



ฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดด้วยน้ำจากใบชาสดและใบชาแห้ง
ในจังหวัดเชียงราย

Antimicrobial Activity of Aqueous Extract of Fresh and Dried Tea
(*Camellia sinensis*) leaves in Chiang Rai.

เดือนเต็ม ทองเผือก

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2548

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดด้วยน้ำจากใบชาสดและใบชาแห้ง
ในจังหวัดเชียงราย

Antimicrobial Activity of Aqueous Extract of Fresh and Dried Tea
(*Camellia sinensis*) leaves in Chiang Rai.



เดือนเต็ม ทองเผือก

วิทยานิพนธ์นี้เสนอต่อมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงเพื่อเป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2548

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดด้วยน้ำจากใบชาสดและใบชาแห้ง
ในจังหวัดเชียงราย

เดือนเต็ม ทองเผือก

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
2548

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ มรกต สุกโชติรัตน์)
..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร. พนม วิญญายอง)
..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร. สยามรัฐ ป่านภูมิ)
..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร. ประภัสสร ดำรงกุล)

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้ สำเร็จสมบูรณ์ลงได้ด้วยความรู้และความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก อาจารย์ ดร. พนม วิญญายอง ผู้ซึ่งกรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา และตรวจแก้ไขจน วิทยานิพนธ์นี้เสร็จสมบูรณ์ ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ. มรกต สุกโชติรัตน์ อาจารย์ ดร. สยามรัฐ ป่านภูมิ และ อาจารย์ ดร. ประภัสสร ดำรงกุล ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบ พร้อมทั้งให้ ข้อเสนอแนะและข้อแก้ไขต่าง ๆ เพื่อให้งานวิจัยมีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการชีววิทยา และเทคโนโลยีการ อาหาร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ที่ให้ความช่วยเหลือทางด้านการวิเคราะห์ทดสอบจนกระทั่ง วิทยานิพนธ์สำเร็จด้วยดี

ขอบคุณครอบครัวทองเผือก ญาติพี่น้องทุกคนที่ให้ความไว้วางใจ การเอาใจใส่ และการช่วยเหลือ ให้งานวิจัยของผู้วิจัยสำเร็จลุล่วง

ท้ายที่สุดนี้ ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่าผลของการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อ องค์การธุรกิจที่เกี่ยวข้องและผู้ที่เกี่ยวข้อง หากมีสิ่งผิดพลาดหรือข้อบกพร่องประการใด ผู้เขียน ขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

เดือนเต็ม ทองเผือก

ชื่อเรื่อง ฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดด้วยน้ำจากใบชาสดและใบชาแห้ง
ในจังหวัดเชียงราย

ชื่อผู้เขียน นางสาวเดือนเต็ม ทองเผือก

หลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ)

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร. พนม วิญญายอง

บทคัดย่อ

ได้นำใบชาสดและใบชาแห้งที่ปลูกและผลิตในจังหวัดเชียงราย มาสกัดด้วยน้ำและทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ 14 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก 5 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* และ *Micrococcus luteus* แบคทีเรียแกรมลบ 6 ชนิด คือ *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes* และ *Pseudomonas fluorescens* ยีสต์ 3 ชนิด คือ *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* และ *Candida utilis* โดยวิธี agar diffusion และวิเคราะห์หาปริมาณ catechins 5 ชนิด ได้แก่ epigallocatechin 3-gallate (EGCG), epigallocatechin (EGC), epicatechin 3-gallate (ECG), epicatechin (EC) และ catechin (C) ในสารสกัดจากใบชาสดและใบชาแห้งด้วย High Performance Liquid Chromatography พบว่า สารสกัดจากชาแห้งส่วนใหญ่ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้มากกว่าใบชาสด และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้มากกว่ายีสต์ และพบว่าสารสกัดจากใบชาแห้งส่วนใหญ่มีปริมาณ EGCG, EGC, ECG, EC และ C มากกว่าใบชาสด ซึ่งมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบ

คำสำคัญ : ชา / โพลีฟีนอล / คาเทชิน / ฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์

Title Antimicrobial Activity of Aqueous Extract of Fresh and Dried Tea (*Camellia sinensis*) Leaves in Chiang Rai.

Author Miss. Dueantem Thongpueak

Degree Master of Science Program (Biotechnology)

Advisor Dr. Panom Winyayong

ABSTRACT

Fresh and dried tea leaves grown and produced in Chiang Rai province were extracted with water and tested for their growth inhibition against 14 microorganisms including 5 gram positive bacteria i.e. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* and *Micrococcus luteus* 6 gram negative bacteria i.e. *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes* and *Pseudomonas fluorescens* and 3 yeast species i.e. *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* and *Candida utilis* by agar diffusion method. Quantitative analysis of the catechins i.e. epigallocatechin 3-gallate (EGCG), epigallocatechin (EGC), epicatechin 3-gallate (ECG), epicatechin (EC) และ catechin (C) by High Performance Liquid Chromatography was also carried out. It was found that the extracts from most dried tea leaves were able to inhibit the growth of microorganisms better than those of the fresh tea leaves and they were more sensitive against bacteria than yeast. It was also found that the EGCG, EGC, ECG, EC and C content of the dried tea leaves were higher than those of the fresh tea leaves which were directly related to the growth inhibitory effect against the microorganisms tested.

Keywords : Tea / Polyphenols / Catechins / Antimicrobial Activities

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ญ
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
2 ทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 พฤกษศาสตร์และพันธุ์ของชา	4
2.2 อุตสาหกรรมชาของไทย	5
2.3 ชนิดของชา	6
2.4 องค์ประกอบทางเคมีของใบชา	9
2.5 ประโยชน์และฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของชา	13
2.6 ยาด้านจุลินทรีย์ (antimicrobial drugs)	17
3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง	19
3.1 วัสดุดิบ	19
3.2 จุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบ	19
3.3 อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์	20

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.4 สารเคมี	20
3.5 อุปกรณ์และเครื่องมือ	21
3.6 การเตรียมสารสกัดจากชา	22
3.7 การเตรียมเชื้อทดสอบ	22
3.8 การทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชา แบบ agar diffusion	22
3.9 การทดสอบปริมาณการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของ สารสกัดจากชา	23
3.10 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากใบชาสดและ ใบชาแห้งด้วย HPLC	24
4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	25
4.1 น้ำหนักแห้งรวมของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง	25
4.2 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัด จากชาแบบ agar diffusion	25
4.3 ผลการทดสอบปริมาณการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของ สารสกัดจากชาตามวิธีของ	31
4.4 การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากชาสดและ สารสกัดจากชาแห้งด้วย HPLC	44
5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	47
5.1 สรุปผลการทดลอง	47
5.2 ข้อเสนอแนะ	47
บรรณานุกรม	49

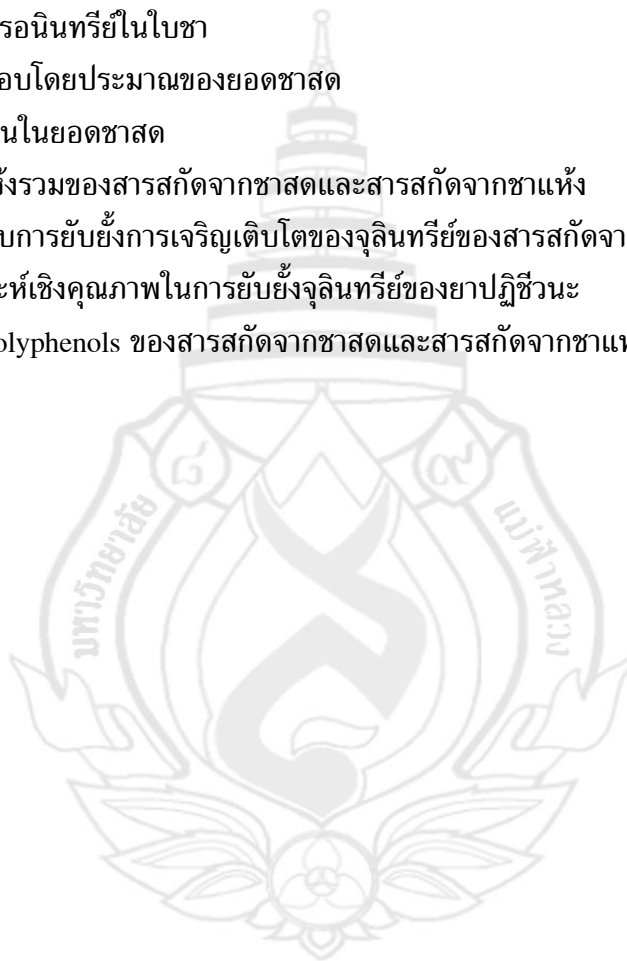
สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก	51
ประวัติผู้เขียน	98



สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 องค์ประกอบของใบชาสดและใบชาแห้ง	9
2.2 ปริมาณสารอนินทรีย์ในใบชา	10
2.3 ส่วนประกอบโดยประมาณของยอดชาสด	11
2.4 สารคาเทชินในยอดชาสด	12
4.1 น้ำหนักแห้งรวมของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง	25
4.2 การทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชา	27
4.3 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของยาปฏิชีวนะ	30
4.4 ปริมาณ polyphenols ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง	45



สารบัญภาพ

รูป	หน้า
2.1 ลักษณะใบของพันธุ์ชาอัสสัม	4
2.2 ลักษณะใบของพันธุ์ชาจีน	5
2.3 ขั้นตอนกระบวนการผลิตชาเขียว	6
2.4 ขั้นตอนกระบวนการผลิตชาอูหลง	7
2.5 ขั้นตอนกระบวนการผลิตชาดำ	8
4.1 ลักษณะการยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>M. luteus</i> ของสารสกัดจากใบชาสด	28
4.2 ลักษณะการยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>M. luteus</i> ของสารสกัดจากชาแห้ง	28
4.3 ลักษณะการยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>M. luteus</i> ของยาปฏิชีวนะ penicillin และ chloramphenicol	29
4.4 ปริมาณการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวกของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งชนิดต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง	33
4.5 ปริมาณการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมลบของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งชนิดต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง	34
4.6 ปริมาณการยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งชนิดต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง	35
4.7 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>Staph. aureus</i> ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง	36
4.8 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>Strep. faecalis</i> ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง	37
4.9 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>B. subtilis</i> ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง	37
4.10 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>B. cereus</i> ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง	38

สารบัญภาพ

รูป	หน้า
4.11 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>M. luteus</i> ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง	38
4.12 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>E. coli</i> ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง	39
4.13 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>Salmonella sp.</i> ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง	39
4.14 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>Sal. typhimurium</i> ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง	40
4.15 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>Ser. marcescens</i> ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง	40
4.16 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>Ent. aerogenes</i> ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง	41
4.17 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>Ps. fluorescens</i> ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง	41
4.18 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>S. cerevisiae</i> ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง	42
4.19 ลักษณะการยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>C. albicans</i> ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง	42
4.20 ลักษณะการยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>C. utilis</i> ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง	43

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ชาเป็นเครื่องดื่มที่นิยมดื่มกันมากชนิดหนึ่ง และเป็นที่รู้จักกันดีในประเทศแถบเอเชีย โดยเฉพาะชาจีนและชาญี่ปุ่น ซึ่งดื่มชากันมานานนับพันปี (เขาวลักษณะ : 2546) สำหรับประเทศไทยกระแสนิยมในการดื่มชาเริ่มมีได้ไม่นานนัก แต่ในปัจจุบันก็ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากโดยเฉพาะในกลุ่มผู้บริโภคที่ใส่ใจในสุขภาพ เนื่องจากการประกาศสรรพคุณของชาไว้ต่างๆ มากมาย

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของชาคือ polyphenols ซึ่งเป็นสารประกอบชีวภาพที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติที่มีอยู่มากมายหลายประเภท รวมถึง flavonoids ซึ่งมักพบได้ทั่วไปในผักและผลไม้บางชนิด แต่จะพบได้ในชามากกว่าพืชชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ ยังมี catechins ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ เป็น flavonoids ชนิดพิเศษที่พบในชา นักวิจัยยังสามารถแยก catechins ออกเป็น 8 ชนิด คือ epigallocatechin 3-gallate (EGCG), epigallocatechin (EGC), epicatechin 3-gallate (ECG), epicatechin (EC), gallocatechin (GC), catechin (C), catechin gallate (CG) และ gallocatechin gallate (GCG) สำหรับ EGCG ถือว่าเป็น catechins ที่มีคุณค่ามากที่สุด (ศักดิ์ : 2543) นอกจากนี้ยังพบอีกว่า องค์ประกอบทางเคมีของชาที่พบในชาสดและชาแห้งที่ผ่านขั้นตอนการผลิตแล้ว มีปริมาณสารที่แตกต่างกัน (ไพโรจน์ : 2532)

Polyphenols ในชามีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ซึ่งมีประโยชน์ต่อระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง เป็นยาอายุวัฒนะ (ศักดิ์ : 2543) นอกจากนี้ยังสามารถต่อต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นอันตราย รวมถึงเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคหิวาต์ โรคปอดบวม ฝีหนอง อาหารเป็นพิษ และโรคบิด โดยไม่รบกวนการทำงานของแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้เล็ก ต่อต้านเชื้อแบคทีเรียในช่องปากที่เป็นสาเหตุของโรคฟันผุและกลิ่นปาก ช่วยให้เคลือบฟันแข็งแรง แม้แต่ภาวะติดเชื้อแบคทีเรียในโพรงรากฟัน (บริษัท เครือเจริญโภคภัณฑ์ จำกัด (มหาชน) : ระบบออนไลน์)

บทบาทของชาในการยับยั้งจุลินทรีย์พบว่า ชามีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร เช่น *Escherichia coli* และ *Vibrio cholerae* และแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคฟันผุ เช่น *Streptococcus salivarius* และ *Strep.*

mutans ซึ่งพบว่า catechins เป็นสารที่มีส่วนในการยับยั้งจุลินทรีย์เป็นส่วนใหญ่ (Sato and Miyata : 2000) และจากหลักฐานโบราณของจีนพบว่า น้ำชาเก่าๆ 1 ถ้วย ใช้รักษาโรคบิด รักษาบาดแผล ลดความเป็นพิษและอาการอักเสบ ดังนั้นบริษัทยาสำเร็จรูปจึงใช้ชาเป็นองค์ประกอบในการผลิตยาสำหรับรักษาโรคบิดและหวัด (กรมส่งเสริมการเกษตร : ระบบออนไลน์) จากคุณสมบัติดังกล่าวเหล่านี้ทำให้ polyphenols เป็นสารสำคัญและเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกาย การดื่มชาจากพืชสมุนไพรที่อุดมด้วยสาร antioxidant เป็นสิ่งสำคัญในการรักษาสุขภาพ แทนการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษา เนื่องจากยาปฏิชีวนะบางชนิดอาจมีผลข้างเคียงต่อร่างกายได้ถ้าใช้ในระยะเวลาสั้นๆ ดังนั้น จึงทำให้ชาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพที่ทุกคนควรบริโภคเป็นประจำทุกวัน (ศักดิ์ : 2545)

งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาเปรียบเทียบความสามารถของสารสกัดด้วยน้ำของใบชาสดและใบชาแห้งสายพันธุ์ต่างๆ ในจังหวัดเชียงรายเพื่อดูฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังได้วิเคราะห์หาปริมาณ polyphenols ด้วย HPLC เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบ polyphenols กับการยับยั้งจุลินทรีย์ เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกดื่มชาที่มีองค์ประกอบของ polyphenols ที่สามารถต้าน จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคได้ดีที่สุด

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชาสดและชาแห้งในจังหวัดเชียงราย
2. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของชาสดและชาแห้งในจังหวัดเชียงราย

บทที่ 2

ทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

ชา เป็นเครื่องดื่มจากธรรมชาติที่มีผู้นิยมบริโภคมากที่สุดในโลก ชาวจีนเป็นชนชาติแรกที่รู้จักชาและบริโภคมากกว่า 6,000 ปี มาแล้ว จนกลายเป็นเครื่องดื่มประจำชาติของชาวจีน และเผยแพร่ไปยังประเทศต่าง ๆ ทั่วโลก (Taylor and Francis : 2002)

ตามบันทึกประวัติศาสตร์ เรื่องราวการค้นพบชาและถือเป็นต้นกำเนิดชาที่ยอมรับกัน คือ เรื่องของจักรพรรดิเลินหนง ซึ่งเป็นบิดาแห่งการแพทย์ของจีน เป็นผู้ชำนาญการรักษาโรคด้วยสมุนไพร เสด็จเยี่ยมราษฎรในถิ่นทุรกันดาร เพื่อไต่ถามทุกข์สุขและรักษาโรค วันหนึ่งขณะพักผ่อน พระองค์ได้รับสั่งให้ผู้ติดตามต้มน้ำดื่ม ขณะที่ต้มน้ำอยู่นั้นก็มีใบไม้แห้งปลิวมาตามลม และตกลงไปในหม้อต้มน้ำของพระองค์ ทำให้น้ำที่กำลังจะเดือดได้ที่เปลี่ยนสี กลายเป็นสีน้ำตาลอ่อน และมีกลิ่นหอม พระองค์ทอดพระเนตรเห็นการเปลี่ยนแปลงนี้ ประกอบกับได้สัมผัสกลิ่นหอมที่เกิดขึ้น ด้วยความที่เป็นแพทย์ พระองค์จึงลองชิมและสัมผัสถึงรสชาติ พระองค์ก็ทราบโดยทันทีว่า พระองค์ได้พบยาบำรุงร่างกายและรักษาโรคตัวใหม่แล้ว จึงได้ตั้งชื่อต้นไม้ว่า “ชา” และนำไปเป็นยาสมุนไพรรักษาชาวบ้านต่อไป

การเปลี่ยนแปลงของ “ใบชา” จาก “ยา” มาเป็นเครื่องดื่มในชีวิตประจำวันนั้นเกิดขึ้นในช่วง ราชวงศ์เหนือและใต้ (ค.ศ.220-581) เมื่อคนทั่วไปเริ่มรู้จักว่า “น้ำชา” นั้นมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว และรสชาติก็ไม่ขมจนเกินไปนัก ทั้งนี้คนจีนในยุคนั้นก็ไม่ได้กินน้ำชาเปล่าๆ อย่างเช่นปัจจุบัน แต่มีการปรุงแต่ง เช่น นำ ชิง เกลือ ผสมไปกับน้ำชาด้วย จนกระทั่งในสมัยของราชวงศ์หมิง (ค.ศ.1368-1644) ชาวจีน ถึงเริ่มตัดเครื่องปรุงแต่งทิ้งไป แล้วต้มน้ำชาเปล่าๆ (วรุษจุ : 2546)

2.1 พฤกษศาสตร์และพันธุ์ของชา

ชามีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Camellia sinensis* และมีชื่อสามัญว่า tea จัดอยู่ในตระกูล *Theaceae* และอยู่ในวงศ์ *Camellia* ชาเป็นทั้งไม้ยืนต้นและไม้พุ่มที่มีใบเขียวตลอดปี เป็นต้นไม้ที่มีอายุยืน ชาเป็นไม้ยืนต้นถ้าปล่อยให้โตตามธรรมชาติ จะมีความสูงมาก ดังนั้นเพื่อความสะดวกในการเก็บใบอ่อน จึงได้มีการตัดแต่งต้นชาให้กลายเป็นไม้พุ่มที่มีความสูงไม่เกิน 1.50 เมตร จึงทำให้ดูคล้ายกับว่าเป็นไม้พุ่ม (Koa : 2003)

ชาเป็นพืชเศรษฐกิจตัวหนึ่งที่สร้างรายได้ให้กับจังหวัดเชียงราย และเป็นพืชที่เหมาะสมกับพื้นที่ที่สูงกว่าระดับน้ำทะเลเกิน 400 เมตรขึ้นไป ซึ่งจังหวัดเชียงรายมีพื้นที่ราบเฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์ 400 เมตร จึงเหมาะต่อการปลูกชามาก แหล่งปลูกส่วนใหญ่อยู่ในพื้นที่ทางตอนเหนือกระจายอยู่ 5 แหล่งใหญ่คือแม่สะลอง วาวี พญาไพร เวียงป่าเป้าและแม่ลาว มีพื้นที่ปลูกรวมกันประมาณสามหมื่นไร่ นับว่ามากที่สุดในประเทศ (สำนักงานจังหวัดเชียงราย : ระบบออนไลน์)

ชาที่ปลูกในจังหวัดเชียงรายมี 2 สายพันธุ์หลัก คือ

1. พันธุ์ชาอัสสัม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Camellia sinensis* var. *assamica* ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ขึ้นอยู่ตามธรรมชาติในพื้นที่อยู่แล้วและมีการนำเมล็ดมาเพาะเพื่อปลูกใหม่ในระบบสวนชาเดิมจะนำใบชาพันธุ์นี้มาหมักเป็นเมี่ยง ชาพันธุ์อัสสัมนี้จะเรียกว่าเป็นชาแดงก็ได้ หรือหากจะเรียกตามที่คนส่วนใหญ่รู้จักในอีกชื่อก็คือชาชิลอน เพราะชาพันธุ์นี้ปลูกมากในประเทศศรีลังกา

ชาในกลุ่มนี้มีลักษณะเป็นไม้ขนาดใหญ่ ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว ปลายใบแหลม ใบมีลักษณะบาง ส่วนของก้านใบและด้านท้องใบมีขนปกคลุม แผ่นใบมีตั้งแต่สีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม



รูปที่ 2.1 ลักษณะใบของพันธุ์ชาอัสสัม (*Camellia sinensis* var. *assamica*)

2. พันธุ์ชาจีน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Camellia sinensis* var. *sinensis* เป็นชาที่เริ่มต้นจากการนำพันธุ์มาจากไต้หวันมาปลูก และมีการจัดการระบบสวนชาดีกว่า ลงทุนสูง และเริ่มเก็บผลผลิตได้ในปีที่สาม ชาจีนนี้จะถูกรสนิยมคนเอเชียมากกว่าชาอัสสัม มีการนำสายพันธุ์ใหม่ๆ จากไต้หวันมาปลูกเพิ่มเติม เริ่มจากชาเขียว มาเป็นชาอูหลง อูหลงเบอร์12 และ อูหลงเบอร์17 หรือที่เรียกกันว่าอูหลงก้านอ่อน ซึ่งก็ปลูกกันมากในเขตแม่ฮ่องสอน แม่ลาวและวาปี

ลำต้นเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก มีก้านใบสั้น แผ่นใบมีปลายใบโค้งมน บางครั้งบางอาจพบว่าแผ่นใบค่อนข้างกลม ขอบใบมีหยักเป็นรูปโค้งเล็กน้อย ส่วนปลายของหยักฟันเลื่อยมีสีดำ แผ่นใบมีตั้งแต่สีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม (สำนักงานจังหวัดเชียงราย : ระบบออนไลน์)



รูปที่ 2.2 ลักษณะใบของพันธุ์ชาจีน (*Camellia sinensis* var. *sinensis*)

2.2 อุตสาหกรรมชาของไทย

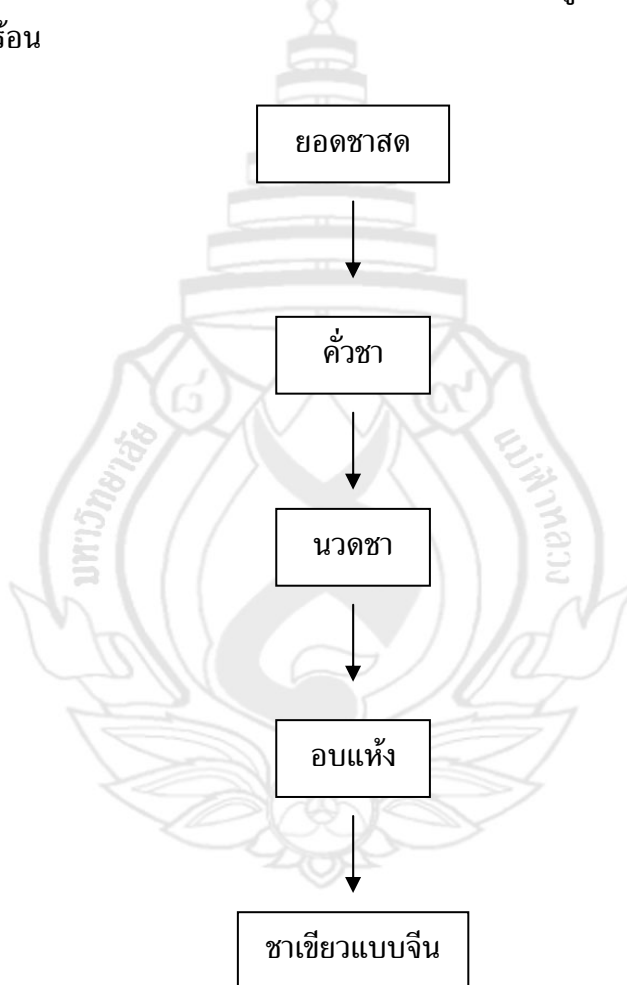
อุตสาหกรรมชาถือว่าการพัฒนาทางเทคโนโลยีชีวภาพ (biotechnology) ที่เก่าแก่ที่สุด สำหรับในประเทศไทยชาวบ้านในแถบภาคเหนือผลิตชาเป็นอุตสาหกรรมครอบครัวมานานแล้วในรูปของผลิตภัณฑ์เมี่ยง วัตถุที่ใช้ทำเมี่ยงมาจากใบชาของชาป่าที่เจริญเติบโตอยู่ทั่วไป ชาวบ้านเรียกต้นชาป่าที่เป็นพันธุ์อัสสัมเหล่านี้ว่า ต้นเมี่ยง ดังนั้นเมี่ยงจึงเป็นอุตสาหกรรมชนิดแรกของประเทศไทย ต่อมาชาวจีนอพยพมาจากประเทศจีนมาตั้งถิ่นฐานในประเทศไทย ได้นำความรู้และศิลปการผลิตชาจีนเข้ามาเผยแพร่ ทำให้ผลิตภัณฑ์ชาจีนเริ่มเป็นที่รู้จักและพัฒนาขึ้นอย่างช้าๆ และนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย จากความนิยมที่เพิ่มสูงขึ้นและการพัฒนาคุณภาพของชาจีน ทำให้ผลิตภัณฑ์ประเภทเมี่ยงได้รับความนิยมลดลงเรื่อยๆ คาดว่าในอนาคตเมี่ยงคงเป็นสัญลักษณ์อย่างหนึ่งของภาคเหนือเท่านั้น (สันท์ : 2535)

2.3 ชนิดของชา

ชาสามารถแบ่งตามกรรมวิธีในการผลิตได้ 3 ชนิด (Koa, 2003) คือ

ชาเขียว (green tea หรือ Chinese green tea)

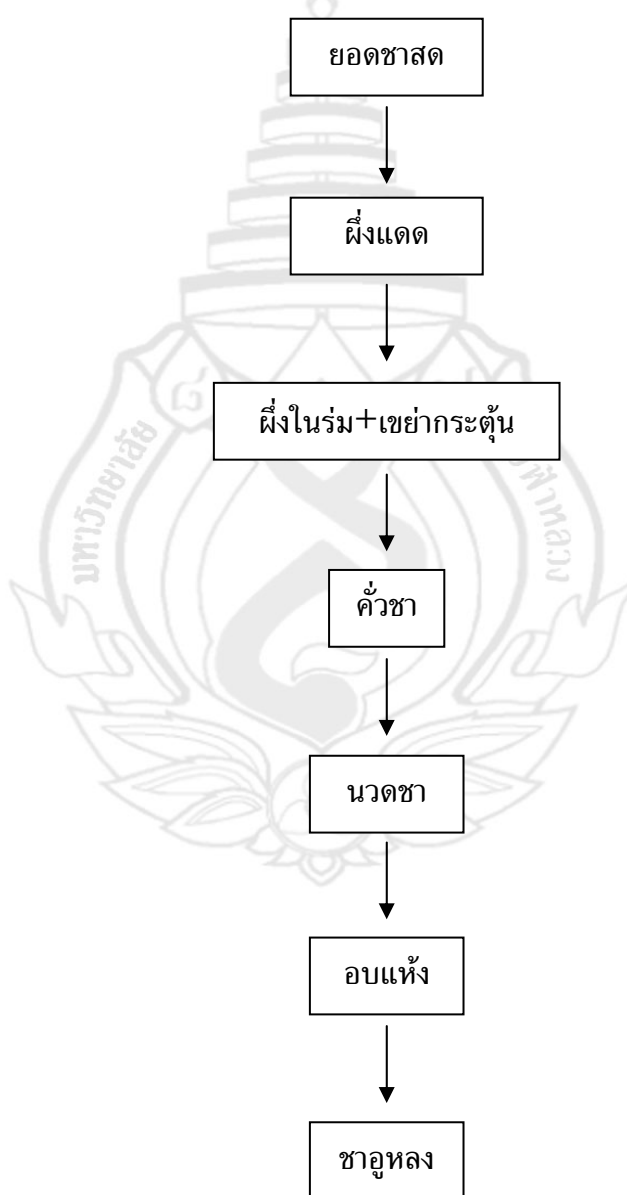
เป็นชาที่ไม่ได้ผ่านขั้นตอนในการหมัก (non-fermented tea processing) เมื่อเก็บใบชามาแล้วจะนำไปคั่วทันที เพื่อเป็นการทำลายเอนไซม์ในใบชาไม่ให้เกิดการหมักขึ้น จากนั้นนำใบชามานวดและอบแห้งแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ชาเขียวแบบจีน และชาเขียวแบบญี่ปุ่น ซึ่งแตกต่างกันตรงชาเขียวแบบจีนจะมีการคั่วด้วยกระทะร้อน ดังรูปที่ 2.3 แต่ชาเขียวแบบญี่ปุ่นจะนึ่งด้วยไอน้ำร้อน



รูปที่ 2.3 แสดงขั้นตอนกระบวนการผลิตชาเขียวแบบจีน

ชาอูหลง (Oolong tea)

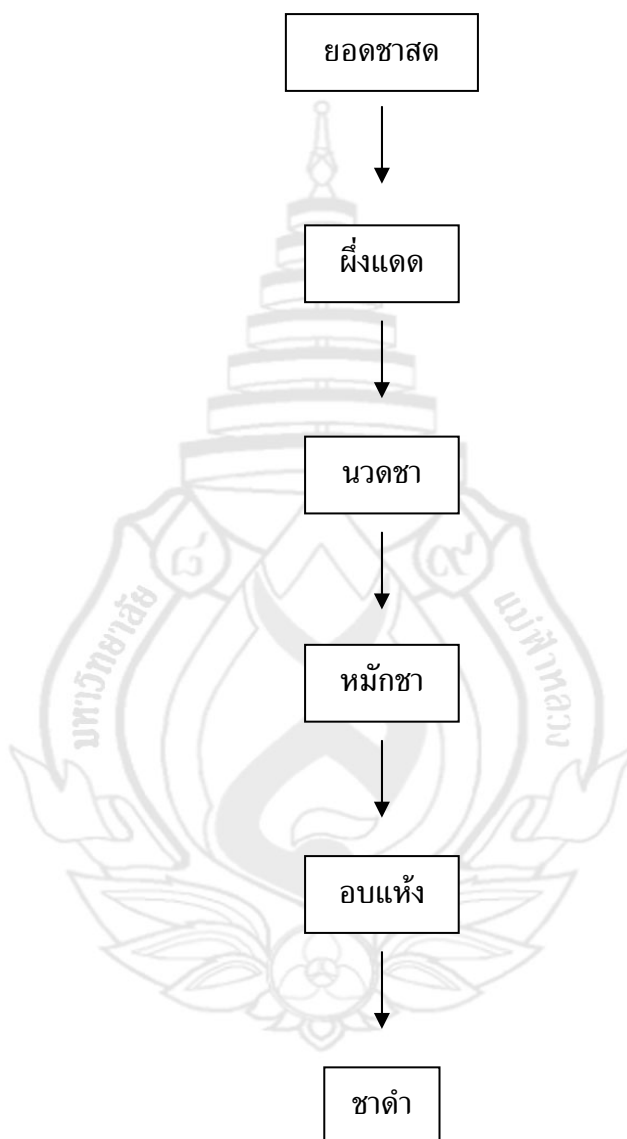
ชาอูหลงเป็นชากึ่งหมัก (semi-fermented) เมื่อเก็บใบชาจะนำมาคัดและผึ่งแดด ทำให้อุณหภูมิในยอดชาสูงขึ้น เกิดกลิ่นหอม และเพื่อไล่ความชื้นออกจากใบชาแล้วนำไปผึ่งในร่มอีกครั้งพร้อมเขย่ากระตุ้นยอดชาให้ตื่นตัวเร่งการหมัก ทำให้น้ำมีสีเข้มขึ้น ความแก่อ่อนของการหมักขึ้นกับระยะเวลาการผึ่งและเขย่ากระตุ้น และนำไปคั่วเพื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ แล้วนำไปนวดเพื่อให้ใบชาช้ำและเป็นการเร่งให้ใบชาเกิดการหมักเร็วขึ้น การหมักเป็นการทำให้สารที่มีอยู่ในใบชาทำปฏิกิริยากับอากาศ ทำให้ใบชาเปลี่ยนคุณสมบัติทั้งสี กลิ่น และรสชาติ เมื่อใบชาเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล แสดงว่าใบชาหมักได้ที่แล้ว จากนั้นจึงนำไปอบแห้ง ดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงขั้นตอนกระบวนการผลิตชาอูหลง

ชาดำ (Black tea)

เป็นชาที่ผ่านการหมักแบบสมบูรณ์ (fully fermented) เมื่อเก็บใบชาจะนำมาผึ่งแดดและนวด เหมือนชาอูหลง แต่ที่แตกต่างกันคือเวลาที่ใช้ในการหมักใบชา ใบชาจะเกิดการหมักอย่างเต็มที่ จึงได้ใบชาที่มีสีเข้มและรสชาติที่เข้ม แล้วจึงนำมาอบแห้ง ดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 แสดงขั้นตอนกระบวนการผลิตชาดำ

ชาทุกชนิดจะทำมาจากสายพันธุ์ *Camellia sinensis* ส่วนชื่อที่เรียกต่างกันนั้น เนื่องจากระบวนการผลิตใบชาที่ต่างกัน การทำชาเขียวนั้นจะเอาใบชามาอบ และทำให้แห้ง ซึ่งเป็นกระบวนการที่ยังทำให้ใบชามีสารต้านอนุมูลอิสระพวก polyphenols อยู่มาก ส่วนชาดำนั้นจะผ่านกระบวนการ oxidation ต่อไป ทำให้มีการลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระ ส่วนชาอูหลงจะผ่านกระบวนการผลิตที่อยู่ระหว่างชาเขียว และชาดำทำให้รสชาติดก ลื่น สารต้านอนุมูลอิสระอยู่ระหว่างชาเขียว และชาดำด้วย ชาเขียวมี EGCG สูงสุด ชาอูหลงมี 40% ของชาเขียว ชาดำมีเพียง 10% ของชาเขียว ทั้งนี้เพราะว่าเมื่อนำชามาผ่านกรรมวิธีการผลิตให้เป็นชาชนิดต่างๆ catechins จะสูญเสียหายไป ตามชนิดของชา (สรจักร : 2542)

2.4 องค์ประกอบทางเคมีของใบชา

องค์ประกอบทางเคมีของใบชา เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการผลิต และมีผลต่อสี กลิ่น และรสชาติของน้ำชา องค์ประกอบทางเคมีของสารละลายชาที่ได้จากการชงชาที่ผ่านกรรมวิธีการผลิตต่างๆ ที่พบในใบชาสดและในใบชาแห้ง มีปริมาณที่แตกต่างกัน (สันท์ : 2535) ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบของใบชาสดและใบชาแห้ง

สาร	ใบชาสด	ใบชาแห้ง
เซลลูโลส และกาก	34	34
โปรตีน	17	16
คลอโรฟิลล์ และสารสีต่างๆ (ไม่ละลายน้ำ)	1.5	1
แป้ง	1.5	0.25
แทนนิน	25	13
แทนนินที่ผ่านการออกซิไดซ์แล้ว	–	4
คาเฟอีน	4	4
กรดอะมิโน (ละลายน้ำ)	8	9
ยาง และน้ำตาล	3	4
แร่ธาตุ	3–4	3–4
เถ้าถ่าน	5.5	5.5
น้ำมันหอมระเหย (สารให้กลิ่น)	–	น้อยมาก
ความชื้น	70–80	3–5

องค์ประกอบทางเคมีของใบชาประกอบด้วยสารประกอบอินทรีย์ ได้แก่ โปตัสเซียมเป็นสารที่พบในปริมาณสูงที่สุด ประมาณ 1.76 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง รองลงมาได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม ส่วนธาตุเหล็ก แมงกานีส ซัลเฟอร์ อะลูมิเนียม โซเดียม ซิลิคอน สังกะสี และทองแดง พบในปริมาณต่ำมาก ดังตารางที่ 2.2 และ สารประกอบอินทรีย์ ที่พบในปริมาณสูง และมีผลต่อคุณภาพของใบชา ได้แก่ polyphenols, caffeine, โปรตีน, กรดอะมิโน และสารให้กลิ่น สารประกอบเหล่านี้จะพบในปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับ พันธุ์ การปฏิบัติดูแลรักษา สภาพแวดล้อม และอายุของใบชา การที่จะได้ผลิตภัณฑ์ชาที่มีคุณภาพดีนั้น นอกจากขั้นตอนของกระบวนการผลิตต้องควบคุมให้ละเอียดถูกต้องแล้ว วัตถุดิบคือ ใบชาที่นำมาผลิตจะต้องมีส่วนประกอบทางเคมีที่เหมาะสมด้วย

ตารางที่ 2.2 ปริมาณสารอินทรีย์ในใบชา

ชนิดสาร	น้ำหนักแห้ง (%)
โปตัสเซียม	1.760
แคลเซียม	0.410
ฟอสฟอรัส	0.320
แมกนีเซียม	0.220
เหล็ก	0.150
แมงกานีส	0.120
ซัลเฟอร์	0.088
อะลูมิเนียม	0.069
โซเดียม	0.030
ซิลิคอน	0.024
สังกะสี	0.003
ทองแดง	0.002

ที่มา: (Eden, 1976)

องค์ประกอบของยอดชาสดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งรวมพบว่า ส่วนประกอบที่สำคัญและมีมากที่สุดคือ สารประกอบ polyphenols ที่มีอยู่ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของ catechins ส่วนประกอบที่สำคัญรองลงมาคือ caffeine ที่กระตุ้นประสาทความรู้สึกของผู้ดื่ม ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ส่วนประกอบโดยประมาณของยอดชาสด

ส่วนประกอบ	เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งรวม
โปรตีน	15
เส้นใยและกาก	26
เม็ตลี (คลอโรฟิลล์ และแคโรทีน)	2
ไขมัน	7
Caffeine	4
Polyphenols	30
กรดอะมิโน	4
แร่ธาตุ	5
คาร์โบไฮเดรต	7
สารให้กลิ่น	0.1
ความชื้น	78

ที่มา: (Sanderson, 1972)

สารประกอบ polyphenols

Polyphenols ในชา ส่วนใหญ่จะเป็น catechins ซึ่งเป็น flavonoids ชนิดหนึ่ง catechins ที่พบในปริมาณสูงที่สุดคือ (-)Epigallocatechin gallate (EGCG) ซึ่งพบมากถึง 9-13 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 2.4 และเป็นสารที่มีประโยชน์ทางการแพทย์ จากการรายงานของนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่น (Oguni *et al.* : 1987) ที่ค้นพบประโยชน์ของ EGCG ในชาเขียว กล่าวไว้ว่า EGCG มีฤทธิ์ในการป้องกันการก่อตัวของเซลล์มะเร็งในกระเพาะอาหารของคน ปริมาณของ catechins ในยอดชาสด จะผันแปรตามอายุใบ การตัดแต่งกิ่ง ฤดูกาล ระดับความสูงของพื้นที่ปลูก พันธุ์ และร่มเงา ซึ่งสารเหล่านี้มีปริมาณลดลงเมื่อมีอายุมากขึ้น จึงเป็นเหตุผลหนึ่งที่ใบชาแก่ไม่เหมาะสมในการนำมาผลิตชา และปริมาณของ แทนนินสามารถลดลงได้ถึง 4 เปอร์เซ็นต์ หรือมากกว่านั้น กรณีปลูกชาภายใต้ร่มเงา

ตารางที่ 2.4 สารคาเทชินในยอดชาสด

รูปสาร	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง
(-)Epicatechin (EC)	1-3
(-)Epicatechin gallate (ECG)	3-6
(-)Epigallocatechin (EGC)	3-6
(-)Epigallocatechin gallate (EGCG)	9-13
(+)Catechin (C)	1-2
(+)Gallocatechin (GC)	3-4

ที่มา: (Eden, 1976)

แทนนิน (Tannin)

แทนนิน หรือ ฝาดชา (tea tannin) มีอยู่หลายชนิด พบในใบชาแห้งประมาณร้อยละ 20-30 โดยน้ำหนักแห้ง ในใบชาสดจะมีประมาณร้อยละ 22 แทนนินเป็นสารที่มีรสฝาดที่ใช้บรรเทาอาการท้องเสียได้ ถ้าต้องการดื่มชาให้ได้รสชาติที่ดี ไม่ควรต้มใบชาค้างไว้นานเกินไป เพราะแทนนินจะออกมามากทำให้ชามีรสขม แต่ถ้าดื่มชาเพื่อบรรเทาอาการท้องเสียก็ควร ต้มใบชานานๆ เพื่อให้มีปริมาณแทนนินออกมามาก

Caffeine

Caffeine มีอยู่ในชาประมาณร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนัก สารชนิดนี้สามารถกระตุ้นให้สมองสดชื่นแจ่มใส หายง่วง เนื่องจากมีฤทธิ์กระตุ้นประสาท เพิ่มการเผาผลาญ เพิ่มการทำงานของหัวใจและไต ในการชงชานั้นพบว่า 3 นาทีแรก จะได้ caffeine ออกมาในปริมาณสูง โดยทั่วไปในชาเขียว 1 ถ้วย จะมี caffeine อยู่ 10-50 มิลลิกรัม

ฤทธิ์ของชาจะขึ้นอยู่กับสารสำคัญดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น สารเหล่านี้จะถูกดูดซับสู่ทางเดินอาหารได้ถึง ร้อยละ 90 แล้วแพร่กระจายไปยังเนื้อเยื่อต่าง ๆ ภายใน 5 นาที และยังคงฤทธิ์อยู่ในช่วงเวลา 6-14 ชั่วโมง นอกจากนี้ในใบชายังมี ปริมาณแร่ธาตุฟลูออไรด์สูง ซึ่งแร่ธาตุชนิดนี้เป็นส่วนในการเสริมสร้างกระดูกและฟันให้แข็งแรง นักวิจัยจากศูนย์ทันตกรรมฟอริชในบอสตัน พบว่าถ้าแช่ใบชาไว้นาน 3 นาทีก่อนดื่ม ชาจะสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียซึ่งทำให้เกิดฟันผุได้ถึงร้อยละ 95 จะเห็นได้ว่าการดื่มชาเขียวจึงน่าจะมีส่วนช่วยในการป้องกันฟันผุได้ (พร้อมลักษณะ : 2006)

2.5 ประโยชน์และฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของชา

นักวิจัยทางการแพทย์พบว่าผู้ที่ดื่มชาเป็นประจำทำให้ร่างกายมีความสามารถในการต่อต้านโรคภัยไข้เจ็บมากมาย ผลการศึกษาของนักวิจัยต่างๆ ยืนยันว่า polyphenols ที่มีสรรพคุณเป็น antioxidant มีอยู่มากมายหลายประเภท ซึ่งครอบคลุมถึง flavonoids และ catechins มีความสามารถในด้านต่างๆ ดังนี้ ช่วยส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันด้วยการป้องกันไม่ให้ระบบได้รับความเสียหายจากการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันและอนุมูลอิสระ ป้องกันไม่ให้เซลล์ที่มีสุขภาพดีแปรสภาพเป็นเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์เนื้องอก ช่วยควบคุมระดับคอเลสเตอรอล ช่วยควบคุมความดันโลหิต ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเส้นเลือด ช่วยชะลอความแก่ สกัดกั้นการรุกรานของเชื้อไวรัส เชื้อรา และแบคทีเรียที่ปะปนมากับอาหารต่อสู้กับแบคทีเรียในช่องปากซึ่งเป็นสาเหตุของโรคฟันผุ (ศักดิ์ : 2543)

จากสรรพคุณของชาที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกายมานานนับพันปี จึงมีผู้ที่สนใจศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ของชามากขึ้น การที่ชามีสรรพคุณในด้านการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นอันตรายบางชนิด นักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นของมหาวิทยาลัยการแพทย์โซวาในกรุงโตเกียว พบว่า catechins ในชามีสรรพคุณและมีประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อ *V. cholerae* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอหิวาต์ สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อที่พบบนผิวหนังและลำคอ ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดฝีหนอง และโรคติดเชื้ออื่นๆ และยับยั้งปฏิกิริยาของเชื้อ *Clostridium botulinum* ซึ่งเป็นสาเหตุของอาหารเป็นพิษขั้นรุนแรงที่เรียกว่า botulism ได้อีกด้วย *Cl. botulinum* เป็นสายพันธุ์ที่มีพิษร้ายแรงและเป็นสาเหตุของโรคเนื้อตาย โรคบาดทะยัก และเป็นสาเหตุของโรคมะเร็ง จากการวิจัยพบว่าเชื่อนี้มีความรุนแรงมาก แต่เมื่อนักวิจัยนำ catechins ชนิด ECG และ ECGC ในชาไปทดสอบกับเชื่อนี้ พบว่า catechins มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้

สรรพคุณของชาเขียว จากการวิจัยพบว่า catechins ในชายังสามารถต่อต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อที่มากับอาหารอย่างเช่นเชื้อบิด รวมทั้ง *Vibrio* และ *B. cereus* ปริมาณชาเขียวที่ใช้ในการทดสอบนี้ใช้เพียงเล็กน้อย เท่านั้น เพราะจากการวิจัยพบว่าปริมาณ polyphenols เข้มข้นในชาเพียงถ้วยเดียวก็มากเกินความต้องการในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ดังกล่าวแล้ว 2-3 เท่า ชาเขียวยังมีบทบาทสำคัญต่ออนามัยในช่องปากคือ ชาเขียวมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Strep. mutans* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเหงือกและโรคฟันผุ ช่วยให้ช่องปากสะอาด กลิ่นปากสดชื่น และป้องกันการติดเชื้อในโพรงรากฟันได้อีกด้วย นอกจากชาเขียวแล้วยังมีชาอื่นๆ ที่มีสรรพคุณในการต่อต้านฟันผุ เช่น ชาดำ ชาอูหลง โดยใช้ชาที่มีความเข้มข้นน้อยกว่า 1 ใน 4 ของปริมาณชาที่พบในชาหนึ่งถ้วย ชาเขียวมีสรรพคุณและมีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคฟันผุได้สูงสุด รองลงมาคือ ชาดำและชาอูหลง

ดร.มาซาโอะ โอนิชิแห่งมหาวิทยาลัยการแพทย์โตเกียวได้ทดสอบและวิจัยชาเขียวมานานหลายปี จึงสรุปได้ว่า “การดื่มชาเขียวเพียงวันละหนึ่งถ้วยเป็นปัจจัยที่สามารถป้องกันโรคฟันผุและปริทันต์อื่นๆ ในเด็กนักเรียนชั้นประถมได้ประมาณครึ่งหนึ่งของจำนวนผู้ป่วยทั้งหมด” และยืนยันด้วยว่า “แค่อมชาเขียวแล้วบ้วนปากหลังอาหารทุกมื้อก็มีประสิทธิภาพมากในการป้องกันฟันผุแล้ว” (ศักดิ์ : 2543)

Das และคนอื่นๆ (1962) ทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staph. aureus*, *Shigella dysenteriae* และ *V. Cholera* ของชาเขียวและชาดำ ด้วยวิธี agar diffusion พบว่าชาทั้งสองชนิดสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบได้ นอกจากนี้ Yam และคนอื่นๆ (1997) ทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ขององค์ประกอบทางเคมีของชา โดยใช้ชาเขียวญี่ปุ่น ชาอูหลง ชาดำ ที่ความเข้มข้นของชาในปริมาณหนึ่งถ้วย (cup of tea) ซึ่งแยกองค์ประกอบของสารสกัดจากชาได้ ดังนี้ EC, C, GC, EGC, EGCG, CG, EGC, ECG, caffeine และ gallic acid ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดจากชาเขียว สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staph. epidermidis*, *Ps. aeruginosa*, *Ser. marcescens*, *E. coli* และ *C. utilis* ได้

Chou และคนอื่นๆ (1999) ได้ศึกษาฤดูกาลปลูกและระดับของการหมักชาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ 6 ชนิด ได้แก่ *B. subtilis*, *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Ps. fluorescens*, *Salmonella sp.*, *Staph. aureus* โดยใช้ผลิตภัณฑ์ชาชนิดต่างๆ คือ Paochung, Black, Green, Oolong, Teih-kuan-Ying และ Longjing ทดสอบกับจุลินทรีย์พบว่าชาเขียวสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้มาก ชาดำสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์ได้น้อย โดยยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Ps. fluorescens* ได้มากที่สุด ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *B. subtilis* ได้น้อยที่สุด และยับยั้ง *E. coli*, *P. vulgaris*, *Salmonella sp.*, และ *Staph. aureus* ได้ใกล้เคียงกัน และจากการทดสอบผลิตภัณฑ์ชาต่างๆ กับ *Staph. aureus* พบว่าชา Longjing สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้มากกว่า Teih-kuan-ying, paochung, Oolong และ Black ตามลำดับ นอกจากนี้ยังทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staph. aureus* ของชาอูหลงในได้หวนที่เก็บในฤดูกาลต่างๆ พบว่าชาที่เก็บในฤดูร้อนสามารถยับยั้งการเจริญได้มากกว่าชาที่เก็บในฤดูใบไม้ผลิ ฤดูหนาว และฤดูใบไม้ร่วง

Lee และคนอื่นๆ (2003) ศึกษาการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staph. epidermidis* และ *Klebsiella pneumoniae* ด้วยผักและน้ำผลไม้ที่มีวิธีการสกัดแตกต่างกัน ผักและผลไม้ใช้วิธีการคั้น กระเทียมใช้วิธีการทุบ ชาเขียวญี่ปุ่นสกัดด้วยน้ำกลั่นเดือด พบว่าสารสกัดจากผักและผลไม้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้แตกต่างกัน ผักสีเขียวที่ความเข้มข้น 1:2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งสองได้ ผักสีม่วง ผักสีแดง และน้ำผลไม้ ที่ความเข้มข้น 1:2 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ไม่ค่อยดี น้ำองุ่นที่ความเข้มข้น 1:8-1:16 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ

K. pneumoniae ได้ปานกลาง กระเทียมและชาที่ความเข้มข้น 1:32-1:28 สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองได้ดี จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากชาที่มีความเข้มข้นน้อยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าผักและผลไม้อื่นๆ

An และคนอื่นๆ (2004) ทดสอบสารสกัดจากชาเขียวโดยแยก polyphenols มาทดสอบกับจุลินทรีย์ที่ได้จากผิวหนังและในช่องปาก ได้แก่ *Staph. epidermidis*, *E. coli*, *Stap. aureus*, *Streph. mutans* และ *C. albicans* พบว่า polyphenols จากชาเขียวสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบได้ยกเว้น *C. albicans*

จากสรรพคุณของชาที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่างๆ ได้หลายชนิด ดังนั้นจึงต้องการทดสอบดูว่าสารสกัดจากชาที่ผลิตและปลูกในจังหวัดเชียงรายมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้หรือไม่ จึงเลือกจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ดังนี้มาทดสอบ

Pathogenicity หมายถึง ความสามารถของจุลินทรีย์ที่จะทำให้เกิดโรค โดยการบุกรุกเข้าสู่โฮสต์ และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยา คือทำให้เกิดโรคขึ้น ความสามารถที่ทำให้เกิดโรคได้เรียกว่า ความรุนแรง (virulence) แบคทีเรียที่มีความรุนแรงมากจะทำให้เกิดโรคได้แม้มีจำนวนน้อย ส่วนแบคทีเรียที่มีความรุนแรงต่ำในการทำให้เกิดโรคได้จะต้องมีจำนวนเชื้อมากพอ(นงลักษณ์ และปรีชา : 2544)

แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

แบคทีเรียแกรมลบ (gram negative bacteria) ส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียที่อยู่ในตระกูล Enterobacteriaceae ซึ่งเป็นตระกูลที่รวมแบคทีเรียที่สำคัญทางการแพทย์ไว้มากที่สุด ได้แก่

Escherichia coli เป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ ปกติจะไม่ทำให้เกิดโรค แต่จะทำให้เกิดโรคได้ถ้าเชื้อมีอยู่นอกลำไส้ เช่น ในท่อน้ำเสีย ท่อน้ำดื่ม ปวด เยื่อหุ้มสมองและไขสันหลัง บางสายพันธุ์ทำให้เกิดท้องร่วงในคนและสัตว์ ลักษณะเชื้อเป็นเซลล์รูปท่อน แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ อาจเคลื่อนที่ได้หรือไม่เคลื่อนที่ บางสายพันธุ์ที่แยกได้จากนอกลำไส้สร้างแคปซูลได้ ให้โคโลนีเรียบ ไม่มีสี มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตรในเวลา 18 ชั่วโมง อาจทำให้เกิดโรคท้องร่วง (gastroenteritis) ทางเดินปัสสาวะอักเสบ (urinary tract infection) โลหิตเป็นพิษ (septicemia) และเยื่อหุ้มสมองอักเสบในทารก (neonatal meningitis)

Salmonella ถิ่นที่อยู่ของเชื้อนี้คือลำไส้คนและสัตว์ และทำให้เกิดโรคในคนและสัตว์ต่างๆ ได้ ลักษณะเชื้อเป็นเซลล์รูปท่อน สายพันธุ์ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบตัว ไม่มีแคปซูลและสปอร์ เจริญได้ดีในที่ที่มีหรือไม่มีออกซิเจน *Salmonella* ทำให้เกิดโรคติดเชื้อ 3 ชนิด คือ ไข้ไทฟอยด์ : ไข้ไทฟอยด์และพาราไทฟอยด์ (enteric fevers : typhoid and paratyphoid) โลหิตเป็นพิษ (septicemia) และลำไส้อักเสบ (enterocolitic, gastroenteritis) เชื้อสำคัญที่ทำให้เกิดโรคนี้คือ *Sal. typhimurium* แหล่งของการติดเชื้อคือ

อาหารและน้ำดื่มที่ปนเปื้อนกับเชื้อ *Salmonella* เช่น น้ำถูกปนเปื้อนกับอุจจาระ ทำให้โรคระบาดออกไป นมและผลิตภัณฑ์นม เช่น ไอศกรีม เนยแข็ง คัสตาร์ด เนื่องจากถูกปนเปื้อนด้วยอุจจาระหรือผ่านกระบวนการ พาสเจอร์ไรเซชันไม่เพียงพอ อาหารสดต่างๆ เช่น ปลาหมึก ไช้แห้ง หรือไช้แช่แข็ง ซึ่งติดต่อมาจากสัตว์ปีกหรือปนเปื้อนในกระบวนการผลิต

Serratia marcescens ในธรรมชาติพบแพร่กระจายอยู่ในดิน น้ำ พืชและสัตว์ รวมทั้งแมลง ซึ่งอาจทำให้เกิดโรคได้ ลักษณะเชื้อ มีขนาดเล็กกว่าโคลิฟอร์มแบคทีเรียเล็กน้อย สายพันธุ์เดียวกันอาจมีรูปร่างทั้งแบบค็อกโคบาซิลไล และรูปท่อน ปกติไม่สร้างแคปซูล เชื้อส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ *Ser. marcescens* เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในโรงพยาบาล โดยเป็นเชื้อฉวยโอกาสทำให้เกิดติดเชื้อในเด็กแรกเกิด ผู้ที่อ่อนแอ หรือคนไข้ที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในทางเดินหายใจ ทางเดินปัสสาวะ การติดเชื้อที่บาดแผล การเกิดปอดบวมและโลหิตเป็นพิษ (septicemia) การติดเชื้อเกี่ยวข้องกับการใช้เครื่องช่วยหายใจและการสอดใส่เครื่องมือเข้าในร่างกาย นอกจากนี้ยังทำให้เกิดเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ (endocarditis) และเกิดภาวะอักเสบของไขกระดูก (osteomyelitis)

Enterobacter aerogenes อาศัยอยู่ในดิน น้ำ น้ำเสีย และพืชผักต่างๆ บางครั้งพบในอุจจาระและทางเดินหายใจ และมีบ้างที่อยู่ในลำไส้ใหญ่ของคนและสัตว์ ลักษณะเชื้อมีรูปร่างเป็นท่อนตรง เซลล์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.3 – 1.5 ไมโครเมตร เป็นเชื้อที่เคลื่อนที่ได้ *En. aerogenes* เป็นเชื้อฉวยโอกาสเช่น เกิดการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะหลังจากมีการสอดใส่เครื่องมือแพทย์

Pseudomonas fluorescens พบทั่วไปในดินและน้ำ ลักษณะเชื้อเป็นท่อนตรงหรือโค้งเล็กน้อย เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลาที่ขั้วเซลล์ ให้รังควัตถุฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent) แบคทีเรียแกรมบวก (gram positive bacteria) กลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกที่ทำให้เกิดโรค ได้แก่

Staphylococcus aureus เชื้อมีลักษณะเป็นรูปทรงกลม ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ เซลล์มีเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่าง 0.5–1.5 ไมโครเมตร เมื่อแบ่งเซลล์จะติดกันเป็นกลุ่มคล้ายรวงองุ่น เป็นสาเหตุสำคัญของโรคฝีหนองถึง 80% การติดเชื้อส่วนใหญ่เกิดที่ผิวหนัง ซึ่งเริ่มจากการติดเชื้อที่ต่อมน้ำมันบริเวณที่เกิดฝีจะเกิดการอักเสบ มีการสะสมเม็ดเลือดขาว เกิดการตายของเนื้อเยื่อ การติดเชื้อนี้ทำให้เกิดโรคฝีและฝีฝักบัว (furuncles and carbuncles) โรคผิวหนังเป็นตุ่มพุพอง (impetigo) โรคผิวหนังหลุดลอก (scalded skin syndrome) หรือโรคริตเตอร์ (Ritter's disease) นอกจากนี้ยังทำให้เกิดโรคต่างๆ อีก เช่น โรคปอดบวม (pneumonia) ไขกระดูกอักเสบ (osteomyelitis) การติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือดและเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ (bacteremia and endocarditis) อาหารเป็นพิษ (food poisoning) ลำไส้อักเสบ (enterocolitis) ช็อก (toxic shock syndrome)

Streptococcus faecalis เป็นแบคทีเรียที่พบในลำไส้คนและสัตว์เลื้อยคลาน เชื้อนี้จะมีจำนวนมากในลำไส้ของคน ถ้าตรวจพบในน้ำแสดงว่าน้ำนั้นปนเปื้อนกับอุจจาระ ลักษณะเชื้อเซลล์เรียงเป็นคู่หรือเป็นสาย เป็นเชื้อฉวยโอกาส ทำให้เกิดการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ เยื่อหูหัวใจอักเสบ

Bacillus subtilis เป็นแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ เป็นแอโรบ หรือแฟคัลเตทีฟแอนแอโรบ เชื้อมีลักษณะเป็นรูปท่อนยาว 3-8 ไมโครเมตร ในสภาพที่สร้างสปอร์จะทนความร้อนและสารเคมีได้ดี ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตเป็นแซโพรไฟต์ อยู่ในดิน น้ำ พืชผัก มีบางชนิดอาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์ มีเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่ทำให้เกิดโรคกับคน เนื่องจากเชื้อมีความรุนแรงในการก่อโรค

การทำให้เกิดโรคเนื่องจาก *B. cereus* และ *B. subtilis* มีดังนี้ *B. cereus* อาจทำให้เกิดโรคได้หลายแบบคือ อาหารเป็นพิษ (food poisoning) หรือกระเพาะและลำไส้อักเสบ (gastroenteritis) ตาอักเสบ (panophthalmitis) และการติดเชื้อแบบฉวยโอกาส การติดเชื้อแบบนี้พบได้ใน *B. cereus*, *B. subtilis* และ *Bacillus* สปีชีส์อื่น โดยติดเชื้อเนื่องจากเครื่องมือสวนหลอดเลือด การติดเชื้อในทางเชื่อมของระบบประสาทส่วนกลาง เยื่อหูหัวใจอักเสบ ปอดอักเสบ และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ เชื้อที่แยกได้ส่วนใหญ่พบว่าเป็นเชื้อที่ปนเปื้อนจากผิวหนังคนไข้

Micrococcus luteus เป็นเชื้อที่ไม่ก่อโรค มักอยู่ในดิน น้ำจืด อาจพบที่ผิวหนังคนและสัตว์

ยีสต์ (Yeast) เป็น fungi ที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ หรือแบ่งตัว เนื่องจากเป็นเซลล์เดี่ยวจึงเจริญและสืบพันธุ์ได้รวดเร็ว และการเปลี่ยนแปลงทางเคมีได้ดีกว่า เนื่องจากมีอัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูงกว่า ยีสต์แตกต่างไปจากแบคทีเรียส่วนใหญ่ เพราะมีขนาดใหญ่กว่า และสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน

2.6 ยาต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial drugs)

ยาด้านแบคทีเรีย (antibacterial agents) ได้แก่ (มังกร : 2541)

ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) เป็นสารที่สังเคราะห์จากจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งซึ่งสามารถฆ่าหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อื่นๆ เช่น penicillin, streptomycin

สารเคมีบำบัด (chemotherapeutic substances) คือ สารที่สังเคราะห์ขึ้นเองเพื่อใช้ฆ่าหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อื่นๆ เช่น sulfonamides

การออกฤทธิ์ของยาต้านแบคทีเรียมี 2 ลักษณะ คือ

ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (bacteriostatic activity) ได้แก่ chloramphenicol, tetracyclines, clindamycin เป็นต้น และฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (bactericidal activity) ได้แก่ β -lactam antibiotics, aminoglycosides เป็นต้น

ยาต้านแบคทีเรียมีทั้งการออกฤทธิ์แคบ (narrow spectrum) ออกฤทธิ์จำกัด หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียเพียงไม่กี่ชนิด และการออกฤทธิ์กว้าง (broad spectrum) ออกฤทธิ์จำกัด หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้มากมายหลายชนิด เช่น มีฤทธิ์ต่อทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิด ส่วนกลไกการออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Mechanism of action of antibacterials) มีหลายอย่าง ได้แก่ ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ขัดขวางการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนภายในเซลล์แบคทีเรีย ยับยั้งการสังเคราะห์ DNA ของแบคทีเรีย และขัดขวางวิถีทางของสารชีวเคมีภายในเซลล์



บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุดิบ

ตัวอย่างใบชาสด ได้แก่ สายพันธุ์อัสสัม สายพันธุ์อุหลงเบอร์12 และสายพันธุ์อุหลงเบอร์17 เก็บจากไร่ชาสุวิรุฬห์ บ้านแม่ลาว อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย

ตัวอย่างใบชาแห้งชนิดชาเขียว

1. สายพันธุ์อัสสัม
2. สายพันธุ์อุหลงเบอร์12

ตัวอย่างใบชาแห้งชนิดชาอุหลง

1. สายพันธุ์อุหลงเบอร์12
2. สายพันธุ์อุหลงเบอร์17

ซื้อจากร้านชาสุวิรุฬห์ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย

3.2 จุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบ

แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่

1. *Staphylococcus aureus* TISTR 1466
2. *Streptococcus faecalis* TISTR 459
3. *Bacillus subtilis* TISTR 008
4. *Bacillus cereus* TISTR 687
5. *Micrococcus luteus* TISTR 884

แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่

1. *Escherichia coli* TISTR 780
2. *Salmonella sp.*
3. *Salmonella typhimurium* TISTR 292
4. *Serratia marcescens* TISTR 1354

5. *Enterobacter aerogenes* TISTR 1468

6. *Pseudomonas fluorescens* TISTR 358

ยีสต์ ได้แก่

1. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049

2. *Candida albicans* TISTR 5779

3. *Candida utilis* TISTR 5001

ได้จากห้องปฏิบัติการชีววิทยา สำนักวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

3.3 อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์

อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ ได้แก่ Nutrient Broth (NB) และ Nutrient Agar (NA) เป็นอาหารสำเร็จรูป ผลิตกันซ์ของบริษัท Merck

3.4 สารเคมี

3.4.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ Polyphenols โดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ได้แก่

1. Acetonitrile (HPLC grade)

2. Trifluoro acetic acid (TFA) (AR grade)

ของบริษัท Merck

3. Caffeine (CF) (AR grade)

4. (-)Epigallocatechin gallate (EGCG), (AR grade)

5. (-)Epigallocatechin (EGC), (AR grade)

6. (-)Epicatechin gallate (ECG), (AR grade)

7. (-)Epicatechin (EC), (AR grade)

8. (+)Gallocatechin (G), (AR grade)

9. (+)Catechin (C), (AR grade)

ของบริษัท Sigma

3.4.2 ยาปฏิชีวนะ ได้แก่ Penicillin และ Chloramphenical ชนิดผง ของบริษัท Sigma ได้จากห้องปฏิบัติการชีววิทยา สำนักวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

3.5 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.5.1 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับใช้ในการสกัดใบชา

1. Beakers
2. กรวยกรอง
3. กระดาษกรองเบอร์1 (Whatman)
4. ไมโครเวฟกำลังไฟ 900 วัตต์ (SHARP)
5. เครื่องปั่นละเอียด (PHILIPS)
6. Water bath (Memment, WB 14)
7. Freeze dryer (Helo, Drywinner8, FD8-55)

3.5.2 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับใช้ในการทดสอบจุลินทรีย์

1. ตะเกียงแอลกอฮอล์
2. จานเพาะเชื้อ
3. ขวดรูปชมพู่
4. ปิเปต
5. แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยม
6. Swab
7. Cork borer ขนาด 0.5 มิลลิเมตร
8. Autoclave (MLS-3020, Sanyo Electric CO., LTD, JAPAN)
9. Hot Air Oven (Memment, Model 500)
10. Lamina Air Flow (Holten LaminAir, Biohazard V6)
11. Incubator (WTB BINDEER รุ่น BED)

3.5.3 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ด้วย HPCL

1. กระบอกฉีดยา
2. Vial
3. Syringe filter

3.6 การเตรียมสารสกัดจากชา

3.6.1 การเตรียมตัวอย่างชา

นำใบชาสดมาอบด้วยไมโครเวฟที่ระดับความร้อนสูงสุด เวลา 3 นาที และบดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่นละเอียด ส่วนใบชาแห้งนำใบชามาบดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่นละเอียด

3.6.2 การเตรียมสารสกัดจากชา

นำตัวอย่างชาสดและชาแห้งที่บดละเอียดแล้วอย่างละ 10 กรัม สกัดด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง กรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 นำสารสกัดชาที่ได้ทำให้เป็นผงด้วยวิธีการ freeze dried จากนั้นชั่งผงสกัดชาที่ได้ เพื่อหาเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งรวมของสารสกัดจากชา และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาใช้วิเคราะห์ต่อไป

3.7 การเตรียมเชื้อทดสอบ

นำจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบมาเลี้ยง NB 15 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการถ่ายเชื้อ 2 ครั้ง จากนั้นนำเชื้อที่เลี้ยงได้มา 5 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเหลวที่เตรียมใหม่ 45 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้เชื้อที่พร้อมนำไปทดสอบต่อไป

3.8 การทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชา

3.8.1 การเตรียมสารทดสอบชุดควบคุม

NA ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

3.8.2 สารทดสอบชุดยาปฏิชีวนะ

NA ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ยาปฏิชีวนะ 0.6 กรัม ผสมให้เข้ากัน จะได้ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ 30 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร

3.8.3 การเตรียมสารทดสอบชุดสารสกัดจากชา

NA ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่สารสกัดจากชา 0.6 กรัม ผสมให้เข้ากัน จะได้ความเข้มข้นของสารสกัดจากชา 30 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร

3.8.4 เจาะ NA ของชุดทดสอบข้างต้น โดยใช้ cork borer ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร จะได้ปริมาตรของสาร 0.6 มิลลิลิตร และมีปริมาตรสารทดสอบ 0.03 กรัมต่อ มิลลิลิตร

3.8.5 swab เชื้อใน NB ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.7 จากนั้นนำมา swab ให้ทั่วผิวหน้า NA ที่ไว้ประมาณ 3-5 นาที แล้วเจาะ NA ด้วย cork borer

3.8.6 นำ NA ที่เจาะได้จากข้อ 3.8.4 มาวางแทนที่ NA ในข้อ 3.8.5

3.8.7 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.8.8 วัด inhibition zone โดยวัดรวมเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone

3.9 การทดสอบปริมาณการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชา

(Chou *et.al.* : 1999)

3.9.1 นำเชื้อทดสอบที่เตรียมได้จากข้อ 3.7 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร มาเติมผง สกัด ชาให้ได้เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น 1% บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เวลา 0-24 ชั่วโมง การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของสารสกัดชา 1% เตรียมได้โดยชั่งผงสกัดชา 0.5 กรัม ลงไปใน NB 50 มิลลิลิตร

3.9.2 หาค่า cfu (Colony Forming Unit) ของเชื้อที่เหลือรอดจากการยับยั้งในชุด ทดลองต่างๆ เป็นเวลาต่างๆ ทุก 4 ชั่วโมง ตั้งแต่เวลาที่ 0-24 ชั่วโมง

3.9.3 ค่า cfu/ml หาจาก Spread plate technique โดยนับจำนวนโคโลนีของ เชื้อจุลินทรีย์ ก่อนทำ spread plate ให้ทำการ dilution เชื้อเป็น serial dilution

3.9.4 คำนวณค่า cfu/ml ของชุดทดลองและชุดควบคุม

3.9.5 คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจากสูตร

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{Log cfu/ml control} - \text{Log cfu/ml treated})}{\text{Log cfu/ml control}}$$

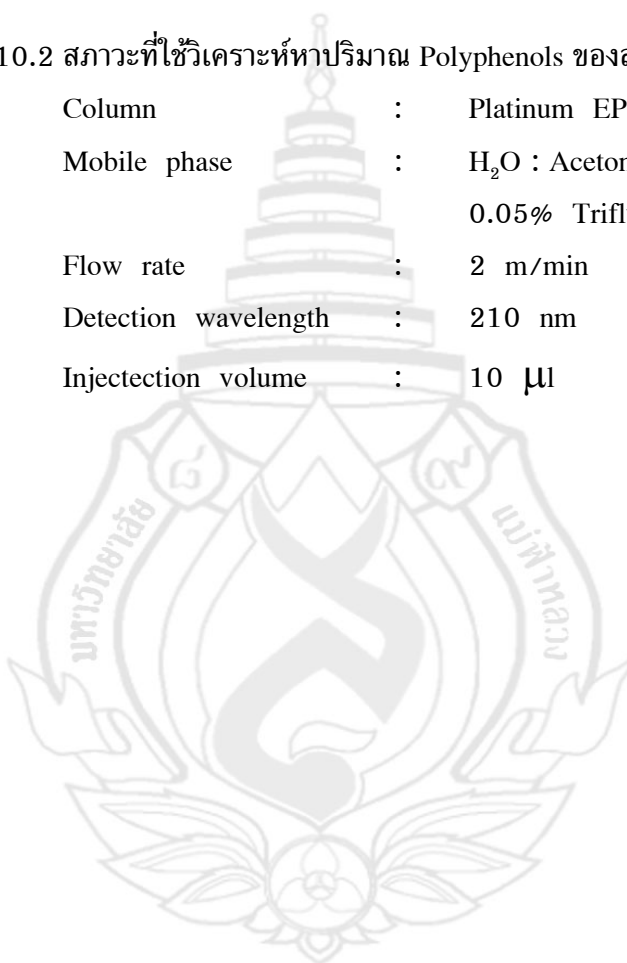
3.9.6 หา % Inhibition ในเวลาต่างๆ ทุก 4 ชั่วโมง ตั้งแต่เวลาที่ 0-24 ชั่วโมง

3.10 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากใบชาสดและใบชาแห้ง ด้วย HPLC

3.10.1 นำตัวอย่างสารสกัดจากชาสดและชาแห้งจากข้อ 3.6.2 อย่างละ 1 กรัม สกัดด้วยน้ำกลั่นปริมาณ 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 เพื่อได้สารสกัดจากใบชาทั้งสองชนิดที่พร้อมนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC

3.10.2 สภาวะที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณ Polyphenols ของสารสกัดจากใบชา

Column	:	Platinum EPS C 18 100A 3 u
Mobile phase	:	H ₂ O : Acetonitrile (87 : 13) ใน 0.05% Trifluoro acetic acid (TFA)
Flow rate	:	2 m/min
Detection wavelength	:	210 nm
Injectection volume	:	10 µl



บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 น้ำหนักแห้งรวมของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักแห้งรวมของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง

ชนิดชา	สายพันธุ์	% น้ำหนักแห้ง
ชาสด	อัสสัม	69.2
	อุหลงเบอร์12	65.4
	อุหลงเบอร์17	57.5
ชาแห้งชนิดชาเขียว	อัสสัม	68.7
	อุหลงเบอร์12	65.6
ชาแห้งชนิดชาอุหลง	อุหลงเบอร์12	56.8
	อุหลงเบอร์17	67.2

4.2 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชา (แบบ agar diffusion)

การวิเคราะห์นี้ได้ศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชา เพื่อวิเคราะห์ว่าสารสกัดจากชาสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์ได้หรือไม่ และสารสกัดจากชาแต่ละชนิดที่แตกต่างกันมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ แตกต่างกันหรือไม่

จากผลการทดสอบเชิงคุณภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชาแบบ agar diffusion พบว่าสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งที่ใช้ในการทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิดที่นำมาทดสอบได้ (ดังตารางที่ 4.1)

สารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อัสสัมสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *B. subtilis* ได้มากที่สุด วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibition zone ได้ 17 มิลลิเมตร และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *B. cereus* กับ *Ent. aerogenes* ได้น้อยที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 12 มิลลิเมตร สารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์ 12 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *B. subtilis* ได้มากที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 19 มิลลิเมตร และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Ser. marcescens* ได้น้อยที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 10 มิลลิเมตร และสารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์ 17 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Ps. fluorescens* ได้มากที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 20 มิลลิเมตร และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Ser. marcescens* กับ *Ent. aerogenes* ได้น้อยที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 12 มิลลิเมตร

สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อัสสัมสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *M. luteus* ได้มากที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 20 มิลลิเมตร และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Ent. aerogenes* ได้น้อยที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 0.8 มิลลิเมตร สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์ 12 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *M. luteus* ได้มากที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 20 มิลลิเมตร และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Sal. typhimurium* ได้น้อยที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 10 มิลลิเมตร สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาอุหลงที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์ 12 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *M. luteus* ได้มากที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 20 มิลลิเมตร และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staph. aureus*, *B. subtilis* และ *Ser. marcescens* ได้น้อยที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 9 มิลลิเมตร สารสกัดจากชาแห้งชนิดชา อุหลงที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์ 17 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *M. luteus* ได้มากที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 20 มิลลิเมตร และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Sal. typhimurium* ได้น้อยที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 9 มิลลิเมตร

ตารางที่ 4.2 การทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบชา

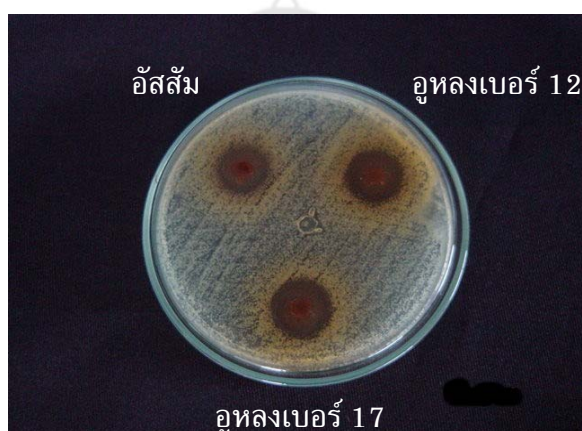
จุลินทรีย์ทดสอบ	Inhibition zone (mm.)						
	สารสกัดจากชาสด			สารสกัดจากชาแห้ง			
				ชาเขียว		ชาอูหลง	
	อัลลัม	อูหลง เบอร์12	อูหลง เบอร์17	อัลลัม	อูหลง เบอร์12	อูหลง เบอร์12	อูหลง เบอร์17
แบคทีเรียแกรมบวก							
<i>Staph. aureus</i>	-	-	-	13	15	9	12
<i>Strep. faecalis</i>	14	13	-	-	16	20	18
<i>B. subtilis</i>	17	19	18	8	12	9	10
<i>B. cereus</i>	12	14	13	11	16	17	15
<i>M. luteus</i>	15	17	18	20	22	37	23
แบคทีเรียแกรมลบ							
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sal. typhimurium</i>	-	-	-	-	10	10	9
<i>Ser. marcescens</i>	13	10	12	9	11	9	10
<i>Ent. aerogenes</i>	12	11	12	8	13	14	12
<i>Ps. fluorescens</i>	15	18	20	10	14	16	15
ยีสต์							
<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. utilis</i>	-	-	-	-	-	-	-

- ไม่มีผลยับยั้ง

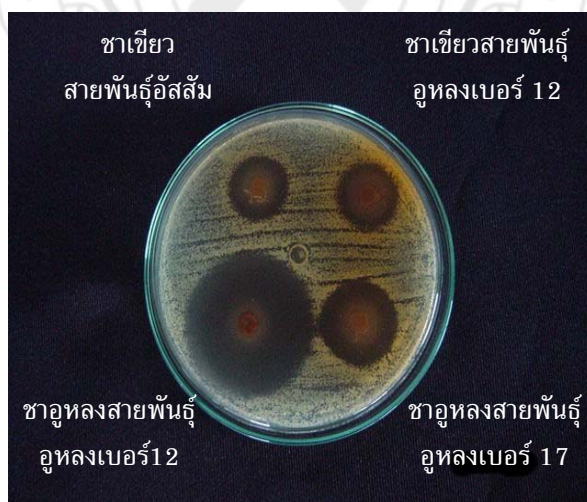
จากตารางที่ 4.2 สารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งแต่ละชนิดที่ต่างกันสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์แตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของสารเคมีที่เกิดขึ้นจากกรรมวิธีในการผลิตชาแต่ละชนิด ซึ่งนำไปสู่การได้สารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ต่างกัน และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดจากชาสดและชาแห้ง พบว่าสารสกัดจากชาแห้งสามารถสกัด polyphenols ได้มากกว่าสารสกัดจากชาสด

นอกจากนี้สารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งส่วนใหญ่พบว่าสารสกัดจากชาแห้งชนิดอูหลงที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อูหลงเบอร์ 12 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ

M. luteus ได้มากที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดจากชาแห้งชนิดชา อุหลงที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์ อุหลงเบอร์ 17 สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์ 12 สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อัสสัม, สารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์ 17 สารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์ 12 และสารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อัสสัม วัดขนาด inhibition zone ได้ 37, 23, 22, 20, 18, 17 และ 15 มิลลิเมตร ตามลำดับ ตัวอย่างการยับยั้งการเจริญเติบโตแสดงให้เห็นที่สามารถยับยั้งได้มาก ดังรูปที่ 4.1 และรูปที่ 4.2 สำหรับยีสต์พบว่าสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้



รูปที่ 4.1 ลักษณะการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *M. luteus* ของสารสกัดจากใบชาสด



รูปที่ 4.2 การยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *M. luteus* ของสารสกัดจากชาแห้ง

สำหรับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของยาปฏิชีวนะ 2 ชนิด ได้แก่ penicillin และ chloramphenical พบว่ายาปฏิชีวนะทั้งสองชนิดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ยาปฏิชีวนะ penicillin สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *M. luteus* ได้มากที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 73 มิลลิเมตร และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Stap. aureus* ได้น้อยที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 10 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากชาพบว่า สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาอูหลงที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อูหลงเบอร์ 12 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *M. luteus* ได้มากที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 37 มิลลิเมตร และสารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อูหลงเบอร์ 12 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staph. aureus* ได้มากที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 15 มิลลิเมตร ยาปฏิชีวนะ chloramphenical สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *B. cereus* ได้มากที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 49 มิลลิเมตร และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *C. utilis* ได้น้อยที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 23 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากชาพบว่า สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาอูหลงที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อูหลงเบอร์ 12 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *B. cereus* ได้มากที่สุด วัดขนาด inhibition zone ได้ 17 มิลลิเมตร ตัวอย่างการยับยั้งการเจริญเติบโตแสดงให้เห็นที่สามารถยับยั้งได้มาก ดังรูปที่ 4.4 และตารางที่ 4.2



รูปที่ 4.3 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *M. luteus* ของยาปฏิชีวนะ (A) penicillin
(B) chloramphenical

ตารางที่ 4.3 การทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของยาปฏิชีวนะ

จุลินทรีย์ทดสอบ	Inhibition zone (mm.)				
	ยาปฏิชีวนะ		ตัวอย่างชาสายพันธุ์อุหลงเบอร์12		
	penicillin	chloramphenical	ชาสด	ชาแห้งชนิดชาเขียว	ชาแห้งชนิดชาอุหลง
แบคทีเรียแกรมบวก					
<i>Staph. aureus</i>	10	25	–	15	9
<i>Strep. faecalis</i>	15	38	13	16	20
<i>B. subtilis</i>	20	30	19	12	9
<i>B. cereus</i>	20	49	14	16	17
<i>M. luteus</i>	73	48	17	22	37
แบคทีเรียแกรมลบ					
<i>E. coli</i>	22	29	–	–	–
<i>Salmonella sp.</i>	50	36	–	–	–
<i>Sal. typhimurium</i>	45	42	–	10	9
<i>Ser. marcescens</i>	30	39	10	11	10
<i>Ent. aerogenes</i>	22	31	11	13	12
<i>Ps. fluorescens</i>	25	37	18	14	15
ยีสต์					
<i>S. cerevisiae</i>	–	40	–	–	–
<i>C. albicans</i>	–	–	–	–	–
<i>C. utilis</i>	12	23	–	–	–
- ไม่มีผลยับยั้ง					

จากตารางที่ 4.3 เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของยาปฏิชีวนะกับสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง พบว่ายาปฏิชีวนะที่นำมาทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง เนื่องจากฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะมีผลโดยตรงต่อจุลินทรีย์ ประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของยา penicillin ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียชนิด staphylococci และ streptococci จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ และยาปฏิชีวนะ chloramphenical จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของจุลินทรีย์ ดังนั้น

ยาปฏิชีวนะจึงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้มากกว่า ซึ่งยาปฏิชีวนะเป็นยารักษาโรคที่ได้จากสิ่งมีชีวิต มีผลในการทำลาย หรือยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นโดยใช้ในปริมาณเล็กน้อยเท่านั้น (นงลักษณ์ และ ปรีชา : 2544) ถึงแม้ว่าสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีเท่ากับยาปฏิชีวนะ แต่การดื่มชาเป็นประจำทุกวันทำให้สุขภาพของผู้ดื่มแข็งแรง มีประโยชน์ต่อระบบภูมิคุ้มกัน เนื่องจากน้ำชามีสารประกอบ polyphenols ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ ช่วยป้องกันโรคที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และเป็น antioxidant ที่มีประโยชน์มาก ดังนั้นไม่ว่าจะดื่มชาในปริมาณมากเท่าใดชาก็ไม่ก่อให้เกิดผลข้างเคียงที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย

4.3 ผลการทดสอบปริมาณในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชา (ตามวิธีของ Cheng-Chun chou)

การวิเคราะห์เชิงปริมาณในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชา เพื่อทดสอบสารสกัดจากชาที่มีปริมาณการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้มากหรือน้อย และได้ทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เป็นเวลาต่างๆ คือ ทดสอบทุก 4 ชั่วโมงเป็นเวลา 0-24 ชั่วโมง

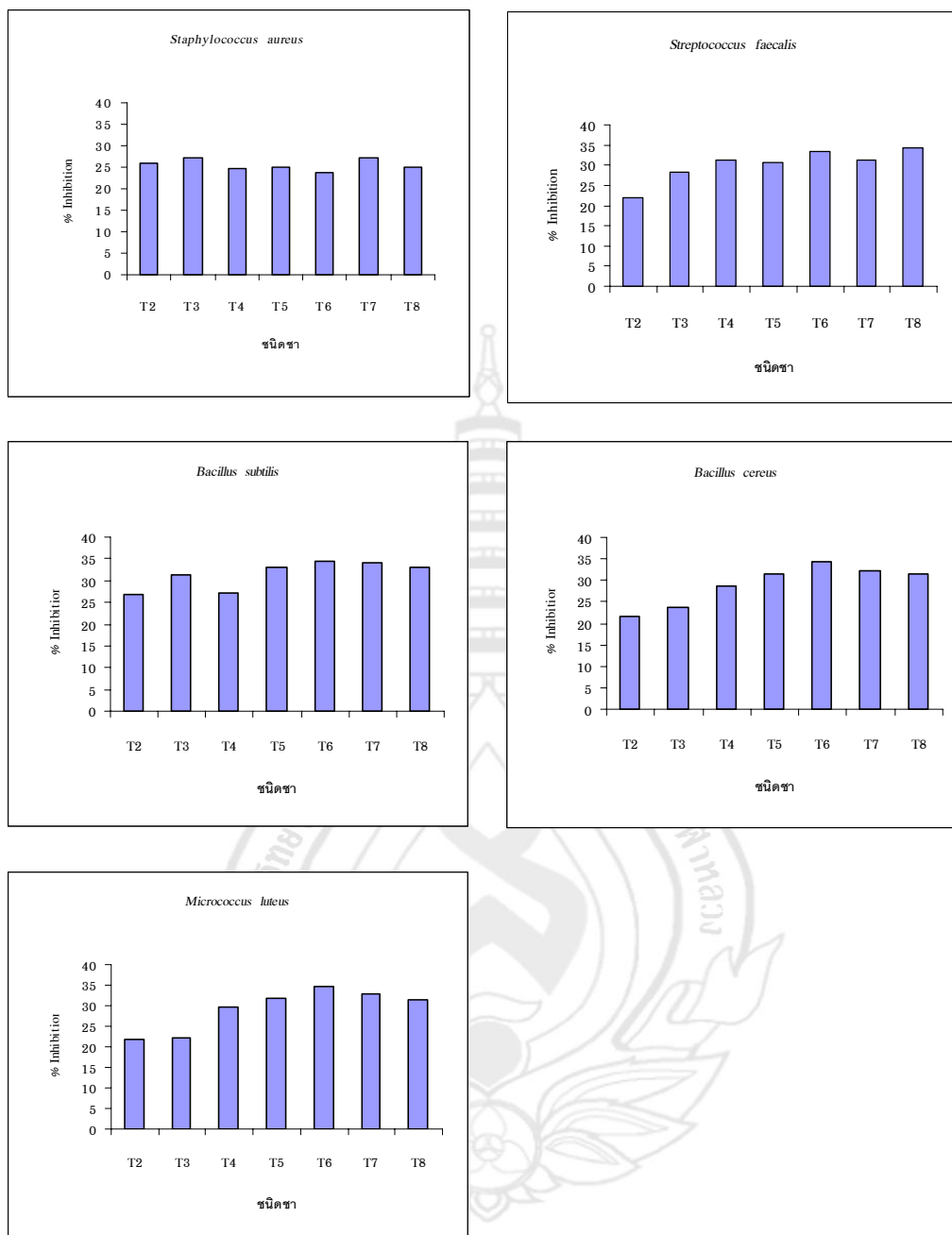
4.3.1 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยคำนวณออกมาเป็นจำนวนของจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งการเจริญเติบโต (% Inhibition) (Munoz and Davidson, 1983) พบว่า สารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งแต่ละชนิดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์แต่ละชนิดได้แตกต่างกันที่เวลา 24 ชั่วโมง สารสกัดจากชาสดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้มากที่สุดคือ สารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์17 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Ps. fluorescens* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ได้ 34.28% รองลงมาคือ สารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์12 ได้ 31.78% และสารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อัสสัม ได้ 27.00% ตามลำดับ สารสกัดจากชาสดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้น้อยที่สุดคือ สารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์17 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *C. utilis* ได้ 2.98% รองลงมาคือ สารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อัสสัมสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. cerevisiae* ได้ 4.02% และสารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์12 ได้ 6.68%

สารสกัดจากชาแห้งที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้มากที่สุดคือ สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาอุหลงสายพันธุ์อุหลงเบอร์12 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Ps. fluorescens* ได้ 35.21% รองลงมาคือ สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวสายพันธุ์อุหลงเบอร์

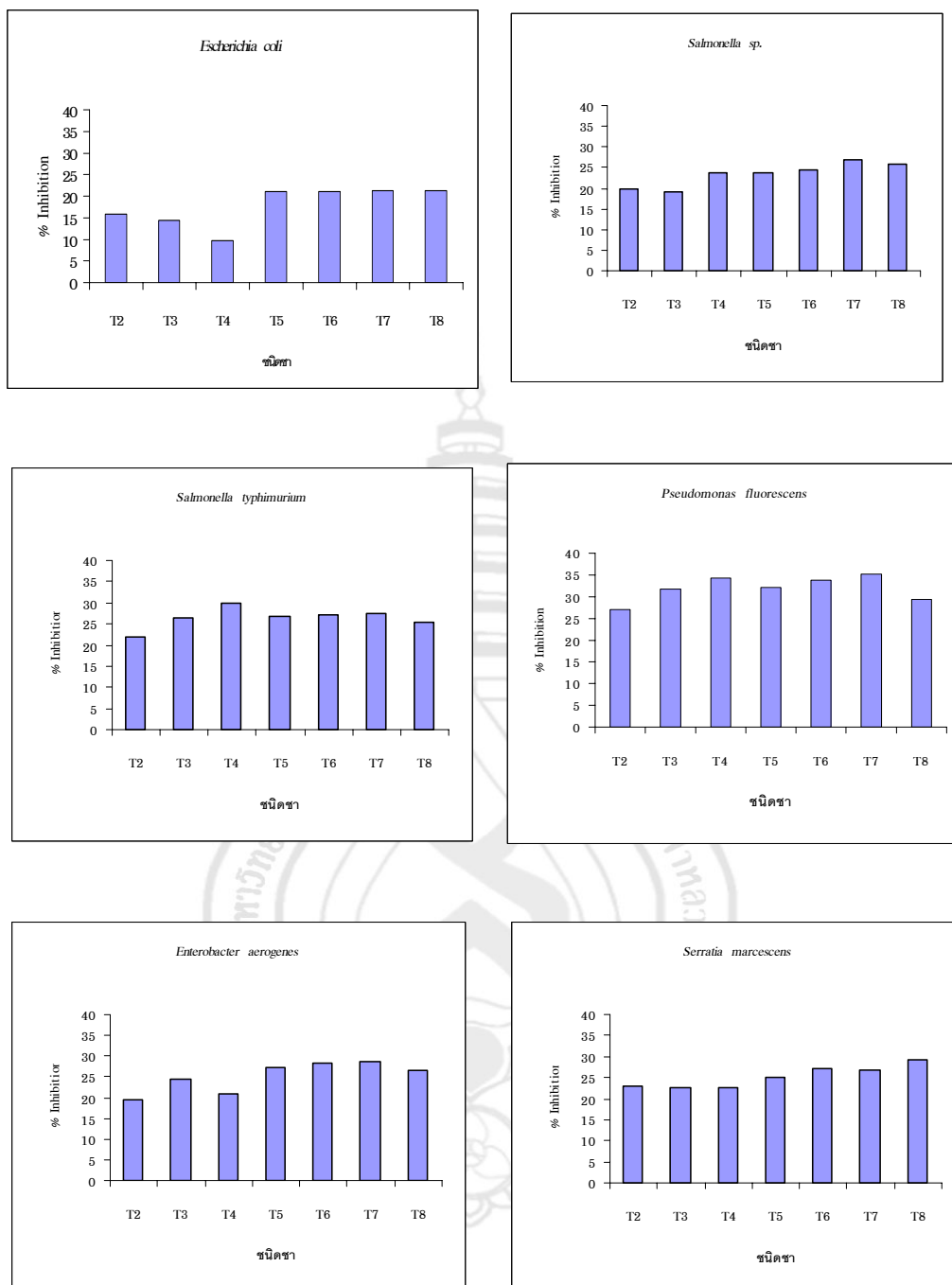
12 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *M. luteus* ได้ 34.51% สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาอูหลงสายพันธุ์อุหลงเบอร์17 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Strep. faecalis* ได้ 34.35% และสารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวสายพันธุ์อัสสัมสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *B. subtilis* ได้ 33.16% ตามลำดับ สารสกัดจากชาแห้งที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้น้อยที่สุดคือ สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวสายพันธุ์อุหลงเบอร์12 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *C. utilis* ได้ 3.95% รองลงมาคือ สารสกัดจากชาแห้งชนิดอูหลงสายพันธุ์อุหลงเบอร์17 ได้ 4.53% สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาอูหลงสายพันธุ์อุหลงเบอร์12 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. cerevisiae* ได้ 5.51% และสารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวสายพันธุ์อัสสัมได้ 6.83% ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.4 และ ดังตารางที่ในภาคผนวก ก

เพื่อให้ง่ายต่อการอธิบายกราฟ จึงได้กำหนดรหัสย่อของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ดังนี้

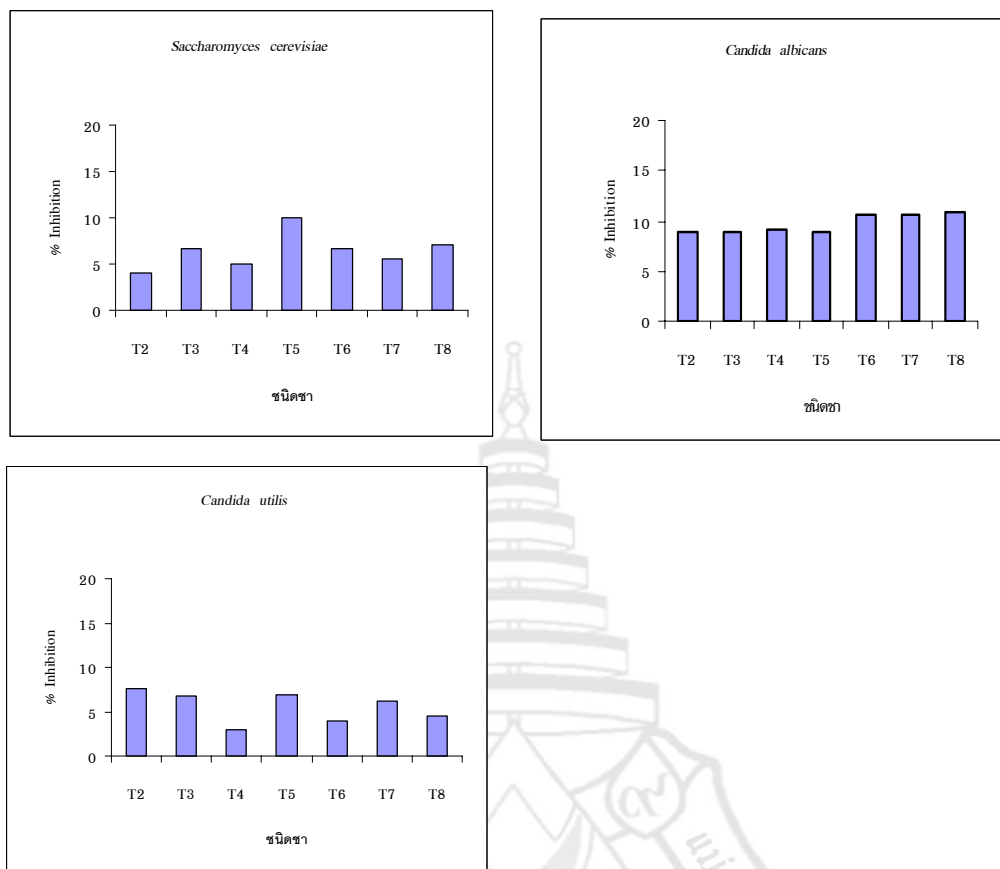
- T1 คือ ชุดควบคุม (ไม่มีสารสกัดจากชา)
- T2 คือ สารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อัสสัม
- T3 คือ สารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์12
- T4 คือ สารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์17
- T5 คือ สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวสายพันธุ์อัสสัม
- T6 คือ สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวสายพันธุ์อุหลงเบอร์12
- T7 คือ สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาอูหลงสายพันธุ์อุหลงเบอร์12
- T8 คือ สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาอูหลงสายพันธุ์อุหลงเบอร์17



รูปที่ 4.4 ปริมาณการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวกของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งชนิดต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง



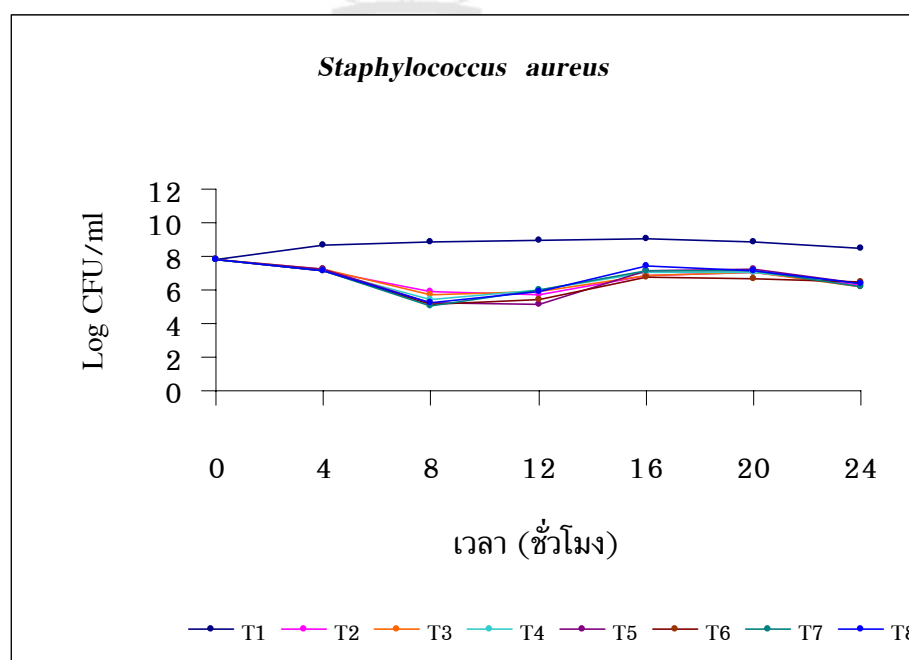
รูปที่ 4.5 ปริมาณการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมลบของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งชนิดต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง



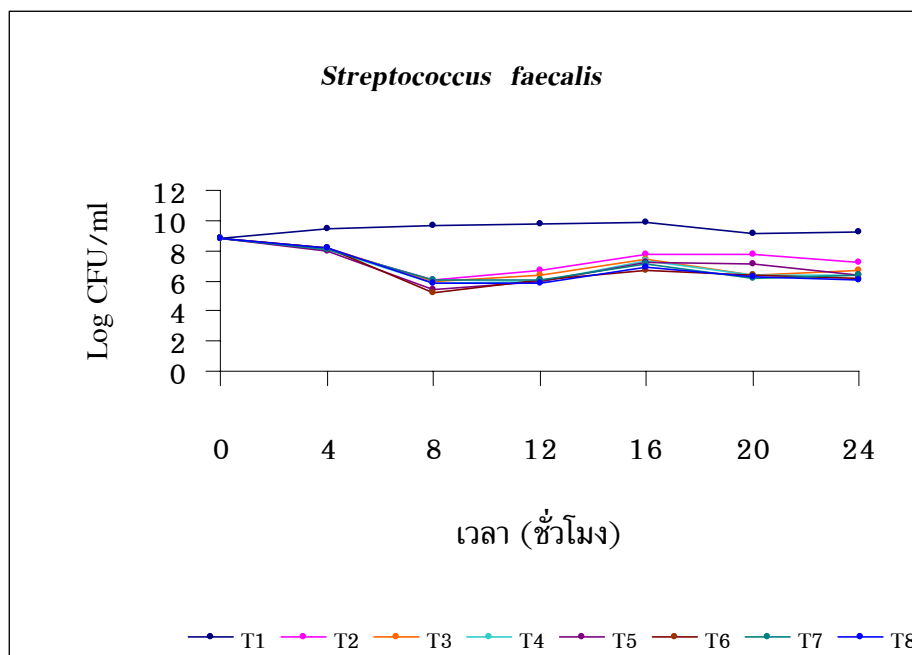
รูปที่ 4.6 ปริมาณการยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ของสารสกัดจาก ชาสดและสารสกัดจาก ชาแห้งชนิดต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

จากรูปที่ 4.4 ถึงรูปที่ 4.6 สารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งมีการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและยีสต์แตกต่างกัน สารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้มากกว่ายีสต์ เพราะแบคทีเรียเป็นพวก prokaryote เป็นสิ่งมีชีวิตซึ่งประกอบด้วยเซลล์ที่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane หรือ nuclear envelope) และอวัยวะในเซลล์ (organelle) ก็ไม่มีเยื่อหุ้ม สารพันธุกรรม (genetic material) หรือกรดนิวคลีอิกจึงอยู่ปะปนกับอวัยวะในเซลล์ และยีสต์เป็น eukaryote เป็นสิ่งมีชีวิตซึ่งประกอบด้วยเซลล์ที่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส รวมถึงเยื่อหุ้มอวัยวะในเซลล์ สารพันธุกรรมหรือกรดนิวคลีอิกประเภท DNA จึงถูกแยกออกมาต่างหาก ไม่ปะปนกับอวัยวะในเซลล์ มีโครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ทำให้เซลล์มีความแข็งแรงคงรูปร่างอยู่ได้ และมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีได้ดีกว่า เนื่องจากมีอัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูงกว่า

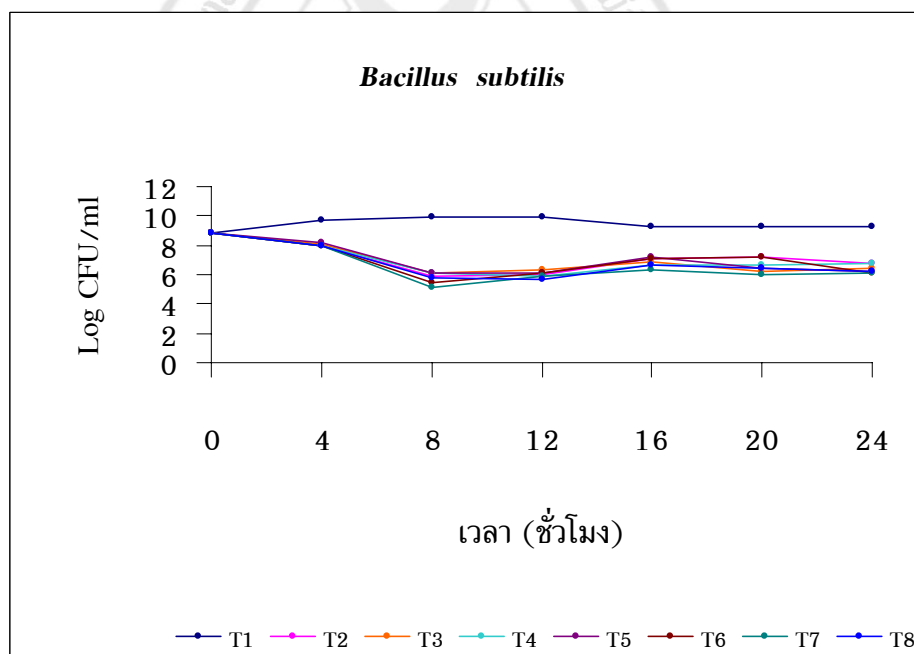
4.3.2 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่ถูกสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งยับยั้งการเจริญเติบโตในเวลาต่างๆ มีลักษณะแตกต่างกันที่เวลา 8 ชั่วโมง ลักษณะการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่มีปริมาณน้อยที่สุด ซึ่งพบว่า แบคทีเรียแกรมบวก *M. luteus* มีลักษณะการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ถูกสารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวสายพันธุ์อุหลงเบอร์ 12 ยับยั้งการเจริญเติบโตน้อยที่สุด 4.88 cfu/ml สำหรับแบคทีเรียแกรมลบ *Strep. typhimurium* มีลักษณะการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ถูกสารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวสายพันธุ์อัสสัมยับยั้งการเจริญเติบโตน้อยที่สุด 4.80 cfu/ml และ *C. albicans* มีลักษณะการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ถูกสารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวสายพันธุ์อัสสัมยับยั้งการเจริญเติบโตน้อยที่สุด 7.40 cfu/ml ดังรูปที่ 4.5 และดังตารางที่ในภาคผนวก



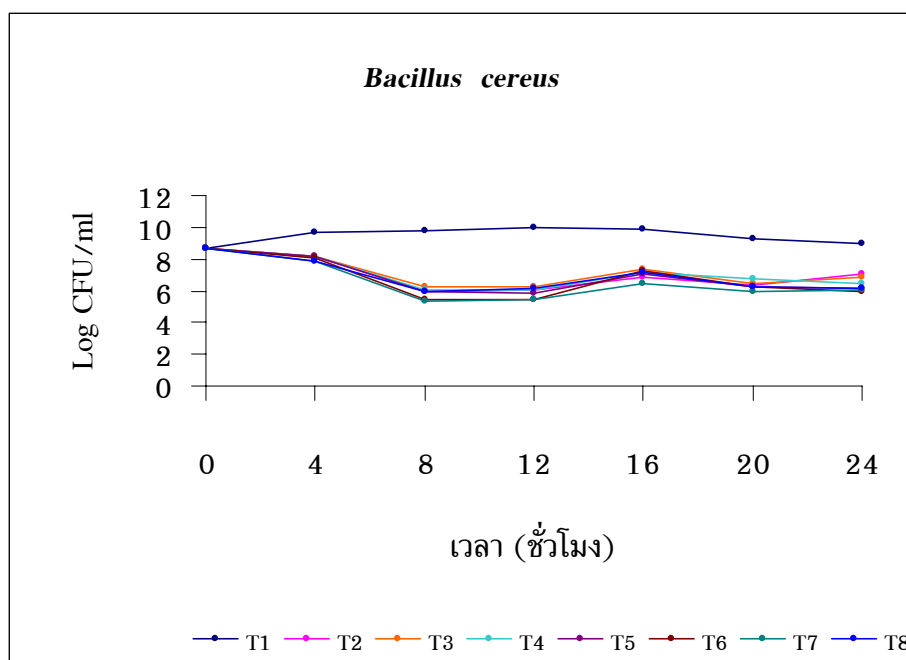
รูปที่ 4.7 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staph. aureus* ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง



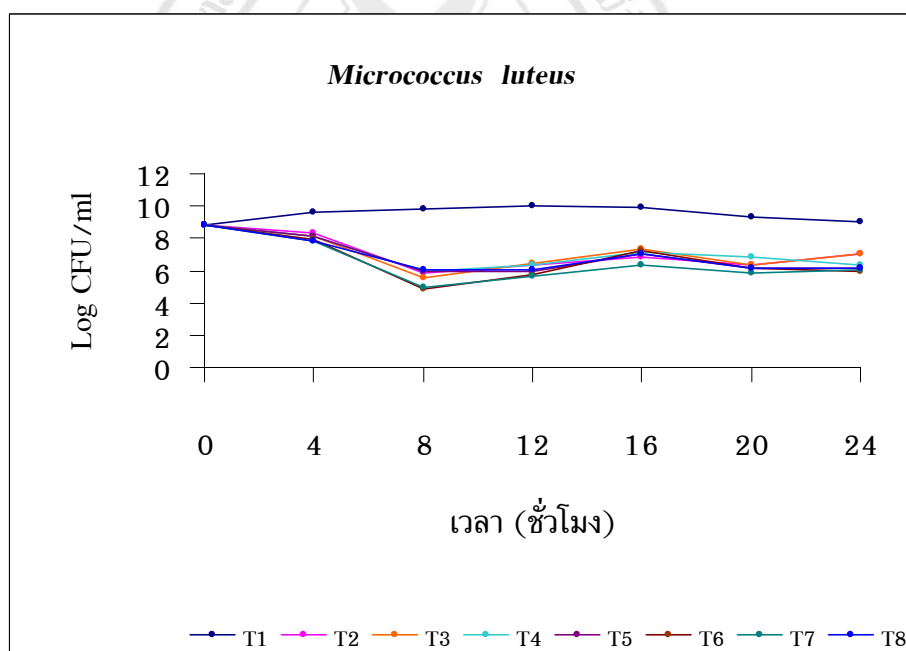
รูปที่ 4.8 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Strep. faecalis* ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง



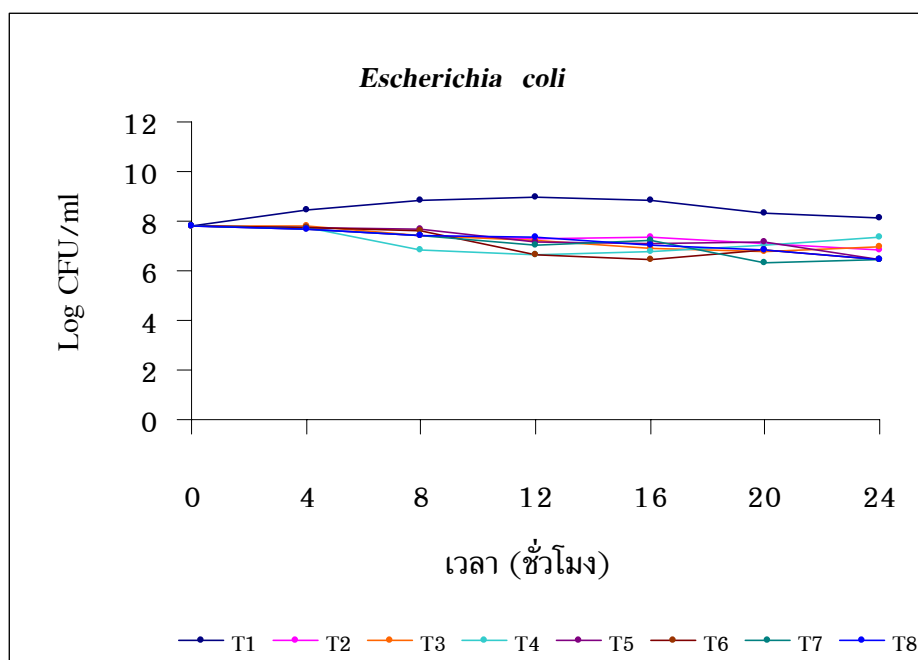
รูปที่ 4.9 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *B. subtilis* ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง



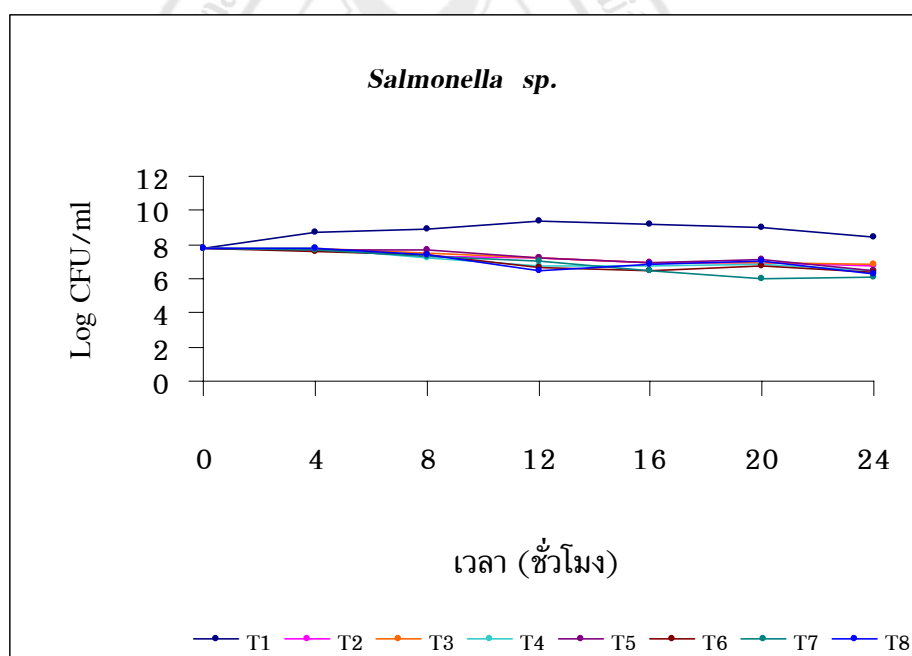
รูปที่ 4.10 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *B. cereus* ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง



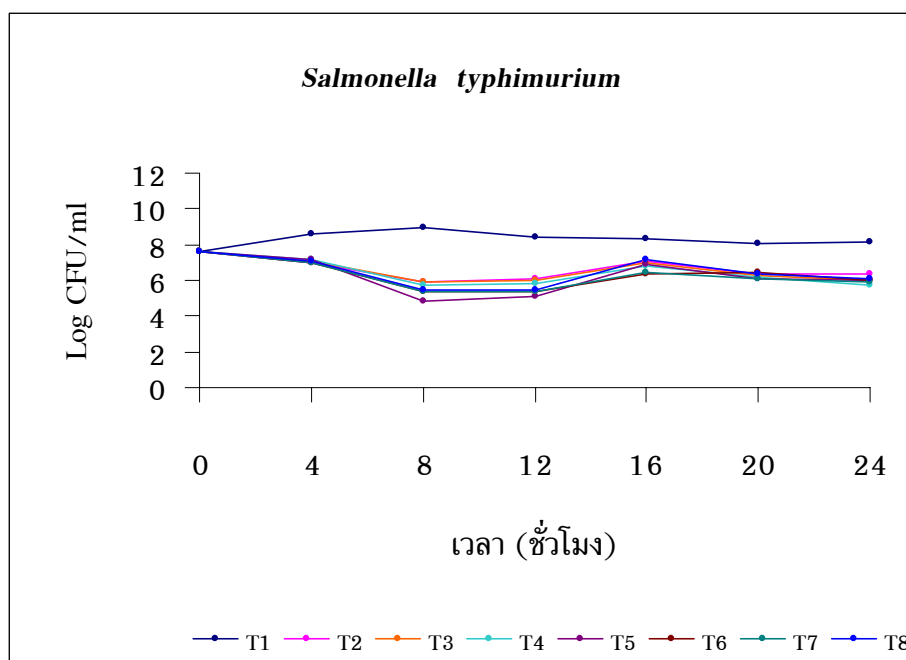
รูปที่ 4.11 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *M. luteus* ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง



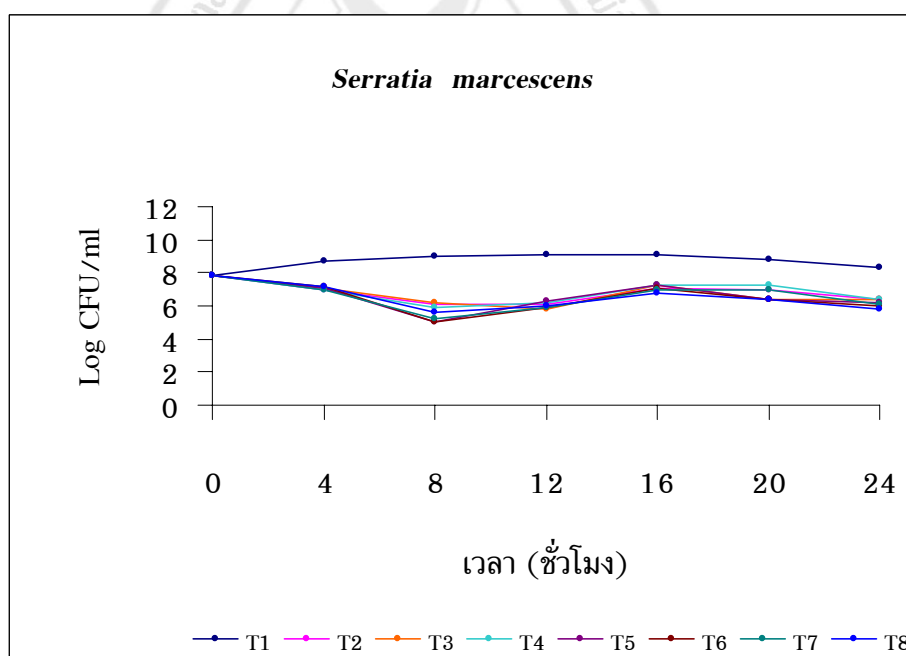
รูปที่ 4.12 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง



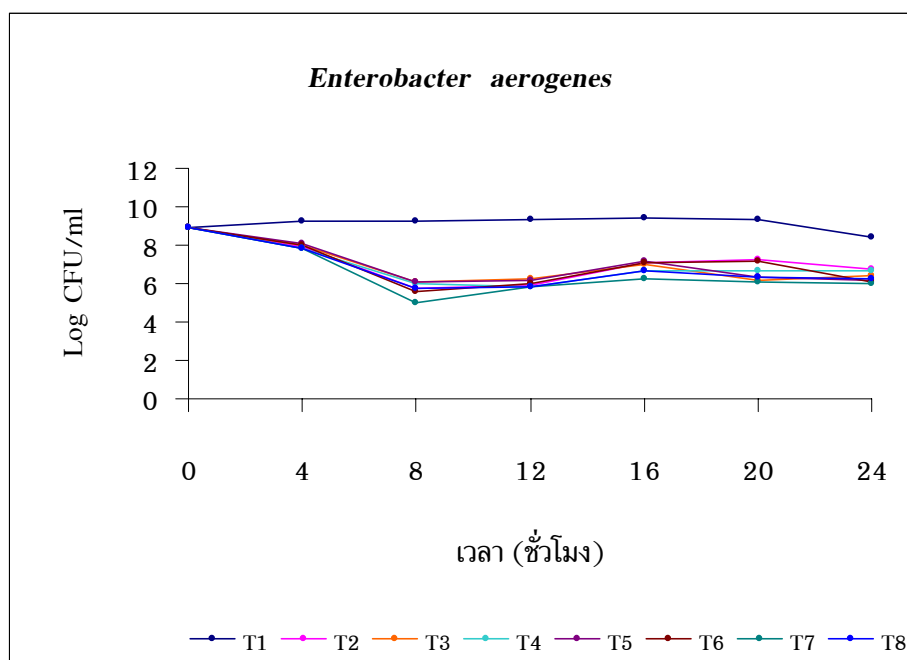
รูปที่ 4.13 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Salmonella sp.* ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง



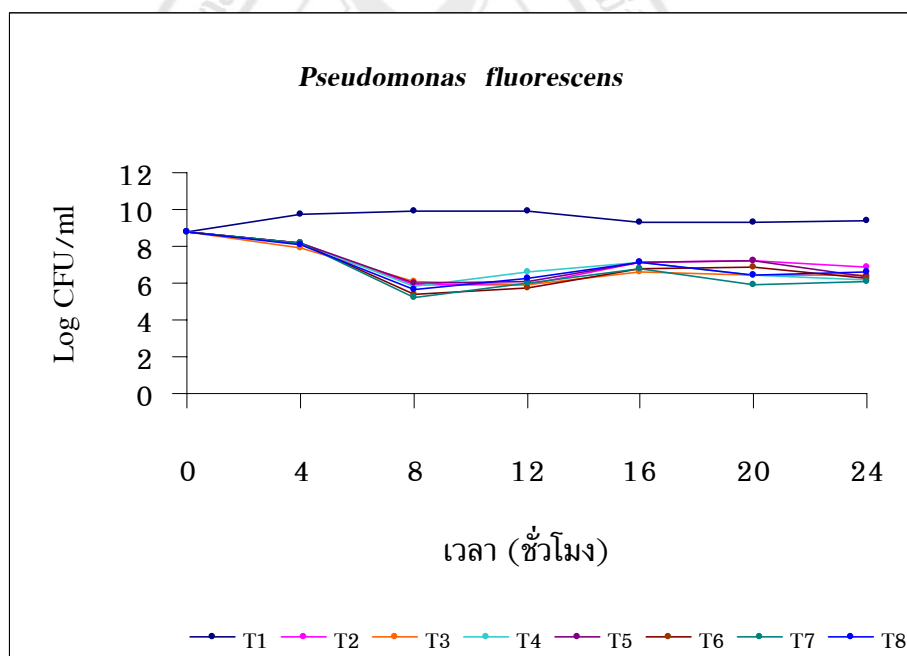
รูปที่ 4.14 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Sal. typhimurium* ของสารสกัดจากชาสด และสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง



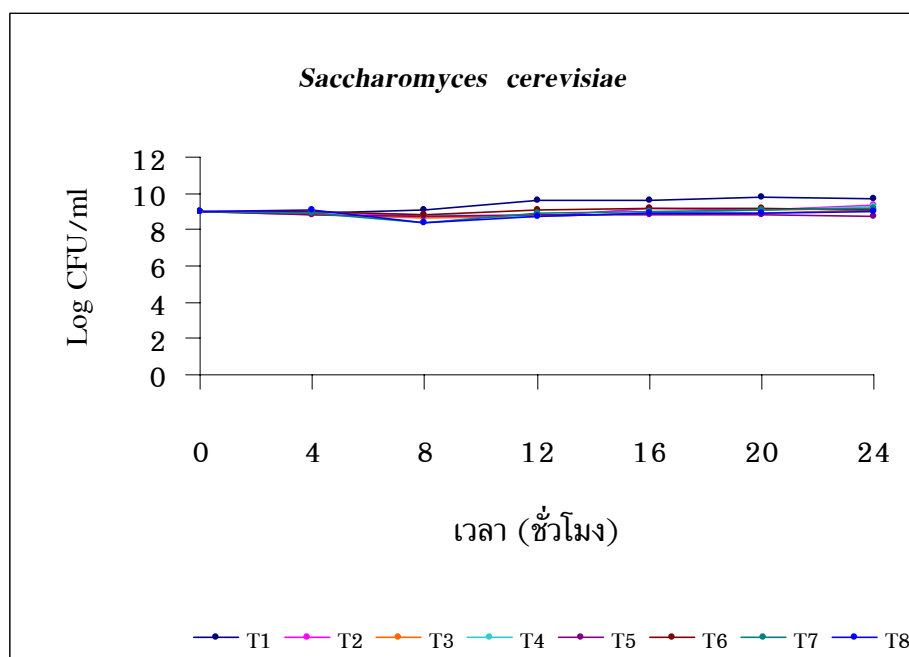
รูปที่ 4.15 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Ser. Marcescens* ของสารสกัดจากชาสด และสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง



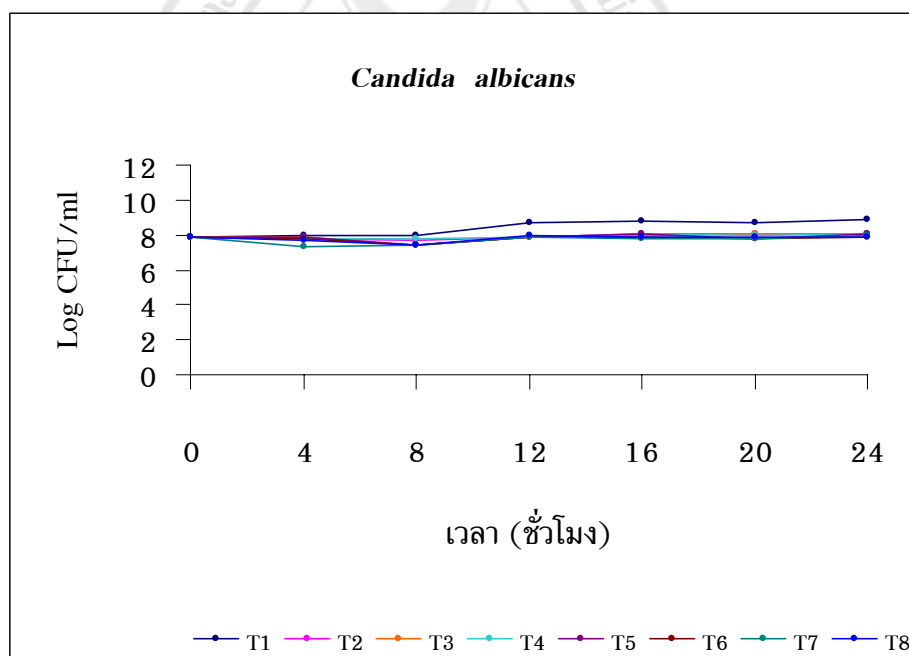
รูปที่ 4.16 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Ent. aerogenes* ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง



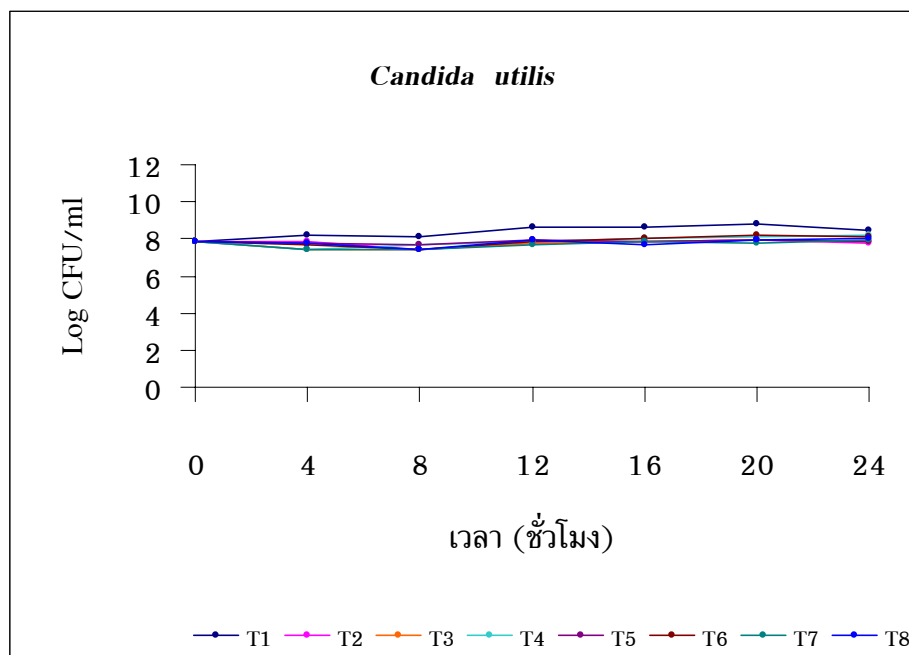
รูปที่ 4.17 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Ps. fluorescens* ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง



รูปที่ 4.18 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. cerevisiae* ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง



รูปที่ 4.19 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *C. albicans* ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง



รูปที่ 4.20 การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *C. utilis* ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ตั้งแต่เวลา 0-24 ชั่วโมง

จากรูปที่ 4.7 ถึงรูปที่ 4.20 ลักษณะการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่ถูกสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งยับยั้งการเจริญเติบโตในเวลาต่างๆ ที่มีลักษณะแตกต่างกัน โดยเวลาที่ 0 ชั่วโมง สารสกัดจากใบชายังไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ หรือมีการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย เนื่องจากสารสกัดจากใบชายังไม่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญ และแบคทีเรียกำลังปรับตัวให้เข้ากับสภาวะที่สิ่งแวดล้อมใหม่ เมื่อเวลาผ่านไปเป็นเวลา 4-8 ชั่วโมง มีการยับยั้งแบคทีเรียมากขึ้น ในชั่วโมงที่ 8 มีการยับยั้งแบคทีเรียมากที่สุด เนื่องจากสารสกัดจากใบชาที่มีคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย พร้อมกับแบคทีเรียมีการแบ่งตัว ทำให้สารสกัดจากใบชาสารสกัดจากชาถูกแบคทีเรียนำไปใช้อย่างมากและรวดเร็ว ดังนั้นแบคทีเรียจึงถูกยับยั้งมากที่สุด และตั้งแต่วเวลา 16-24 ชั่วโมง การยับยั้งจุลินทรีย์ลดลงทั้งนี้เพราะเป็นช่วงที่แบคทีเรียตายอย่างรวดเร็วและตายมากขึ้นจนสม่ำเสมอ เนื่องจากแบคทีเรียใช้สารอาหารที่ใช้เลี้ยงรวมทั้งสารสกัดจากชาหมดลงไป

4.4 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง ด้วย HPLC

เนื่องจาก polyphenols ของสารสกัดจากชาที่มีกลุ่ม catechins ซึ่งมีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ต่างๆ ได้หลายชนิด (Sato *et.al.* : 2000) ดังนั้นจึงวิเคราะห์หาปริมาณ polyphenols ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง เพื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่าง polyphenols กับการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบ

polyphenols ในใบชาโดยทั่วไปมี 8 ชนิด ดังนี้ epigallocatechin gallate (EGCG), epigallocatechin (EGC), epicatechin gallate (ECG), epicatechin (EC), galliccatechin (GC), catechin (C), catechin gallate (CG) และ galliccatechin gallate (GCG) แต่นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของ catechins ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งเพียง 5 ชนิด คือ EGCG, EGC, ECG, EC และ C

จากการทดสอบ พบว่าสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งมีปริมาณ EGCG, EGC, ECG, EC และ C แตกต่างกัน ดังตารางที่ 4.3 สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาอุหลงที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์ 12 มีปริมาณ EGCG และ EGC มากที่สุด คือ ร้อยละ 12.73 และ 7.74 ตามลำดับ สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อัสสัมมีปริมาณ ECG, EC และ C มากที่สุด คือ ร้อยละ 9.08, 6.97 และ 4.14 ตามลำดับ โดยทั่วไปปริมาณ Catechins ในใบชาสดจะมีประมาณร้อยละ 15-30 และชาที่เกิดปฏิกิริยาการหมักจะมีประมาณร้อยละ 8-20 (ศักดิ์ : 2543) นอกจากนี้ยังพบว่า EGCG เป็น polyphenols ที่พบได้มากในใบชา ซึ่งพบว่า สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาอุหลงที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์ 12 มี EGCG ปริมาณร้อยละ 12.73 รองลงมาคือ สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์ 12 มีปริมาณร้อยละ 10.08 สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาเขียวที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อัสสัมมีปริมาณร้อยละ 8.26 สารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์ 12 มีปริมาณร้อยละ 6.70 สารสกัดจากชาแห้งชนิดชาอุหลงที่ผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อุหลงเบอร์ 17 มีปริมาณร้อยละ 5.96 สารสกัดจากชาสดสายพันธุ์อัสสัมมีปริมาณร้อยละ 2.56 และสารสกัดจากชาสดสายพันธุ์ อุหลงเบอร์ 17 มีปริมาณร้อยละ 0.59 ตามลำดับ โดยทั่วไปปริมาณ EGCG ในใบชาสดจะพบมากถึงร้อยละ 9-13 และยังเป็นสารที่มีประโยชน์ในทางการแพทย์ (สันต์ : 2535)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณ polyphenols ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง

ชนิดชา	สายพันธุ์	polyphenols (ร้อยละ)				
		EGCG	EGC	ECG	EC	C
ชาสด	อัสสัม	2.56	1.22	0.99	0.36	0.25
	อุหลงเบอร์12	6.70	5.76	0.92	1.39	0.68
	อุหลงเบอร์17	0.59	0.23	0.23	0.06	0.15
ชาแห้งชนิดชาเขียว	อัสสัม	8.26	4.64	9.08	6.97	4.14
	อุหลงเบอร์12	10.08	5.75	3.51	3.25	1.67
ชาแห้งชนิดชาอุหลง	อุหลงเบอร์12	12.73	7.74	3.96	4.42	1.48
	อุหลงเบอร์17	5.96	6.58	1.02	1.85	0.25

จากตารางที่ 4.4 ในการวิเคราะห์หาปริมาณ polyphenols ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้งที่นำมาทดสอบ พบว่ามีความสอดคล้องกับผลการทดสอบความสามารถและปริมาณการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชาสดและสารสกัดจากชาแห้ง EGCG, EGC, ECG, EC และ C ที่พบในสารสกัดจากชาแห้งจะมีปริมาณมากกว่าสารสกัดจากชาสด และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แต่ละชนิดได้ในปริมาณที่มากกว่าเป็นส่วนใหญ่ polyphenols ที่พบในใบชาแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ชา กระบวนการผลิตชา และวิธีการเตรียมน้ำชา ซึ่งกระบวนการผลิตชามีผลต่อปริมาณ catechins ในใบชาเป็นอย่างมาก ปริมาณ catechins ในใบชาสด (ไม่เกิดปฏิกิริยาการหมัก) จะมีมากกว่าชาที่ผ่านกระบวนการผลิตที่เกิดปฏิกิริยาการหมัก เช่น ชาเขียว ชาอุหลง และชาดำ ซึ่งชาแต่ละชนิดจะมีปริมาณ catechins ที่แตกต่างกันออกไปตามกรรมวิธีการผลิตในชาเขียวเป็นชาที่ไม่ได้ผ่านขั้นตอนในการหมัก จึงทำให้มีปริมาณ catechins มากกว่าชาอุหลงที่เป็นชาแบบกึ่งหมัก และชาดำเป็นชาที่ผ่านกระบวนการหมักอย่างสมบูรณ์ ในใบชาจะมีเอนไซม์ที่มีชื่อว่า polyphenol oxidase ซึ่งเมื่อใบชาถูกตัดออกจากต้น เอนไซม์นี้จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจน (ในกระบวนการ oxidation) ทันทีที่ปฏิกิริยา oxidation เกิดขึ้น กระบวนการทางเคมีนี้จะทำการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและปริมาณของ catechins ด้วยเหตุนี้ ในการผลิตชาเขียวจึงต้องป้องกันการเกิดปฏิกิริยา oxidation ให้ได้มากที่สุด เพราะปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นทันทีที่เก็บใบชา การให้ใบชาสดได้รับความร้อนเป็นปัจจัยที่สามารถหยุดกระบวนการดังกล่าวได้ เพราะฉะนั้นในการผลิตใบชาจึงอยู่ที่การนำใบชาสดเข้าสู่แหล่งความร้อนให้เร็วที่สุด จึงเป็นปัจจัยสำคัญในการผลิตชาเขียว แต่กระบวนการผลิตชาอุ

หลงจะแตกต่างกันตรงกระบวนการหมักซึ่งจะเร่งการทำลาย catechins ที่มีอยู่ในใบชา จึงทำให้ชาอูหลงมี catechins น้อยกว่าชาเขียว

polyphenols ในใบชาโดยทั่วไปมีอยู่ 8 ชนิด คือ EGCG, EGC, ECG, EC, GC, C, CG และ GCG ซึ่งปริมาณ EGCG สามารถพบได้มากในใบชาและมีประโยชน์ทางการแพทย์ โดยมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการป้องกันการก่อตัวของเซลล์มะเร็ง (สันต์ : 2535)

การที่สารสกัดจากชาที่ใช้ในการทดสอบแต่ละชนิดสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบได้แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีลักษณะโครงสร้างทั้งภายนอกและภายในแตกต่างกัน และสารสกัดจากชาที่มีปริมาณ polyphenols ที่แตกต่างกัน ปริมาณของ catechins ในยอดชาสด จะแปรผันตามอายุใบ การตัดแต่งกิ่ง ฤดูกาล ระดับความสูงของพื้นที่ปลูก สายพันธุ์ และร่มเงา ซึ่ง catechins นี้จะมีปริมาณลดลงเมื่อใบมีอายุมากขึ้น จึงเป็นเหตุผลหนึ่งที่ใบชาแก่ไม่เหมาะสมในการผลิตชา (สันต์ : 2535)



บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบชาสดและใบชาแห้ง สรุปได้ดังนี้

การเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของยาปฏิชีวนะกับสารสกัดจากใบชาที่นำมาทดสอบ ยาปฏิชีวนะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้มากกว่าสารสกัดจากใบชาสดและสารสกัดจากใบชาแห้ง ปริมาณในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบชาแห้งส่วนใหญ่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดจากใบชาสด และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้มากกว่ายีสต์ จุลินทรีย์ที่ถูกสารสกัดจากใบชายับยั้งการเจริญเติบโตตั้งแต่ 0-24 ชั่วโมง ในเวลาที่ 0 ชั่วโมง สารสกัดจากใบชายังไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ในเวลาที่ 4 และ 8 ชั่วโมง การยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มากที่สุด และในเวลาที่ 16, 20 และ 24 ชั่วโมง การยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ลดลง

องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากใบชาแห้งส่วนใหญ่มีปริมาณ EGCG, EGC, ECG, EC และ C มากกว่าสารสกัดจากใบชาสด ซึ่งมีความสอดคล้องกับความสามารถและปริมาณในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบชาสดและสารสกัดจากใบชาแห้ง

5.2 ข้อเสนอแนะ

การศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบชาสดและใบชาแห้งชนิดต่างๆ ควรปรับปรุงแก้ไข ดังนี้

ในขั้นตอนการเก็บตัวอย่างใบชาควรนำใบชามาอบแห้งเลยทันที เพื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ polyphenol oxidase

ทดสอบกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ นอกเหนือจากจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้เพื่อจะได้ทราบว่าสารสกัดจากชาสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ได้หรือไม่

ทดสอบความเข้มข้นของสารสกัดจากชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เพื่อจะได้ทราบว่าสารสกัดจากชาสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้เท่าไร ที่ความเข้มข้นต่างกัน

ทดสอบกับชนิดชาอื่นๆ และสายพันธุ์ชาอื่นๆ ที่แตกต่างกัน เพื่อดูว่าชาชนิดไหนสายพันธุ์ชาอะไร สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่า

ทดสอบกับกระบวนการผลิตชาในแต่ละกระบวนการ เพื่อดูปริมาณ polyphenol ในแต่ละกระบวนการผลิตว่ามีปริมาณแตกต่างกันเท่าไร และในแต่ละกระบวนการผลิตสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้มากหรือน้อยอย่างไร



บรรณานุกรม

- ชา. 2548. แหล่งข้อมูล <http://www.doae.go.th/plant/tea.htm>(กุมภาพันธ์ 2549)
- ชาคืออะไร. 2006. แหล่งข้อมูล http://www.Chiangrai.net/cpoc/miniWeb/tea/new_page_1.htm(กุมภาพันธ์ 2549)
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจและ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2544. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่3. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พร้อมลักษณ์ สรรพอด้า. 2006. กินเพื่อสุขภาพ เดลินิวส์. แหล่งข้อมูล http://www.school.net.th/library/snet4/july8/grn_tea.htm (กุมภาพันธ์ 2549)
- ไพโรจน์ พงศ์ศุภสมิทธิ. 2532. เทคโนโลยีการผลิตชา เล่ม 1. เชียงใหม่ : ศูนย์ส่งเสริมอุตสาหกรรมภาคเหนือ กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม.
- เยาวลักษณ์ พิพัฒน์จำเริญกุล.2546. ชาเขียวสารมหัศจรรย์. แหล่งข้อมูล<http://www.ku.ac.th/e-magazine/february46/agri/tea.html>. (กุมภาพันธ์ 2549)
- มาเต็มชาเพื่อสุขภาพกันเถอะ. 2548. แหล่งข้อมูล <http://www.cpcrop.com/tea/tea-index.htm-12k>(กุมภาพันธ์ 2549)
- มังกร ประพันธ์วัฒนะ. 2541. เกษตวิทยาเบื้องต้น. พิษณุโลก : คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- วิรัช ลิ้มทองกุล. 2546. จา. แหล่งข้อมูล <http://www.Manager.co.th/china/ViewNews.aspx?NewsID=2000000034600>(กุมภาพันธ์ 2549)
- สรจักร ศิริบริรักษ์. 2542. เกษตโภชนา (2). พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์กรุงเทพ.
- สันห์ ละอองศรี. 2535. ชา. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่ : โครงการหลวงวิจัยชา สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้.
- ศักดิ์ บวร. 2543. ชาเขียว. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์สมิต.
- ศักดิ์ บวร. 2545. ชาสมุนไพรบำบัดและเสริมสุขภาพ. พิมพ์ครั้งที่1. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์สมิต
- Bong-Jeun An and others 2004. "Biological and anti-microbial activity of irradiated green tea polyphenols". **Food chemistry**. 88,4 (December), 549-555.

- Chou, Cheng-chun, Lin, Lon-Leu. Chung, King-Thom. 1999. "Antimicrobial activity of tea as affected by the degree of fermentation and manufacturing season". **Journal of Food Microbiology**. 48,2 (May) : 125-130.
- Das, D.N.,1962. "Studies on the antibiotic activity of tea" **J. Indian Chem. Soc.** 33, 849-854.
- Eden, T. 1976. **Tea**. London : Longman.
- Koa Joseph S.G., 2003. ชา เลือกชาดื่มช้อชาเป็น. พิมพ์ครั้งที่2. เชียงใหม่ : นพบุรี.
- Oguni, I., Nasu, K., and Nomura, T. 1987. "Epidemiological and physiological Studies on the anti-tumor activity of the fresh green tea". **Abstracts of Tnternational Symposium on Tea-Quality-Human Health**. pp. 222-226
- Rico-Munoz, Z. and Davidson, M., 1983. "Effects of corn and casein on the anyimicrobial activity of phenolic antioxidants". **Journal of Food Science**. 48, 1284-1288.
- Sanderson, G.W. 1972. "Thechemistry of tea and tea manufacture In Runeckles, T.T.C. (Ed.) " **Recent advance in Phytochemistry**. 5, pp. 247-316.
- Sato, Tomoi. and Miyata, Go. 2000. "The nutraceutical benefit, part I : Green tea" **Nutrition**. 16, 315-317.
- Yam, T.S. ; Shah, Saroj ; Hamilton-Miller, J.M.T. 1997. "Microbiological activity of whole and fractionated crude extracts of tea (*Camellia sinensis*), and of tea components" **Journal of FEMS Microbiology Letters**. 152, 169-174.
- Yee-Lean Lee. And others 2003. "Antibacteril activity of vegetables and juices" **Nutrition**. 19, 994-996.
- Zhen, Yong-su and others. 2002. **Tea Bioactivity and therapeutic Potential**. London : Taylor & Francis.

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์เชิงปริมาณในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชา



ค่า % Inhibition ของการวิเคราะห์เชิงปริมาณในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชา

จุลินทรีย์	เวลา (ชั่วโมง)	สารสกัดจากชาสด			สารสกัดจากชาแห้ง			
		อัสสัม	อุหลง เบอร์12	อุหลง เบอร์17	ชาเขียว		ชาอุหลง	
					อัสสัม	อุหลงเบอร์ 12	อุหลงเบอร์ 12	อุหลง เบอร์17
<i>Staph. aureus</i>	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	16.81	16.33	17.12	16.12	17.35	16.99	17.11
	8	33.68	35.44	38.74	40.76	41.98	43.09	40.98
	12	36.21	34.11	32.92	42.41	39.95	32.91	33.94
	16	24.11	24.31	21.86	20.71	25.00	21.40	18.33
	20	21.09	20.93	20.59	18.59	24.87	19.79	19.89
	24	25.81	27.27	24.75	24.90	23.87	27.22	24.93
<i>Strep. faecalis</i>	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	14.39	13.09	14.19	15.25	13.36	14.34	13.68
	8	37.00	38.79	39.33	44.10	45.74	36.90	39.95
	12	31.69	35.30	39.70	39.71	38.04	37.96	40.25
	16	21.49	25.12	25.53	27.12	31.92	27.46	29.90
	20	15.37	30.32	29.74	22.09	30.03	32.12	31.35
	24	21.83	28.13	31.28	30.62	33.36	31.32	34.35
<i>B. subtilis</i>	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	18.32	17.06	18.63	15.59	18.02	18.42	18.52
	8	40.66	38.25	38.84	38.54	45.52	48.83	41.61
	12	39.26	36.14	40.88	38.71	38.70	40.86	43.07
	16	22.88	25.45	27.54	21.94	22.82	31.31	28.16
	20	22.73	32.85	28.23	30.84	22.94	34.94	30.55
	24	26.89	31.19	27.14	33.16	34.45	33.98	32.91

จุลินทรีย์	เวลา (ชั่วโมง)	สารสกัดจากชาสด			สารสกัดจากชาแห้ง			
		อัลสั่ม	อุหลง เบอร์12	อุหลง เบอร์17	ชาเขียว		ชาอุหลง	
					อัลสั่ม	อุหลงเบอร์ 12	อุหลงเบอร์ 12	อุหลง เบอร์17
<i>B. cereus</i>	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	15.85	15.45	15.06	15.76	16.41	18.07	18.52
	8	39.37	36.77	38.59	39.28	44.64	45.52	39.26
	12	39.87	37.83	39.52	41.28	45.67	46.09	38.61
	16	30.72	26.12	28.25	28.75	27.02	35.34	27.61
	20	31.54	31.02	27.13	32.82	33.04	36.38	32.88
	24	21.54	23.71	28.74	31.54	34.30	32.36	31.35
<i>M. luteus</i>	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	13.71	15.44	15.49	15.63	17.78	19.05	18.82
	8	39.96	43.54	39.73	39.47	50.26	49.86	38.66
	12	36.71	36.22	37.17	40.89	42.76	43.97	39.49
	16	30.96	26.24	28.16	29.13	27.21	35.58	28.60
	20	31.86	31.19	26.59	33.40	33.46	36.59	33.71
	24	21.67	22.17	29.70	31.68	34.51	32.95	31.48
<i>E. coli</i>	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	9.33	7.66	8.59	8.50	8.54	9.11	9.12
	8	15.75	16.21	22.87	13.39	13.84	16.11	15.71
	12	18.80	19.03	25.82	19.57	25.78	21.45	17.87
	16	17.40	22.23	23.93	20.31	27.29	18.36	20.51
	20	14.67	18.70	15.90	13.98	18.50	24.27	17.88
	24	15.88	14.42	9.70	21.02	21.16	21.30	21.30
<i>Salmonella sp.</i>	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	12.39	10.85	11.53	11.84	12.69	12.25	11.35
	8	17.67	16.56	19.34	14.13	16.78	17.66	16.89
	12	22.43	22.19	27.80	22.33	28.88	24.24	30.87
	16	25.08	24.33	27.02	24.39	30.15	30.02	25.61
	20	23.21	23.39	23.90	20.88	25.37	33.77	22.41

จุลินทรีย์	เวลา (ชั่วโมง)	สารสกัดจากชาสด			สารสกัดจากชาแห้ง			
		อัสสัม	อุหลง เบอร์12	อุหลง เบอร์17	ชาเขียว		ชาอุหลง	
					อัสสัม	อุหลงเบอร์ 12	อุหลงเบอร์ 12	อุหลง เบอร์17
<i>Sal. typhimurium</i>	24	19.86	19.19	23.55	23.54	24.39	27.01	25.86
	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	19.15	17.87	17.46	17.28	19.34	19.46	18.14
	8	33.83	33.68	35.71	46.19	39.86	40.10	39.16
	12	28.20	29.04	31.07	39.52	35.81	36.36	35.55
	16	15.14	16.53	18.66	17.22	24.30	23.14	14.60
	20	20.70	22.43	23.50	24.44	20.31	24.40	21.06
<i>Ser. marcescens</i>	24	22.05	26.49	29.79	26.90	27.00	27.60	25.38
	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	20.01	18.66	19.48	18.05	17.43	19.26	17.51
	8	32.74	31.30	34.37	43.89	44.05	42.05	37.52
	12	32.65	35.73	31.24	30.59	34.65	35.12	33.61
	16	22.36	20.55	20.10	20.28	23.24	23.79	26.18
	20	20.54	27.46	17.53	26.78	27.11	20.28	26.91
<i>Ent. aerogenes</i>	24	23.07	22.62	22.46	25.01	27.19	26.91	29.35
	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	13.87	13.08	15.02	11.93	13.26	14.59	15.13
	8	37.73	34.62	34.85	34.71	39.68	45.96	37.79
	12	36.61	32.67	37.59	33.62	36.06	37.61	37.80
	16	24.99	25.43	29.29	24.19	24.74	33.27	29.32
	20	22.38	33.96	28.96	32.03	23.69	35.43	32.37
<i>Ps. fluorescens</i>	24	19.62	24.44	21.00	27.33	28.32	28.59	26.44
	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	16.27	18.68	15.94	15.79	16.47	15.90	16.95
	8	40.28	38.91	40.91	39.70	45.74	47.73	43.29
	12	40.16	40.78	33.47	38.29	42.09	39.90	36.81
	16	22.86	28.46	22.98	22.64	26.40	27.00	22.94

จุลินทรีย์	เวลา (ชั่วโมง)	สารสกัดจากชาสด			สารสกัดจากชาแห้ง			
		อัลสั้ม	อุหลง เบอร์12	อุหลง เบอร์17	ชาเขียว		ชาอุหลง	
					อัลสั้ม	อุหลงเบอร์ 12	อุหลงเบอร์ 12	อุหลง เบอร์17
<i>S. cerevisiae</i>	20	22.88	31.14	31.17	22.59	26.21	36.37	31.19
	24	27.00	31.78	34.28	32.15	33.81	35.21	29.42
	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	1.22	0.06	1.24	0.09	1.37	0.92	2.04
	8	3.82	4.96	2.77	4.21	3.32	7.83	7.69
	12	9.64	9.42	9.31	7.96	5.12	7.30	9.33
	16	5.04	7.86	7.50	8.78	4.54	6.54	7.43
	20	7.29	8.58	7.28	9.23	6.44	6.60	8.74
<i>C. albicans</i>	24	4.02	6.68	4.94	9.95	6.72	5.51	7.06
	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	1.48	0.49	1.40	1.06	1.67	7.00	2.55
	8	3.23	6.85	2.59	7.21	6.66	6.86	6.89
	12	8.63	9.21	8.64	8.79	9.41	9.18	8.35
	16	8.80	8.97	8.63	8.81	10.05	11.04	9.89
	20	7.79	8.05	9.26	10.70	11.35	10.80	9.94
	24	8.82	8.85	9.13	8.78	10.62	10.55	10.96
<i>C. utilis</i>	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4	3.75	9.05	8.90	4.87	5.42	9.46	5.10
	8	7.79	7.92	4.41	4.90	7.77	8.29	8.15
	12	10.67	10.71	9.16	8.70	9.49	11.74	8.77
	16	9.13	8.90	6.87	8.72	6.68	9.10	10.55
	20	9.81	9.81	7.98	9.53	6.82	11.75	9.71
	24	7.64	6.78	2.98	6.83	3.95	6.22	4.53

ภาคผนวก ข

ค่า Log cfu/ml ของการวิเคราะห์เชิงปริมาณในการยับยั้งจุลินทรีย์
ของสารสกัดจากชา

ค่า Log cfu/ml ของการวิเคราะห์เชิงปริมาณในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชา

จุลินทรีย์	เวลา (ชั่วโมง)	สารสกัดจากชาสด				สารสกัดจากชาแห้ง			
		ชุดควบคุม	อัลสัม	อุณหภูมิลบ		อุณหภูมิห้อง		อุณหภูมิสูง	
				เบอร์ 12	เบอร์ 17	อัลสัม	อุณหภูมิลบ 12	อุณหภูมิห้อง 12	อุณหภูมิสูง 17
<i>Staph. aureus</i>	0	7.81	7.81	7.81	7.81	7.81	7.81	7.81	7.81
	4	8.62	7.18	7.22	7.15	7.23	7.13	7.16	7.15
	8	8.86	5.87	5.72	5.43	5.25	5.14	5.04	5.23
	12	8.98	5.73	5.92	6.02	5.17	5.39	6.02	5.93
	16	9.07	6.88	6.86	7.09	7.19	6.80	7.13	7.41
	20	8.90	7.02	7.04	7.07	7.24	6.69	7.14	7.13
	24	8.45	6.27	6.15	6.36	6.35	6.43	6.15	6.34
<i>Strep. faecalis</i>	0	8.85	8.85	8.85	8.85	8.85	8.85	8.85	8.85
	4	9.42	8.06	8.19	8.08	7.98	8.16	8.07	8.13
	8	9.68	6.10	5.92	5.87	5.41	5.25	6.11	5.81
	12	9.82	6.70	6.35	5.92	5.92	6.08	6.09	5.86
	16	9.87	7.75	7.39	7.35	7.19	6.72	7.16	6.92
	20	9.13	7.73	6.36	6.41	7.11	6.39	6.20	6.27
	24	9.25	7.23	6.64	6.35	6.41	6.16	6.35	6.07
<i>B. subtilis</i>	0	8.79	8.79	8.79	8.79	8.79	8.79	8.79	8.79
	4	9.75	7.97	8.09	7.94	8.23	7.99	7.96	7.95
	8	9.92	5.89	6.13	6.07	6.10	5.41	5.08	5.79
	12	9.92	6.03	6.34	5.87	6.08	6.08	5.87	5.65
	16	9.23	7.12	6.88	6.69	7.21	7.12	6.34	6.63
	20	9.28	7.17	6.23	6.66	6.42	7.15	6.03	6.44
	24	9.32	6.81	6.41	6.79	6.23	6.11	6.15	6.25
<i>B. cereus</i>	0	8.67	8.67	8.67	8.67	8.67	8.67	8.67	8.67
	4	9.65	8.12	8.16	8.20	8.13	8.07	7.91	7.87

จุลินทรีย์	เวลา (ชั่วโมง)	สารสกัดจากชาสด				สารสกัดจากชาแห้ง			
		ชุดควบคุม	อัสสัม	อุณหภูมิลบ		อุณหภูมิตั้ง		อุณหภูมิตั้ง	
				เบอรี่12	เบอรี่17	อัสสัม	อุณหภูมิตั้ง	เบอรี่12	เบอรี่17
<i>M. luteus</i>	8	9.82	5.95	6.21	6.03	5.96	5.44	5.35	5.96
	12	10.03	6.03	6.24	6.07	5.89	5.45	5.41	6.16
	16	9.92	6.87	7.33	7.12	7.07	7.24	6.42	7.18
	20	9.29	6.36	6.41	6.77	6.24	6.22	5.91	6.24
	24	9.02	7.08	6.88	6.43	6.17	5.93	6.10	6.19
	0	8.87	8.87	8.87	8.87	8.87	8.87	8.87	8.87
	4	9.65	8.33	8.16	8.16	8.14	7.94	7.81	7.84
	8	9.82	5.90	5.54	5.92	5.94	4.88	4.92	6.02
	12	10.03	6.35	6.40	6.30	5.93	5.74	5.62	6.07
	16	9.92	6.85	7.32	7.13	7.03	7.22	6.39	7.08
<i>E. coli</i>	20	9.29	6.33	6.39	6.82	6.19	6.18	5.89	6.16
	24	9.02	7.07	7.02	6.34	6.16	5.91	6.05	6.18
	0	7.80	7.80	7.80	7.80	7.80	7.80	7.80	7.80
	4	8.44	7.66	7.80	7.72	7.73	7.72	7.67	7.67
	8	8.83	7.44	7.40	6.81	7.65	7.61	7.41	7.44
	12	8.94	7.26	7.24	6.63	7.19	6.64	7.03	7.35
	16	8.87	7.33	6.90	6.75	7.07	6.45	7.24	7.05
	20	8.35	7.13	6.79	7.02	7.18	6.81	6.32	6.86
	24	8.16	6.86	6.98	7.37	6.44	6.43	6.42	6.42
	0	7.74	7.74	7.74	7.74	7.74	7.74	7.74	7.74
<i>Salmonella sp.</i>	4	8.75	7.66	7.80	7.74	7.71	7.64	7.67	7.75
	8	8.93	7.35	7.45	7.21	7.67	7.43	7.36	7.42
	12	9.33	7.24	7.26	6.74	7.25	6.64	7.07	6.45
	16	9.20	6.90	6.96	6.72	6.96	6.43	6.44	6.85
	20	9.03	6.93	6.92	6.87	7.14	6.74	5.98	7.00
	24	8.41	6.74	6.80	6.43	6.43	6.36	6.14	6.24

จุลินทรีย์	เวลา (ชั่วโมง)	สารสกัดจากชาสด				สารสกัดจากชาแห้ง			
		ชุดควบคุม	อัสสัม	อุณหภูมิลด		ชาเขียว		ชาอุณหภูมิลด	
				เบอร์12	เบอร์17	อัสสัม	อุณหภูมิลด	เบอร์12	เบอร์17
<i>Sal. typhimurium</i>	0	7.64	7.64	7.64	7.64	7.64	7.64	7.64	7.64
	4	8.64	6.99	7.10	7.13	7.15	6.97	6.96	7.07
	8	8.93	5.91	5.92	5.74	4.80	5.37	5.35	5.43
	12	8.43	6.05	5.98	5.81	5.10	5.41	5.36	5.43
	16	8.37	7.10	6.98	6.81	6.93	6.33	6.43	7.15
	20	8.07	6.40	6.26	6.17	6.09	6.43	6.10	6.37
	24	8.17	6.37	6.01	5.74	5.97	5.96	5.92	6.10
<i>Ser. marcescens</i>	0	7.83	7.83	7.83	7.83	7.83	7.83	7.83	7.83
	4	8.67	6.93	7.05	6.98	7.10	7.16	7.00	7.15
	8	9.02	6.07	6.20	5.92	5.06	5.05	5.23	5.64
	12	9.06	6.10	5.82	6.23	6.29	5.92	5.88	6.02
	16	9.14	7.10	7.26	7.31	7.29	7.02	6.97	6.75
	20	8.77	6.97	6.36	7.23	6.42	6.39	6.99	6.41
	24	8.28	6.37	6.41	6.42	6.21	6.03	6.05	5.85
<i>Ent. aerogenes</i>	0	8.93	8.93	8.93	8.93	8.93	8.93	8.93	8.93
	4	9.22	7.94	8.01	7.83	8.12	7.99	7.87	7.82
	8	9.26	5.77	6.06	6.03	6.05	5.59	5.01	5.76
	12	9.34	5.92	6.29	5.83	6.20	5.97	5.83	5.81
	16	9.41	7.06	7.02	6.65	7.13	7.08	6.28	6.65
	20	9.37	7.27	6.19	6.65	6.37	7.15	6.05	6.33
	24	8.45	6.79	6.38	6.67	6.14	6.05	6.03	6.21
<i>Ps. fluorescens</i>	0	8.74	8.74	8.74	8.74	8.74	8.74	8.74	8.74
	4	9.74	8.15	7.92	8.18	8.20	8.13	8.19	8.09
	8	9.93	5.93	6.06	5.87	5.99	5.39	5.19	5.63
	12	9.91	5.93	5.87	6.60	6.12	5.74	5.96	6.26
	16	9.27	7.15	6.63	7.14	7.17	6.82	6.77	7.14

จุลินทรีย์	เวลา (ชั่วโมง)	สารสกัดจากชาสด				สารสกัดจากชาแห้ง			
		ชุดควบคุม	อัสสัม	อุณหภูมิลด		ชาเขียว		ชาอุณหภูมิลด	
				เบอร์12	เบอร์17	อัสสัม	อุณหภูมิลดเบอร์12	อุณหภูมิลดเบอร์12	อุณหภูมิลดเบอร์17
<i>S. cerevisiae</i>	20	9.32	7.19	6.42	6.41	7.21	6.88	5.93	6.41
	24	9.40	6.86	6.41	6.18	6.38	6.22	6.09	6.63
	0	9.01	9.01	9.01	9.01	9.01	9.01	9.01	9.01
	4	8.87	8.98	8.87	8.98	8.86	8.99	8.95	9.05
	8	9.10	8.76	8.65	8.85	8.72	8.80	8.39	8.40
	12	9.62	8.69	8.71	8.72	8.86	9.13	8.92	8.72
	16	9.64	9.16	8.89	8.92	8.80	9.21	9.01	8.93
	20	9.76	9.05	8.93	9.05	8.86	9.13	9.12	8.91
<i>C. albicans</i>	24	9.72	9.33	9.07	9.24	8.75	9.06	9.18	9.03
	0	7.86	7.86	7.86	7.86	7.86	7.86	7.86	7.86
	4	7.93	7.81	7.92	7.82	7.84	7.79	7.37	7.72
	8	7.98	7.72	7.43	7.77	7.40	7.45	7.43	7.43
	12	8.66	7.91	7.86	7.91	7.90	7.84	7.86	7.94
	16	8.79	8.02	8.00	8.03	8.02	7.91	7.82	7.92
	20	8.74	8.06	8.04	7.93	7.81	7.75	7.80	7.87
	24	8.86	8.08	8.08	8.05	8.08	7.92	7.93	7.89
<i>C. utilis</i>	0	7.89	7.89	7.89	7.89	7.89	7.89	7.89	7.89
	4	8.17	7.86	7.43	7.44	7.77	7.72	7.39	7.75
	8	8.08	7.45	7.44	7.72	7.69	7.45	7.41	7.42
	12	8.68	7.75	7.75	7.88	7.92	7.85	7.66	7.91
	16	8.64	7.85	7.87	8.04	7.88	8.06	7.85	7.72
	20	8.78	7.92	7.92	8.08	7.94	8.18	7.75	7.93
	24	8.44	7.79	7.87	8.19	7.86	8.10	7.91	8.06

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากใบชาสดและใบชาแห้ง
ด้วย HPLC



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล

นางสาวเดือนเต็ม ทองเผือก

วัน เดือน ปี เกิด

17 กันยายน 2523

ประวัติการศึกษา

ระดับมัธยมศึกษา

โรงเรียนสิงห์บุรี

ระดับปริญญาตรี

วิทยาศาสตร์สาขาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันราชภัฏเทพสตรี
พ.ศ. 2546

ประวัติการทำงาน

-

