บทที่ 2

ปริทัศน์วรรณกรรม

อุตสาหกรรมอาหารนับเป็นอุตสาหกรรมที่สร้างรายได้ให้แก่ประเทศไทยเป็นมูลค่าสูงในแต่ละปี โดยคาดว่าในปี 2552 มูลค่าการส่งออกสินค้าอาหารของไทยประมาณ 744,000 ล้านบาท หรือคิดเป็นร้อยละ 14.9 ของมูลค่าการส่งออกทั้งหมดของไทย หรือคิดเป็นประมาณร้อยละ 8.0 ของมูลค่าผลิตภัณฑ์มวลรวมภายในประเทศ (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2552) เป็นที่ทราบกันดีว่าผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ ต้องมีการควบคุมคุณภาพทางด้านความปลอดภัยของอาหาร ผลิตภัณฑ์อาหารดังกล่าวจึงจะเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ความไม่ปลอดภัยของอาหารเกิดขึ้นได้จากหลายปัจจัย เช่น มีการปนเปื้อนจากสารเคมี มีสิ่งแปลกปลอมเจือปนในผลิตภัณฑ์อาหาร และสาเหตุที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งที่ก่อให้เกิดความไม่ปลอดภัยของอาหาร คือ การปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ ซึ่งถ้าผลิตภัณฑ์อาหารผ่านการปรุงอย่างไม่ถูกสุขลักษณะมักจะเกิดการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ซึ่งก่อให้เกิดอาหารเน่าเสีย และก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ โดยพบว่ากว่า 90% ของเชื้อที่มักปนเปื้อนและก่อโรคอาหารเป็นพิษ ได้แก่แบคทีเรียในสกุล *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens, Vibrio parahaemolyticus, Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni* และ Enteropathogenic *Escherichia coli* (Wagner, [Online]) เมื่อผู้บริโภครับประทานผลิตภัณฑ์อาหารที่มีการปนเปื้อนเข้าไปแล้ว เกิดอาการเจ็บป่วยต่างๆ เช่น ท้องเสีย อาเจียน เวียนศีรษะ บางรายอาจอันตรายถึงชีวิตได้ มีรายงานว่าในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาประเทศไทยได้มีการกำหนดโรคอาหารเป็นพิษให้เป็นโรคที่มีการเฝ้าระวัง และยังพบว่าการเกิดโรคอาหารเป็นพิษนั้น สูงเป็นอันดับต้น ๆ ของโรคที่มีการเฝ้าระวัง เมื่อพิจารณาจากข้อมูลการเฝ้าระวังโรคที่สำนักระบาดวิทยาได้รับรายงาน พบว่า ตั้งแต่ปี 2537 อุบัติการณ์ของโรคอาหารเป็นพิษมีแนวโน้มสูงขึ้นทุกปี จาก 113.61 ต่อแสนประชากรในปี 2537 เป็น 247.38 ต่อแสนประชากรในปี 2547 แม้ว่าในปี 2542 และ 2546 จะมีอุบัติการณ์ของโรคลดลง แต่ก็ไม่ได้ลดลงมากนักเมื่อเปรียบเทียบกับปีก่อนหน้า ในปี 2547 สำนักระบาดวิทยา ได้รับรายงานผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษ จำนวน 154,678 ราย คิดเป็นอัตราป่วย 247.3 ต่อประชากรแสนคน เสียชีวิต 12 ราย อัตราตาย 0.02 ต่อประชากรแสนคน อัตราป่วยตายร้อยละ 0.01 (กู้ศักดิ์,

2549) จากปัญหาดังกล่าวทำให้ผู้บริโภคขาดความเชื่อมั่นต่อผลิตภัณฑ์อาหารนั้นๆ ก่อให้เกิดการสูญเสียความเชื่อมั่นต่อผลิตภัณฑ์อาหาร และสูญเสียรายได้ ดังนั้นถ้าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษที่ปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารได้ ก็จะทำให้อาหารนั้นมีความปลอดภัยและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

ในปัจจุบันมีการศึกษาฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียก่อโรคในอาหารของพืชสมุนไพรต่างๆ มากมาย เช่น น้ำมันหอมระเหยของ oregano, thyme, basil, marjoram, lemongrass, ginger และ clove สามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Escherichia coli* และ *Salmonella enteritidis* ได้ (Barbosa และคณะ, 2009) น้ำมันหอมระเหยของ thyme และน้ำมันหอมระเหยของ thyme ร่วมกับ nisin สามารถยับยั้งการเจริญของ *Listeria monocytogenes* (Solomakos, 2008) สารสกัดจากใบชาสามารถยับยั้งการเจริญและทำลาย *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Salmonella typhi, Salmonella typhimurium, Salmonella enteritidis, Shigella flexneri, Shigella dysenteriae, Vibrio* spp. และ *Vibrio cholerae* ได้ (Toda และคณะ, 1986) น้ำมันหอมระเหยของ nutmeg, mint, clove, oregano, cinnamon, sassafras, sage, thyme และ rosemary สามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus cereus* ได้ (Valero และ Salmerón, 2003) สาร quinizarin จากเมล็ดชุมเห็ดไทย ความเข้มข้น 1 มก./disc มีฤทธิ์ยับยั้งอย่างแรงต่อเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium perfringens* ที่ทำให้เกิดอาการท้องเสียเนื่องจากอาหารเป็นพิษ (Lee H-S, 2003) น้ำมันตะไคร้ ปริมาณ 15 ไมโครลิตร/disc กระดาษขนาด 6 มิลลิเมตร สามารถยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium, S. enteritidis, E. coli, Clostridium perfringens* และ *Campylobacter jejuni* ได้ (Wannissorn และคณะ, 2005) สารสกัดน้ำต้มเปลือกผลมังคุดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียอันเป็นสาเหตุอาการท้องเสีย เช่น *V. parahaemolyticus*, *Salmonella agona*, *S. typhi*, *S. typhimurium*, *S. stanley* และ *S. virchow* (จริยา สินเดิมสุข และ สมเกียรติ, 2532; จริยา สินเดิมสุข และคณะ, 2532) เป็นต้น

ในงานวิจัยนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาพยอม (*Shorea roxburghii* G.Don) ต้นพยอมจัดเป็นต้นไม้ที่อยู่ในวงศ์ DIPTEROCARPACEAE เป็นไม้พื้นเมืองของเอเชีย พบตามป่าผลัดใบ และป่าดิบ ซึ่งในประเทศไทยต้นพยอมเป็นต้นไม้ที่สามารถปลูกและหาได้ง่าย ในอุตสาหกรรมน้ำตาลมะพร้าวระดับท้องถิ่นมีการใช้เปลือกพยอมใส่ลงในน้ำตาลมะพร้าวเพื่อเป็นการยับยั้งการเจริญเติบโตของ

จุลินทรีย์ ป้องกันการบูดเน่าก่อนที่จะนำน้ำตาลมะพร้าวมาเคี่ยว โดยการใช้เปลือกพยอมดังกล่าวมีการใช้กันอย่างแพร่หลาย และเป็นภูมิปัญญาชาวบ้านมาตั้งแต่ดั้งเดิม ดังนั้นการใช้เปลือกไม้พยอมใส่ลงในอาหารจึงเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคสำหรับการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ของการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากต้นพยอม มีตัวอย่างดังนี้ ชลิดา เล็กสมบูรณ์ และคณะ (2543) ได้ศึกษาสารสกัดจากต้นพยอมโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช 12 สายพันธุ์ ในสภาพห้องทดลอง โดยใช้วิธี paper disc diffusion บนอาหาร Nutrient agar พบว่าสารสกัดของพยอมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช 12 สายพันธุ์ ได้และมีฤทธิ์ยับยั้งได้ดีกับเชื้อ *Xanthomonas campestris* เกือบทุก pathovar และเมื่อเพิ่มปริมาณของสารสกัดให้สูงขึ้นความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นด้วย

Intarapichet และ Nukuew (1994) ได้ศึกษาสารสกัดจากต้นพยอมโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ในการยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อหมูดิบและเนื้อดิบ โดยพบว่า เมื่อพ่นสารสกัดจากเปลือกพยอมบนเนื้อหมูดิบและเนื้อดิบจะทำให้สามารถเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°ซ ได้นานขึ้น 4 วัน โดยไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นและกลิ่นของเนื้อหมูและเนื้อหมูดิบไม่เปลี่ยนแปลง จึงอาจกล่าวได้ว่าสารสกัดจากพยอมสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บนเนื้อหมูดิบและเนื้อดิบได้

วิธีในการศึกษาฤทธิ์ในการยังยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์มีหลายวิธี เช่น disc diffusion method, agar-well diffusion method, cup diffusion method ,broth dilution method, agar dilution method รวมไปถึงการหาปริมาณที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (minimum inhibitory concentration ; MIC) และปริมาณที่น้อยที่สุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ (minimum bactericidal concentration ; MBC) โดยการศึกษาการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในอาหารโดยใช้วิธีดังกล่าวเป็นที่ยอมรับ และมีตัวอย่างการศึกษาเป็นจำนวนมาก เช่น

Shan และคณะ (2007) ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพร และเครื่องเทศ 46 ชนิด ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร 5 สายพันธุ์ คือ *B. cereus, L. monocytogenes, S. aureus, E. coli* และ *Salmonella anatum* โดยวิธี agar-well diffusion method พบว่า แบคทีเรียแกรมบวกทนต่อฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารสกัดได้น้อยกว่าแบคทีเรียแกรมลบ โดยที่ *S.*

aureus ทนได้น้อยที่สุด ในขณะที่ *E. coli* ทนได้มากที่สุด และจากการหาปริมาณสาร phenolic ในสารสกัด พบว่าสมุนไพรและเครื่องเทศที่มีปริมาณสาร phenolic มาก จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในอาหารมากตามไปด้วย

Alzoreky และ Nakahara (2003) ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชกินได้ 26 ชนิด จากประเทศจีน ญี่ปุ่น ไทย และเยเมน ที่สกัดด้วย 80% เอทานอลใน PBS และ acetone ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในอาหารคือ *B. cereus, S. aureus, L. monocytogenes, E. coli* และ *Salmonella infantis* โดยวิธี disc diffusion method และหาค่า MIC โดยวิธี agar dilution method พบว่า มีพืชกินได้เพียง 15 ชนิดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *B. cereus* ได้ สำหรับ *S. aureus* และ *L. monocytogenes* มีพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งได้น้อยลงตามลำดับ *S. infantis* มีพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งได้เพียง 1 ชนิด คือ *Illicium veraum* และไม่มีพืชชนิดใดที่มียับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ ค่า MIC ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อเหล่านี้อยู่ระหว่าง 165-2640 mg/l โดยสารสกัดจาก *Azedirachta indica, Cinnamomum cassia, Rumex nervosus, Ruta graveolens, Thymus serpyllum* และ *Zingiber officiinale* มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* ได้ดี โดยมีค่า MIC อยู่ระหว่าง 165-660 mg/l

Dorantes และคณะ (2000) ได้ศึกษาสารสกัดจากพริก 3 ชนิด คือ habanero, Serrano และ pimiento morron ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes, S. aureus, S. typhimurium* และ *B. cereus* โดยวิธี disc diffusion method พบว่า สารสกัดจากพริกทั้ง 3 ชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ โดยยับยั้งการเจริญของ *L. monocytoogenes* ได้มากที่สุด และยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* ได้น้อยที่สุด และพริก pimiento moron มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับพริกอีก 2 สายพันธุ์ เมื่อสกัดสารในกลุ่ม phenylpropanoids คือ capsaicin, dihydrocapsaicin, cinnamic acid, m-coumaric acid และ o-coumaric acid จากพริกมาทดสอบหาฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย พบว่า cinnamic acid และ m-coumaric acid เป็นสารสำคัญในพริกที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร

Lee และคณะ (2003) ได้ศึกษาสารสกัดน้ำจากต้นกระเทียมจีน 3 ชนิด (leek flower stem, soft leek และ green leek) ในการยับยั้งการเจริญของ *Campylobacter jejuni* และ

Campylobacter coli เปรียบเทียบกับสารสกัดน้ำจากพืช Allium โดยวิธี disc diffusion method และหาค่า MIC พบว่า สารสกัดจากต้นกระเทียมทั้งสามชนิดมีบริเวณใสกว้างกว่าสารสกัดจากพืช Allium แสดงว่าสารสกัดจากต้นกระเทียมมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญได้ดีกว่าสารสกัดจากพืช Allium และความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากต้นกระเทียมที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้คือ 2.0 mg/ml โดยที่สารสกัดจาก soft leek มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุด และเมื่อศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิและ pH ของสารสกัดต่อฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย พบว่า ที่อุณหภูมิมากกว่า 75 องศาเซลเซียส สารสกัดจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญลดลงและสูญเสียความสามารถในการยับยั้งเมื่อนำไปต้มจนเดือด และสารสกัดจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเมื่อมี pH อยู่ระหว่าง 2.0-8.0 และสูญเสียความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเมื่อ pH เท่ากับ 1.0 หรือมากกว่า 9.0 ขึ้นไป

Nasar-Abbas และ Halkman (2004) ได้สกัดสารจาก Sumac (*Rhus coriaria* L.) โดยใช้ตัวทำละลายน้ำ และนำไปศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาหารเน่าเสีย และแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร ทั้งหมด 12 สายพันธุ์ โดยใช้วิธี cup diffusion method และหาค่า MIC และ MBC พบว่าสารสกัดจาก Sumac มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ สารสกัดจาก Sumac มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่ม Bacillus (*B. cereus, B. megaterium, B. subtilis, B. thuringiensis*) ได้ดีโดยมีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.25-0.32% หลังจากบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และมีค่า MIC เท่ากับ 0.49% ในการยับยั้งการเจริญของ *S.aureus* ในขณะที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ได้น้อย โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.67% สำหรับแบคทีเรียแกรมลบส่วนใหญ่สามารถต้านทานฤทธิ์ของสารสกัดได้ดี โดยเชื้อ *S. enteritidis, E. coli* Type 1, *E. coli* O157:H7, *Proteus vulgalis* และ *Hafnia alvei* มีค่า MIC เท่ากับ 0.67%, 0.63%, 0.60%, 0.55% และ 0.45% ตามลำดับ สำหรับการศึกษาค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดในการฆ่าแบคทีเรียของสารสกัด Sumac ทำโดยบ่มเชื้อในสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และนับปริมาณเชื้อที่เหลืออยู่ พบว่า แบคทีเรียในกลุ่ม Bacillus มี log cycle ลดลง 4-5 log cycle และแบคทีเรียในกลุ่มอื่นมี log cycle ลดลง 2-3 log cycle ที่ความเข้มข้น 1% ของสารสกัด Sumac

จากตัวอย่างการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชธรรมชาติ เครื่องเทศ และสมุนไพร ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรค จะเห็นว่ามักจะหาฤทธิ์ของสารสกัดในเบื้องต้นด้วยวิธี

หาบริเวณใส เปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดแต่ละชนิด และจึงนำไปหาค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดในการยับยั้งการเจริญ และหาค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดในการฆ่าจุลินทรีย์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกวิธี disc diffusion method ในการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดพยอมที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกัน และจึงจะนำไปหาค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดในการยับยั้งการเจริญ และหาค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดในการฆ่าจุลินทรีย์ ต่อไป

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงจะศึกษาฤทธิ์จากสารสกัดของเปลือกพยอมในการต้านแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร โดยใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ น้ำ เอทานอล เมทานอล และเอททิล อะซีเตท ในการสกัด และใช้วิธี disc diffusion method ในการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้น รวมถึงการหาค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดในการยับยั้งการเจริญ (MIC) และค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดในการฆ่าแบคทีเรีย (MBC) โดยคาดหวังว่าสารสกัดจากเปลือกพยอมโดยใช้ตัวทำละลายต่างๆกันจะมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญและสามารถฆ่าของแบคทีเรียก่อโรคในอาหารได้ เพื่อที่จะสามารถนำไปพัฒนาเป็นสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในอาหารที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เพื่อให้อาหารมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และเป็นการเพิ่มความเชื่อมั่นต่อผลิตภัณฑ์อาหารและอุตสาหกรรมอาหารในประเทศไทย