผ่น TLC ก่อนพ่น DPPH และหลังพ่น DPPH

*หมายเหตุ ในการแต้มน้ำมันหอมระเหยจากตัวอย่างควรแต้มอย่างน้อย 3 จุด เพื่อความแม่นยำ

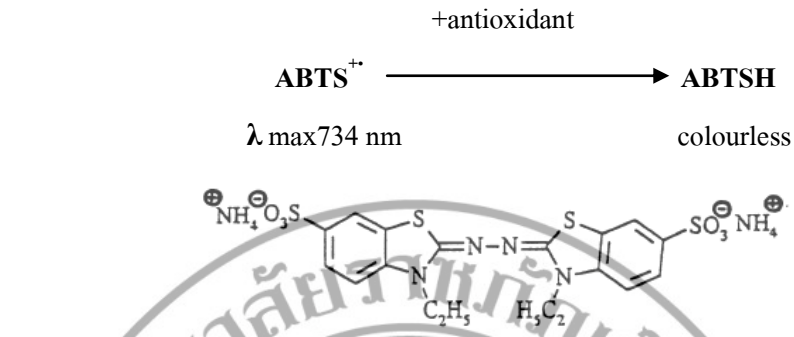
2.2.2.2 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS method

วิธีนี้ใช้สาร 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) หรือ ABTS มีสูตรโมเลกุล $C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$ โครงสร้างแสดงดังรูป 2.12 มาทำให้เป็นอนุมูลอิสระ โดยการถูกออกซิไดซ์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ให้กลายเป็น $ABTS^{+\cdot}$ ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีสีฟ้า-เขียว มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ max) ที่ 660, 734 และ 820 nm แต่จะนิยมวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm โดยปรับค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น $ABTS^{+\cdot}$ ให้เป็น 0.700±0.02 เมื่อเติมสารทดสอบที่มีกิจกรรมฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดังรูป 2.13 จะทำให้ปริมาณ $ABTS^{+\cdot}$ ลดลงโดยสังเกตได้จากสีที่จางลง ค่าการดูดกลืนแสงลดลงมีผลให้สามารถนำไปคำนวณเป็น % inhibition ได้ตามสมการ

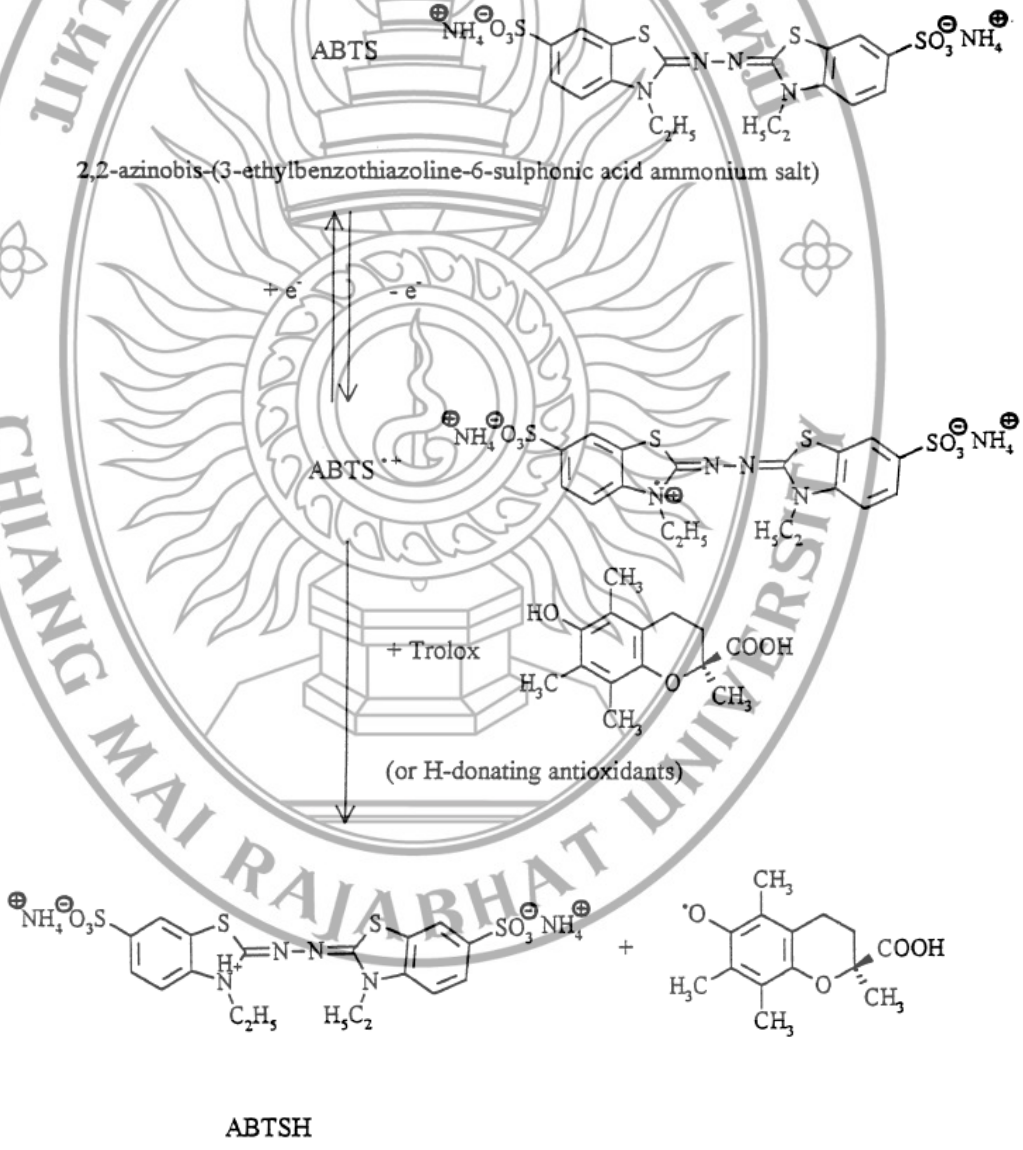
$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{734} \text{ control} - A_{734} \text{ test sample}) / A_{734} \text{ control}] \times 100$$

ผลการวิเคราะห์จะคำนวณเป็นค่าที่สัมพันธ์กับสารต้านออกซิเดชันมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox) จึงมีชื่อว่า Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)

ข้อดีของวิธีนี้ คือ เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และรวดเร็ว เพราะ อนุมูล $ABTS^{+\cdot}$ จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารต้านออกซิเดชันอนุมูล นอกจากนี้ $ABTS^{+\cdot}$ ยังสามารถละลายได้ทั้งในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ จึงเหมาะสำหรับทดสอบฤทธิ์ของสารตัวอย่างที่ละลาย ได้ทั้งในน้ำและในไขมัน ส่วนข้อเสียของวิธีนี้ คือ ABTS ไม่เป็นสารตามธรรมชาติที่ก่อให้เกิดอนุมูลในเซลล์หรือร่างกาย (Robert และคณะ, 1999)



รูป 2.12 โครงสร้างทางเคมีของ ABTS [2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)]



รูป 2.13 การเกิดปฏิกิริยาของ ABTS

2.2.2.3 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH method

อนุมูล DPPH· เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วงโครงสร้างแสดงดังรูป 2.14 อยู่ในรูปอนุมูลอิสระอยู่แล้ว โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลเหมือนกับกรณีอนุมูล $ABTS^{+\cdot}$ การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยวิธีให้ไฮโดรเจนอะตอม การวัดทำโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง Spectrophotometer โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร DPPH radicalใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง (Scavenging Activity) สารละลายของ DPPH· มีสีม่วงในเอทานอล และเมื่อได้รับ H จากสารต้านออกซิเดชันหรืออนุมูลอิสระจะเปลี่ยนเป็น สารละลายสีเหลือง ตามสมการดังนี้ (Thongchai และคณะ, 2009)

รูป 2.14 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH radical

ค่าที่วัดได้จะแสดงความสามารถในการต้านออกซิเดชันออกมาเป็นค่า % inhibition ตามสมการดังนี้

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{520} \text{ control} - A_{520} \text{ test sample})/ A_{520} \text{ control})] \times 100$$

ข้อดีของวิธีนี้คือ เป็นวิธีที่ง่าย และสะดวก ใช้สารตัวอย่างปริมาณน้อย นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ แต่มีข้อเสีย คือ อนุมูล DPPH· มีความคงตัวไม่ไวต่อการทำปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้

2.2.2.4 การทดสอบคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อ (Antimicrobial activity test)

(ธัญญา สนธิคุณ, 2547, 14-15)

การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Agar diffusion method โดยทำให้ตัวยาซึมเข้าไปในอาหารที่ได้ผสมเชื้อจุลินทรีย์จำนวนพอเหมาะไว้ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในตู้เพาะเชื้อ อ่านผลการทดสอบโดยดูวงใสบนอาหารมีหรือไม่ วิธีนี้ทำได้ 4 แบบ คือ

(1) Agar disc diffusion method วิธีนี้ใช้ทดสอบสารปฏิชีวนะและน้ำมันหอมระเหยจากพืชนำแผ่นกระดาษซับ วงกลมเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 6.0 มิลลิเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจุ่มลงในสารสกัดแล้วนำมาวางบนจานเพาะเชื้อ แล้วดูผลจากวงใสที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ วิธีนี้อาจเรียกอีกอย่างว่า Paper disc method ซึ่งสามารถเปรียบเทียบความไวของสารที่ใช้ทดสอบต่อเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด

(2) Agar well method วิธีนี้ใช้ทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของสารสกัดได้จากพืช โดยการเจาะวุ้นให้เป็นหลุมเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร หยดสารที่ต้องการทดสอบโดยใช้ calibrated pipette ลงในหลุมที่เจาะไว้

(3) Cylindrical plate technique โดยการเอาวงแหวนทรงกระบอกเล็กๆ ที่ปลายทั้งสองข้างบนผิวอาหารที่เพาะเชื้อจุลินทรีย์ไว้ แล้วหยดสารที่ต้องการทดสอบลงในวงแหวนทรงกระบอก แล้วดูผลการฆ่าเชื้อของสารนั้น

(4) Gradient plate technique เป็นวิธีการทดสอบสารปฏิชีวนะที่ใช้หลักการซึมของสารจากบริเวณที่มีความเข้มข้นสูง ไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำกว่าในอาหารวุ้น

2.2.2.5 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar Dise Diffusion Method

วิธีการปรับปรุงมาจากวิธีของเคอร์บี บัว (Kirby Bauer Method) โดยทำให้สารซึมผ่านอาหารเลี้ยงเชื้อรา (Agar Diffusion Method) แล้ววัดผลที่เกิดจากวงใสนั้น คือ วิธีการทดสอบโดยใช้กระดาษกรองชุบสารสกัด (Agar Dise Diffusion Method) โดยการนำไม้ก้านพันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจุ่มเชื้อที่ต้องการ ทำมุม 60 องศากวาดบริเวณรอบๆ ผิวหน้าของอาหารแห้ง หลังจากนั้นใช้คีมคีบกระดาษกรองกลมที่ชุบสารตัวอย่างไปวางบนผิวหน้าอาหารแล้วกดเบาๆ เพื่อให้แนบสนิท คว่ำวางกระดาษกรองห่างจากขอบจานเพาะเชื้อประมาณ 15 มม. และวางห่างกันอย่างน้อย 24 มิลลิเมตร หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิเหมาะสมกับเชื้อนั้นๆ แล้วนำมาวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้น การวัดควรเริ่มวัดจากขอบที่มีการเจริญอย่างเห็นได้ชัดเจน

ข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นบ่อยๆ คือ

(1) ปริมาณวุ้นในจานอาหารไม่สม่ำเสมอ คือหนาไม่เท่ากัน เนื่องจากพื้นที่เตรียมจานอาหารไม่อยู่ในแนวระนาบ

(2) เก็บอาหารไว้ไม่ดีหรือเก็บนานเกินไปจนผิวหน้าอาหารแห้ง

(3) เชื้อเจริญก่อนที่จะวางแผ่นกรองกลมที่ชุบยา หรือวางแผ่นกระดาษกรองกลมที่ชุบยา แล้วเก็บจานอาหารในตู้เพาะเชื้อไม่ดี

(4) อุณหภูมิเพาะเชื้อไม่เหมาะสม

(5) วัดวงใสผิดพลาด

(6) ทำการทดลองที่มีเชื้อราหลายชนิดปนอยู่

2.2.2.6 UV-VIS Spectrophotometer (แม้น อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม, 2535,)

การดูดกลืนคลื่นแสงหรือรังสีที่อยู่ในช่วงอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิล ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 190-800 นาโนเมตร (nm) ของสารเคมีนั้น ส่วนใหญ่ได้แก่สารพวกอินทรีย์ (Origanic Compound) สารประกอบเชิงซ้อน (Complex Compound) หรือสารอนินทรีย์ (Inorganic Compound) ทั้งที่มีสีและไม่มีสี สมบัติของสารดังกล่าวนี้ได้นำมาเป็นวิธีวิเคราะห์ในเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพอย่างกว้างขวาง เพราะวิธีนี้ให้ความถูกต้องแม่นยำดีและมีความไว (Sensitivity) โดยอาจทำการวิเคราะห์อยู่ในรูปของธาตุหรือโมเลกุลก็ได้ แต่ในกรณีที่จะนำไปใช้พิสูจน์ว่าสารตัวอย่างนั้นเป็นสารอะไร มีโครงสร้างอย่างไร อาจจะต้องใช้เทคนิคอย่างอื่นเข้าช่วยด้วยเพื่อให้เกิดความแน่ใจ เช่นใช้เทคนิค IR หรือ NMR Spectroscopy เป็นต้น

โดยทั่วไปเทคนิคการวิเคราะห์บางครั้งนิยมเรียกว่า ยูวี-วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตเมตรี แต่ถ้าสารที่ทำการวิเคราะห์มีสีหรือทำให้เกิดสีขึ้น สารที่มีสีนั้นจะดูดกลืนแสงในช่วงวิซิเบิล อาจเรียกว่าคัลเลอริเมตรี (Colorimetry)

(1) องค์ประกอบของเครื่องมือและหน้าที่

เครื่องมือที่ใช้ในการวัดและการดูดแสงโดยทั่วไป จะประกอบด้วยส่วนประกอบหลัก 5 ส่วนคือ

(1.1) ต้นกำเนิดแสง (Light Source) ควรจะมีลักษณะดังนี้

ต้นกำเนิดแสงอัลตราไวโอเลตเป็นหลอดไฮโดรเจน(Hydrogen lamp) หรือหลอดดิวเทอเรียม (Deuterium Lamp)ให้แสงอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 185-375 nm ซึ่งเกิดจากการคายพลังงานของไฮโดรเจนหรือดิวเทอเรียมอะตอมที่อยู่ในสถานะกระตุ้นช่องที่จะให้แสงออกจาก

หลอดจะต้องทำด้วยควอร์ตซ์หรือ fused silica แต่ถ้าใช้วัสดุอื่น เช่น แก้ว จะถูกดูดกลืนแสงในช่วงนี้ได้ ทั้งหลอดไฮโดรเจนและหลอดดิวเทอเรียมจะบรรจุด้วยแก๊สนั้นไว้ที่ความกดดันต่ำ (5 มิลลิเมตรปรอท) และใช้ระบบไฟฟ้าชนิด D.C.ขนาด 40 โวลต์เท่านั้น ทั้งหลอดดิวเทอเรียมและหลอดไฮโดรเจนมีอายุใช้งานจำกัด แต่หลอดดิวเทอเรียมซึ่งมีราคาแพงกว่าจะมีอายุการใช้งานมากกว่า และให้ความเข้มของแสงมากกว่าด้วย

(1.2) โมโนโครเมเตอร์ (Monochromator)

เป็นหัวใจของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เพราะเป็นส่วนที่ใช้ควบคุมแสงโดยจะทำให้แสงที่ออกมาจากต้นกำเนิดแสง ซึ่งเป็นพอลิโครเมติก ให้เป็นแสงโมโนโครเมติกซึ่งเป็นแถบแสงแคบๆ

(1.3) ส่วนที่วางสารตัวอย่างเพื่อวัด (Cell Compartment)

เซลล์ที่บรรจุสารตัวอย่าง (Sample Cell) ซึ่งส่วนนี้จะมีฝาปิดเพื่อกันแสงจากภายนอกจะเข้าไป และถูกกั้นออกจากส่วนที่เป็นระบบอิเล็กทรอนิกและระบบแสง บางครั้งเรียกว่า คิวเวทท์ (Cuvettes) มีด้วยกันหลายแบบ รูปร่างๆกัน ที่ใช้กันโดยทั่วไปมีดังนี้

(1.3.1) เซลล์ที่ทำด้วยแก้วธรรมดา จะใช้ได้เฉพาะในช่วงวิสิเบิลเพราะเนื้อแก้วธรรมดาดูดกลืนแสงในช่วงยูวีได้

(1.3.2) เซลล์ที่ทำด้วยซิลิกา(Silica) และควอร์ตซ์ (Quartz)ใช้ได้ทั้งในช่วงยูวีและวิสิเบิล และยังมีเซลล์ที่เป็นเกรดพิเศษ เรียกว่า Special UV Grade โดยเขียนไว้ว่าเป็น UV-Cell ในการซื้อเซลล์มาใช้ในงานวิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปี มักจะซื้อเป็นคู่ซึ่งเรียกว่า Matched Cell เซลล์ดังกล่าวนี้เป็นเซลล์ที่ได้คัดเลือกแล้วว่ามีลักษณะเหมือนกันทั้งขนาดและการดูดกลืนแสง

(1.4) เครื่องวัดแสง (Radiation Detector)

เครื่องที่ใช้สำหรับวัดแสงนั้นมีด้วยกันหลายแบบ ซึ่งแต่แบบอาจแตกต่างกันบ้างที่ความกว้างของช่วงคลื่นแสงที่สามารถตรวจสอบได้ความเร็วของการตอบสนองต่อแสง สภาพไวของการรับแสง เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อต้องการเปลี่ยนพลังงานแสง (Radiant Energy) ให้เป็นสัญญาณไฟฟ้า (Electrical Signal)

(1.5) เครื่องขยาย – แยกสัญญาณและประมวลผล (Signal Processors and Data Read Out)

สัญญาณที่ได้จากเครื่องวัดจะนำไปเข้ากระบวนการของระบบอิเล็กทรอนิก เช่น ขยายสัญญาณให้มากขึ้น หรืออาจเปลี่ยนสัญญาณ D.C. เป็น A.C. เป็น D.C. อาจ

มีการกรองสัญญาณที่ไม่ต้องการออกไป หรือนำสัญญาณที่ได้ไปแยกออก เข้าเครื่องอินทิเกรชัน หรือเปลี่ยนให้เป็น Log Scale เป็นต้น

(2) หลักการดูดกลืนแสงของสาร (สุรศักดิ์ วัฒเนสก์ และประเสริฐ กิจวัฒนา, 2534)

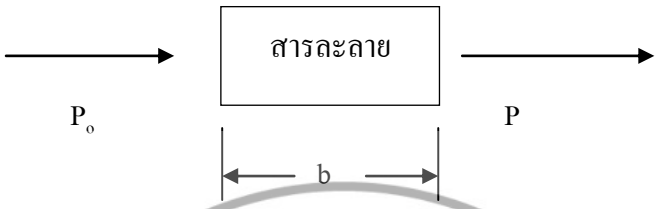
การดูดกลืนแสงของสารนั้นขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานภายในโมเลกุล หรืออะตอมของสารทำให้สารแต่ละชนิดมีความสามารถในการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นหนึ่งๆได้ดี สมบัติเช่นนี้ของสารทำให้สามารถนำมาใช้ในการทำคุณภาพวิเคราะห์ของสารชนิดต่างๆได้

สารที่ไม่มีสีส่วนใหญ่จะดูดกลืนแสงในช่วงต่ำกว่า 380 nm ซึ่งเป็นช่วงที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า (UV) ส่วนความยาวคลื่นที่นิยมใช้สำหรับการวิเคราะห์สารที่มีสีนั้น จะอยู่ในช่วงสเปกตรัมที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า คือช่วงคลื่นตั้งแต่ 380-780 nm ซึ่งจะมีสีแตกต่างกัน

สำหรับสารที่มีสีนั้น สามารถวิเคราะห์หาปริมาณของสารได้ โดยการเทียบสีของสารกับสีของสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆกัน ตั้งแต่มากไปหาน้อย แล้วดูว่าความเข้มข้นของสีที่ต้องการวัดนั้นตรงกับสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นใด วิธีนี้เรียกว่าคัลลอริเมตริก (Colorimetric Method) เนื่องจากสายตาไม่อาจจำแนกความเข้มข้นของสีที่ต่างกันเพราะความเข้มของสีที่ต่างกันเพียงเล็กน้อย และในสารละลายที่มีสารสองชนิดที่มีสีใกล้เคียงกันผสมอยู่ การมองดูด้วยตาเปล่าไม่สามารถจะบอกได้ ค่าความเข้มข้นของสารที่เทียบเคียงได้จึงเป็นเพียงค่าประมาณเท่านั้น ในกรณีเช่นนี้การหาปริมาณสาร โดยวิธีวัดการดูดกลืนแสงของสารที่ช่วงคลื่นเหมาะสมจะให้ค่าที่แน่นอนกว่า

(3) หลักการหาปริมาณของสารโดยใช้การดูดกลืนแสง

ในการหาปริมาณของสารในสารละลายชนิดหนึ่งชนิดใดนั้น ทำได้โดยการผ่านคลื่นแสงที่ทำให้มีสีเดียว (Monochromatic Radiation) เข้าไปในสารละลายที่มีสารซึ่งดูดกลืนแสงและวัดความเข้มข้นของแสงที่ผ่านออกมา ซึ่งจะมีค่าลดลงจากความเข้มข้นก่อนผ่านสารละลาย ความเข้มของแสงจะลดลงมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับปริมาณสารที่มีอยู่ในสารละลายนั้น ถ้าสารมีความเข้มมากจะดูดกลืนแสงไปได้มากทำให้ความเข้มแสงที่ผ่านออกมาลดลง พิจารณาได้ดังรูป 2.15



รูป 2.15. การดูดกลืนแสงของสารละลาย

จากรูป 2.15 ถ้าให้เซลล์หรือภาชนะที่บรรจุสารละลายมีความหนาเท่ากับ b เซนติเมตร ในสารละลายนี้มีสารที่ดูดกลืนแสงที่ได้ความยาวคลื่นหนึ่ง ถ้าผ่านคลื่นแสงที่มีความยาวคลื่นนั้น ที่มีความเข้มข้น Po ในสารละลายเข้มข้น C จะพบว่าคลื่นแสงบางส่วนจะถูกกลืนโดยสาร บางส่วนผ่านทะลุเซลล์ออกไปด้วยความเข้ม P การดูดกลืน สารละลายนี้อธิบายได้โดยของเบียร์-แลมเบิร์ก

(4) ขั้นตอนต่างๆ ของการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค UV-VIS Spectrophotometric

ก่อนที่จะทำการวิเคราะห์ทั้งทางคุณภาพและปริมาณวิเคราะห์ ควรจะได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่างๆเสียก่อน ที่สำคัญ (แม้น อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม, 2535) คือ

(4.1) ศึกษาการเตรียมสารละลายตัวอย่าง โดยเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม นั่นคือตัวทำละลายต้องไม่มีการดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกับสารตัวอย่าง โมเลกุลไม่ควรมี Conjugate system

(4.2) เลือกใช้สภาวะของเครื่องมือที่ถูกต้อง นั่นคือ หลอดกำเนิดแสงที่ใช้อาจจะเป็น Tungstem Lamp, UV-Lamp หรือ Deuterium Lamp ตลอดจนการเลือกใช้สลิทให้ถูกต้องด้วย

(4.3) ศึกษาแอบเซอร์แบนซ์สเปกตรัม โดยสแกนค่าแอบเซอร์แบนซ์กับความยาวคลื่นจากสเปกตรัม จะทำให้ทราบการเลือกความยาวคลื่นสูงสุดที่ความยาวคลื่นเท่าใด

(4.4) ศึกษาตัวแปรต่างๆ ที่จะทำให้ค่าแอบเซอร์แบนซ์เปลี่ยนแปลงตัวทำละลาย คือต้องเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสม เช่น ค่า pH ,ตัวรบกวน เป็นต้น

(5) การวิเคราะห์หาปริมาณของสารด้วยการใช้เทคนิค UV-VIS Spectrophotometric

กรณีที่สารละลายตัวอย่างที่จะวิเคราะห์มีเพียงสารเดียว อาจใช้วิธีทำกราฟมาตรฐาน โดยเตรียมสารละลายที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน แล้วนำไปวัดค่าแอบเซอร์แบนซ์ที่ L โดยเปรียบเทียบกับ Blank นำผลที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้น จะได้กราฟเป็นเส้นตรง เมื่อวัดค่าแอบเซอร์แบนซ์ของสารตัวอย่างได้ ก็หาปริมาณของสารที่จะวิเคราะห์ได้โดยอ่านกราฟมาตรฐานและลักษณะของสเปกตรัม (แม้น อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม, 2535)

ค่าแอบเซอร์แบนซ์ควรอยู่ในช่วงที่พอเหมาะ เพื่อให้ถูกต้องคือ ควรอยู่ในช่วง 0.1-1.0 ถ้าสารละลายเจือจางเกินไปจะวัดค่าแอบเซอร์แบนซ์ได้น้อย แก้ไขโดยการใช้เซลล์ให้สั้นขึ้น แต่ถ้าสารละลายเข้มข้นมากเกินไปก็ใช้วิธีเจือจาง เมื่อวัดค่าแอบเซอร์แบนซ์ได้อาจใช้เครื่องคำนวณโดยการส่งข้อมูลลงไป

2.2.2.7 แก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography, GC)

รูป 2.16 เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีแบบต่างๆ
ที่มา : www.wikipedia.0rg.

แก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography, GC) เป็นเทคนิคแรกเริ่มของเทคนิคการแยกและวิเคราะห์สารอินทรีย์ที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน บทความแรกที่ตีพิมพ์ถึงการนำเทคนิคนี้ไปใช้งานเป็นเรื่องของการวิเคราะห์กรดไขมัน หลังจากนั้นเป็นต้นมาเครื่องมือที่ใช้เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี ก็ได้รับการปรับปรุงทั้งในส่วนของเครื่องมือและในส่วนของเทคนิคที่ใช้จนสามารถวิเคราะห์สารได้อย่างหลากหลายด้วยความรวดเร็วและแม่นยำมากยิ่งขึ้น และยังคงมีการ

พัฒนาต่อไปอย่างไม่หยุดยั้งโดยการผสานเข้ากับเทคนิคการวิเคราะห์แบบอื่นๆ เพื่อให้ได้ผลลัพธ์ที่ถูกต้อง (แม้น อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม, 2535)

แก๊สโครมาโตกราฟีเป็นหนึ่งในเทคนิคของการแยกและวิเคราะห์สารโดยเทคนิคนี้ใช้สำหรับการแยกสารผสมที่สามารถทำให้กลายเป็นไอได้ที่อุณหภูมิพอเหมาะเครื่องมือรุ่นใหม่ๆ ได้รับการปรับปรุงและพัฒนาทั้งในส่วนของอุปกรณ์และเทคนิคเพื่อให้เหมาะสมต่อการนำไปใช้งานที่หลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นด้านการแพทย์พลังงาน และสิ่งแวดล้อม

(1) หลักการแก๊สโครมาโตกราฟี

เทคนิคโครมาโตกราฟีทุกประเภทจะมีหลักการทำงานที่คล้ายคลึงกัน นั่นคือทำการแยกองค์ประกอบของสารที่กระจายอยู่ระหว่างเฟสที่ไม่ผสมกันสองเฟสคือ เฟสอยู่กับที่ (Stationaryphase) และ เฟสเคลื่อนที่ (Mobile Phase) องค์ประกอบของสารตัวอย่างซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่แตกต่างจากเฟสทั้งสองจะเคลื่อนที่ผ่านด้วยอัตราเร็วที่แตกต่างกัน เมื่อองค์ประกอบของสารเคลื่อนที่ผ่านออกมาจากระบบจะถูกชะแล้วผ่านไปยังเครื่องตรวจวัดซึ่งจะทำการรายงานผลออกมาในรูปแบบของโครมาโตแกรม เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไปสิ่งที่ทำให้เทคนิคโครมาโตกราฟีแต่ละเทคนิคมีความแตกต่างกันคือ เฟสเคลื่อนที่ สำหรับแก๊สโครมาโตกราฟีจะมีเฟสเคลื่อนที่เป็นแก๊สนั่นเอง

(2) ประเภทแก๊สโครมาโตกราฟี

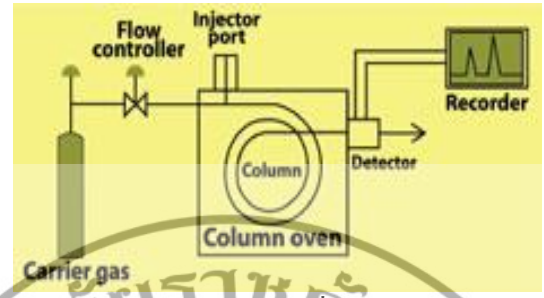
นอกจากการจำแนกประเภทของเทคนิคโครมาโตกราฟีด้วยเฟสเคลื่อนที่แล้ว เราสามารถใช้เฟสอยู่กับที่ในการแยกย่อยประเภทของแก๊สโครมาโตกราฟีได้เป็น 2 ประเภท คือ

(2.1) แก๊สโครมาโตกราฟีแบบของแข็ง (Gas-Solid Chromatography,GSC)

โครมาโตกราฟีประเภทนี้จะใช้ของแข็ง เช่น ซิลิกาเจลเป็นเฟสอยู่กับที่ กลไกการแยกสารที่เกิดขึ้นเป็นแบบการดูดซับ ดังนั้นการแยกสารจะดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติการดูดซับของสารที่บรรจุในคอลัมน์ แต่โดยทั่วไปแล้ว โครมาโตกราฟีชนิดนี้ไม่เป็นที่นิยมใช้กันมากนัก

(2.2) แก๊สโครมาโตกราฟีแบบของเหลว (Gas-Liquid Chromatography, GLC)

โครมาโตกราฟีประเภทนี้จะใช้ของเหลวเป็นเฟสอยู่กับที่ ดังนั้นจึงต้องทำการเคลือบของเหลวให้เป็นชั้นบางๆ บนของแข็งเฉื่อยที่เรียกว่า Solid Supporter กลไกการแยกสารที่เกิดขึ้น เป็นแบบพาร์ทิชันซึ่งสามารถใช้ได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้างมากและให้ผลการทดลองที่ดีกว่า GSC จึงทำให้ GLC เป็นที่นิยมใช้



รูป 2.17 แสดงองค์ประกอบเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

ที่มา : www.wikipedia.0rg.

(3) ส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโตรมาโตกราฟี

เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีโดยทั่วๆ ไปแสดงดังรูป 2.17 จะประกอบด้วยส่วนหลัก 4 ส่วน ดังนี้

(3.1) Gas Supply Unit แก๊สที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่จะต้องเป็นแก๊สเฉื่อย โดยปกติแล้วจะใช้ไนโตรเจน ฮีเลียม อาร์กอน หรือคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งการเลือกชนิดของแก๊สจะขึ้นกับชนิดของเครื่องตรวจวัด เฟสเคลื่อนที่นี้จะถูกนำเข้าสู่เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีผ่านทางตัวควบคุมอัตราการไหลเพื่อรักษาให้มีอัตราการไหลคงที่ถ้าอัตราการไหลมีการเปลี่ยนแปลงไปเพียง 1 เปอร์เซ็นต์จะทำให้เวลาในการหน่วงเหนี่ยวเปลี่ยนไป 1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อจะให้ความแม่นยำมีค่าไม่เกิน 1 เปอร์เซ็นต์จะต้องทำการควบคุมอัตราการไหลให้มีการเปลี่ยนแปลงไม่เกิน +0.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นเรื่องยากในการควบคุมเพราะเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในการทำโปรแกรมอุณหภูมิก็จะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงความหนืดและอัตราการไหลของแก๊ส ดังนั้นเครื่องมือในรุ่นใหม่ๆ จึงมีระบบไมโครโปรเซสเซอร์ในการควบคุมอัตราการไหลเพื่อแก้ไขปัญหา

(3.2) Sample Inlet Systems ระบบของการใส่สารตัวอย่าง โดยทั่วไปส่วนที่ใส่สารตัวอย่างเข้าไป (Inlet) จะมีเครื่องให้ความร้อน (Cheater) ประกอบอยู่ด้วยเพื่อทำให้สารตัวอย่างกลายเป็นไอ ปริมาณของสารตัวอย่างที่ใช้ก็มักจะน้อย

(3.2.1) Gas Sample Inlet ตัวอย่างที่เป็นแก๊สมักจะใช้ฉีดเข้าไปด้วย Gas –Tight Syringes แต่วิธีที่ดีที่สุดใช้ Gas Sampling Value แก๊สตัวอย่างจะฉีดเข้าไปเก็บไว้ในลูฟ (Loop) เมื่อหมุน Sampling Value แก๊สตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าไปในคอลัมน์วิธีการนี้จะให้ค่า Reproducibility ดีกว่า 0.5%

(3.2.2) Liquid Sample Inlet สารตัวอย่างที่เป็นของเหลวโดยมากจะใช้ Microsyringe ฉีดเข้าไปผ่าน Silicone Septum ไปยังปลายของคอลัมน์หรืออาจใช้วิธีฉีดเข้าไปที่ Flash Vaporizer สารตัวอย่างจะถูกเปลี่ยนให้กลายเป็นไอ โดยความร้อนจาก Heater Block

เทคนิคที่ใช้ในการฉีดสารเข้าไปขึ้นอยู่กับชนิดของสารตัวอย่างและคอลัมน์ วิธีการนี้ใช้วิเคราะห์อาจเป็น Isothermal หรือ Temperature Programmed ทั้งนี้สิ่งที่สำคัญที่ต้องคำนึงถึงคือ Retention Time จะต้อง Reproducible และให้การแยกที่ดี (Good Resolution)

โดยทั่วไป อุณหภูมิของ Injection Port ควรจะต้องสูงพอที่จะทำให้สารกลายเป็นไอ แต่ให้ต่ำกว่าอุณหภูมิจำกัด (Temperature Limit) ของลิควิดเฟสที่ใช้ในคอลัมน์ และไม่ควรใช้อุณหภูมิสูงเกินไป เพราะอาจทำให้ลิควิดเฟสระเหยออกไปหรือเกิดการสลายตัว ซึ่งจะทำให้เกิด Base Line ไม่คงที่และเกิดการดริฟท์(Drift)

(3.3) Column Unit คอลัมน์เป็นส่วนประกอบที่สำคัญที่สุดในการแยกสาร เมื่อแก๊สผสมหรือไอของสารที่ปนกันอยู่ในสารตัวอย่าง ผ่านคอลัมน์สารที่บรรจุในคอลัมน์เปล่าจะทำหน้าที่เป็นตัวแยกแก๊สหรือไอผสมเหล่านั้นออกจากกันเป็นส่วนๆ ดังนั้น โครมาโทรแกรมที่ได้จะดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับชนิดของคอลัมน์มาก ประเภทของคอลัมน์(Type of columns) มีดังนี้

(3.3.1) Packed Columns มีอยู่ 2 ชนิด คือ Partition Column และ Adsorption Column สำหรับ Partition Column เป็นคอลัมน์เปล่าที่บรรจุด้วยอนุภาคของแข็งซึ่งมีสมบัติเฉื่อย(Inert Solid Particles) แล้วฉาบผิว (Coated) ด้วยสารอินทรีย์บางชนิดที่เรียกว่า Liquid Phase อีกชนิดหนึ่งเป็นคอลัมน์ที่บรรจุด้วยอนุภาคของสารดูดซับ (Adsorptive Particles)เช่น Alumina, Activated Charcoal, Silica Gel หรือ Molecular Sieves เป็นต้น

(3.3.2) Capillary Columns โดยทั่วไปเป็นหลอดขนาดเล็กๆ กลวง ทำด้วยเหล็กกล้า หรือเหล็กไร้สนิม แก้ว Quartz (Fused Silica) มีรัศมีภายใน 0.3-0.6 มิลลิเมตร ภายในฉาบผิวด้วย Liquid Phase เป็นฟิล์มบางๆ ตลอดรูเล็กๆ ซึ่งอาจมีความยาว 25 – 100 เมตร คอลัมน์ชนิดนี้แม้ว่าจะมีประสิทธิ์ภาพ(Effieiency) ของคอลัมน์ต่อหน่วยความยาวค่อนข้างต่ำ แค่สามารถใช้คอลัมน์ยาวมากได้ เพราะมี Pressure Drop เพียงเล็กน้อย ดังนั้น เมื่อใช้คอลัมน์ยาวมากๆ จึงทำให้ประสิทธิ์ภาพในการแยกมีค่าสูง และเมื่อใช้ภาวะที่เหมาะสม

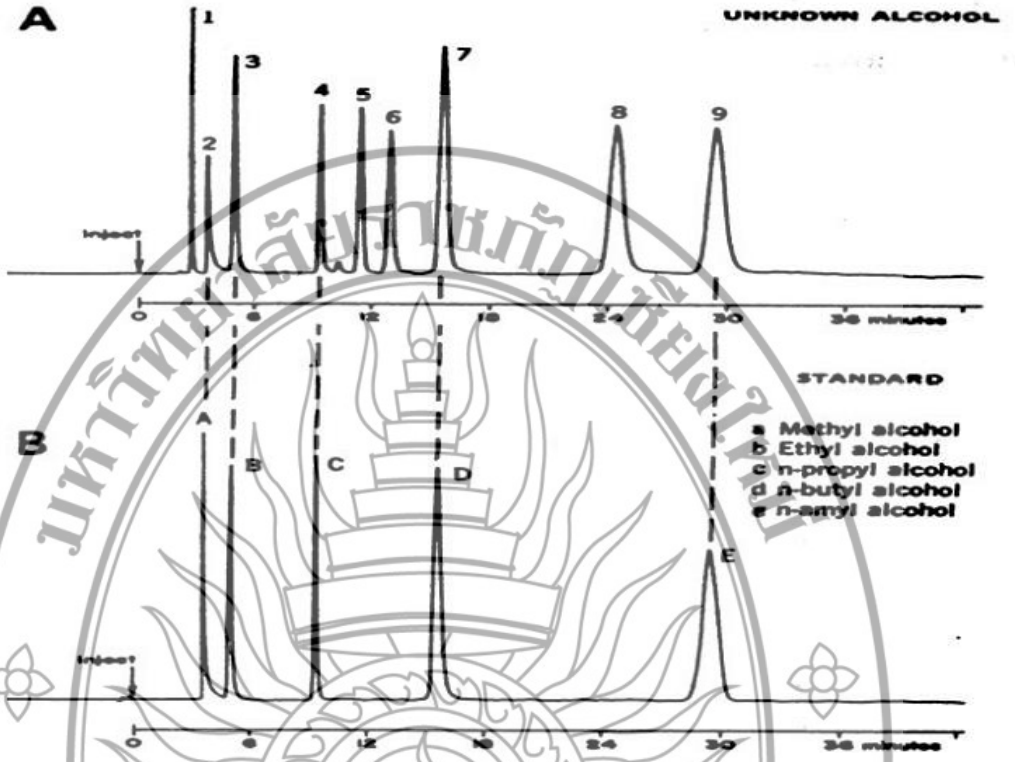
(3.4) Detector Unit เครื่องตรวจวัดเป็นอุปกรณ์ชิ้นสุดท้ายของแก๊สโครมาโตรกราฟี ทำหน้าที่ในการตรวจวัดสารที่ถูกชะออกมาจากคอลัมน์แล้วส่งสัญญาณไฟฟ้าไปยังระบบประมวลผลซึ่งในปัจจุบันจะใช้ระบบการควบคุมผ่านทางคอมพิวเตอร์ ซึ่งจะให้รายละเอียดของโครมาโตแกรม ข้อมูลของพีค (พื้นที่ ความสูง ความกว้างเป็นต้น) การสอบเทียบ การคำนวณการรายงานผล และสถิติเครื่องตรวจวัดมีหลายประเภท แต่ละประเภทมีลักษณะเฉพาะตัวแปรในการทำงาน และประสิทธิภาพที่แตกต่างกันออกไป

(4) การวิเคราะห์เชิงคุณภาพด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี

Retention Time(RT) คือ เวลาที่สารแต่ละชนิดใช้ในการเคลื่อนที่ผ่าน Column นับจากเวลาเริ่มต้นของการวิเคราะห์ถึงตำแหน่งที่ Detector อ่านค่าสัญญาณสูงสุด(Peak) จากการตรวจวัดของสารนั้นๆ แสดงดังรูป 2.18

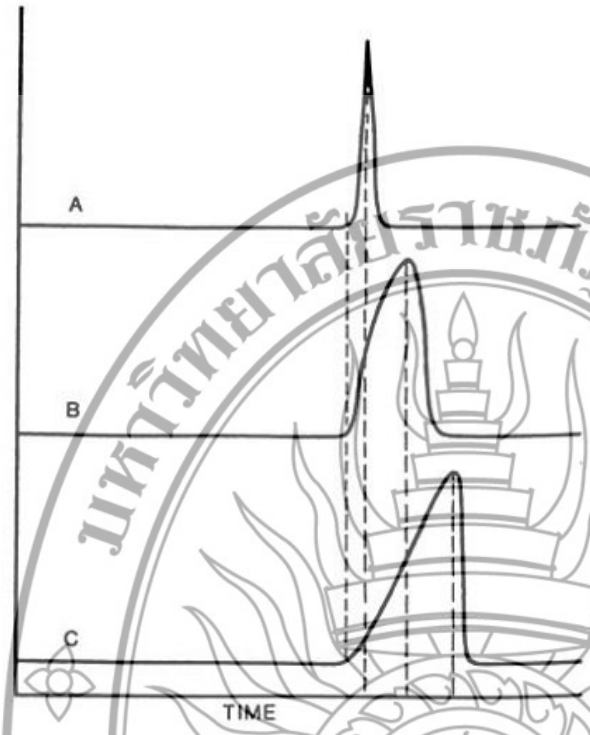
รูป 2.18 Chromatogram ที่แสดง Retention Time ขององค์ประกอบ A, B และ C

โดย Retention Time เป็นลักษณะเฉพาะของสารแต่ละชนิดในสภาวะการวิเคราะห์เดียวกันทั้งชนิดของ Column และอุณหภูมิที่ใช้ค่า Retention Time ของสารชนิดเดียวกันที่วิเคราะห์ได้ควรจะต้องคงที่หรือมีค่าใกล้เคียงกันมากที่สุด ดังนั้นการตรวจพิสูจน์ชนิดของสารองค์ประกอบใดๆในของผสมตัวอย่างสามารถทำได้โดยการเปรียบเทียบค่า Retention Time ระหว่างสารองค์ประกอบในของผสมตัวอย่าง (Unknown) กับสารองค์ประกอบมาตรฐาน แสดงดังรูป 2.19



รูป 2.19 แสดงการวิเคราะห์เชิงคุณภาพโดยการเปรียบเทียบค่า Retention Time ของสารตัวอย่างกับสารองค์ประกอบมาตรฐาน

ขนาดของสารตัวอย่าง มีความสำคัญอย่างมากในการวิเคราะห์ ซึ่งถ้าฉีดสารตัวอย่างเข้าไปมากเกินไปจะทำให้เกิด Column Overloaded ซึ่ง Peak ที่ตรวจวัดได้จะเปลี่ยนไป ทำให้ค่า Retention Time เปลี่ยนไป แสดงดังรูป 2.20 ซึ่งต้องลดขนาดของสารตัวอย่างลงให้เหมาะสมกับการวิเคราะห์เพื่อแก้ปัญหานี้



รูป 2.20 แสดงผลกระทบของการฉีดปริมาณสารตัวอย่างกับ Retention Time

A เมื่อคอลัมน์ไม่ Overloaded

B เมื่อคอลัมน์มี Overloaded เล็กน้อย

C เมื่อคอลัมน์มี Overloaded มาก

โดยเมื่ออุณหภูมิของคอลัมน์เพิ่มขึ้นจะทำให้องค์ประกอบของสารมีการเคลื่อนที่เร็วขึ้น ช่วยให้การวิเคราะห์เร็วขึ้น ดังนั้นเมื่ออุณหภูมิของคอลัมน์ลดลงจะช่วยให้เกิดการแยกขององค์ประกอบต่างๆ ดีขึ้น ดังนั้นเพื่อให้เกิดการแยกที่ดี และมี Retention Time ไม่นานเกินไปควรเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสม ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจะเลือกใช้อุณหภูมิเฉลี่ยของจุดเดือดของสารตัวอย่างนั้นๆ แต่ก็ควรระวังไม่ให้สูงเกินกว่าอุณหภูมิของ Packing ที่จะทนได้

2.2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

รุ้งกันยา วรรณมูล (2544) ได้ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ในการยับยั้ง ในสารสกัดพืชสมุนไพรและพืชพื้นบ้านการเกิดอนุมูลอิสระไฮดรอกซีแรดิคอล โดยวิธีไทโอบาร์บิทูริก และเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโฟโตรเมทรี ผลจากการวิเคราะห์ปรากฏว่า พืชสมุนไพรและผักพื้นบ้าง ได้แก่ กะเพราแดง มะเขือยาวเขียว ขมิ้นชัน ขมิ้นขาว แคขาว กระชาย มะระจีน และ ขิง มีพฤกษเคมีเบื้องต้น คือ กลุ่มสารประกอบฟีนอลลิค แกลลิค แทนนิน ซาปอนนิน แคทตาคอล ฟีโรกลัยลอล กลัยโคไซด์ แอนโทรไซยานิน กลัยโคไซด์ และฟราวาโนน มีค่าร้อยละการยับยั้งของพืชสมุนไพรและผักพื้นบ้านได้แก่ กะเพราแดง มะเขือยาวเขียว ขมิ้นชัน ขมิ้นขาว แคขาว กระชาย มะระจีน และ ขิง ที่ความเข้มข้น 2 mg/mL ดังนี้ 43.0779 42.5789 42.4910 42.2914 42.8383 33.9801 38.0958 และ 32.5549 ตามลำดับ และมีค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระไฮดรอกซีแรดิคอล เมื่อเทียบกับโทโคฟีรอล (%TAC) มีค่าดังนี้ 1.0422 1.0298 1.0276 1.0226 1.0362 0.8161 0.9183 และ 0.7806 ตามลำดับ

อรอุมา ไชยชนะ (2548) วิเคราะห์สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชสมุนไพรและศึกษาทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของพืชสมุนไพร 5 ตัวอย่าง คือ เสลดพังพอนตัวเมีย ฟ้าทะลายโจร หญ้าหนวดแมว สมอพิเพก และ ชุมเห็ดเทศ ด้วยใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโฟโตรเมทรี โดยใช้ DPPH Method เทียบกับสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ พบว่า มีพฤกษเคมีเบื้องต้น คือ กลุ่มแทนนิน สารประกอบฟีนอลิค แคทตาคอล ฟีโรกลัยลอล หรือ แกลลิค แทนนิน ฟลาโวนส์ และ ฟลาโวนอยด์ มีสารต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 0.343 0.206 17.989 21.661 และ 0.747 mmol ต่อ โทรล็อกEquivalent 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

ทิพวรรณ ชัยนันท์ (2546) ได้ศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากลูกจันทน์เทศ 2 ชนิด คือ ลูกจันทน์เทศผงที่ผลิตในประเทศไทยและลูกจันทน์เทศผงที่นำเข้าจากต่างประเทศ โดยลูกจันทน์เทศทั้ง 2 ชนิดนี้ให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่แตกต่างกัน โดยลูกจันทน์เทศผงที่นำเข้าจากต่างประเทศมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากกว่าลูกจันทน์เทศผงที่ผลิตในประเทศไทย มีร้อยละโดยน้ำหนัก เท่ากับ 54.83 เมื่อทดสอบด้วยเทคนิค TLC พบองค์ประกอบสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจากลูกจันทน์เทศทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ Eugenol และ Linalool ทำการตรวจสอบหาสารสำคัญด้วยเทคนิคโครมาโทรกราฟี (TLC และ GC) เทียบกับสารมาตรฐาน Eugenol และ Linalool พบว่ามี Eugenol อยู่และสามารถตรวจพบมากกว่า Linalool

หทัยรัตน์ ริมคีรีและคณะ (2544) ได้ศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากใบอบเชย (ไม่ระบุชนิดที่แน่นอน แต่มีซินนามัลดี-ไฮด์เป็นองค์ประกอบหลัก) เป็นสารป้องกันเชื้อราในผลิตภัณฑ์ทุเรียนกวน พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้น 0.6 % , 0.8 % และ 1.0 % (w/w) สามารถเก็บรักษาทุเรียนกวนโดยปราศจากเชื้อราได้นาน 70, 105 และ120 วันตามลำดับ ซึ่งเชื้อราที่พบในผลิตภัณฑ์ ทุเรียนกวนที่แยกได้มี 14 สายพันธุ์ส่วนใหญ่เป็น *Aspergillus Niger* ซึ่งสามารถยับยั้งได้โดยการใช้สารซินนามัลดีไฮด์ ที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยจากใบอบเชยทั้งนี้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยจากใบอบเชยที่ระดับ 0.6 % ถือเป็นระดับที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ทั้ง 14 สายพันธุ์ และเมื่อใช้น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยที่ระดับ 0.8 % พบว่าสามารถป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อราได้นานขึ้นโดยที่ระดับ 0.8 % เป็นความเข้มสูงสุดที่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค ดังนั้นจึงควรใช้น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยที่ระดับ 0.8 %