

Thesis Title Improvement of Application of Spice Extracts and Essential Oils with Chitosan as Antioxidant and Antimicrobial Agents

Author Mr. Keerati Tanruean

Degree Master of Science (Biotechnology)

Thesis Advisor Assoc. Prof. Dr. Nuansri Rakariyatham

Abstract

Essential oil fraction (EOF), deodorized hot water fraction (DeHWF) and deodorized methanol fraction (DeMeF) of *Anethum graveolens* L., *Cuminum cyminum* L., *Foeniculum vulgare* Mill. and *Cinnamomum* sp. were evaluated for their antioxidant and antimicrobial activities. Two potential antioxidant activities, free radical scavenging activity and lipid peroxidation inhibition, were evaluated. The DeHWF and DeMeF exhibited higher antioxidant activity than EOF. The most active DPPH scavenging and lipid peroxidation inhibition were DeHWF of *Cinnamomum* sp. (IC_{50} 7.76 ± 0.27 $\mu\text{g/mL}$ and 1.19 ± 0.06 $\mu\text{g/mL}$, respectively). The EOF, DeHWF and DeMeF were also screened for their antimicrobial activities against seven pathogenic bacteria (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* and *Salmonella typhi*) and three plant pathogenic fungi (*Colletotrichum capsici*, *C. gloeosporioides* and *Fusarium oxysporum*) by agar disc-diffusion and micro-well dilution method. The EOF of *Cinnamomum* sp. possessed high potential antimicrobial activities against all microorganisms tested, followed by the EOF of *C. cyminum* while the DeHWF and DeMeF of all plants tested remained almost inactive, except for the DeMeF of *Cinnamomum* sp. which could slightly inhibit *E. faecalis*. The EOF was subsequently analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). The main components of the EOF from *A. graveolens*, *C. cyminum*, *F.*

vulgare and *Cinnamomum* sp. were 1-carvone (45.16%), cuminic aldehyde (42.71%), *trans*-anethole (73.49%) and cinnamaldehyde (92.21%), respectively. While, the total phenolic contents of DeHWF and DeMeF were investigated, the contents of total phenolics in all extracts ranged from 14.78±0.55 to 227.3±2.09 mg gallic acid equivalents/g extract. The highest amount was observed in the DeHWF and DeMeF of *Cinnamomum* sp.. Moreover, the DeHWF and DeMeF were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) compared with their retention times with the standard compounds (caffeic acid, catechin, chlorogenic acid, m-coumaric acid, o-coumaric acid, gallic acid, syringic acid and quercetin). The DeMeF of *Cinnamomum* sp. contained the highest amount of catechins (13.003±0.38 µg/g dry extract).

The combination between EOF or DeHWF or DeMeF of *C. cyminum* and *Cinnamomum* sp. with chitosan were reinvestigated for their antioxidant and antimicrobial activities. The combination between DeHWF or DeMeF of *C. cyminum* and *Cinnamomum* sp. with 100 mg/mL chitosan could slightly enhance the antioxidant activity compared with the DeHWF or DeMeF alone. Whereas, the combinations between 0.002% or 0.004% v/v chitosan with 100 µg/mL and 200 µg/mL of the EOF of *C. cyminum* or *Cinnamomum* sp. possessed better antimicrobial activities than the EOF or chitosan alone, especially for bacteria.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การพัฒนาการประยุกต์สารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศ
 ร่วมกับไคโตซานในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านจุลินทรีย์

ผู้เขียน นายกิริติ ตันเรือน

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
 รศ. ดร. นवलศรี รักรวิยะธรรม

บทคัดย่อ

ได้มีการตรวจสอบสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จากน้ำมันหอมระเหย สารสกัดชั้นน้ำ และสารสกัดเมทานอล ของพืชทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ เทียนตาตึกแตน ยี่ห่วย เทียนข้าวเปลือก และอบเชย จากการตรวจสอบสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging และ lipid peroxidation inhibition พบว่าสารสกัดชั้นน้ำและสารสกัดเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าน้ำมันหอมระเหย ซึ่งสารสกัดชั้นน้ำของอบเชยมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในระบบของ DPPH free radical scavenging และ lipid peroxidation inhibition โดยมีความสามารถในการยับยั้งที่ 50 เปอร์เซ็นต์ คือ 7.76 ± 0.27 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1.19 ± 0.06 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำน้ำมันหอมระเหย สารสกัดชั้นน้ำ และสารสกัดเมทานอลของ เทียนตาตึกแตน ยี่ห่วย เทียนข้าวเปลือก และอบเชยมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

ทดสอบ ได้แก่ แบคทีเรีย *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* และ *Salmonella typhi* เชื้อราโรครีซ *Colletotrichum capsici*, *C. gloeosporioides* และ *Fusarium oxysporum* ด้วยวิธี agar disc-diffusion method และ micro-well dilution พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบสูงที่สุด รองลงมาคือน้ำมันหอมระเหยจากขี้หრა ขณะที่สารสกัดชันน้ำและสารสกัดเมทานอลของพืชทั้ง 4 ชนิด ไม่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ยกเว้นสารสกัดเมทานอลของอบเชยที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. faecalis* จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี พบว่า 1-carvone (45.16%), cuminic aldehyde (42.71%), trans-anethole (73.49%) และ cinnamaldehyde (92.21%) เป็นองค์ประกอบหลักที่พบได้ในน้ำมันหอมระเหยของเทียนตาดักแตน ขี้หრა เทียนข้าวเปลือก และอบเชย ตามลำดับ นอกจากนี้จากการตรวจสอบปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดชันน้ำและสารสกัดเมทานอลของพืชทั้ง 4 ชนิด พบว่าปริมาณ

สารประกอบฟีนอลิกอยู่ในช่วง 14.78 ± 0.55 ถึง 227.3 ± 2.09 มิลลิกรัมแกลลิกแอซิดอิกควาเลนที่ต่อกรัมของสารสกัด โดยที่สารสกัดชันน้ำและสารสกัดเมทานอลของอบเชยมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด เมื่อนำสารสกัดชันน้ำและสารสกัดเมทานอลของพืชทั้ง 4 ชนิดมาทดสอบหาชนิดของสารประกอบฟีนอลิกด้วยเทคนิคลิกวิดโครมาโทกราฟีโดยการเปรียบเทียบกับ

สารมาตรฐาน ได้แก่ caffeic acid, catechin, chlorogenic acid, m-coumaric acid, o-

coumaric acid, gallic acid, syringic acid และ quercetin พบว่าสารสกัดเมทานอลของอบเชย มีปริมาณของ catechin สูงที่สุด (13.003 ± 0.38 ไมโครกรัมต่อกรัมสารสกัดแห้ง)

การนำไคโตซานมาใช้ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยหรือสารสกัดชั้นน้ำหรือสารสกัดเมทานอล จากพืช 2 ชนิด คืออบเชยและยี่หระเพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ พบว่าสารสกัดชั้นน้ำและสารสกัดเมทานอลที่ใช้ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถเพิ่มฤทธิ์การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้เพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับสารสกัดน้ำและสารสกัดเมทานอลของพืชแต่ละชนิดเพียงอย่างเดียว ขณะที่การนำไคโตซานความเข้มข้น 0.002 และ 0.004 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร มาใช้ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากยี่หระหรืออบเชยความเข้มข้น 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบ พบว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยจากพืชแต่ละชนิดร่วมกับไคโตซานสามารถเพิ่มความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบโดยเฉพาะแบคทีเรียได้ดีกว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยหรือไคโตซานเพียงอย่างเดียว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved