

## บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชอาหารและศึกษาแบคทีเรียที่สามารถสร้างฮิสตามีนที่ทำให้เกิดอาการแพ้ เพื่อนำไปสู่การพัฒนาวิธีตรวจสอบเชื้อดังกล่าว รวมทั้งผลิตภัณฑ์เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อในปลาทะเลและอาการแพ้ที่อาจเกิดขึ้นในมนุษย์ ในส่วนแรกของโครงการซึ่งศึกษาถึงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียชนิดต่างๆ พบว่า น้ำมันตะไคร้มีฤทธิ์ดีที่สุดสำหรับการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในช่องปาก ส่วนฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารทั้ง 11 สายพันธุ์ของสารสกัดพืชพื้นเมืองทั้งหมด พบว่า สารสกัดยอดหมักกักให้ผลต้านแบคทีเรียที่ก่อโรคทางเดินอาหารได้ดีทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ สำหรับฤทธิ์ต่อแบคทีเรียที่สร้างฮิสตามีนได้นั้น พบว่าสารสกัดข่าเลือดและหมักกักแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อได้ดีที่สุด จึงเป็นพืชที่มีศักยภาพและน่าสนใจที่จะศึกษาถึงสารออกฤทธิ์ต่อไป สำหรับฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดพืชพื้นเมืองซึ่งทำการคัดเลือกจากพืชจากโครงการย่อยที่ 1-3 ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี โดยทำการทดสอบผลของสารสกัดพืชต่อการหลั่ง nitric oxide และ pro-inflammatory cytokines เช่น tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) และ interleukin-6 (IL-6) พบว่า พบว่า สารสกัดชะมวงให้ผลดีที่สุด ในส่วนฤทธิ์ต้านการอักเสบของน้ำมันหอมระเหย พบว่า น้ำมันพลูและน้ำมันอบเชยสามารถยับยั้งการหลั่งของ nitric oxide จาก murine peritoneal macrophage cell line (RAW 264.7) ภายหลังการกระตุ้นด้วย lipopolysaccharides (LPS) และยับยั้งการหลั่งของ pro-inflammatory cytokines ได้ดีมาก

นอกจากนี้ โครงการนี้ยังมีเป้าหมายเพื่อศึกษาแบคทีเรียที่สามารถผลิตฮิสตามีนจากการทำงานของเอนไซม์ histidine decarboxylase ที่เปลี่ยนฮิสทิดีน (histidine) ไปเป็นฮิสตามีน (histamine) สำหรับการทดลองในส่วนนี้ ได้ทำการคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถผลิตฮิสตามีนจากตัวอย่างปลาทะเลด้วยวิธีทางจุลชีววิทยา ชีวเคมีและชีวโมเลกุล และทำการออกแบบ primers เพื่อใช้ในการตรวจสอบการปรากฏของยีน histidine decarboxylase gene (*hdc* gene) ในตัวอย่างปลาทะเล โดยใช้ส่วนที่เป็น conserved region ของยีนนี้สำหรับออกแบบ universal primers เพื่อใช้ตรวจหาแบคทีเรียที่สามารถผลิตฮิสตามีนในปลาทะเลด้วยวิธี PCR ซึ่งสามารถคัดเลือก primers ที่มีความจำเพาะกับยีนดังกล่าวในแบคทีเรียหลายชนิด คือ คู่ primer Hdc\_2F และ Hdc\_2R และสามารถใช้ตรวจสอบกับ template ที่เป็น whole bacterial cells, heat treated cell lysates และ genomic DNA ที่สกัดจากแบคทีเรียได้

สำหรับการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่สามารถผลิตฮิสตามีนของตำรับน้ำมันหอมระเหยนั้น พบว่า ตำรับที่ประกอบด้วยน้ำมันตะไคร้ร้อยละ 4 w/v ที่ใช้ polyethylene glycol เป็นสารช่วยทำละลายให้ผลดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ใช้ในการ ในส่วนของตำรับน้ำมันหอมระเหยที่ประกอบด้วย น้ำมันโหระพาเป็นองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ คือ ตำรับที่ประกอบด้วยน้ำมันโหระพาร้อยละ 2 w/v ในขณะเดียวกันพบว่าตำรับน้ำมันหอมระเหยผสมระหว่างน้ำมันตะไคร้และน้ำมันโหระพาในอัตราส่วน 2 : 0.5 มีฤทธิ์ดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่สามารถผลิตฮิสตามีนได้

## Abstract

This study was mainly aimed to investigate the biological activities of edible indigenous plants and study histamine producing bacteria which caused food allergy in order to develop detection method and antiseptic products to reduce bacterial contamination in sea fish. The first part of this study included antibacterial activity of the plants. The results showed that lemongrass oil possessed the best antibacterial activity against cariogenic bacteria while *Zanthoxylum acanthopodium* DC. leaf extract had the promising activity against gastrointestinal pathogens. Moreover, *Zanthoxylum acanthopodium* DC. and *Premna obtusifolia* R.Br. extracts were effective against histamine-producing bacteria and could be interesting for further characterization. The anti-inflammatory activity of edible indigenous plants was also examined by selection of plants with antioxidant activity from Project 1-3 and tested for the effect of nitric oxide and pro-inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$  and IL-6) productions. It was demonstrated that *Garcinia cowa* Roxb. extract gave the best activity while betel vine and cinnamon oils were also of interest.

In addition, another study on histamine producing bacteria was focused on histidine decarboxylase enzyme. The contaminated bacteria from sea fish could be isolated by microbiological, biochemical and biomolecular techniques. The universal primers (Hdc\_2F and Hdc\_2R) were designed and tested for specificity and sensitivity to detect histidine decarboxylase gene (*hdc* gene) in fish samples by PCR method. This detection method could effectively detect histamine producing bacterial contamination in whole bacterial cells, heat treated cell lysates, and genomic DNA.

Finally, antiseptic products to reduce bacterial contamination in sea fish were also tested. Formulation containing 4% w/v lemongrass oil with polyethylene glycol gave the best antibacterial activity and formulation containing 2% w/v sweet basil oil was also of interest. Moreover, mixed formulation of 2% w/v lemongrass oil and 0.5% w/v sweet basil oil also inhibited the growth of histamine producing bacteria.