



วิทยานิพนธ์

การกักเก็บน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยเพื่อต้าน
จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

**Encapsulation of Essential Oil from Thai Herbs to Against
Food Microorganisms in Meat Products**

นางสาวอาภากร สุภาพิพัฒน์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)

ปริญญา

วิทยาศาสตรการอาหาร

วิทยาศาสตรและเทคโนโลยีการอาหาร

สาขา

ภาควิชา

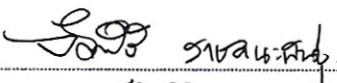
เรื่อง การกักเก็บน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยเพื่อต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

Encapsulation of Essential Oil from Thai Herbs to Against Food Microorganisms in Meat Products

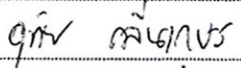
นามผู้วิจัย นางสาวอาภากร สุภาพิพัฒน์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

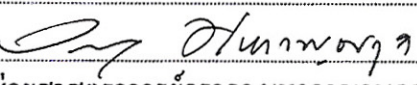
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

()
อาจารย์จิตศิริ ราชตะนะพันธุ์, ประ.ด.

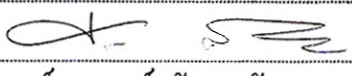
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

()
อาจารย์อุทัย กลิ่นเกษร, ประ.ด.

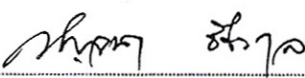
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

()
ผู้ช่วยศาสตราจารย์วราภา มหากาญจนกุล, Ph.D.

หัวหน้าภาควิชา

()
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนบูลย์ ตังจอนันตกุล, Ph.D.

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

()
รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 4 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2551

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การกักเก็บน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยเพื่อต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

Encapsulation of Essential Oil from Thai Herbs to Against Food Microorganisms
in Meat Products

โดย

นางสาวอาภากร สุภาพิพัฒน์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อขอความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)

พ.ศ. 2551

อาภากร สุภาพิพัฒน์ 2551: การกักเก็บน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยเพื่อต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ปรญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร) สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์จิตศิริ ราชตะพนธ์, ปร.ค. 111 หน้า

น้ำมันหอมระเหยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะหลายชนิด แต่เนื่องจากมีกลิ่นรุนแรงและระเหยง่าย จึงเป็นข้อจำกัดในการนำไปใช้ในอาหาร และถึงแม้ว่าการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยจะสามารถลดปัญหาดังกล่าว แต่ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยภายหลังการกักเก็บอาจเปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยที่ถูกกักเก็บด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน โดยเริ่มจากคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย 11 ชนิด ได้แก่ กระเพรา กระชาย ขิง ข่า ขมิ้น ตะไคร้ ตะไคร้หอม มะกรูด ใบมะกรูด พริกไทยดำ และโหระพา ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะ แล้วนำไปกักเก็บด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินเพื่อยับยั้ง *L. monocytogenes* ในอาหารประเภทเนื้อสัตว์ การคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์วัดได้จากค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ยับยั้งจุลินทรีย์ (Minimum inhibitory concentration, MIC) เมื่อทดสอบด้วยวิธี Agar dilution พบว่า น้ำมันหอมระเหยกระชายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะชนิดแกรมบวกและแกรมลบดีที่สุด (MIC ร้อยละ 0.1-2) จากนั้นจึงได้กักเก็บน้ำมันหอมระเหยกระชายด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินโดยวิธีอินคลูชัน (Inclusion technique) โดยอัตราส่วนของน้ำมันหอมระเหยกระชายต่อเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินที่ศึกษา คือ 25:75, 30:70, 40:60 และ 50:50 ตามลำดับ พบว่าอัตราส่วน 40:60 มีประสิทธิภาพในการกักเก็บสูง (95.4%) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ดี (ค่า MIC ร้อยละ 0.2-0.4) จึงเลือกอัตราส่วนนี้เพื่อศึกษาต่อไป ไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 40:60 เมื่อตรวจสอบการเกิดอินคลูชันคอมเพล็กซ์ของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 40:60 ภายใกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscopy) พบว่าโครงสร้างของเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินก่อนการกักเก็บมีผิวเรียบ ส่วนโครงสร้างของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายมีผิวขรุขระซึ่งเกิดจากผลึกขนาดเล็กจำนวนมากเกาะ และจากการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารที่ถูกกักเก็บพบเพียงแอมเฟอร์และเมทิลซินนามेट ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยกระชายพบสารพฤษเคมีถึง 13 ชนิด นอกจากนี้ได้ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายในระบบอาหาร โดยใช้เนื้อไก่แช่เย็นและไส้กรอกค็อกเทลไก่เป็นตัวแทนอาหาร พบว่าไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและควบคุมการเจริญของ *L. monocytogenes* ในเนื้อไก่สดและในไส้กรอกค็อกเทลไก่ได้ตลอดอายุการเก็บ 5 วัน จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มความปลอดภัยและยืดอายุการเก็บรักษา

Apakorn supapipat 2008: Encapsulation of Essential Oil from Thai Herbs to Against Food Microorganisms in Meat Products. Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Mrs. Chitsiri Rachtanapun, Ph.D. 111 pages.

Essential oil is an effective inhibitor of various pathogens, but application in food is limited by its strong odor and volatility. Although essential oil encapsulated increase the stability, the antimicrobial activity may be changed. The objective of this study was to determine the greatest antimicrobial effect of essential oils against foodborne pathogenic bacteria by selecting essential oils from common Thai household herbs such as holy basil, fingerroot, ginger, galangal, turmeric, lemon grass, citronella, kaffir lime, black pepper and sweet basil for inhibiting foodborne pathogens and to investigate the overall characteristics of microencapsulated essential oil with β -cyclodextrin and its antibacterial activity of the microcapsule against *L. monocytogenes* inoculated in meat products. The antimicrobial activity of essential oils were determined using minimum inhibitory concentration (MIC) by agar dilution method. Among all essential oils tested, fingerroot oil showed the strongest antimicrobial activity against foodborne pathogenic bacteria (MIC in range 0.1-2% v/v). Then, the fingerroot oil was microencapsulated with β -cyclodextrin at ratio of 25:75, 30:70, 40:60 and 50:50 (w/w) using inclusion complexes technique. A maximum encapsulation efficiency were achieved at ratio of 40:60 (95.4%), together with the strongest antimicrobial effect, the microcapsule at ratio of 40:60 inhibited gram positive and gram negative bacteria. The MIC were in range of 0.2-0.4% v/v. Under scanning electron microscopy (SEM), pure β -cyclodextrin exhibited irregular shape and smooth surface, while surface of the microcapsule were rough and covered with lots of small crystals. From GC/MS micrographs, camphor and methyl cinnamate were only two components detected in the microcapsule while 13 of phytochemicals were isolated from fingerroot oil. Addition microencapsulated fingerroot oil in chilled, vacuum packed chicken and cocktail sausage reduced total viable counts and controlled *L. monocytogenes* for at least 5 days. Thus, fingerroot oil microencapsulated with β -cyclodextrin could be used as antimicrobial agent in meat products for increasing wholesomeness and extending shelf-life.

Apakorn Supapipat

Student's signature

Chitsiri Rachtanapun

Thesis Advisor's signature

28 / 05 / 08

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ดร. จิตศิริ ราชตะนัพันธ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ดร. อุทัย กลิ่นเกษร และ ผศ.ดร. วราภาม หากาญจนกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมเป็นอย่างสูง ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำทั้งในส่วนของ การเรียนและงานวิจัย รวมถึงให้คำปรึกษาและสละเวลาตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้เสร็จสมบูรณ์ และขอกราบขอบพระคุณ ดร. สายพิน ทานัชฌาสัย ประธานควบคุมการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย และ รศ.ดร. รมณี สงวนดีกุล ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่ให้คำปรึกษาและแนวทางแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยดี

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่อบรม สั่งสอนมาจนถึงบัดนี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร เจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตร เจ้าหน้าที่ห้องสมุดคณะอุตสาหกรรมเกษตร และเจ้าหน้าที่หอสมุดกลาง ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ และคำปรึกษาต่างๆ เกี่ยวกับเครื่องมือ และข้อมูลที่ใช้ในการทำวิจัย ขอขอบพระคุณบริษัท อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย จีน จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการทดสอบ ขอขอบพระคุณบริษัท โคแอ็กซ์ กรุป คอร์ปอเรชั่น จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ นิสิตปริญญาโทและเอก ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร โดยเฉพาะสมาชิกห้อง Food Safety ทุกคน ที่ให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจเสมอมา

และท้ายที่สุดนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และญาติผู้ใหญ่ทุกท่าน ที่ให้การอบรมสั่งสอนเสมอมา ขอขอบคุณสมาชิกในครอบครัว รวมถึงคนพิเศษและเพื่อนๆ ทุกคน ที่มอบแรงกายแรงใจให้การสนับสนุน ให้คำปรึกษา และเป็นกำลังใจที่ดีตลอดระยะเวลาการศึกษา และการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงถึงวันนี้

อภากร สุภาพิพัฒน์

มีนาคม 2551

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	40
อุปกรณ์	40
วิธีการ	43
ผลและวิจารณ์	53
สรุปและข้อเสนอแนะ	81
สรุป	81
ข้อเสนอแนะ	82
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	84
ภาคผนวก	97
ภาคผนวก ก	สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
ภาคผนวก ข	วิธีวิเคราะห์ทางเคมี
ประวัติการศึกษา	111

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การระบาดของโรคลิสเทอริโอซิส ในอาหารพร้อมบริโภค ปี 1980-2005	4
2	การระบาดของโรคทางเดินอาหารในอาหารพร้อมบริโภค ปี 1993-2001	5
3	สมบัติทางชีวเคมีของ <i>Listeria</i> spp. สายพันธุ์ต่างๆ	6
4	ชนิดของสารเคลือบที่ใช้ในการกักเก็บ	30
5	ข้อกำหนดการใช้ไซโคลเดกซ์ทรินในอุตสาหกรรม	35
6	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยที่มีผลต่อแบคทีเรียก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะ	54
7	สมบัติของไมโครแคปซูลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระชายต่อเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินต่างกัน	58
8	สีของไมโครแคปซูลที่เตรียมจากน้ำมันหอมระเหยกระชายและเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน	61
9	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ (MIC) ของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายที่มีผลต่อแบคทีเรียก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะ	66
10	องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยกระชายและไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC/MS	70

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ภาพถ่าย <i>Listeria monocytogenes</i> ที่มีแฟลกเจลลารอบเซลล์ จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด	6
2	กลไกการก่อโรคของ <i>L. monocytogenes</i> เมื่อเข้าสู่ร่างกาย	8
3	วงจรการแพร่กระจายของ <i>L. monocytogenes</i> ปนเปื้อนสู่อาหาร	10
4	โครงสร้างของเจอร์รานีโอล และลินาลอล	12
5	โครงสร้างของซีทรอล และนีเรล	12
6	โครงสร้างของเจอร์รานิลอะซีเตต และยูจินิลอะซีเตต	13
7	โครงสร้างของจัสโมน และเมนโธน	14
8	โครงสร้างของแอสคาร์ดอล และซินีโอล	14
9	โครงสร้างของคาร์วาครอล และโรมอล	15
10	โครงสร้างของลิโมนีน และไมร์ซีน	15
11	โครงสร้างของไมโครแคปซูล	29
12	โครงสร้างของเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินที่มีการจัดเรียงตัวของน้ำตาลกลูโคสและมีรูปร่างเป็นกรวยแหวน	32
13	การเกิดอินคลูชันคอมเพล็กซ์	33
14	สูตรโครงสร้างของไซโคลเดกซ์ทรินในรูปของกรวยแหวนและการแทรกตัวภายในไซโคลเดกซ์ทรินของยามิโตไมซิน	36
15	ลักษณะปรากฏของไมโครแคปซูลที่เตรียมจากน้ำมันกระชายและเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วนต่างกัน	60
16	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่สกัดจากไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วนต่างๆ	63
17	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วนต่างๆ	64

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
18	โครงสร้างของเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินและไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 40:60 ที่ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	68
19	โครงสร้างของสารประกอบที่พบในไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย แคมเฟอร์ และเมทิลซินนามต	71
20	ผลของสภาวะการเก็บรักษาร่วมกับน้ำมันหอมระเหยกระชายและไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด <i>L. monocytogenes</i> และเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกของเนื้อไก่แช่เย็นในสภาวะบรรยากาศปกติและสุญญากาศ	76
21	การยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยกระชายและไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายปริมาณร้อยละ 4 และ 5 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก) ต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และ <i>L. monocytogenes</i> ในไส้กรอกค็อกเทลไก่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสในสภาวะบรรยากาศปกติ	78
ภาพผนวกที่		
ข1	กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรและความเข้มข้นของกรดแอสคอบิก	106
ข2	กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรและความเข้มข้นของกรดแกลลิก	107
ข3	โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยกระชายที่แยกได้ด้วยเครื่อง GC/MS	109
ข4	โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยกระชายที่ถูกกักเก็บด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินกระชายที่แยกได้ด้วยเครื่อง GC/MS	110

การกักเก็บน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยเพื่อต้านจุลินทรีย์ ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

Encapsulation of Essential Oil from Thai Herbs to Against Food Microorganisms in Meat Products

คำนำ

Listeria monocytogenes เป็นแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิต่ำ (Psychrotrophic bacteria) เจริญได้ดีในอุณหภูมิตู้เย็น และมักพบการปนเปื้อนของเชื้อในอาหารพร้อมบริโภค โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Singh *et al.*, 2003) ประกอบกับความนิยมในการบริโภคอาหารที่ไม่สุกหรือผ่านความร้อนเพียงเล็กน้อย ทำให้โอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรคเนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้เพิ่มมากขึ้น การบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนแบคทีเรียชนิดนี้จะก่อให้เกิดโรคลิสเทอริโอซิส ซึ่งอาจเป็นอันตรายถึงชีวิต โดยเฉพาะสตรีมีครรภ์ เด็กทารก และผู้สูงอายุ รวมถึงผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง (Rocourt *et al.*, 2000)

อาหารพร้อมบริโภคเป็นอาหารที่มักเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ภายหลังจากระบวนการผลิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ง่าย ดังนั้นการผลิตอาหารพร้อมบริโภคในระดับอุตสาหกรรมซึ่งมีการเติมสารเคมีหรือสารกันเสียสังเคราะห์ เพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียและที่สำคัญเพื่อทำลายจุลินทรีย์ก่อโรค อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในอาหารไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคส่วนใหญ่ในปัจจุบันจึงได้มีการนำสารสกัดจากสมุนไพร (Herb extracts) มาใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียและจุลินทรีย์ที่ก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะ เนื่องจากสมุนไพรมีสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ เมื่ออยู่ในอาหารจะสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารได้ แต่มีโอกาสเสื่อมสลายได้ง่ายเมื่ออยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม อีกทั้งการใช้น้ำมันหอมระเหยหรือสารสกัดจากเครื่องเทศและสมุนไพรไทยกับอาหารโดยตรง จะให้กลิ่นที่รุนแรงของเครื่องเทศและสมุนไพรซึ่งอาจไม่เป็นที่ต้องการในอาหารบางประเภท ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะนำน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศและสมุนไพรไทยที่มีการกักเก็บมาประยุกต์ใช้กับอาหาร ซึ่งจะทำ

ให้สารที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องเทศและสมุนไพรไทยเกิดการสลายตัวได้น้อยกว่า และเกิดกลิ่นรบกวนในอาหารได้น้อยกว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยเครื่องเทศและสมุนไพรไทยกับอาหาร แต่อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยที่ถูกกักเก็บอาจเปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากปฏิกิริยาระหว่างสารที่ถูกกักเก็บกับสารห่อหุ้ม ความเป็นไฮโดรโฟบิกของสารที่ถูกกักเก็บ รวมถึงขนาดของสารที่ถูกกักเก็บ

ในการวิจัยนี้ได้มุ่งเน้นที่จะศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยที่ถูกเก็บกักในไซโคลเดกซ์ทริน เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในอาหารประเภทผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เพื่อลดกลิ่นที่รุนแรงจากการใช้น้ำมันหอมระเหย เพื่อเพิ่มความปลอดภัยในอาหาร และช่วยยืดอายุในการเก็บรักษาสภาพผลิตภัณฑ์อาหาร อีกทั้งยังเป็นทางเลือกให้กับผู้ผลิตอาหารในการใช้เป็นสารกันเสียจากธรรมชาติ และเป็นการเพิ่มมูลค่าของเครื่องเทศและสมุนไพรไทยให้สูงขึ้น

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยที่ใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะ
2. ศึกษาการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะ และตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยที่ได้ทำการกักเก็บ
3. ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้ง *Listeria monocytogenes* ของน้ำมันหอมระเหยที่มีการกักเก็บในอาหาร

ตรวจเอกสาร

ความปลอดภัยในอาหารประเภทเนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์สด เช่น เนื้อหมู เนื้อไก่ รวมถึงผลิตภัณฑ์อาหารจากเนื้อสัตว์ เป็นอาหารที่เสี่ยงง่าย จึงนิยมเก็บรักษาโดยการแช่เย็นในน้ำแข็งหรือแช่ตู้เย็น ซึ่งมีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 0-7 องศาเซลเซียส (32-45 องศาฟาเรนไฮต์) (Labuza, 1982) จากการรายงานของ Barakat and Harris (1999) พบว่าการเก็บรักษาอาหารโดยใช้ความเย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส (41 องศาฟาเรนไฮต์) สามารถยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร โดยทำให้จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดอาหารเน่าเสียเจริญช้าลง หรือหยุดการเจริญและป้องกันการเจริญรวมทั้งการผลิตสารพิษจากจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะบางชนิด อย่างไรก็ตามปัจจุบันมีการศึกษาพบว่าการใช้ความเย็นเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหารไม่สามารถประกันความเสี่ยงจากจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะบางชนิดได้ เช่น *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium botulinum* type E, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* บางสายพันธุ์ เป็นต้น ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ (Psychrotrophic bacteria) โดยส่วนใหญ่สามารถเจริญในอาหารได้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (Palumbo, 1986; Barnes *et al.*, 1999)

อาหารพร้อมบริโภคประเภทเนื้อสัตว์ เช่น แฮม ไส้กรอก และ ลูกชิ้น เป็นต้น เป็นอาหารที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนมาแล้ว แต่ก็ยังต้องเก็บรักษาในตู้เย็น ซึ่งการเก็บรักษาโดยการแช่เย็นเป็นระยะเวลานานอาจพบการเจริญของ Lactic acid bacteria, Micrococci, Enterococci, รา และยีสต์ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ทำให้อาหารเน่าเสีย บางครั้งอาจพบการเจริญของ *L. monocytogenes* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะที่สำคัญในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ ทั้งนี้เนื่องจากในระหว่างกระบวนการผลิต *L. monocytogenes* มีโอกาสปนเปื้อนได้ง่าย อีกทั้ง *L. monocytogenes* สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิตู้เย็น (4-12 องศาเซลเซียส) และมีชีวิตอยู่ได้เป็นเวลานาน (Barakat and Harris, 1999; Samelis and Metaxopoulos, 1999) ซึ่งการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* อาจทำให้ผู้บริโภคได้รับเชื้อและทำให้เกิดโรคลิสเทอริโอซิส (Listeriosis) โดยทั่วไปเชื่อว่า ปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* มากกว่า 10^2 โคโลนี ทำให้เกิดการติดเชื้อ ซึ่งกระทรวงเกษตรแห่งสหรัฐอเมริกา (USDA) ได้กำหนดไว้ว่าในอาหารพร้อมบริโภค (Ready to eat, RET) ปริมาณ 25 กรัม จะต้องไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* (Zero tolerance) มี

รายงานในช่วงปี ค.ศ. 1980 ถึง 2000 พบคนที่เป็นโรคลิสเทอริโอซิส 47-79 คนในประเทศแคนาดา โดยทั้งหมดเกิดจากการบริโภคผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อสัตว์ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* (Pagotto *et al.*, 2003) นอกจากนี้ได้มีการรวบรวมรายงานการระบาดของเชื้อ *L. monocytogenes* ในอาหารหลายชนิด เช่น ชีส นมดิบ และผักสด (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การระบาดของโรคลิสเทอริโอซิส ในอาหารพร้อมบริโภค ปี 1980-2005

ปี	อาหาร	จำนวนคนที่ได้รับเชื้อ <i>L. monocytogenes</i>			สายพันธุ์
		ผู้ป่วย	เสียชีวิต	แท้ง	
1981	สลัด (Coleslaw)	41	18	34	4b
1983	นมพาสเจอร์ไรส์	49	14	7	4b
1985	เนยแข็งแมกซิกัน	142	48	94	4b
1983–1987	เนยแข็ง	122	34	65	4b
1987–1989	พาสต้า	366	-	-	4bx
1989–1990	เนยแข็ง	26	7	3	4b
1998–1999	ไส้กรอก	108	14	6	4b
1999	เนย	25	6	0	3a
2000	ไก่กึ่ง	30	7	8	1/2a
2000	เนยแข็งแมกซิกัน	13	5	11	4b
2002	ไก่กึ่ง	54	8	12	4b
2002	เนยแข็ง	17	0	3	-
2003	เนยแข็งแมกซิกัน	12	-	-	4b

ที่มา: ดัดแปลงจาก Swaminathan and Peter (2007)

นอกจากนี้ยังมีรายงานการเกิดระบาดในระบบทางเดินอาหารจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การระบาดของโรคทางเดินอาหารในอาหารพร้อมบริโภค ปี 1993-2001

ปี	อาหาร	จำนวนคนที่ได้รับเชื้อ	สายพันธุ์	ปริมาณที่ได้รับ (CFU ต่อกรัม หรือมิลลิลิตร)
		<i>L. monocytogenes</i> ผู้ป่วย		
1993	สลัดข้าว (Rice salad)	18	1/2b	$>10^3$
1994	นมรสช็อกโกแลต	44	1/2b	10^9
1997	สลัดปลาทูน่า	1566	4b	10^6
1998	ปลารมควันแช่เย็น	-	-	2×10^5
2000	เนื้อสัตว์พร้อมบริโภค	32	1/2a	$>2 \times 10^5$
2001	เนื้อไก่วงพร้อมบริโภค	16	1/2a	$>10^9$
2001	เนยแข็ง	48	1/2a	10^2-10^7
2001	เนยแข็ง	38	1/2b	-

ที่มา: คัดแปลงจาก Swaminathan and Peter (2007)

ลักษณะโดยทั่วไปของ *L. monocytogenes*

L. monocytogenes เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปแท่งสั้น มีขนาดเล็ก ยาว 1.0-2.0 ไมโครเมตร กว้าง 0.5 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้โดยอาศัยแฟลกเจลลา ไม่สร้างสปอร์ เมื่ออยู่ในอุณหภูมิต่ำกว่า 25 องศาเซลเซียส สามารถเคลื่อนที่ได้โดยแฟลกเจลลาที่มีอยู่รอบเซลล์ (Peritricous flagella) (ภาพที่ 1) *L. monocytogenes* สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิกว้าง คือ ตั้งแต่ต่ำกว่า 1 ถึง 50 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ระหว่าง 30 องศาเซลเซียส และ 37 องศาเซลเซียส (Kenneth, 2003) แบคทีเรียชนิดนี้สามารถอยู่รอดได้ในสภาวะแช่แข็ง แต่จะถูกทำลายที่ระดับอุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์ ที่อุณหภูมิมากกว่า 61.5 องศาเซลเซียส เซลล์สามารถเจริญได้ในช่วงความเป็นกรด-เบส 4.0-9.5 ในอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 10 และค่าออกซิเจนแอคติวิตี (Water activity, a_w) ต่ำสุดที่สามารถเจริญได้อยู่ในช่วง 0.90-0.97 (Marriott, 1997)



ภาพที่ 1 ภาพถ่าย *Listeria monocytogenes* ที่มีแฟลกเจลลารอบเซลล์ จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด

ที่มา: Kenneth (2003)

ปัจจุบันเชื่อ *Listeria* ที่มีการบันทึกไว้มี 6 สายพันธุ์ คือ *Listeria innocua*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri*, *Listeria ivanovii*, *Listeria grayi* และ *Listeria monocytogenes* ซึ่งสมบัติทางชีวเคมีที่แตกต่าง ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 สมบัติทางชีวเคมีของ *Listeria* spp. สายพันธุ์ต่างๆ

สายพันธุ์	การหมักและการสร้างกรด			เบต้าฮีโมไลซิส
	น้ำตาลไซโลส	น้ำตาลแรมโนส	น้ำตาลแมนนิทอล	
<i>L. monocytogenes</i>	-	+	-	+
<i>L. innocua</i>	-	V	-	-
<i>L. seeligeri</i>	+	-	-	+
<i>L. welshimeri</i>	+	V	-	-
<i>L. ivanovii</i>	+	-	-	+
<i>L. grayi</i>	-	-	+	-

หมายเหตุ (+) เกิดปฏิกิริยา, (-) ไม่เกิดปฏิกิริยา, (V) ปฏิกิริยาเปลี่ยนแปลงได้

ที่มา: ดัดแปลงจาก Yousef and Carlstrom (2003)

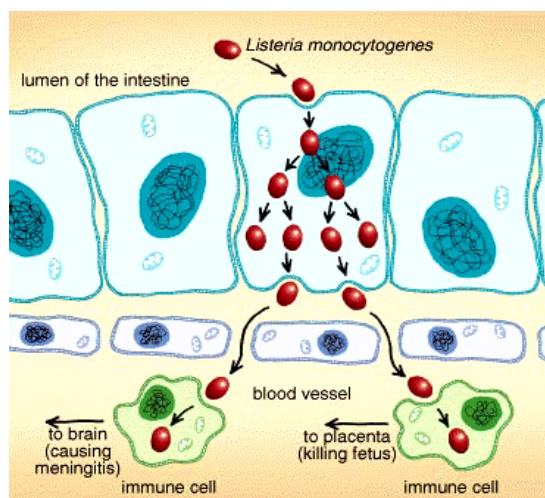
ในจำนวนนี้พบว่าเชื้อ *L. monocytogenes* ทำให้เกิดโรคในมนุษย์ เชื้อชนิดนี้จะให้ผลการทดสอบเป็นบวก (Positive test) กับกะตะเลส (Catalase) และวอคโปรสเกอร์ (Voges-Proskauer)

โดยที่ 3 ซีโรไทป์ (Serotype) จากทั้งหมด 11 ซีโรไทป์ ของเชื้อนี้ทำให้เกิดการติดเชื้อถึงร้อยละ 90 ซึ่ง 3 ซีโรไทป์ นั้นได้แก่ 1/2a, 1/2b และ 4b

สมบัติในการก่อโรคของ *L. monocytogenes*

จีโนม *Listeria* ประกอบด้วย 6 เมกะเบส พบว่า *L. monocytogenes* เพียงชนิดเดียวที่เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่มีความสำคัญต่อมนุษย์มากที่สุด ปัจจัยในการก่อโรคที่สำคัญของ *L. monocytogenes* คือ ลิสเทอรีโอไลซิน โอ (Listeriolysin O, LLO) LLO เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 60,000 ดาลตัน ประกอบด้วยกรดอะมิโน 504 ชนิด ส่วนใหญ่จะถูกผลิตขึ้นในระหว่างการเจริญช่วงเอกซ์โปเนนเชียลโดย LLO จะมีระดับสูงสุดหลังจากเซลล์เจริญได้ 8-10 ชั่วโมง LLO เป็นสารที่ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตก (β -hemolysis) และทำลายเซลล์ฟาโกไซติก (Phagocytic cells) ที่ทำหน้าที่โอบล้อมและทำลายเซลล์ *L. monocytogenes* ที่แปลกปลอมเข้าไปในเซลล์โฮสต์ (Jay, 1992)

เมื่อบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนเซลล์ของ *L. monocytogenes* เข้าสู่ร่างกาย เซลล์จะผ่านเข้าไปทางลำไส้เล็กแล้วมีการเพิ่มจำนวนขึ้น จากนั้นเซลล์จะบุกรุกเข้าสู่เนื้อเยื่อต่างๆของร่างกาย เช่น รกของสตรีมีครรภ์ และเข้าสู่กระแสเลือดซึ่งกระแสเลือดจะนำพาเซลล์ *L. monocytogenes* แทรกเข้าไปในเซลล์ต่างๆของร่างกาย แล้วทำการเพิ่มจำนวนเซลล์ในเซลล์ของร่างกาย ต่อมาเซลล์ *L. monocytogenes* จะถูกเซลล์ฟาโกไซต์ เช่น แมคโครฟาจ (Macrophage) กินเข้าไป แต่เนื่องจาก *L. monocytogenes* สามารถอยู่รอดและเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ในเซลล์ฟาโกไซติก ดังนั้น *L. monocytogenes* จะทำลายแมคโครฟาจ ทำให้เซลล์ถูกปลดปล่อยออกมาในไซโตพลาสซึม จากนั้นเซลล์ของ *L. monocytogenes* จะถูกล้อมรอบด้วยแอกติน (Actin) ภายในเวลาไม่กี่ชั่วโมงและมีการสร้างเอฟแอกติน (F-actin) ซึ่งทำให้ *L. monocytogenes* สามารถเคลื่อนที่และแพร่กระจายไปยังแมคโครฟาจที่อยู่ใกล้เคียงได้ การที่แมคโครฟาจถูกย่อยเป็นผลเนื่องมาจาก LLO ที่เชื้อ *L. monocytogenes* ผลิตออกมา เนื่องจาก LLO สามารถจับกับเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีคอเลสเตอรอลเป็นองค์ประกอบและสร้างโมโนเมอร์ที่เป็นพิษ จึงทำให้เกิดการรั่วของเซลล์โฮสต์และทำให้เซลล์โฮสต์ตายในที่สุด (Jay, 1992)



ภาพที่ 2 กลไกการก่อโรคของ *L. monocytogenes* เมื่อเข้าสู่ร่างกาย
ที่มา: Scott (2000)

จากภาพที่ 2 เมื่อบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนเซลล์ของ *L. monocytogenes* เข้าสู่ร่างกาย เซลล์ *L. monocytogenes* จะผ่านเข้าไปทางลำไส้เล็กแล้วมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ และเข้าสู่กระแสเลือดซึ่งกระแสเลือดจะนำพาเซลล์ *L. monocytogenes* แทรกเข้าไปในอิมมูนเซลล์ แล้วเคลื่อนที่ผ่านสายรกเข้าไปทำลายตัวอ่อนในครรภ์มารดา หรือเคลื่อนที่ไปยังสมองทำให้เกิดเยื่อหุ้มสมองอักเสบ

โรคลิสเทอริโอซิส (Listeriosis)

โรคลิสเทอริโอซิสที่เกิดจากเชื้อ *L. monocytogenes* แบ่งได้เป็น 5 ประเภท คือ การติดเชื้อระหว่างตั้งครรภ์ (Pregnancy infections) การติดเชื้อในทารก (Granulomatosis infantiseptica) การติดเชื้อในกระแสเลือด (Sepsis) เยื่อหุ้มสมองอักเสบ (Meningoencephalitis) และการติดเชื้อโดยทั่วไป (Focal infections)

1.) การติดเชื้อระหว่างตั้งครรภ์ (Pregnancy infections) เป็นโรคติดเชื้อที่เกิดระหว่างการตั้งครรภ์ และเกิดขึ้นได้ทุกระยะของการตั้งครรภ์ ผู้ป่วยจะมีอาการเป็นไข้จับสั่น ปวดหัว ปัสสาวะไม่มีสี ในผู้ป่วยบางรายจะมีอาการคอหอยอักเสบ ท้องเสีย ซึ่งถ้าหากนำเชื้อเยื่อในช่องคลอด รก และปัสสาวะมาตรวจก็จะพบเชื้อ *L. monocytogenes* อยู่ในเนื้อเยื่อเหล่านี้ ทำให้เกิดอาการแท้งตัว

อ่อนหรือทารกตายหรือคลอดก่อนกำหนด (Rocourt *et al.*, 2000) นอกจากนี้แล้วโรคนี้อาจทำให้เกิดการติดเชื้อในทารกได้อีกด้วย

2.) การติดเชื้อในทารก (Granulomatosis infantiseptica) เป็นโรคติดเชื้อที่เกิดขึ้นในทารก ก่อให้เกิดอาการหายใจติดขัด หัวใจเต้นเบา ผิวหนังเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน เนื่องจากขาดอากาศหายใจ อาเจียน ชัก และอุจจาระเป็นเมือก โรคนี้อาจทำให้เกิดตุ่มเล็กๆ ขึ้นในตับ ม้าม ต่อมหมวกไต ปอด หลอดอาหาร และต่อมทอนซิล อาจทำให้เกิดเยื่อหุ้มสมองอักเสบในทารกที่เพิ่งเกิด มีรายงานว่าทารกที่เพิ่งเกิดติดเชื้อจากลิสเทอริโอซิสเสียชีวิตประมาณร้อยละ 30 และทารกที่ติดเชื้อใน 4 วันแรกหลังการเกิดเสียชีวิตได้ประมาณร้อยละ 50 (Marriott, 1997)

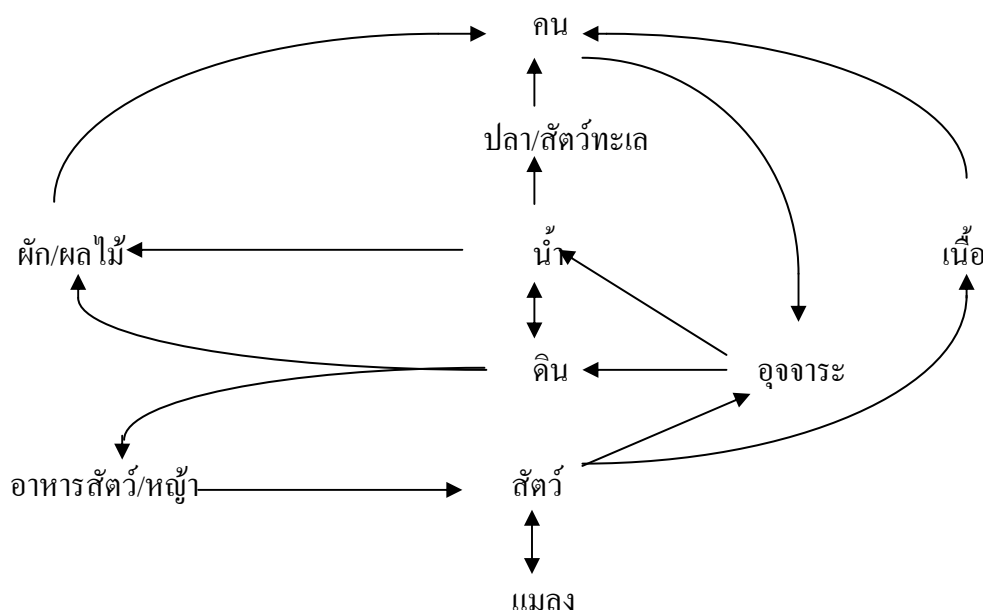
3.) การติดเชื้อในกระแสเลือด (Sepsis) ผู้ป่วยที่เป็นผู้ใหญ่ จะมีการหนาวสั่น มีไข้ คอหอยอักเสบชั้นรุนแรง เม็ดเลือดขาวแตก ตามด้วยนิวเคลียสแยกตัวออกไป ซึ่งส่วนใหญ่ผู้ติดเชื้อจะไม่ค่อยแสดงอาการเพราะมีภูมิคุ้มกัน แต่สำหรับทารกแรกเกิดจะแสดงอาการของโรคหลังจากเกิดได้ 3 วัน ซึ่งส่วนใหญ่พบว่าเกิดการติดเชื้อระหว่างคลอด หรือหลังจากคลอดมากกว่าการติดเชื้อในมดลูก และพบว่ามารดาของเด็กทารกส่วนใหญ่จะไม่แสดงอาการ และอาการที่พบในเด็กจะเหมือนกับอาการที่พบในผู้ใหญ่

4.) เยื่อหุ้มสมองอักเสบ (Meningoencephalitis) หรือไขสันหลังอักเสบซึ่งพบในทารกแรกเกิดและผู้ใหญ่ โดยทั่วไปจะพบในคนที่อายุสูงกว่า 50 ปี และพบว่าผู้ป่วยโรคนี้จะมีอาการหายใจถี่ และหอบภาวะผิวหนังเป็นสีน้ำเงินอ่อนๆ เนื่องจากขาดอากาศหายใจ เนื้อเยื่อเป็นไข การเจริญเติบโตหยุดชะงัก เบื่ออาหาร ชัก และส่วนใหญ่เสียชีวิต มีรายงานว่า 2 ใน 8 ของเด็กที่รอดชีวิตเมื่ออายุได้ 16 เดือน จะปัญญาอ่อนและพิการ ลักษณะอาการในผู้ใหญ่จะคล้ายไข้หวัดใหญ่ แล้วตามด้วยปวดหัว หนาวสั่น เป็นไข้ คอจะแข็งขึ้นเรื่อยๆ คลื่นไส้ อาเจียน กลัวแสง และตบแข็ง ผู้ป่วยจะง่วงซึม เพ้อคลั่ง และเสียชีวิตในที่สุด

5.) การติดเชื้อโดยทั่วไป (Focal infections) โรคนี้อาจมีระยะของโรค 2 ระยะ โดยในช่วงแรกจะมีอาการปวดหัว ปวดหลัง อาเจียน เยื่อตาขาวอักเสบ และเยื่อเมือกในช่องจมูกอักเสบ ส่วนในระยะที่ 2 นั้นผู้ป่วยจะมีไข้สูง และระบบประสาทส่วนกลางจะไม่สามารถทำงานได้ปกติ และจะเสียชีวิตในที่สุด ถ้าผู้ป่วยไม่ได้รับการรักษาอย่างทันที่ด้วยยาปฏิชีวนะเช่น แอมพิซิลลิน (Ampicillin) เพนนิซิลลิน (Penicillin) และเอริโทรไมซิน (Erythromycin)

การระบาดของโรคลิสเทอริโอซิสและการปนเปื้อนในอาหาร

L. monocytogenes แพร่กระจายทั่วไปในสิ่งแวดล้อม อาทิ ในแม่น้ำ ดิน และสิ่งปฏิกูล เชื้อชนิดนี้พบมากในทางเดินอาหารของสัตว์ปีก วัว หมู แกะ ปลา หอย น้านม และอาหารแช่แข็ง จากภาพที่ 3 แสดงให้เห็นว่า *L. monocytogenes* ปนเปื้อนได้ทั้งจากอาหารสัตว์ วัตถุดิบทางการเกษตร มนุษย์และสัตว์ รวมทั้งอาหารทะเล



ภาพที่ 3 วงจรการแพร่กระจายของ *L. monocytogenes* ปนเปื้อนสู่อาหาร
ที่มา: ศศิกานต์ (2546)

ในปี 2006 Bohaychuk *et al.* ได้นำผลิตภัณฑ์จำพวกเนื้อสัตว์และอาหารพร้อมบริโภคที่จำหน่ายในตลาดหลายแห่งในประเทศแคนาดา มาตรวจการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรคในอาหาร พบการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ซีโรไทป์ 1/2a ร้อยละ 40, ซีโรไทป์ 1/2b ร้อยละ 47 และ ซีโรไทป์ 1/2c ร้อยละ 10 ส่วนในอาหารพร้อมบริโภคจำพวกไส้กรอก พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ *Listeria* spp ร้อยละ 16.3 โดยพบ *L. monocytogenes* ร้อยละ 11.9 และ *L. innocua* ร้อยละ 11.3 (Güven and Patir, 1998) นอกจากนี้ Ozbey *et al.* (2006) ได้ตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อ *Listeria* spp. ในไส้กรอกเนื้ออูฐที่ซื้อจากตลาดหลายๆ แห่งในประเทศตุรกี โดยพบว่าการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ร้อยละ 25

น้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยเป็นผลผลิตจากการสกัดพืชสมุนไพรและเครื่องเทศนานาชนิด ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้น มักมีกลิ่นหอม ระเหยง่าย พบได้ตามส่วนต่างๆ ของพืช ได้แก่ ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล เมล็ด กลีบเลี้ยง มีลักษณะเป็นน้ำมันที่มีกลิ่นและรสชาติเฉพาะตัว น้ำมันหอมระเหยเป็นกลุ่มของสารอินทรีย์ในพืชที่มีคุณสมบัติระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติ เนื่องจากมีจุดเดือดต่ำ เบากว่าน้ำ ไม่มีสี แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้นานๆ อาจถูกออกซิไดส์ (Oxidized) ทำให้สีเข้มขึ้น จึงต้องเก็บไว้ในขวดสีชาที่ปิดสนิท โดยปกติน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดจะมีสารประกอบทางเคมีตั้งแต่ 50-500 ชนิด ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมี อัตราส่วนของสารประกอบทางเคมีที่ผสมกันและคุณสมบัติแตกต่างกันออกไป ขึ้นกับชนิดของพืช ฤดูกาล ระยะพัฒนาการ (เช่น ระยะเวลา ใบ ระยะออกดอก ระยะผลแก่ เป็นต้น) สารประกอบทางเคมีเหล่านี้นอกจากให้กลิ่นหอมเฉพาะตัวแล้ว สารบางชนิดมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ หรือฆ่าแมลง บางชนิดมีรสชาติเผ็ด ขม หวาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อสารประกอบเหล่านี้ผสมผสานกัน ยิ่งทำให้เกิดคุณสมบัติที่เป็นเอกลักษณ์ของน้ำมันหอมระเหยของพืชแต่ละชนิดที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์ต่างกันออกไป

วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยที่นิยมใช้ในปัจจุบัน คือ การกลั่นด้วยไอน้ำ และการใช้สารเคมีเป็นตัวทำละลาย ซึ่งน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จะแยกจากชั้นของน้ำ

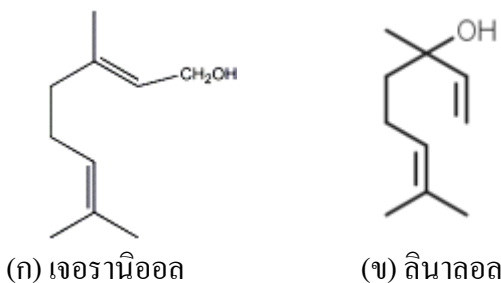
องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

Baudoux (2002) จัดจำแนกกลุ่มของสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยเป็น 7 กลุ่ม ซึ่งในแต่ละกลุ่มจะออกฤทธิ์แตกต่างกันดังนี้

1. กลุ่มแอลกอฮอล์ (Alcohols)

พืชจะมีการสร้างสารในกลุ่มนี้เพื่อตอบสนองต่อความเครียดที่เกิดขึ้น สารในกลุ่มแอลกอฮอล์ไม่มีความเป็นพิษ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา ได้อย่างกว้างขวาง โดยมีผลทำให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีน ส่งผลให้เชื้อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์สูญเสียสภาพปกติในการควบคุมสารผ่านเข้าออกเซลล์ ตัวอย่างของสารในกลุ่มแอลกอฮอล์ ได้แก่ เบนซิลแอลกอฮอล์ (Benzyl alcohol) ลินาลอล (Linalol) ซิโตรเนลลอล (Citronellol) เจอรานิออล

(Geraniol) บอร์นีออล (Borneol) เมนทอล (Menthol) นีรอล (Nerol) และเทอร์พีนีออล (Terpineol) เป็นต้น

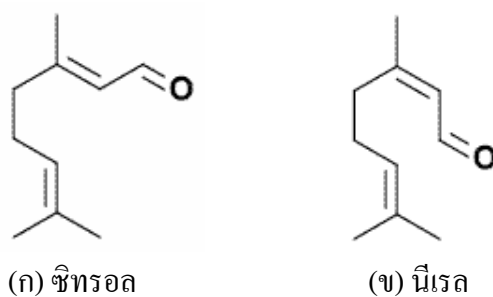


ภาพที่ 4 โครงสร้างของเจอรานีออล (ก) และลิनाลอล (ข)

ที่มา: Aenderung (2008)

2. กลุ่มอัลดีไฮด์ (Aldehydes)

สารในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ในการระงับประสาท ขจัดไข้ ลดการอักเสบ ลดความอ้วน ขยายหลอดเลือด และมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโรค มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา ได้ดีโดยเฉพาะกับแบคทีเรีย ตัวอย่างของสารในกลุ่มอัลดีไฮด์ ได้แก่ ซิตรอล (Citral) หรือเจอรานีล (Geranial) ซิโตรเนลลัล (Citronellal) และนีเรล (Neral) เป็นต้น

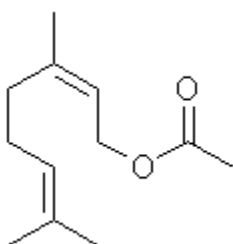


ภาพที่ 5 โครงสร้างของซิตรอล (ก) และนีเรล (ข)

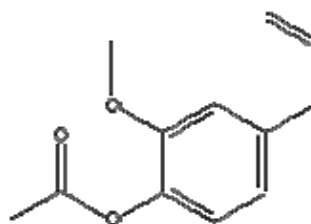
ที่มา: Aenderung (2008)

3. กลุ่มเอสเตอร์ (Esters)

สารในกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ดี มีคุณสมบัติระงับประสาท สงบอารมณ์ ลดอาการเกร็งของกล้ามเนื้อ และลดการอักเสบ ตัวอย่างของสารในกลุ่มเอสเตอร์ ได้แก่ ลินาลิลอะซิเตต (Linalyl acetate) เจอรานิลอะซิเตต (Geranyl acetate) บอ์มีลอะซิเตต (Bormyl acetate) ยูจีนิลอะซิเตต (Eugenyl acetate) และลาเวนดูลิลอะซิเตต (Lavendulyl acetate) เป็นต้น



(ก) เจอรานิลอะซิเตต



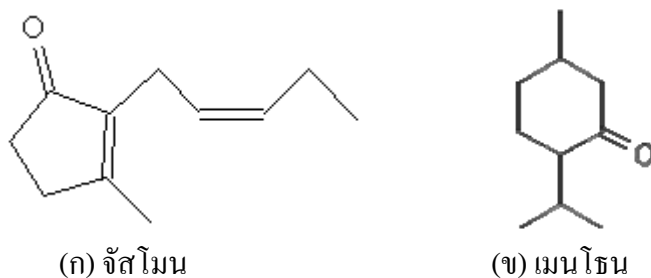
(ข) ยูจีนิลอะซิเตต

ภาพที่ 6 โครงสร้างของเจอรานิลอะซิเตต (ก) และยูจีนิลอะซิเตต (ข)

ที่มา: Aenderung (2008)

4. กลุ่มคีโตน (Ketones)

สารคีโตนมีคุณสมบัติช่วยขยายหลอดลม ละลายเสมหะ เสริมสร้างเนื้อเยื่อ และลดการอักเสบ ตัวอย่างของสารในกลุ่มคีโตน ได้แก่ จัสโมน (Jasmone) เฟนโคโนน (Fenchone) แคมเฟอร์ (Camphor) คาร์วอน (Carvone) และเมนโธน (Menthone) เป็นต้น



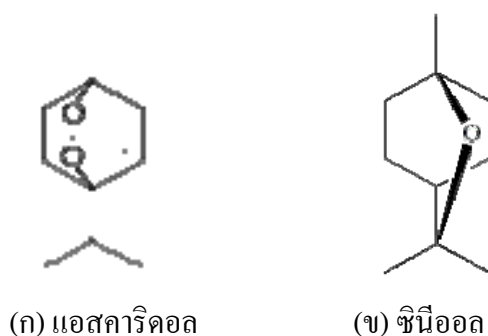
ภาพที่ 7 โครงสร้างของจัสโมน (ก) และเมนโธน (ข)

ที่มา: Aenderung (2008)

5. กลุ่มออกไซด์ (Oxides)

สารกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดี (Oussalah *et al.*, 2007)

นอกจากนี้พบสารที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นระบบประสาท ตัวอย่างของสารในกลุ่มออกไซด์ ได้แก่ ลินาลอลออกไซด์ (Linalol oxide) แอสคาร์ดอล (Ascaridol) ไบซาโบลอลออกไซด์ (Bisabolol oxide) และซินีอล (Cineol) เป็นต้น



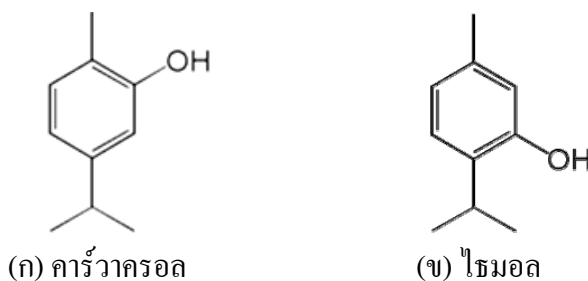
ภาพที่ 8 โครงสร้างของแอสคาร์ดอล (ก) และซินีอล (ข)

ที่มา: Aenderung (2008)

6. กลุ่มฟีนอล (Phenols)

สารในกลุ่มนี้มีความสำคัญเนื่องจากเป็นสารที่ให้สีและกลิ่นในพืช มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย ไวรัส เชื้อราได้ดีและกว้างขวาง โดยเฉพาะกับแบคทีเรีย (Fennema, 1996)

สารประกอบฟีนอลิก เช่น ยูจีนอล (Eugenol) ยูจีนอลอะซิเตต (Eugenol acetate) คาร์วาครอล (Carvacrol) ไธมอล (Thymol) และฟีนอล (Phenol) เป็นต้น

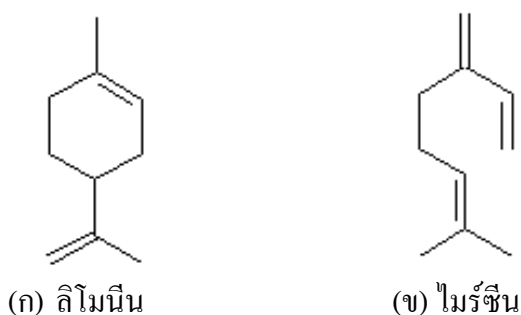


ภาพที่ 9 โครงสร้างของคาร์วาครอล (ก) และไธมอล (ข)

ที่มา: Aenderung (2008)

7. กลุ่มเทอร์พีน (Terpenes)

สารในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อและลดการอักเสบ ประกอบด้วย แคมเฟน (Camphene) คาดินีน (Cadinene) คาร์โยฟิลลีน (Caryophyllene) ซีดรีน (Cedrene) ไดเพนทีน (Dipentene) เทอร์ไพนีน (Terpinene) ซาบินีน (Sabinene) ไมร์ซีน (Myrcene) สารเซสควิเทอร์พีนส์ (Sesquiterpenes) เช่น คามาซูลีนฟาร์นีซอล (Chamazulene farnesol) มีฤทธิ์ในการลดการอักเสบ และต้านเชื้อแบคทีเรีย ลิโมนีน (Limonene) มีคุณสมบัติต้านไวรัส และไพนีน (Pinene) มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ เป็นต้น



ภาพที่ 10 โครงสร้างของลิโมนีน (ก) และไมร์ซีน (ข)

ที่มา: Aenderung (2008)

เครื่องเทศและสมุนไพร

กะเพรา (Holy basil)

ข้อมูลพื้นฐาน

กะเพรามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ocimum sanctum* Linn. ลักษณะทั่วไปเป็นไม้ล้มลุก สูง 30-90 เซนติเมตร ทั้งต้นมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ลำต้นเป็นรูปสี่เหลี่ยม โคนลำต้นค่อนข้างแข็ง ตามลำต้นมีขน ใบเดี่ยว รูปรี เรียงตรงข้าม ขอบใบหยักฟันเลื่อยห่างๆ ปลายแหลม แผ่นใบมีขน กะเพรา มี 3 พันธุ์ คือ กะเพราแดง กะเพราขาว และกะเพราลูกผสมระหว่างกะเพราขาวและกะเพราแดง ใบกะเพราแดงมีสีเขียวแกมม่วงแดง ส่วนใบกะเพราขาวมีสีเขียวอ่อน ดอกย่อยสีชมพูแกมม่วง ดอกกะเพราแดงสีเข้มกว่ากะเพราขาว

องค์ประกอบทางเคมี

เมื่อนำใบกะเพรามากลั่นด้วยไอน้ำจะได้น้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.53 ประกอบด้วย เมทิลยูจีนอล (Methyl eugenol) ร้อยละ 37.7 รองลงมาเป็น คาร์โยฟิลลิน (Caryophyllene) ร้อยละ 27.4 เมทิลชาวิคอล (Methyl chavicol) ร้อยละ 10 นอกจากนั้นมี ไพนีน แคมฟิน ซาบินีน ลิโมนีน 1,8-ซินีออล (1,8- Cineol) เทอร์พิโนลิน (Terpinolene) กูเบบิน (Cubebene) ซิเมน (Cymene) โคเปอิน (Copaene) ลินาลูล (Linalool) ไอโซคาร์โยฟิลลิน (iso-Caryophyllene) เอลมีน (Elemene) บอร์นียอล ซีลินีน (Selinene) และยูจีนอล (นิจิรี, 2534) มีรายงานว่า กะเพราสามารถยับยั้ง *Propionibacterium acnes* โดยมีค่า MIC ร้อยละ 3.0 (v/v) (Viyoch *et al.*, 2006) นอกจากนี้สารในกลุ่มฟีนอล แทนนิน (Tannin) และซาโปนิน (Saponin) จากต้นกะเพรา สารสกัดเอทานอล และน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา สามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย ชนิด *E. coli* และ *Shigella dysenteriae* ได้ (Ahmad and Beg, 2001)

กระชาย (Fingerroot)

ข้อมูลพื้นฐาน

กระชายมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Holtt. อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae มีถิ่นกำเนิดมาจากประเทศอินเดียและมาเลเซีย เป็นพืชล้มลุก มีเหง้าหรือลำต้นอยู่ใต้ดิน ซึ่งมีลักษณะเรียวยาว อวบน้ำ ตรงกลางเหง้าจะพองคล้ายกระสวย เกาะกลุ่มกันเป็นกระจุก มีสีน้ำตาลหรือสีน้ำตาลแกมส้ม มีกลิ่นแรง ส่วนของรากและเหง้าของกระชายมีน้ำมันหอมระเหย ใบกระชายเป็นใบเดี่ยวออกสลับกัน สีค่อนข้างแดง ใบมีขนาดยาวรีรูปไข่ ปลายใบแหลมมีขนาดใหญ่ สีเขียวอ่อน โคนใบเป็นกาบหุ้มซ้อนกัน ออกดอกเป็นช่อที่ยอด ดอกมีสีขาวหรือขาวปนชมพู ผลของกระชายเป็นผลแห้ง กระชายมีสามชนิด คือ กระชายเหลือง กระชายดำ และกระชายแดง

องค์ประกอบทางเคมี

กระชายเป็นพืชที่ให้น้ำมันหอมระเหย (Essential oil) เช่นเดียวกับเครื่องเทศชนิดอื่นๆ แต่ปริมาณที่มีอยู่ค่อนข้างน้อยประมาณร้อยละ 0.08 สารต่างๆที่พบในกระชายที่จัดเป็นสารที่ให้กลิ่น คือ แคมเฟอร์ เจอรานิออล ซินีออล เบต้าออกซิมีน (β -Ocimene) แคมฟิน บอร์นีออล และเมทิลซินนาเมต (Methyl cinnamate) และยังพบสารจำพวกฟลาโวน (Flavone) และฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เช่น พินอสโตรบิน (Pinostrobin) อัลพินทิน (Alpinetin) พินอคემบริน (Pinocembrin) เป็นต้น อนุพันธ์ของชาลโคล (Chalcones) เช่น แพนดูราติน (Panduratin A, B₁, B₂) เป็นต้น อนุพันธ์ของไซโคลเฮกซีนิลชาลโคล (Cyclohexenyl chalcone) ได้แก่ ไฮดรอกซีแพนดูราติน เอ (Hydroxypanduratin A) และ แพนดูราติน เอ สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ (Tuchinda *et al.*, 2002) และมีการศึกษาพบว่าไอโซแพนดูราติน เอ (Isopanduratin A) สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Streptococcus mutans*, *S. sanguinis* และ *S. salivarius* ได้ (Hwang *et al.*, 2004) นอกจากนี้ Thongson *et al.* (2004) รายงานว่าสารสกัดจากกระชายมีฤทธิ์ยับยั้ง *L. monocytogenes* สายพันธุ์ 101, 108, 310, Scott A และ V7 โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วงร้อยละ 0.04–0.05 ส่วน *S. Typhimurium* DT104 สายพันธุ์ 2380, 2486, 2576 และ 2582 มีค่า MIC อยู่ในช่วงร้อยละ 4–5

จิง (Ginger, Zingiber)

ข้อมูลพื้นฐาน

จิงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zingiber officinale* (Roscoe.) จัดเป็นพืชตระกูลเดียวกับข่า ขมิ้น กระชาย ซึ่งอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae มีถิ่นกำเนิดมาจากประเทศจีน อินเดีย อินโดนีเซีย และไทย จิงเป็นพืชล้มลุก มีลำต้นใต้ดินซึ่งลักษณะคล้ายมือหรือที่เรียกว่าเหง้า และลักษณะคล้ายนิ้วมือ เรียกว่าแง่งจิง เป็นส่วนที่ใช้ในการขยายพันธุ์ได้ เปลือกเหง้ามีสีเหลืองอ่อน แต่เนื้อภายในมีสีเหลืองอมเขียว จิงอ่อนมีสีขาวออกเหลือง มีรสเผ็ดและกลิ่นหอม

องค์ประกอบทางเคมี

จิงเป็นพืชที่มีรสเผ็ดร้อนและกลิ่นฉุน เกิดจากน้ำมันชัน (Oleresin) ในเหง้า ส่วนกลิ่นหอม เฉพาะตัว เกิดจากน้ำมันหอมระเหยในเหง้าเช่นเดียวกัน ซึ่งมีประมาณร้อยละ 0.2-3 ประกอบด้วย ไบซาโบลีน (Bisabolene) เมทิลซินนามेट นีรอล คริปโตน (Cryptone) ซิทรอล (Citral) ซิงจิรอล (Zingiol) ซิงจิเบอร์ลิน (Zingiberene) และซิงจิเบอร์อล (Zingiberol) (Zaeoung *et al.*, 2005) ซิงจิเบอร์ลิน และซิงจิเบอร์อล เป็นสารจำพวกไฮโดรคาร์บอนของเซสควิเทอร์พีน (Sesquiterpene hydrocarbon) พบอยู่ประมาณร้อยละ 35.6 ซึ่งเป็นส่วนที่ระเหยได้เมื่อถูกอากาศและแสง ส่วนเคอร์คูมิน (Curcumene) พบอยู่ประมาณร้อยละ 17.7 ซึ่งเป็นส่วนของสารที่ไม่ระเหย (นิจิตรี, 2534) ทั้งยังมีสารประกอบฟีนอลิก อาทิ จิงเจอร์รอล (Gingerol) เมนทอล บอร์นีออล และเฟนโคน มีรายงานว่าสารสกัดจากจิงสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เช่น *Salmonella* และ *Listeria* เป็นต้น (Thongson *et al.*, 2005)

ข่า (Galanga)

ข้อมูลพื้นฐาน

จิงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Alpinia galanga* SW. อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และภูมิภาคเอเชียเขตร้อน มีกลิ่นหอมฉุนและรสขม ข่าเป็นพืชล้มลุก

ลำต้นเป็นก้านกลมแข็ง มีเหง้าอยู่ใต้ดิน มีข้อและปล้องเห็นได้ชัดเจน เนื้อในสีเหลือง ใบสีเขียวแข็ง หนา มีดอกจากกอขึ้นไปเป็นช่อใหญ่สีขาวประสีม่วงแดง มีผลเปลือกแข็ง รูปร่างกลมรี

องค์ประกอบทางเคมี

เหง้าประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย ประมาณร้อยละ 0.04 ในน้ำมัน ประกอบด้วย เมทิลซินนาเมต ร้อยละ 48 ซินีออล ร้อยละ 20-30 ยูจีนอล แคมเฟอร์ ไพนิน โพรอัลลิลฟีนิลอะซิเตต (4-Allylphenyl acetate) โพรอัลลิลฟีนอล (4-Allylphenol) เป็นต้น (Zaeoung *et al.*, 2005) มีการศึกษาพบว่าสารคลอโรฟอร์มิก (Chloroformic) ที่สกัดได้จากเหง้า สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค ในอาหารได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* และ methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) (Voravuthikunchai *et al.*, 2005) มีรายงานว่าสารสกัดเหง้าที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมี สารอะซิโทกซิชาวิกอลอะซิเตต (D, L-1'-acetoxychavicol acetate) เป็นองค์ประกอบหลักที่สามารถยับยั้งจำพวกยีสต์และแบคทีเรียแกรมบวกโดยเฉพาะ *S. aureus* (Onmetta-aree *et al.*, 2006)

ขมิ้น (Turmeric)

ข้อมูลพื้นฐาน

ขมิ้นมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma longa* Linn. อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปเอเชีย อินเดีย จีน อินโดนีเซีย และไทย ขมิ้นชันเป็นพืชปลูกง่ายสามารถปลูกขึ้นได้ทุกภาคของประเทศไทย ลักษณะทั่วไปมีลำต้นอยู่ใต้ดินเช่นเดียวกับขิง เรียกส่วนที่เป็นลำต้นนี้ว่าเหง้า เนื้อในของเหง้าสีเหลืองเข้มจนถึงสีแสดจัด มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ใบรูปรียาว ปลายแหลม คล้ายใบพุทธรักษา ดอกออกเป็นช่อ มีก้านช่อแทงจากเหง้าโดยตรง ออกตรงกลาง ระหว่างใบคู่ในสุด ดอกสีขาว มีแถบสีเหลืองคาด มีกลีบประดับสีขาวหรือเขียว

องค์ประกอบทางเคมี

ขมิ้นชันประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยประมาณร้อยละ 3-4 มีกลิ่นเฉพาะตัว สีเหลืองปนส้ม ซึ่งเป็นสารจำพวกไดเฟอรูลอยล์เมทาเน (Diferuloyl methane) มีชื่อว่าเคอร์คูมิน (Curcumin)

โมนโนเดสเมทอกซีเคอร์คูมิน (Monodesmethoxy curcumin) และไดเคสเมทอกซีเคอร์คูมิน (Didesmethoxy curcumin) ทั้งยังมีเซสควิเทอร์พีน กิโดน (Sesquiterpene ketone) โดยส่วนใหญ่เป็นเทอร์เมอโรน (Turmerone) ร้อยละ 60 นอกจากนี้มีเออาร์เทอร์มิโรน (ar-Turmerone) แอทเลนโทน (Atlantone) และซิงจิเบอริน อยู่รวมกันร้อยละ 25 และยังประกอบด้วยพาราโพลิมิทิลคาร์บินอล (*p*-Polymethyl carbinol) ซึ่งมีฤทธิ์ขับน้ำดี ทำให้เกิดการบีบตัวของถุงน้ำดี สำหรับการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ พบว่ามีฤทธิ์น้อยมาก โดยพบว่าสารเคอร์คูมินที่สกัดได้จากขมิ้นสามารถฆ่าเชื้อได้ ส่วนสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยนั้นเพียงหยุดการเจริญของแบคทีเรียเท่านั้น (Voravuthikunchai *et al.*, 2004; Thongson *et al.*, 2005)

ตะไคร้ (Lemon grass)

ข้อมูลพื้นฐาน

ตะไคร้มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cymbopogon citratus* Stapf เป็นพืชล้มลุกจำพวกหญ้าขึ้นอยู่รวมเป็นกอ อายุหลายปี สูง 1 เมตร ลำต้นตั้งตรงมีข้อและปล้องสั้นค่อนข้างแข็ง ลำต้นส่วนที่อ่อนมีใบเรียงซ้อนสลับกันแน่นมาก กาบใบเป็นแผ่นยาวโอบซ้อนกันจนดูแข็ง ใบเป็นใบเดี่ยวรูปรียาววาวปลายใบเรียวแหลม ผิวใบสากมือทั้งสองด้าน ขอบใบมีขนขึ้นอยู่เล็กน้อย ก้านใบสีขาวนวลหรือม่วงอ่อน แผ่นเป็นกาบ และเมื่อขยี้ดมจะมีกลิ่นหอม ดอกออกเป็นช่อกระจาย ช่อดอกย่อยมีก้านออกเป็นคู่ๆ ในแต่ละคู่จะมีใบประดับรองรับ

องค์ประกอบทางเคมี

น้ำมันตะไคร้ได้จากการนำใบและเหง้าสดมากลั่นด้วยไอน้ำ ตะไคร้มีน้ำมันหอมระเหยอยู่ร้อยละ 0.2-0.4 โดยมีซิทรอลเป็นสารหลักอยู่ร้อยละ 80 สารอื่น ๆ ที่พบในน้ำมันตะไคร้ ได้แก่ ไมร์ซีน ร้อยละ 12-20 ไดเพนเทนเมทิลเฮปตาโนน (Dipentene methylheptenone) ไดไฮโดรซูโดไอโอโนน (Dihydropseudoionone) และแอลกอฮอล์หลายชนิด เช่น ลินาลูล เมทิลเฮปตานอล (Methylheptanol) เทอร์ไพโนล เจอรานิอล นิรอล ฟาร์นิซอล (Farnesol) ซิโตรเนลลอล (Citronellol) นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารประเภทอัลดีไฮด์หลายชนิด เช่น ซิโตรเนลลัล ฟาร์นิซัล (Farnesal) และเดคานัล (Decanal) เป็นต้น (นิจศิริ, 2534) ในน้ำมันหอมระเหยตะไคร้มีซิทรอลซึ่งพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวกได้ดี โดยมีรายงานว่าซิทรอลความเข้มข้นร้อยละ

0.05 สามารถยับยั้ง *L. monocytogenes* Scott A ได้ (Delaquis *et al.*, 2002) นอกจากนี้การศึกษาของ Oussalah *et al.* (2007) พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *L. monocytogenes* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* O157:H7 และ *S. Typhi* นอกจากนี้มีรายงานว่าในน้ำมันหอมระเหยที่มีลินาลูลเป็นองค์ประกอบ มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวก (Delaquis *et al.*, 2002)

ตะไคร้หอม (Citronella)

ข้อมูลพื้นฐาน

ตะไคร้หอมมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cymbopogon nardus* Rendle. เป็นพืชล้มลุกจำพวกหญ้า อายุหลายปี เกิดจากหัวหรือเหง้าที่อยู่ใต้ดิน ลำต้นตั้งตรง แดงออกเป็นกอ ใบเดี่ยว รูปรียาว ขอบใบเรียบคม มีลักษณะคล้ายกับตะไคร้ ต่างกันตรงที่ตะไคร้หอมจะมีใบที่กว้าง ยาว และบางกว่าใบตะไคร้ ลำต้นมักมีขนาดใหญ่กว่าตะไคร้ ตะไคร้หอมบางพันธุ์มีลำต้นและใบออกสีแดง ต้นและใบตะไคร้หอมมีกลิ่นเฉพาะตัวที่แตกต่างจากกลิ่นของตะไคร้ ดอกเป็นช่อยาวใหญ่โน้มเอียงลง มักออกดอกในหน้าหนาว สีของช่อดอกเป็นสีน้ำตาลแดงคล้ำ ผลเป็นผลชนิดแห้งไม่แตก สามารถขยายพันธุ์ด้วยการแยกหน่อ หรือใช้เหง้าปลูกก็ได้ ซึ่งมีอยู่ 2 พันธุ์ คือ ตะไคร้หอมพันธุ์ขาว (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) และตะไคร้หอมพันธุ์ศรีลังกา (*Cymbopogon nardus* Rendle)

องค์ประกอบทางเคมี

เมื่อนำใบและลำต้นสดมากลั่นด้วยไอน้ำ จะได้น้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอม (Citronella oil) ประกอบด้วยเจอรานีออล ร้อยละ 55-92 สารอื่นๆ ที่พบได้แก่ ซิโตรเนลลัล บอร์นีออล คูมาริน (Coumarin) ซิทรอล ไซนีน แคมเฟอร์ ยูจีนอล และเมนทอล เป็นต้น (นิจศิริ, 2534) มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอม สามารถยับยั้ง *P. acnes* โดยมีค่า MIC และ MBC 0.005–0.3 และ 0.6–1.2 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Lertsatitthanakorn *et al.*, 2006) นอกจากนี้ Nakahara *et al.* (2003) รายงานว่า น้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอมที่ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus*, *Penicillium* และ *Eurotium* ได้ ส่วนเมื่อใช้พฤษเคมีที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอม พบว่าซิโตรเนลลัลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ดี โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) อยู่ในช่วง 14-56 มิลลิกรัมต่อลิตร

มะกรูด (Kaffir lime)

ข้อมูลพื้นฐาน

มะกรูดมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus hystrix* DC. เป็นพรรณไม้ยืนต้น ขนาดเล็ก ลำต้นเป็นไม้เนื้อแข็ง ผิวเปลือกต้นเรียบ ลำต้นและกิ่งก้านมีหนามแหลม ใบมีลักษณะคล้ายกับใบไม้ 2 ใบ ต่อกัน อยู่ มีสีเขียวแก่ พื้นผิวใบเรียบเกลี้ยง เป็นมัน ไม่มีกลิ่นหอม ดอกมีสีขาว คล้ายดอกมะนาว มีกลิ่นหอม ผลมีขนาดเท่ากับผลมะนาว ผิวเปลือกนอกขรุขระ ขั้วหัวท้ายของผลเป็นจุก ผลอ่อนมีเป็นสีเขียวแก่ เมื่อผลสุกก็จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองสด

องค์ประกอบทางเคมี

เมื่อนำผิวมะกรูดและใบมะกรูด มากลั่นด้วยไอน้ำจะให้น้ำมันหอมระเหยในปริมาณร้อยละ 4 และ 0.08 ตามลำดับ สารอื่นๆ ที่พบมีอัลคาลอยด์ (Alkaloid) และซาโปนิน (Saponin) น้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดประกอบด้วยเบต้าไพนิน (β -Pinene) ร้อยละ 30 ลิโมนีน ร้อยละ 29 และ ซาบินีน ร้อยละ 22 ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด ประกอบด้วยซิโตรเนลลัล ร้อยละ 65.4 เจอรานิล อะซีเตต ร้อยละ 6.4 ซิโตรเนลลีน อะซีเตต ร้อยละ 5.4 และไอโซพูลกอล (Isopulegol) ร้อยละ 4.9 (นิจสิริ, 2534) และยังมีองค์ประกอบย่อย เช่น เทอร์พินิน โพรออล (Terpinen-4-ol) เป็นต้น Doman and Deans (2000) รายงานว่าลิโมนีนสามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* แต่ไม่มีผลต่อการเจริญของ *S. aureus* ส่วนเบต้าไพนินและเทอร์พินิน โพรออล สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งสองชนิด ส่วนใหญ่น้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด จะพบซิโตรเนลลัลเป็นองค์ประกอบซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้ และมีเพียงไอโซพูลกอลและลinalool เท่านั้นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์

พริกไทยดำ (Black pepper)

ข้อมูลพื้นฐาน

พริกไทยดำมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Piper nigrum* Linn. เป็นพรรณไม้เถาเลื้อย เป็นสีเขียวตลอดปี ลำต้นมีความสูงประมาณ 5 เมตร จะเกาะพันกับไม้ค้ำ หรือพืชชนิดอื่นๆ ลักษณะของเถา

จะมีข้อพองเห็นได้ชัด ต้นตัวผู้และต้นตัวเมียจะอยู่ต่างต้นกัน ใบออกสลับกัน ใบทรงรีขนาดใหญ่มีความยาวประมาณ 8-16 เซนติเมตร และกว้างประมาณ 4-7 เซนติเมตร ตรงปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ ท้องใบเป็นสีเขียวออกเทา และมีเส้นใบนูน ส่วนหลังใบเป็นสีเขียวเข้ม ดอกออกเป็นช่อจากข้อ ช่อดอกเป็นสีขาวมีความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร ส่วนก้านดอกมีความยาวพอ ๆ กับก้านใบ เมล็ด (ผล) มีลักษณะกลม จะออกเป็นพวง เป็นช่อทรงกระบอกกลมยาว ช่อผลอ่อนมีสีเขียว เมื่อผลแก่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองและสีแดง ภายในมีเมล็ดกลมสีขาวนวล

องค์ประกอบทางเคมี

เมื่อนำพริกไทยดำมากลั่นด้วยไอน้ำ จะให้น้ำมันหอมระเหยร้อยละ 2-4 มีส่วนประกอบของโมโนเทอร์พีน ร้อยละ 70-80 เซสควิเทอร์พีน ร้อยละ 20-30 และสารประกอบที่มีออกซิเจน (Oxygenated Compounds) ในปริมาณที่น้อยมาก สารประกอบโมโนเทอร์พีนที่พบได้แก่ ฐูโจน (thujone) ไพเนน แคมฟีน ซาบีนิน ไมร์ซีน ลิโมนีน และฟิแลนเดริน (Phellandrene) นอกจากนี้ยังมีสารอัลคาลอยด์เป็นสารสำคัญ คือ ไพเพอร์รีน (Piperine) ร้อยละ 5-9 อัลคาลอยด์ชนิดอื่น ๆ ที่พบมี ไพเพอร์ลิดีน (Piperidine) และอัลคาลอยด์ที่พบในปริมาณน้อยอีกร้อยละ 3-4 ชนิด คือ ไพเพอร์รีลีน (Piperyline) ไพเพอร์โรเลน เอ (Piperolein A) ไพเพอร์โรเลน บี (Piperolein B) และ ไพเพอร์รานีน (Piperanine) ซึ่งไพเพอร์รีน และไพเพอร์รานีน เป็นอัลคาลอยด์ที่ทำให้เกิดกลิ่นฉุนและมีรสเผ็ด สารโมโนเทอร์พีนและเซสควิเทอร์พีนที่มีออกซิเจนอยู่ด้วย คือ ลินาลูล ไมริสดีซิน (Myristicin) เนโรลิดอล (Nerolidol) ซาโฟรล์ (Safrole) ไพโนน (Pinone) และฟอร์มิลไพเพอร์รีดีน (Formylpiperidine) ส่วนซาวิซิน (Chavicine) เป็นส่วนผสมของไพเพอร์รีนกับอัลคาลอยด์ชนิดอื่นที่พบเป็นส่วนน้อยในพริกไทย (นิจศิริ, 2534) Dorman and Deans (2000) รายงานว่า น้ำมันหอมระเหยจากพริกไทยดำ สามารถยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* ได้ดี

โหระพา (Sweet basil)

ข้อมูลพื้นฐาน

โหระพามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ocimum basilicum* Linn. เป็นพรรณไม้ล้มลุก ลำต้นตั้งตรงมีความสูง 8-28 นิ้ว ลักษณะของลำต้นและกิ่งก้านเป็นเหลี่ยม ผิวเปลือกลำต้นมีสีเขียวอมม่วง มีขนปกคลุมทั้งลำต้น มีกลิ่นหอม ใบเป็นใบเดี่ยว รูปรียาว ปลายและโคนใบเรียวแหลม ริมขอบใบเรียบ

หรือมีหยักเล็กน้อย ใบมีขนาดกว้างประมาณ 1-3.5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 2-6 เซนติเมตร ใบมีสีเขียวเข้ม ดอกออกเป็นช่อ เรียงเป็นชั้นๆ คล้ายฉัตร ออกอยู่ตามบริเวณปลายยอด ลักษณะของดอกย่อยมีกลีบเลี้ยง เชื่อมติดกันเป็นหลอด ส่วนปลายแยกเป็น 5 กลีบ มีสีขาวหรือสีแสดเรื่อ พอดอกกว้างโรยก็จะติดผลเป็นสีน้ำตาล ลักษณะของเมล็ดเป็นรูปกลมรี มีขนาดยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร

องค์ประกอบทางเคมี

เมื่อนำใบโหระพามากลั่นด้วยไอน้ำ สารสำคัญที่พบ คือ เมทิลซาวิคอล ซิทรอล ลินาลูล เมทิลซินนามेट แคมเฟอร์ แคมฟิน ออกซิมีน ยูจีนอล ยูคาลิปตอล และไพเนน (สุพจน์, 2543) มีรายงานว่าในน้ำมันหอมระเหยที่มีลินาลูลเป็นองค์ประกอบ จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวก (Delaquis *et al.*, 2002) เช่น *Vibrio parahaemolyticus* (Yano *et al.*, 2006) นอกจากนี้ Lertsatitthanakorn *et al.* (2006) รายงานว่า น้ำมันหอมระเหยจากโหระพา สามารถยับยั้ง *P. acnes* โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 5 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร

ตัวอย่างงานวิจัยการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของเครื่องเทศและน้ำมันหอมระเหย

Shelef *et al.* (1984) ศึกษาประสิทธิภาพของเสจ (Sage) ความเข้มข้นร้อยละ 4-6 ต่อการยับยั้ง *S. aureus*, *B. cereus*, *Pseudomonas* sp. และ *S. Typhimurium* ในอาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารชนิดต่างๆ เช่น ข้าวสุก กว๊ายเตี่ยวไก่ พบว่าปริมาณต่ำสุดของเสจที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อ คือ ร้อยละ 0.1-1.0 ในอาหารเลี้ยงเชื้อและร้อยละ 0.4-2.5 หรือมากกว่าในข้าวสุก และร้อยละ 1.0-2.5 หรือมากกว่าในกว๊ายเตี่ยวไก่ และพบว่าการใช้เกลือ (NaCl) ร่วมด้วยจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในเสจเพิ่มมากขึ้น จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเสจต่อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารที่มีองค์ประกอบต่างกัน พบว่าเชื้อแบคทีเรียจะถูกทำลายในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดีกว่าในอาหาร และเมื่อปริมาณน้ำในอาหารลดลง ปริมาณโปรตีนและไขมันเพิ่มขึ้นจะทำให้ประสิทธิภาพของเสจลดลง ต่อมาในปี 1992 Aureli *et al.* ได้ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันไธม์ (Thyme oil) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ปริมาณ 7 log CFU ต่อกรัมในเนื้อหมูบด ที่บ่มอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าที่เวลา 196 ชั่วโมง ปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ลดลงเหลือ 5 log CFU ต่อกรัม ขณะที่เนื้อหมูบดที่ไม่ใส่น้ำมันไธม์ปริมาณเชื้อยังคงอยู่ที่ระดับ 7 log CFU ต่อกรัม ส่วนที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณเชื้อในเนื้อหมูบดที่ใส่น้ำมันไธม์ลดลงเหลือ 6 log CFU ต่อกรัม ขณะที่เนื้อหมูบดที่ไม่ใส่น้ำมันดังกล่าวมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 8 log CFU ต่อ

กรัม และรายงานว่าสารไทมอล (Thymol) ที่มีในน้ำมันไทม์เป็นตัวการในการยับยั้งการเจริญของ จุลินทรีย์ดังกล่าว ในปี 2003 Singh *et al.* ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้ง *L. monocytogenes* ของ น้ำมันหอมระเหยเครื่องเทศหลายชนิดในห้องปฏิบัติการ คือ ไทม์ (Thyme) กานพลู (Clove) พิเม้นโต (Pimento) โรสแมรี่ (Rosemary) และเสจ โดยใช้วิธี Disk diffusion พบว่า ไทม์ กานพลู และพิเม้นโต มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* ได้ดี เมื่อทำการทดสอบในน้ำเปปโตน โดย MIC ของไทม์และกานพลูที่สามารถยับยั้ง *L. monocytogenes* คือที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงนำไทม์และกานพลูมาทดสอบในระบบอาหารโดยใช้สอทอดที่มีปริมาณของ ไขมันที่แตกต่างกัน ซึ่งกานพลูจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* ในสอทอดได้ดีกว่าไทม์ และพบว่าในสอทอดที่มีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น ทำให้ไทม์และกานพลูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียลดลง เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่เกิดอันตรกิริยา (Interaction) กับ ไขมันในอาหาร จึงทำปฏิกิริยากับแบคทีเรียได้ลดลง

ในปีถัดมา Lin *et al.* (2004) ศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* ใน เนื้อสัตว์พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งดี คือน้ำมันยูจีนอล (Eugenol oil) น้ำมันกานพลู (Clove oil) น้ำมันออริกาโน (Oregano oil) และน้ำมันไทม์ (Thyme oil) ที่ระดับความเข้มข้น 5-10 ไมโครลิตรต่อกรัม โดยน้ำมันหอมระเหยจะทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์เกิดรู จึงเกิดการสูญเสียสารอาหาร และเอนไซม์ที่สำคัญ ทำให้เซลล์ตาย และพบว่าในเนื้อสัตว์มีไขมันเป็นส่วนประกอบ ทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยลดลง เนื่องจากสารออกฤทธิ์ในน้ำมันหอมระเหยจะมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบ สารดังกล่าวมีสมบัติไม่ชอบน้ำหรือไฮโดรโฟบิก จึงจับกับไขมันที่อยู่ในเนื้อสัตว์ ทำให้น้ำมันหอมระเหยทำปฏิกิริยากับ จุลินทรีย์ได้ลดลง เป็นผลให้ความไวในการถูกยับยั้งด้วยน้ำมันหอมระเหยของ *L. monocytogenes* ลดลงเมื่อใช้ในเนื้อสัตว์หรืออาหารที่มีองค์ประกอบของไขมัน ในปี 2006 Yano *et al.* ได้ศึกษา ประสิทธิภาพสารสกัดจากเครื่องเทศและสมุนไพร 18 ชนิดที่ปลูกในประเทศญี่ปุ่นพบว่า โหระพา กานพลู กระเทียม มะรุม สารระแห่น ออริกาโน โรสแมรี่ และไทม์สามารถยับยั้ง *Vibrio parahaemolyticus* โดยกานพลูและสารระแห่นสามารถยับยั้งเชื้อชนิดนี้ได้ดีสุด มีค่า MIC เท่ากับร้อยละ 0.125

บัญญัติ (2518) ศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องเทศบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของ จุลินทรีย์พบว่าน้ำมันหอมระเหยในเครื่องเทศสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีกว่า เครื่องเทศที่ไม่สกัดน้ำมันและน้ำของเครื่องเทศที่เหลือจากการสกัดน้ำมัน โดยน้ำมันหอมระเหย

ไขมันเหลืองจะยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่าแบคทีเรียและยีสต์ น้ำมันหอมระเหยขิงแก่และขิงอ่อนจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดเดียวกัน แต่ความเข้มข้นที่ใช้แตกต่างกัน ส่วนน้ำมันหอมระเหยกระชายจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่าเชื้อราและยีสต์ ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งนั้นจะมีมากในส่วนของน้ำที่เหลือจากการสกัดน้ำมันและไม่ถูกทำลายด้วยความร้อน และน้ำมันหอมระเหยขานันสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่าแบคทีเรียและยีสต์ โดยสารที่เป็นส่วนสำคัญในการยับยั้งการเจริญจะอยู่ในส่วนของน้ำมันหอมระเหย ซึ่งถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อนเป็นเหตุให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ลดลง ต่อมาในปี 2005 Thongson *et al.* ศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยของเครื่องเทศไทยจำนวน 3 ชนิดได้แก่ ขิง กระชาย และขมิ้นชัน เพื่อยับยั้ง *L. monocytogenes* จำนวน 5 สายพันธุ์ และ *S. Typhimurium* DT104 จำนวน 4 สายพันธุ์พบว่า สารสกัดจากเครื่องเทศทั้ง 3 ชนิดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง *L. monocytogenes* ซึ่งให้ผลการทดลองเหมือนกับสารสกัดขิงและขมิ้นชันที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย แต่สารสกัดกระชายที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ความเข้มข้นร้อยละ 5-10 สามารถยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ภายใน 24 ชั่วโมง ขณะที่น้ำมันหอมระเหยกระชาย ขิง และขมิ้นชันที่ผลิตในทางการค้ายับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ที่ความเข้มข้นร้อยละ $\leq 0.4 \leq 0.6$ และ ≤ 10 ตามลำดับ ในกรณีของ *Salmonella* spp. พบว่าสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยขิงและขมิ้นชันมีผลเล็กน้อยต่อการเจริญของ *Salmonella* spp. ยกเว้นน้ำมันหอมระเหยกระชายความเข้มข้นร้อยละ ≤ 0.7 สามารถยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* spp. ทั้ง 5 สายพันธุ์ เมื่อเติมน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ในน้ำแอปเปิ้ล สามารถลดจำนวนเชื้อเริ่มต้นประมาณ 4 log CFU ต่อมิลลิลิตร ของ *L. monocytogenes* Scott A และ *S. Typhimurium* DT104 โดยตรวจไม่พบภายใน 1-2 วัน ในปีถัดมา Oonmetta-aree *et al.* (2006) ได้ศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดจากข่า ขิง ขมิ้นชันและกระชาย ต่อการยับยั้ง *S. aureus* 209P และ *E. coli* NIHJ JC-2 พบว่า สารสกัดข่ามีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่สุด มีค่า MIC เท่ากับ 0.325 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC เท่ากับ 1.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และจากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) พบว่าสารสกัดข่าจะเข้าไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นในและเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของเซลล์ทำให้เกิดความเสียหายแก่ไซโทพลาสซึมทำให้แตกตะกอน นอกจากนี้ยังทำลายเยื่อหุ้มไซโทพลาสซึม ทำให้สารต่างๆ ที่อยู่ภายในเซลล์ไหลออกมานอกเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่าสารอะซีทอกซีทอโควาลอะซีเตด เป็นสารมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบหลักของสารสกัดข่า ในปี 2550 เอกรินทร์ ศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดเครื่องเทศได้แก่ กระชาย ขิง ข่า และขมิ้นชัน ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 (v/v) ร่วมกับวิธีเขย่าเปรียบเทียบกับวิธีใช้คลื่นเสียงความถี่สูงเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหารโดยทดสอบด้วยวิธี Agar

dilution พบว่า สารสกัดกระชายสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้แก่ *B. cereus* 1 สายพันธุ์ *S. aureus* 1 สายพันธุ์และ *L. monocytogenes* 5 สายพันธุ์ ให้ค่า MIC ร้อยละ 0.3-0.5 (v/v) และยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้แก่ *E. coli* O157:H7 1 สายพันธุ์และ *S. Typhimurium* 5 สายพันธุ์ให้ค่า MIC ร้อยละ 9-10 (v/v) ขณะที่สารสกัดกระชายและจึงสามารถยับยั้งแบคทีเรียกรดแลคติก *L. plantarum* 2 สายพันธุ์ และ *L. cellobiosus* 4 สายพันธุ์ ให้ค่า MIC ร้อยละ ≥ 10 (v/v) และยับยั้งรา *A. flavus*, *A. niger*, *A. parasiticus* และ *F. oxysporum* ให้ค่า MIC ร้อยละ ≥ 10 (v/v) สำหรับสารสกัดข่าและขมิ้นชันให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทดสอบต่ำ นอกจากนี้ยังศึกษาในอาหารโดยใช้ซูปปักเป็นตัวแทนอาหาร สร้างการปนเปื้อน *L. monocytogenes* สายพันธุ์ผสม เก็บรักษาที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดกระชายความเข้มข้นร้อยละ 5 (v/v) ทำลาย *L. monocytogenes* ใน 24 ชั่วโมง

Rasooli *et al.* (2006) ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหย ไธม์ 2 ชนิด คือ *Thymus eriocalyx* และ *Thymus x-porlock* พบว่าสามารถทำลายเชื้อรา *Aspergillus niger* ได้เป็นอย่างดี และสามารถยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินจากเชื้อราดังกล่าวได้ และสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคคือ *L. monocytogenes* ได้อีกด้วย โดยเฉพาะ *T. x-porlock* สามารถยับยั้ง *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุดมีค่า MIC เท่ากับ 125 พีพีเอ็ม คาดว่าน้ำมันหอมระเหยไธม์ทั้ง 2 ชนิด มีกลไกทำลายผนังเซลล์และทำให้สารต่างๆในไซโทพลาสซึมผ่านออกนอกเซลล์ นอกจากนี้ยังได้รายงานว่ สารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหย *T. eriocalyx* และ *T. x-porlock* คือ ไธมอล เบต้าฟิแลนเดริน (β -Phellandrene) และซิสซาบิโนไฮดรอกไซด์ (*cis* – Sabinene hydroxide)

Raybaudi-massilia *et al.* (2006) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย 6 ชนิด คือ ตะไคร้ อบเชย เจอรานีโอล ปาล์มมาโรซา (Palmarosa) กานพลู และเบนซัลดีไฮด์ (Benzaldehyde) ในการยับยั้ง *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *L. innocua* ในน้ำผลไม้ ด้วยวิธี MIC และ MBC พบว่า น้ำมันหอมระเหยทั้ง 6 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวโดยมีค่า MIC เท่ากับ 1 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเลือกน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด คือ ตะไคร้ อบเชย และเจอรานีโอล ซึ่งมีประสิทธิภาพดีที่สุด มาวิเคราะห์ด้วยวิธี MBC ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy broth (TSB) และในน้ำผลไม้ (น้ำแอปเปิ้ล น้ำลูกแพร์ และน้ำมะนาว) พบว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ น้ำมันหอมระเหยอบเชย และน้ำมันหอมระเหยเจอรานีโอล ความเข้มข้น 2 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวในน้ำแอปเปิ้ลและน้ำลูกแพร์ ส่วนใน TSB และน้ำ

มะนาวใช้น้ำมันหอมระเหยอบเชย ความเข้มข้น 10 และ 8 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร น้ำมันหอมระเหยเจอรานีโอล ความเข้มข้น 6 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร และน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ ความเข้มข้น 5 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร

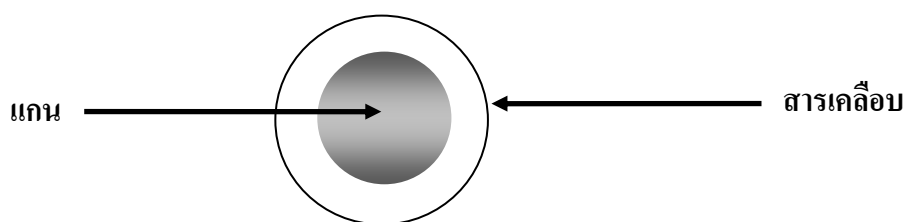
Akin-Osanaiye *et al.* (2007) ได้ทดสอบประสิทธิภาพการต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ (*Cymbopogon citratus*), ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus citriodora* และ *Eucalyptus camadulensis*) ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *Salmonella* Typhimurium และ *E. coli* พบว่า น้ำมันหอมระเหยตะไคร้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทั้งสามชนิดได้ดีที่สุด ส่วนน้ำมันหอมระเหย ยูคาลิปตัสมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Salmonella* Typhimurium และ *S. aureus* ได้ดี ตามลำดับ การใช้ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดโดยการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dried) พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ลดลง ส่วนการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย พบว่าไม่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้

Oussalah *et al.* (2007) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยพืชสมุนไพร 28 ชนิด ในการยับยั้ง *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* 2812 1/2a, *Salmonella* Typhimurium SL 1344 และ *Staphylococcus aureus* พบว่า น้ำมันหอมระเหยโรสแมรี่จากสเปน (*Corydorthymus capitatus*) อบเชย (*Cinnamomum cassia*) ออริกาโน (*Origanum heracleoticum*) วินเทอร์ ซาโวรี (*Satureja montana*) และส่วนเปลือกของอบเชย (*Cinnamomum verum*) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์เหล่านี้ได้ดี โดยมีค่า MIC น้อยกว่าร้อยละ 0.05 น้ำมันหอมระเหยซาโวรี (*Satureja hortensis*) โรสแมรี่ (*Thymus vulgaris*) และออริกาโน (*Origanum compactum*) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์เหล่านี้ โดยมีค่า MIC น้อยกว่าร้อยละ 0.1 ส่วนน้ำมันหอมระเหยโรสแมรี่ (*Thymus vulgaris*, *Thymus serpyllum* และ *Thymus satureioides*) ปาล์มมาโรชา (*Cymbopogon martini*) พิเม็นโต (*Pimenta dioica*) อบเชย (ส่วนใบ) (*Cinnamomum verum*) และกานพลู (*Eugenia caryophyllus*) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์เหล่านี้ โดยมีค่า MIC น้อยกว่าร้อยละ 0.4 ส่วนน้ำมันหอมระเหยอีก 13 ชนิด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์เหล่านี้ต่ำ โดยมีค่า MIC มากกว่าร้อยละ 0.8

การกักเก็บ (Encapsulation)

การกักเก็บ คือ การบรรจุสารที่อาจเป็นของแข็ง ของเหลว หรือก๊าซ ในรูปแคปซูลที่ปิดสนิทและสามารถปลดปล่อยสารที่บรรจุอยู่ภายในโครงสร้างออกมาได้เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่กำหนด (Risch and Reineccius, 1995)

“ไมโครแคปซูล” (Microcapsule) ประกอบด้วย สารที่ทำหน้าที่คล้ายบรรจุภัณฑ์หรือสารที่ใช้ห่อหุ้ม เรียกว่าสารเคลือบ (Coating, Wall หรือ Shell) และสารที่ถูกกักเก็บไว้ภายใน เรียกว่าแกน (Core) ดังภาพที่ 11 มีขนาดตั้งแต่ 0.2-5000 ไมครอน ส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นทรงกลม โดยมีช่วงของความหนาและจำนวนชั้นของไมโครแคปซูลแตกต่างกันไป



ภาพที่ 11 โครงสร้างของไมโครแคปซูล

สารเคลือบจะช่วยป้องกันสารที่ถูกกักเก็บ เช่น วิตามิน, สารให้กลิ่นรส และ น้ำมันหอมระเหย จากสภาวะแวดล้อมภายนอกและควบคุมการปลดปล่อยสารที่ถูกกักเก็บออกมาจากภายใน ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารเคลือบ สารที่นิยมนำมาใช้เป็นสารเคลือบ แสดงในตารางที่ 4 ยกตัวอย่างเช่น มอลโตเดกซ์ทริน (Maltodextrin) แป้งข้าวโพด (Corn syrup solids) สตาร์ช (Starch) และอนุพันธ์ของสตาร์ช ไซโคลเดกซ์ทริน (Cyclodextrin) ซูโครส (Sucrose) เจลาติน (Gelatin) แวกซ์ (Wax) ไขมัน (Lipid) และโปรตีน (Protein) เป็นต้น

ตารางที่ 4 ชนิดของสารเคลือบที่ใช้ในการกักเก็บ

ประเภทของสารเคลือบ	ตัวอย่างสารเคลือบ
กัม	กัมอะราบิก อะการ์ โซเดียมแอลจีเนต คาราจีแนน
คาร์โบไฮเดรต	สตาร์ช เดกซ์แทรน ซูโครส แบะแซ ไฮโดรลิกซ์ทริน
เซลลูโลส	คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส เมทิลเซลลูโลส เอทิลเซลลูโลส ไนโตรเซลลูโลส อะซีทิลเซลลูโลส
ลิกนิน	แวกซ์ พาราฟิน ไตรสเตียรีน กรดสเตียริก โมโนกลีเซอไรด์ ขี้ผึ้ง น้ำมัน ไขมัน
สารประกอบอนินทรีย์	แคลเซียมซัลเฟต ซิลิกา ดิน
โปรตีน	กลูเตน เคซีน เจลาติน อัลบูมิน

ที่มา: ดัดแปลงจาก Jackson and Lee (1991)

ประโยชน์ของการใช้ไมโครแคปซูล

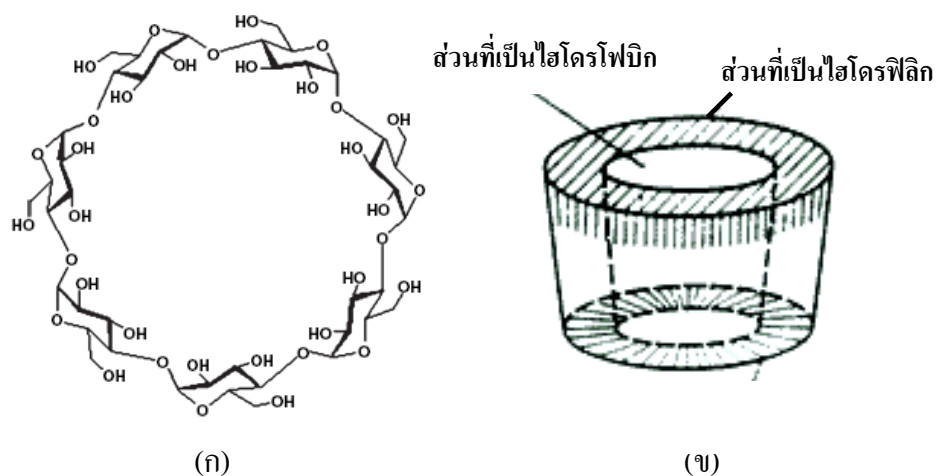
การทำไมโครแคปซูลเริ่มขึ้นครั้งแรกในปี 1930 และมีการนำไปใช้ทั้งในด้านเกษตรกรรม และอุตสาหกรรมอย่างแพร่หลาย ซึ่งข้อดีของการใช้ไมโครแคปซูลมีดังนี้ (Jackson and Lee, 1991)

1. ช่วยให้องค์ประกอบของสารที่ถูกกักเก็บคงอยู่ในช่วงของการผลิตและการเก็บรักษา
2. ลดหรือป้องกันการเปลี่ยนแปลงของสารที่ถูกกักเก็บจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น ออกซิเจน แสง ความร้อน และน้ำ เป็นต้น
3. ลดการระเหยหรืออัตราการถ่ายเทของสารที่ถูกกักเก็บออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก

4. ช่วยลดหรือป้องกันการเกิดอันตรกิริยาระหว่างสารที่ถูกกักเก็บด้วยตัวเอง หรือกับสารประกอบชนิดอื่น
5. เปลี่ยนแปลงสถานะของสารที่ถูกกักเก็บจากของเหลวเป็นของแข็ง ทำให้ง่ายและสะดวกต่อการนำไปใช้งาน
6. สามารถควบคุมกลิ่นรสของสารที่ถูกกักเก็บ
7. สามารถควบคุมการปลดปล่อยสารที่ถูกกักเก็บให้ออกมาในปริมาณและเวลาที่เหมาะสม

ไซโคลเดกซ์ทริน (Cyclodextrins; CD)

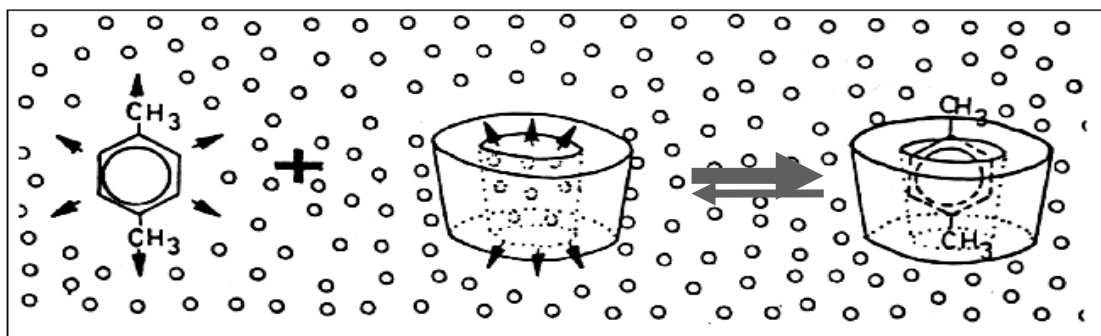
ไซโคลเดกซ์ทรินเป็นวงโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Cyclic oligosaccharides) ประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคไพราโนส (D-(+)-glucopyranose) ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา-1,4 ลิงค์เกจ (α -1, 4-linkage) (ภาพที่ 12ก) เตรียมได้จากการนำสตาร์ชมาทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ ไซโคลเดกซ์ทริน กลูโคซิลทรานส์เฟอเรส (Cyclodextrin glucosyltransferase, CGTase) ไซโคลเดกซ์ทรินที่พบในธรรมชาติ ประกอบด้วยหน่วยของกลูโคไพราโนส 6, 7 หรือ 8 หน่วย ซึ่งเรียกว่า แอลฟาไซโคลเดกซ์ทริน (α -cyclodextrin, α -CD) เบต้าไซโคลเดกซ์ทริน (β -cyclodextrin, β -CD) หรือ แกมมาไซโคลเดกซ์ทริน (γ -cyclodextrin, γ -CD) ตามลำดับ จากภาพโครงสร้างสามมิติ พบว่าโครงสร้างของไซโคลเดกซ์ทรินมีรูปร่างเป็นกรวยแหวน (Truncated cone) เนื่องมาจากการจัดเรียงตัวของน้ำตาลกลูโคส (Glucose unit) (ภาพที่ 2ข) ซึ่งมีส่วนที่เป็นไฮโดรฟิลิก (Hydrophilic) อยู่ด้านนอก และส่วนที่เป็นไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic) อยู่ภายใน ทำให้สามารถกักเก็บโมเลกุลของสารให้กลิ่นรสบางส่วนหรือทั้งหมดไว้ในช่องว่างของโครงสร้างได้ (Fromming and Szejtli, 1994)



ภาพที่ 12 โครงสร้างของเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินที่มีการจัดเรียงตัวของน้ำตาลกลูโคส (ก) และมีรูปร่างเป็นกรวยแห้ว (Truncated cone) (ข)

ที่มา: ดัดแปลงจาก Madene *et al.* (2006)

ไซโคลเดกซ์ทรินจะเกิดอินคลูชันคอมเพล็กซ์แบบอินคลูชันโมเลกุลเดี่ยว (Monomolecular inclusion complexes) (ภาพที่ 13) โดยเกิดจากการรวมโมเลกุลที่ไม่มีขั้ว หรือส่วนที่ไม่มีขั้วของโมเลกุลหนึ่ง ซึ่งเรียกว่า เกสต์ (Guest) เข้าไปในช่องว่างที่ไม่มีขั้วของอีกโมเลกุลหรือกลุ่มโมเลกุลซึ่งเรียกว่าโฮสต์ (Host) เมื่อโมเลกุลเกสต์เข้าไปในโมเลกุลโฮสต์ การสัมผัสระหว่างน้ำและส่วนที่ไม่มีขั้วของทั้งเกสต์และโฮสต์ลดลง ดังนั้นปรากฏการณ์อินคลูชัน (Inclusion) นี้เป็นผลมาจากแรงผลักเดียวกันกับที่ทำให้เกิดไมเซลล์ (Micellization) การยึดเกาะกันเอง (Self-association) และการซ้อนทับ (Stacking) นั่นคือ การบีบไล่ส่วนที่ไม่มีขั้วออกจากน้ำ



ภาพที่ 13 การเกิดอินคลูชันคอมเพล็กซ์

ที่มา: Fromming and Szejtli (1994)

ลักษณะโครงสร้างที่สำคัญที่ทำให้เกิดอินคลูชันคอมเพล็กซ์ ได้แก่ ความพอดีของเกสต์ที่เข้าไปในช่องว่างของโฮสต์ โดยทั่วไปไซโคลเดกซ์ทรินจะละลายน้ำได้ค่อนข้างดีและมีช่องว่างขนาดใหญ่เพียงพอสำหรับส่วนที่ไม่มีขั้วของโมเลกุลของเกสต์ ไซโคลเดกซ์ทรินอาจถูกดัดแปลงโดยการเติมหมู่แอลคิล (Alkyl) หรือ ไฮดรอกซีแอลคิล (Hydroxyalkyl) หรือหมู่ที่มีประจุบวกหรือประจุลบ ซึ่งไซโคลเดกซ์ทรินที่มีการดัดแปลงสูตรโครงสร้างเหล่านี้ส่วนใหญ่สามารถละลายน้ำได้ดีกว่าโมเลกุลดั้งเดิม

โดยทั่วไปพบว่าในสารละลายเข้มข้นและอุณหภูมิต่ำ ไซโคลเดกซ์ทรินมีแนวโน้มที่จะเกิดเป็นอินคลูชันคอมเพล็กซ์กับสารที่กักเก็บ แต่เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นและสารละลายถูกทำให้เจือจางลง เช่น ในน้ำลาย (Risch *et al.*, 1995) ไซโคลเดกซ์ทรินมีแนวโน้มที่จะปลดปล่อยสารที่กักเก็บหรือเกสต์ออกมาจากช่องว่างในโครงสร้างของโมเลกุล โดยที่ขนาดของช่องว่างในโมเลกุลของแอลฟา ไซโคลเดกซ์ทริน เบต้า ไซโคลเดกซ์ทริน และแกมมา ไซโคลเดกซ์ทริน เป็นปัจจัยหลักในการกำหนดว่าตัวถูกละลายซึ่งเป็นเกสต์ตัวใดที่จะเกิดอินคลูชันคอมเพล็กซ์ได้

โดยทั่วไปหมู่แอลคิลมีความพอดีกับช่องว่างในโมเลกุลของแอลฟา ไซโคลเดกซ์ทริน และเบต้า ไซโคลเดกซ์ทริน เหมาะที่สุดสำหรับจับวงแหวนอะโรมาติกวงเดียว ส่วนแกมมา ไซโคลเดกซ์ทริน มีช่องว่างในโมเลกุลใหญ่พอสำหรับไฮโดรคาร์บอนขนาดใหญ่ขึ้น เช่น ไพรีน (Pyrene) เป็นต้น นอกจากนี้เป็นไปได้ที่ส่วนของโมเลกุลมากกว่าหนึ่งส่วนเกิดเป็นอินคลูชันคอมเพล็กซ์กับไซโคลเดกซ์ทริน และสามารถใส่ไซโคลเดกซ์ทรินหลายแบบผสมกันเพื่อจับกับหมู่ฟังก์ชัน (Functional group) ที่แตกต่างกันในสารละลายชนิดหนึ่งโดยที่ตัวถูกละลายจะสามารถละลายได้

มากขึ้นด้วย ซึ่งการเกิดอินคลูชันคอมเพล็กซ์กับโมเลกุลของไซโคลเดกซ์ทรินขึ้นกับคุณสมบัติหลายประการ ได้แก่ โมเลกุลของตัวถูกละลายต้องมีส่วนที่ไม่มีขั้วที่จะถูกบีบไล่น้ำให้เข้าไปอยู่ในช่องว่างของโมเลกุลไซโคลเดกซ์ทรินและเนื่องจากรูปทรงภายในของไซโคลเดกซ์ทรินคงที่ ส่วนของโมเลกุลหรือทั้งโมเลกุลนี้จะต้องพอดีกับภายในโมเลกุลของไซโคลเดกซ์ทริน ทั้งนี้เมื่อเกสต์เข้าไปอยู่ในช่องว่างภายในโมเลกุลแล้ว แรงยึดระหว่างโมเลกุลทั้งสองจะเป็นตัวกำหนดความแข็งแรงของอินคลูชันคอมเพล็กซ์ (Szejtli, 1982) การเกิดอินคลูชันคอมเพล็กซ์จึงสามารถลดการสูญเสียของสารที่ต้องการจากการระเหย และการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนหรือแสงได้ (Pagington, 1986; Yoshii *et al.*, 1992; Bhandari *et al.*, 1999) เนื่องจากอินคลูชันคอมเพล็กซ์ที่เกิดขึ้นค่อนข้างมีความคงตัว ซึ่งเมื่อมีการตรวจสอบปริมาณสารที่ระเหยได้ภายในอินคลูชันคอมเพล็กซ์หลังจากมีการให้ความร้อน จะพบว่าปริมาณสารไม่มีการเปลี่ยนแปลงจากเดิม (Padukka *et al.*, 2000)

เบต้าไซโคลเดกซ์ทรินเป็นผลึกสีขาวมีความชื้นประมาณร้อยละ 10-14 แต่ผงยังมีคุณสมบัติการไหล (Free flowing) มีน้ำหนักโมเลกุล 1,135 ดาลตัน เมื่อเตรียมในรูปของสารละลาย จะละลายได้ 1.85 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และค่าดังกล่าวจะเพิ่มอย่างรวดเร็วเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น (Challa *et al.*, 2005) ในโครงสร้างไม่มีส่วนของกลุ่มรีดิวซ์ซึ่ง (Reducing end group) ดังนั้นจึงทนต่อการสลายตัวด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) และเบต้าอะไมเลส (β -amylase) และมีความคงทนต่อสภาวะที่เป็นด่างได้เหมือนกับเซลลูโลส และทนต่อสภาวะความเป็นกรดสูง โดยพบว่าในสารละลายกรดอินทรีย์ เช่น ซัลฟูริกและไฮโดรคลอริก สามารถไฮโดรไลซ์เบต้าไซโคลเดกซ์ทรินได้เพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับสตาร์ช ส่วนในสารละลายกรดเจือจางโดยเฉพาะกลุ่มกรดอินทรีย์ พบการไฮโดรไลซ์น้อยมากจนถึงไม่สามารถไฮโดรไลซ์ได้นอกจากนี้ยังพบว่าเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินมีความคงทนต่ออุณหภูมิสูงได้ดีกว่าสตาร์ชปกติมาก จากข้อมูลการวิเคราะห์ด้วย Differential scanning calorimetry (DSC) แสดงให้เห็นว่า เบต้าไซโคลเดกซ์ทรินสามารถทนอุณหภูมิสูงถึง 300 องศาเซลเซียส (Risch and Reineccius, 1995)

เบต้าไซโคลเดกซ์ทรินจัดเป็นสารหอมหุ้มที่นิยมนำมาใช้ในการเก็บรักษากลิ่นรสมากที่สุด มีการนำเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินไปใช้ในการกักเก็บสารให้กลิ่นรสและพาวิตามินในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากลักษณะที่เป็นเอกลักษณ์ของโครงสร้างร่วมกับความสามารถของช่องว่างในโมเลกุล ทำให้มีศักยภาพในการนำไปใช้เพื่อการกักเก็บโมเลกุลของสารที่ต้องการ เช่น มีการนำไซโคลเดกซ์ทรินมาศึกษาการกักเก็บเมนทอล (l-Menthol) ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นรส พบว่าเบต้าไซ-

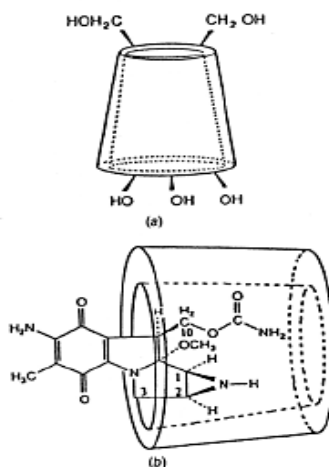
โคลเดกซ์ทรินสามารถกักเก็บเมนธอลได้ดีกว่าแอลฟาไฮโคลเดกซ์ทรินและแกมมาไฮโคลเดกซ์ทริน (Liu *et al.*, 2000) อีกทั้งเบต้าไฮโคลเดกซ์ทรินเป็นสารเพียงชนิดเดียวที่สหรัฐอเมริกาให้การรับรองว่ามีความปลอดภัย (GRAS) ในการนำไปใช้เป็นตัวพา (Carrier) สารให้กลิ่นรส (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ข้อกำหนดการใช้ไฮโคลเดกซ์ทรินในอุตสาหกรรม

ชนิด	อาหาร			เวชกรรม		
	สหรัฐอเมริกา	ยุโรป	ญี่ปุ่น	สหรัฐอเมริกา	ยุโรป	ญี่ปุ่น
α -CD	กำลังเตรียมการ	ขึ้นวางแผน	ยอมรับ	ไม่ยอมรับ	ยอมรับ	ยอมรับ
β -CD	GRAS	สารเจือปนอาหาร	ยอมรับ	ยอมรับ	ยอมรับ	ยอมรับ
γ -CD	GRAS	ชะลอไว้ก่อน	ยอมรับ	ไม่ยอมรับ	ยอมรับ	ไม่ยอมรับ

ที่มา: ดัดแปลงจาก Challa *et al.* (2005)

ตัวอย่างการใช้เบต้าไฮโคลเดกซ์ทรินเป็นสารไมโครแคปซูลในวงการเวชกรรม เช่น การใช้เบต้าไฮโคลเดกซ์ทรินเพื่อเพิ่มความคงตัวและการละลายของยาหลายชนิด อาทิ เตตราไซคลิน (Tetracycline) แอสไพริน (Aspirin) มอร์ฟีน (Morphines) เบนโซคลีน (Benzocaine) อีฟีดรีน (Ephedrine) ซัลโฟนาไมด์ (Sulfonamide) เทสโทสเตอโรน (Testosterone) และมิโตไมซิน ซี (Mitomycin C) (Martin *et al.*, 1993) ด้วยไฮโคลเดกซ์ทริน แสดงการแทรกตัวของยามิโตไมซิน ในเบต้าไฮโคลเดกซ์ทริน (ภาพที่ 14) จะเห็นได้ว่าช่องว่างภายในไฮโคลเดกซ์ทรินจะบรรจุส่วนที่ไม่ชอบน้ำของยามิโตไมซินในขณะที่ด้านนอกของไฮโคลเดกซ์ทรินค่อนข้างชอบน้ำเนื่องจากมีหมู่คาร์บอนิล (Carbonyl)



ภาพที่ 14 สูตรโครงสร้างของไฮโดลเดกซ์ทรินในรูปของกรวยแห้ว และการแทรกตัวภายในไฮโดลเดกซ์ทรินของยามิโดไมซิน

ที่มา: Martin *et al.* (1993)

การใช้เบต้าไฮโดลเดกซ์ทรินในการกักเก็บน้ำมันสกัดจากกระเทียม สามารถเพิ่มอายุการเก็บรักษาน้ำมันสกัดจากกระเทียมให้นานขึ้นได้ (Song *et al.*, 1993) อีกทั้งยังเพิ่มอายุการเก็บรักษาน้ำมันสกัดจากผิวส้มที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ได้นาน 562 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้กัมอะราบิกเป็นตัวกักเก็บด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying) และเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส น้ำมันสกัดจากผิวส้มที่มีเบต้าไฮโดลเดกซ์ทริน เป็นสารเคลือบจะมีอายุการเก็บรักษาได้นาน 180 วัน ส่วนน้ำมันสกัดจากผิวส้มที่มีกัมอะราบิกเป็นสารเคลือบจะมีอายุการเก็บรักษา 12 วัน (Risch and Reineccius, 1988) รวมทั้งมีรายงานการใช้เบต้าไฮโดลเดกซ์ทรินในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม เพื่อลดปัญหาการตกตะกอนและรักษากลิ่นรสของสารละลายสกัดจากใบชา (Risch and Reineccius, 1995) ในผลิตภัณฑ์ประเภทหมากฝรั่ง (Chewing gum) พบว่าอินคลูชันคอมเพล็กซ์ของเบต้าไฮโดลเดกซ์ทรินและสารให้ความเย็น (Cooling agent) จะทำให้การปลดปล่อยสารให้ความเย็นและสารให้กลิ่นรสเป็นไปอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนี้เบต้าไฮโดลเดกซ์ทรินยังมีบทบาทสำคัญในการควบคุมและกักเก็บสารที่มีกลิ่นและกลิ่นรสไม่พึงปรารถนา เช่น กลิ่นเห็ด ซึ่งมีกลิ่นแรงและมีรสขม รวมทั้งผลิตภัณฑ์บำรุงเลือดที่มีส่วนผสมของธาตุเหล็ก ทำให้ปราศจากกลิ่นเหล็กที่รุนแรง (Dziezak, 1988)

Bhandari *et al.* (1998) ได้ทดลองนำเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ไปใช้กักเก็บน้ำมันมะนาวแล้วตรวจสอบสารประกอบที่ระเหยได้ในน้ำมันมะนาว พบว่าน้ำมันมะนาวที่ถูกกักเก็บด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินยังมีสารประกอบที่ระเหยได้เหลืออยู่ปริมาณมากเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันมะนาวที่ไม่ถูกกักเก็บหลังจากนำไปทำให้เป็นผง และมีปริมาณใกล้เคียงกับสารประกอบที่ระเหยได้ที่อยู่ในน้ำมันมะนาวดั้งเดิม

Hadaruga *et al.* (2007) ศึกษาสมบัติของน้ำมันหอมระเหยเสกที่ถูกกักเก็บด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรี (GC/MS) พบว่า น้ำมันหอมระเหยเสกบริสุทธิ์มีสารที่เป็นองค์ประกอบอยู่ 147 ชนิด โดยมีสารประกอบ 37 ชนิดที่มีปริมาณมากกว่าร้อยละ 0.03 ซึ่งสารประกอบส่วนใหญ่จัดเป็นพวกโมโนเทอร์พีนิกแอลกอฮอล์ (Monoterpenic alcohols) และเซสควิเทอร์พีนส์ เช่น ลินาลิลอะซีเตต ร้อยละ 46.4 และลินาลูล ร้อยละ 16.5 ส่วนน้ำมันหอมระเหยเสกที่ถูกกักเก็บด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน พบว่ามีปริมาณ ลินาลิล อะซีเตต ใกล้เคียงกับน้ำมันหอมระเหยเสกบริสุทธิ์ แต่ลินาลูลมีปริมาณน้อยกว่าในน้ำมันหอมระเหยเสกบริสุทธิ์ เนื่องจากลินาลิลอะซีเตตมีสมบัติไม่ชอบน้ำสูงกว่าลินาลูล โดยลินาลูลจะมีหมู่ไฮดรอกซิลที่สามารถจับกับสารอื่น เช่น น้ำ นอกเหนือโครงสร้างของเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ทำให้ปริมาณลินาลูลที่วิเคราะห์ได้ลดลง

การยับยั้งจุลินทรีย์ของเครื่องเทศและน้ำมันหอมระเหยที่มีการกักเก็บ

Gill *et al.* (2002) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยผักชี (Cilantro oil) ที่สกัดจาก *Coriandrum sativum* ในการยับยั้ง *L. monocytogenes* 5 สายพันธุ์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยผักชีความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 0.5 และ 6 มีค่า MIC อยู่ระหว่างร้อยละ 0.074-0.18 จากนั้นได้นำน้ำมันหอมระเหยผักชีมาทำการทดสอบในแฮมบรรจุสุญญากาศ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยใช้ น้ำมันหอมระเหยผักชีความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 0.5 และ 6 น้ำมันหอมระเหยผักชีความเข้มข้นร้อยละ 6 กักเก็บด้วยเจลเจลาติน (Gelatin gel) โมโนเลอลินกลีเซอรอล (Monolaurin glycerol) ร้อยละ 1.4 และ เจลเจลาตินและโมโนเลอลินกลีเซอรอลร้อยละ 1.4 พบว่า น้ำมันหอมระเหยผักชีร้อยละ 6 และที่ถูกกักเก็บด้วยเจลเจลาตินร่วมกับโมโนเลอลินกลีเซอรอล ร้อยละ 1.4 สามารถลดจำนวน *L. monocytogenes* ลงได้ประมาณ 1.3 log CFU ต่อมิลลิลิตรใน 1 สัปดาห์ในแฮมบรรจุสุญญากาศ และผลการยับยั้งไม่แตกต่างกันในระหว่าง 2 สัปดาห์

Gaysinsky *et al.* (2005a) ศึกษาความคงตัวและประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะของยูจีนอลที่ถูกกักเก็บในไมเซลล์ (Micelles) ร่วมกับการควบคุมด้วยอนุภาคน้ำตาลและความเป็นกรด-ด่าง พบว่ายูจีนอลที่ถูกกักเก็บในไมเซลล์สามารถยับยั้ง *L. monocytogenes* และ *E. coli* O157:H7 ได้ทั้งที่ pH 5, 6 และ 7 โดยที่ pH 5 จะมีประสิทธิภาพดีที่สุด ส่วนอนุภาคน้ำตาลสูงและต่ำไม่มีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ และการเพิ่มความเข้มข้นของยูจีนอลมากกว่าร้อยละ 0.2 สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้หมด นอกจากนี้ยังศึกษาการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* และ *E. coli* O157:H7 โดยการใช้น้ำมันคาาครอล และน้ำมันยูจีนอลที่ถูกกักเก็บในไมเซลล์ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของน้ำมันทั้งสองชนิดที่ถูกกักเก็บจะขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว (Surfactant) ซึ่งการใช้น้ำมันคาาครอล และน้ำมันยูจีนอลร่วมกับเซอร์โฟโนล (Surfynol) จะเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้มากกว่าการใช้น้ำมันคาาครอลร่วมกับน้ำมันยูจีนอลเพียงอย่างเดียว และการกักเก็บด้วยเซอร์โฟโนล 485 จะต้องใช้ความเข้มข้นของน้ำมันทั้งสองชนิดในการยับยั้งจุลินทรีย์สูงกว่าการใช้เซอร์โฟโนล 456 และน้ำมันยูจีนอลที่ถูกกักเก็บในเซอร์โฟโนล 456 จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการใช้น้ำมันคาาครอล ที่ถูกกักเก็บในเซอร์โฟโนล 456 ต่อมาในปี 2007 Gaysinsky *et al.* ได้ศึกษาประสิทธิภาพของไมโครอิมัลชัน (Microemulsion) ของยูจีนอลในการยับยั้ง *L. monocytogenes* และ *E. coli* O157:H7 ในนมพาสเจอร์ไรซ์ที่มีปริมาณไขมันร้อยละ 0, 2 และ 4 ตามลำดับ พบว่า ไมโครอิมัลชันของยูจีนอลสามารถป้องกันการเจริญของ *L. monocytogenes* ให้อยู่ในระดับที่ตรวจไม่พบหรือประมาณ $4 \log \text{CFU}$ ต่อมิลลิลิตรในนมไร้ไขมัน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง อีกทั้งยังสามารถลดจำนวนของเชื้อ *E. coli* O157:H7 ให้อยู่ในระดับที่ตรวจไม่พบ ภายในเวลา 1 ชั่วโมง โดยให้ผลในการลดจำนวนของเชื้อ *E. coli* O157:H7 เช่นเดียวกันกับในนมที่มีไขมันร้อยละ 2 แต่สำหรับ *L. monocytogenes* นั้นเพียงแค่ลดการเพิ่มจำนวน ให้อยู่ในระดับคงที่ ส่วนในนมพาสเจอร์ไรซ์ที่มีไขมันร้อยละ 4 พบว่าไมโครอิมัลชันของยูจีนอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิด แต่ไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อให้หมดไปได้ เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีเติมยูจีนอลลงในนมพาสเจอร์ไรซ์โดยตรงนั้น พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ดีกว่าไมโครอิมัลชันของยูจีนอล

Chacon *et al.* (2006) ศึกษาประสิทธิภาพของอัลลิลไอโซไธโอไซยาเนต (Allyl isothiocyanate, AIT) ที่ถูกกักเก็บเพื่อยับยั้ง *E. coli* O157:H7 ในเนื้อวัวสับที่เก็บรักษาในอุณหภูมิต่ำและสถานะที่มีก๊าซไนโตรเจน โดย AIT ที่ถูกกักเก็บด้วยกัมอะคาเซีย (Gum acacia) จะมีกลิ่นออกมาปริมาณน้อยกว่า AIT ที่ไม่ถูกกักเก็บ และเมื่อเติมลงในเนื้อวัวสับ พบว่าสามารถลดจำนวนของ *E. coli* O157:H7 ทั้งที่มีการปนเปื้อนในระดับสูง (8 log CFU ต่อกรัม) และระดับต่ำ (4 log CFU ต่อกรัม) ทั้งในสถานการณ์เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำและสถานะที่มีก๊าซไนโตรเจนได้

รายงานล่าสุด Tatsuoka *et al.* (2008) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยที่ถูกกักเก็บด้วยไซโคลเดกซ์ทรินในการยับยั้งโปรโตซัวที่สร้างก๊าซมีเทน พบว่า การใช้น้ำมันยูคาลิปตัส (Eucalyptus) ที่ถูกกักเก็บด้วยแกมมาไซโคลเดกซ์ทริน 10 มิลลิกรัม สามารถลดการเกิดก๊าซมีเทนได้ร้อยละ 40 ส่วนน้ำมันวาซาบิ (Wasabi) ที่ถูกกักเก็บด้วยแกมมาและเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน สามารถลดการเกิดก๊าซมีเทนได้ร้อยละ 85 และ 97 ตามลำดับ โดยใช้ในปริมาณเท่ากัน ส่วนน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น ได้แก่ น้ำมันซินีอออล น้ำมันเมนธอล น้ำมันเปปเปอร์มิน (Peppermint) และน้ำมันโรสไม่ลดการเกิดก๊าซมีเทน สำหรับการยับยั้งการเจริญของโปรโตซัว พบว่าน้ำมันวาซาบิที่ถูกกักเก็บด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินไม่สามารถลดจำนวนโปรโตซัวลงได้ แต่น้ำมันวาซาบิที่ถูกกักเก็บด้วยแกมมาไซโคลเดกซ์ทรินสามารถลดจำนวนโปรโตซัวลงได้ร้อยละ 50

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุดิบและสารเคมี

- 1.1 เบต้าไซโคลเดกซ์ทริน (β -cyclodextrin, Fluga, Switzerland)
- 1.2 เอทานอล (Ethanol ร้อยละ 95, Merck, Germany)
- 1.3 เฮกเซน (Hexane, Merck, Germany)
- 1.4 กระดาษกรองเบอร์ 4 (Filter papers, Whatman, England)

2. น้ำมันหอมระเหย

- 2.1 กะเพรา (Holy basil, *Ocimum sanctum* Linn.)
- 2.2 กระจับปี่ (Fingerroot, *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr.)
- 2.3 ขิง (Ginger, *Zingiber officinale* Rosc.)
- 2.4 ข่า (Galanga, *Alpinia galanga* SW.)
- 2.5 ขมิ้น (Turmeric, *Curcuma longa* Linn.)
- 2.6 ตะไคร้ (Lemon grass, *Cymbopogon citratus* Stapf.)
- 2.7 ตะไคร้หอม (Citronella, *Cymbopogon nardus* Rendle.)
- 2.8 ผลมะกรูด (Kaffir lime, *Citrus hystrix* DC.)
- 2.9 ใบมะกรูด (Kaffir lime leaf, *Citrus hystrix* DC.)
- 2.10 พริกไทยดำ (Black pepper, *Piper nigrum* Linn.)
- 2.11 โหระพา (Sweet basil, *Ocimum basilicum* Linn.)

น้ำมันหอมระเหยทั้ง 11 ชนิด ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทอุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย จีน จำกัด จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

3. จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

3.1 *Listeria monocytogenes* จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ 101, 108, 310, Scott A และ V7 ได้รับความอนุเคราะห์จากหน่วยเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเทนเนสซี ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.2 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ซึ่งจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

3.3 *Escherichia coli* ATCC 25922 ซึ่งจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

3.4 *Salmonella enterica* serotype Typhimurium definitive phage type DT104 สายพันธุ์ 2380, 2576, 2486 และ 2582 ได้รับความอนุเคราะห์จากหน่วยเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเทนเนสซี ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.5 *Salmonella* Typhimurium ชนิด wild type สายพันธุ์ 13311 ซึ่งจากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมข้อมูลจุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.6 *Salmonella enterica* serotype Weltevreden ซึ่งจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ

4.1 Tryptic soy agar (TSA, Merck, Germany)

4.2 Tryptic soy broth (TSB, Merck, Germany)

4.3 Yeast extract (YE, Merck, Germany)

4.4 De man, Rogosa and Sharpe agar (MRS agar; Merck, Germany)

4.5 Buffered *Listeria* enrichment broth base (BLEB, Oxoid, England)

4.6 Modified *Listeria* selective agar base and supplement (MOX, Oxoid, England)

4.7 Buffered *Listeria* enrichment broth base (BLEB, Oxoid, England)

4.8 สารละลายเปปโตนอนร่อยละ 0.1 (Peptone, Merck, Germany)

5. อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 5.1 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator, Memmert model BE600, Germany)
- 5.2 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave, Tomy model ES-315, Japan)
- 5.3 เครื่องชั่งชนิดหยาบ (Balance, Ohaus model GT 4100, USA)
- 5.4 เครื่องผสมสาร (Vortex mixer, Vortex genie-2 model G-560E, USA)
- 5.5 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert model SLM600, Germany)
- 5.6 ไมโครปิเปตขนาด 1-10 ไมโครลิตร (P10), ขนาด 20-100 ไมโครลิตร (P100) และขนาด 200-1000 ไมโครลิตร (P1000) (Micropipette, Gilson, USA)
- 5.7 นาฬิกาจับเวลา (Timer, Heatthrow Sciences, USA)
- 5.8 เทอร์โมมิเตอร์แบบแท่ง (Mini-thermometer, Testo, USA)
- 5.9 เตาไฟฟ้าและเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (Hot plate and magnetic stirrer, Jenway Ltd., UK.)
- 5.10 เครื่องวัดสี (Chroma meter, Konica minolta sensing model CR-310, Japan)
- 5.11 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscopy, Hitachi model TM-1000 & SwiftED TM, COAX Ltd., Thailand)
- 5.12 เครื่องวัดการดูดกลืนแสงช่วงยูวีวิสิเบิล (UV-vis Spectrophotometer, Spectronic genesys model 10 UV scanning, LABMED, Inc., USA)
- 5.13 ถุงพลาสติกชนิดฉีกทำจากวัสดุโพลีเอทิลีน (Polyethylene, PE) ขนาด 8x12 นิ้ว
- 5.14 เครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์ที่จำเป็น

วิธีการ

1. การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะ

1.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

แบคทีเรียก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะที่นำมาทดสอบประกอบด้วยแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ ATCC 25923 *Listeria monocytogenes* จำนวน 5 สายพันธุ์ ดังนี้ 101, 108, 310, Scott A และ V7 และแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* สายพันธุ์ ATCC 25922, *Salmonella* Weltevreden, *Salmonella* Typhimurium DT104 จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 2380, 2576, 2486 และ 2582 และ *Salmonella* Typhimurium ชนิด wild type ATCC 13311 รวมทั้งสิ้น 13 สายพันธุ์ โดยแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบเตรียมจากเชื้อบริสุทธิ์ที่เก็บรักษานบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA slant ยกเว้น *Listeria monocytogenes* ที่เก็บรักษานบน Tryptic soy agar ที่เติม 0.6% yeast extract (TSAYE) slant ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเตรียมเชื้อบริสุทธิ์ทำได้โดยการถ่ายเชื้อ *L. monocytogenes* 1 หลอด ลงใน Tryptic soy broth ที่เติม 0.6% yeast extract (TSBYE) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อด้วยวิธีเดียวกันอีกสองครั้ง แต่ครั้งสุดท้ายเพาะเชื้อเป็นเวลา 18 ชั่วโมง ตรวจนับปริมาณเซลล์ด้วยวิธีในข้อ 1.2 จะได้ปริมาณเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น 9 log CFU ต่อ มิลลิลิตร ส่วนเชื้อ *S. aureus*, *E. coli* และ *Salmonella* spp. ทำการเตรียมเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธีเดียวกัน แต่ใช้อาหาร Tryptic soy broth (TSB) จากนั้นนำสารละลายเซลล์แบคทีเรีย (Cell suspension) ที่มีอายุ 18 ชั่วโมงมาเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม เพื่อใช้เป็นเชื้อตั้งต้นในการหาค่า MIC และจำลองการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ต่อไป

1.2 การวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรีย

ตรวจนับปริมาณเซลล์เริ่มต้นของ *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* และ *Salmonella* spp. ด้วยวิธีเกลี่ยเชื้อ (Spread plate) โดยการจุดเชื้อเริ่มต้น 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอด

ทดลองที่มีสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการ จากนั้นเปิดสารละลายเชื้อ 0.1 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ TSAYE สำหรับวิเคราะห์ *L. monocytogenes* และ TSA สำหรับวิเคราะห์ *S. aureus*, *E. coli* และ *Salmonella* spp. ใช้แท่งแก้วปลอดเชื้อเกลี่ยเชื้อให้ทั่วผิวน้ำอาหาร นำไปเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจนับโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 25-250 โคโลนี ที่ปรากฏบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการทดลอง 2 ซ้ำต่อหนึ่งระดับความเจือจาง

1.3 การหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimum inhibitory concentration; MIC) ของน้ำมันหอมระเหยสมุนไพร ด้วยวิธี Agar dilution

น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ กระเพรา กระชาย จิง ข่า ขมิ้น ตะไคร้ ตะไคร้หอม มะกรูด ใบมะกรูด พริกไทยดำ และ โหระพา นำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์โดยหาความเข้มข้นต่ำสุดของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar dilution ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ NCCLS (2002) ดังนี้ เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่หลอมเหลวและปรับอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส ปริมาตร 13 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำมันหอมระเหยปริมาตร 2 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ทดสอบอยู่ในช่วงร้อยละ 0.1-10 ผสมให้เข้ากันแล้วเทลงจานเพาะเชื้อ ร่อนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว หลังจากนั้นเจือจางสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ที่เตรียมจากข้อ 1.1 ด้วยสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ให้ได้ความเข้มข้นเซลล์ประมาณ $7 \log \text{CFU}$ ต่อ มิลลิลิตร แล้วหยดเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ด้วยไมโครปิเปต 5 ตำแหน่งๆ ละเชื้อ (Spot inoculation) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง โดยให้จุดที่หยดเชื้ออยู่ในระยะห่างเท่ากัน จะได้ความเข้มข้นเซลล์ประมาณ $4 \log \text{CFU}$ ต่อ มิลลิลิตร ในการทดสอบนี้ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ผสมกับน้ำมันหอมระเหยเพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli*, *S. aureus*, *S. Weltevreden* และ *S. Typhimurium* ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSAYE ผสมกับน้ำมันหอมระเหยใช้ทดสอบการยับยั้งแบคทีเรีย *L. monocytogenes*

หลังจากหยดเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว ร่อนสารละลายเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง จึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตรวจการเจริญของแบคทีเรียที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง บันทึกการเจริญของแบคทีเรียจากความหนาแน่นของโคโลนี เทียบกับตัวอย่างควบคุม คือ เชื้อทดสอบชนิดเดียวกันเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่ไม่เติมน้ำมันหอมระเหยในสถานะเดียวกัน (Thongson *et al.*, 2004; 2005) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ในที่นี้ค่า MIC คือค่าความเข้มข้นต่ำสุด

ของน้ำมันหอมระเหยที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ และสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียใน 48 ชั่วโมง (Canillac and Mourey, 2001; Branen and Davidson, 2004)

2. การศึกษาการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินและตรวจสอบสมบัติทางกายภาพ และเคมีของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย

2.1 การกักเก็บน้ำมันหอมระเหยด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน

วิธีการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน โดยใช้วิธีตกตะกอน (Precipitation method) ดัดแปลงจากวิธีการของ Bhandari *et al.* (1998) โดยมีวิธีการดังนี้ นำเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ปริมาณ 4.5 กรัม ละลายในเอทานอลที่มีน้ำ อัตราส่วน 1:2 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วยเอทานอล ปริมาตร 16.7 มิลลิลิตรและน้ำกลั่น ปริมาตร 33.3 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันบนเตาไฟฟ้า โดยให้สารละลายมีอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นำน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ดีที่สุดจากข้อ 1.3 ปริมาณ 4.5 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล จนมีปริมาตร 10 มิลลิลิตร เทลงในสารละลายไซโคลเดกซ์ทริน จากนั้นหยุดให้ความร้อน ทำการคนเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 นำส่วนที่กรองได้ไปทำให้แห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้อินคลูชันคอมเพล็กซ์ของน้ำมันหอมระเหย (Essential oil complex, EOC) หรือไมโครแคปซูล (Microcapsule) ของน้ำมันหอมระเหย อัตราส่วน 50:50 แล้วนำไปเก็บไว้ในโถดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเก็บรักษาไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

สำหรับตัวอย่างไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย อัตราส่วน 25:75, 30:70 และ 40:60 เตรียมได้โดยวิธีเดียวกันแต่ใช้ปริมาณน้ำมันหอมระเหย ปริมาณ 1.5, 2 และ 3 กรัม ต่อเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ปริมาณ 4.5 กรัม ตามลำดับ

2.2 การหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยทั้งหมด (Total oil extraction)

การหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยทั้งหมด ดัดแปลงจากวิธีของ Bhandari *et al.* (1998) นำไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย ปริมาณ 0.5 กรัม เติมน้ำกลั่น 8 มิลลิลิตรและตัวทำละลาย

เฮกเซน 8 มิลลิลิตร ทำการกวนบนเตาไฟฟ้าและเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 70 ± 2 องศาเซลเซียส จากนั้นกรองแยกส่วนที่เป็นเบต้าไซโคเดคซทรินออก ทำการล้างด้วยตัวทำละลายเฮกเซน 2 มิลลิลิตร 3 ครั้ง จากนั้นนำส่วนที่เป็นของเหลวไประเหยตัวทำละลายด้วยวิธีไล่ด้วยก๊าซไนโตรเจน (Nitrogen flush) จนกระทั่งตัวทำละลายระเหยหมด แล้วหาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้โดยนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

2.3 การหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ผิวไมโครแคปซูล (Surface oil extraction)

การหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ผิวไมโครแคปซูล โดยใช้วิธีการล้าง (Washing method) ด้วยเฮกเซน แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ตามวิธีของ Bhandari *et al.* (1998) นำไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย ปริมาณ 0.5 กรัม มาเติมตัวทำละลายเฮกเซน 20 มิลลิลิตร ทำการกวนบนเตาไฟฟ้าและเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า เป็นเวลา 20 นาที แล้วกรองออก ทำการล้างส่วนที่ยังหลงเหลืออยู่ด้วยเฮกเซน ปริมาตร 2 มิลลิลิตร 3 ครั้ง แล้วนำส่วนที่เป็นของเหลวไประเหยตัวทำละลายด้วยวิธีไล่ด้วยแก๊สไนโตรเจน จนกระทั่งตัวทำละลายระเหยหมดแล้วหาปริมาณน้ำมันที่สกัดได้โดยนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

2.4 การคำนวณหาประสิทธิภาพการกักเก็บ (Encapsulation efficiency, EE) น้ำมันหอมระเหย

ประสิทธิภาพการกักเก็บ (Encapsulation efficiency, EE) คือ ร้อยละของน้ำมันหอมระเหยที่ถูกกักเก็บไว้ในไมโครแคปซูล โดยการนำปริมาณน้ำมันหอมระเหยทั้งหมดและปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ผิวไมโครแคปซูลที่สกัดได้จากข้อ 2.2 และ 2.3 มาชั่งน้ำหนัก ผลต่างของน้ำหนักคือปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ถูกกักเก็บ คำนวณได้ดังนี้ (Klinkesorn *et al.*, 2006)

$$EE \text{ (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาณน้ำมันหอมระเหยทั้งหมด} - \text{ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ผิวไมโครแคปซูล}}{\text{ปริมาณน้ำมันหอมระเหยทั้งหมด}} \times 100$$

2.5 การคำนวณหาความสามารถในการกักเก็บ (Encapsulation capacity, EC) น้ำมันหอมระเหย

ความสามารถในการกักเก็บน้ำมันหอมระเหย (Encapsulation capacity, EC) คือ ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุดที่เบต้าไซโคลเดกซ์ทรินกักเก็บไว้ได้ คำนวณได้ดังนี้ (Padukka *et al.*, 2000)

$$EC \text{ (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาณน้ำมันหอมระเหยทั้งหมด} - \text{ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ผิวไมโครแคปซูล} \times 100}{\text{ปริมาณตัวอย่างที่ใช้เริ่มต้น} - \text{ปริมาณน้ำมันหอมระเหยทั้งหมด}}$$

2.6 การวัดสีของไมโครแคปซูล

นำไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย มาวัดสีด้วยเครื่อง Chroma meter ใช้ต้นกำเนิดแสง Day light รายงานค่าในระบบ CIE L* a* b* โดยค่า L* คือค่าความสว่าง, a* คือ ค่าในช่วงสีเขียว-แดง โดยค่าติดลบ ให้ค่าสีเขียว ค่าเป็นบวก ให้ค่าสีแดง และ b* คือ ค่าในช่วงสีฟ้า-เหลือง โดยค่าติดลบ ให้ค่าสีฟ้า ค่าเป็นบวก ให้ค่าสีเหลืองและนำมาคำนวณหาค่าความขาว (whiteness) ตามสมการต่อไปนี้ (Riebroy *et al.*, 2005)

$$\text{ค่าความขาว} = 100 - [(100 - L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$$

2.7 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging capacity assay)

ทำการวิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Singh *et al.* (2002) โดยปีปเตสารละลายที่สกัดจากไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย ที่ได้จากข้อ 2.2 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงช่วงยูวีวิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร วัดสมบัตการต้านออกซิเดชันโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานความเข้มข้นของกรดแอสคอบิก ดังแสดงในภาคผนวกที่ ข1 รายงานผลเป็น มิลลิกรัมของ

กรดแอสคอบิก ต่อน้ำหนักน้ำมันหอมระเหย 1 กรัม (มิลลิกรัมต่อ 1 กรัมตัวอย่าง) โดยค่าการดูดกลืนแสงควบคุม (Control OD) หาได้จากการวิเคราะห์ตามวิธีข้างต้นแต่ใช้เมทานอลแทนตัวอย่าง

2.8 การวิเคราะห์ปริมาณของสารฟีนอลทั้งหมด (Total phenols assay)

ทำการวิเคราะห์ปริมาณของสารฟีนอลทั้งหมด ด้วยวิธีวัดสีโฟลิน ซีโอเคาเทล (Folin ciocalteu colorimetric method) ซึ่งดัดแปลงจาก Wolfe *et al.* (2003) โดยปิเปตสารละลายที่สกัดจากไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย จากข้อ 2.2 ซึ่งละลายด้วยเอทานอล 5 มิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เติมลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นอยู่ 0.5 มิลลิลิตร แล้วเติมสารโฟลิน ซีโอเคาเทล ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 90 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร สำหรับเตรียมตัวเปรียบเทียบ (Blank) ใช้เอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรแทนตัวอย่างสารละลายที่สกัดจากไมโครแคปซูล หลังจากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงเช่นเดียวกันนี้ สารละลายที่สกัดจากไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยละ 3 ครั้ง นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ดังแสดงในภาคผนวกที่ ข2 แล้วคำนวณค่าเป็นมิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมตัวอย่าง

3. การหาความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย

นำไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย มาหาความเข้มข้นต่ำสุดของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar dilution เช่นเดียวกับข้อ 1.3 โดยคำนวณปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ใช้จากปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ถูกกักเก็บไว้ในเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน จากนั้นละลายไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยในน้ำร้อนอุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส และปรับให้มีปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่หลอมเหลวและปรับอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส ปริมาตร 13 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ทดสอบอยู่ในช่วงร้อยละ 0.1- 5.0 ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

4. การศึกษาลักษณะโครงสร้างของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยที่ถูกกักเก็บด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

นำเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินบริสุทธิ์และไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย มาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยส่งวิเคราะห์ที่บริษัท โคเอกซ์ กรุ๊ป คอร์ปอเรชั่น จำกัด

5. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย และไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรี (GC/MS)

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย และไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย ด้วยเครื่อง GC/MS โดยส่งวิเคราะห์ที่หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีสมุนไพรและความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลผลิตทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งสภาวะการสกัดและรายละเอียดการใช้คอลัมน์ แสดงในภาคผนวก ข3

6. การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยและไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยในระบบอาหาร

6.1 การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยกระชายและไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย ต่อการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ในเนื้อไก่แช่เย็น

6.1.1 การเตรียมกล้าเชื้อ (Inoculum) ของ *L. monocytogenes*

การเตรียมกล้าเชื้อของ *L. monocytogenes* สายพันธุ์ 101 ทำตามวิธีในข้อ 1.1 นำเชื้ออายุ 18 ชั่วโมง ทำการเจือจางด้วยสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ให้ได้ปริมาณเชื้อ 5 log CFU ต่อมิลลิลิตร

6.1.2 การจำลองการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ในตัวอย่างเนื้อไก่

เนื้ออกไก่ซื้อจากท็อป ซูเปอร์มาร์เก็ต สาขาบางเขน นำมาตัดเป็นชิ้นรูปทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้า ตัวอย่างละ 11 กรัม บรรจุถุงพลาสติกโพลีเอทิลีน ขนาด 8x12 นิ้ว จำนวนหนึ่งชิ้นต่อหนึ่งถุงและนำมาสร้างการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* โดยปิเปตสารละลายเชื้อที่มีปริมาณเชื้อ 5 log CFU ต่อมิลลิลิตร ใส่ลงในตัวอย่างเนื้อไก่ ปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร จะได้ปริมาณเชื้อในเนื้อไก่ 3 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ จากนั้นทำการคลุกให้เชื้อกระจายให้ทั่วเนื้อไก่ แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

การทดลองในสภาวะที่เติมน้ำมันหอมระเหย เตรียมได้โดยเติมน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 4 ของน้ำหนักเนื้อไก่ หรือ 0.44 มิลลิลิตรต่อเนื้อไก่ 11 กรัม จากนั้นทำการคลุกให้กระจายทั่วเนื้อไก่ แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เนื้อไก่ที่ผ่านการปนเปื้อนแล้ว นำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

สำหรับสภาวะที่เติมไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย ทำการเติมไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายร้อยละ 4 ของน้ำหนักเนื้อไก่ หรือละลายผงไมโครแคปซูล 3.67 กรัมต่อเนื้อไก่ 11 กรัมด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ปริมาตร 3 มิลลิลิตร จากนั้นทำการคลุกให้กระจายทั่วเนื้อไก่ แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เนื้อไก่ที่ผ่านการปนเปื้อนแล้ว นำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

ทำการแบ่งเนื้อไก่ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อเพื่อใช้ในการทำการทดสอบออกเป็น 6 สภาวะ คือ เนื้อไก่ที่เก็บในสภาวะที่มีอากาศที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เนื้อไก่ที่เก็บในสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เนื้อไก่ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยหรือไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยเก็บในสภาวะที่มีอากาศที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเนื้อไก่ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยหรือไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยเก็บในสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน โดยจะทำการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและ *L. monocytogenes* ที่รอดชีวิตในวันที่ 0, 1, 3 และ 5 โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างเนื้อไก่ควบคุมที่ปนเปื้อนเชื้อแต่ไม่ได้ใส่น้ำมันหอมระเหยหรือไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

6.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติกและ

L. monocytogenes ในตัวอย่างเนื้อไก่แช่เย็น

นำตัวอย่างเนื้อไก่ ตัวอย่างละ 11 กรัม ในแต่ละถุง มาเติมสารละลาย BLEB ปริมาตร 99 มิลลิลิตร เพื่อเจือจางให้ได้ระดับ 1:10 นำไปตีปั่นใน BLEB ด้วยเครื่องตีปั่นเป็นเวลา 1 นาที แล้วเจือจางตามลำดับๆ ละ 10 เท่าโดยนำมา 1 มิลลิลิตรต่อสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตรแล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นเปิดสารละลายเชื้อที่ระดับความเจือจางที่ต้องการ ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร TSAYE, MRS และ MOX เพื่อตรวจสอบจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก และ *L. monocytogenes* ที่รอดชีวิต ตามลำดับ จากนั้นใช้แท่งแก้วที่ปราศจากเชื้อเกลี่ยเชื้อให้ทั่วจานจนแห้ง นำไปบ่มโดยกลับจานเพาะเชื้อคว่ำลง อาหาร TSAYE และ MRS บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับอาหาร MRS ใส่ในโถสุญญากาศ ส่วนอาหาร MOX บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีบนอาหาร TSAYE ที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี และนับจำนวนโคโลนีบนอาหาร MRS และ MOX ที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 18-150 โคโลนี แล้วคำนวณจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จุลินทรีย์กรดแลคติก และ *L. monocytogenes* ที่รอดชีวิต ในหน่วย log CFU ต่อเนื้อไก่ 1 กรัม โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียในวันที่ 0, 1, 3 และ 5 วัน ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

6.2 การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยกระชายและไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย ต่อการเจริญ *L. monocytogenes* ในอาหารพร้อมบริโภค

ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยกระชายในอาหารพร้อมบริโภคโดยใช้ไส้กรอกค็อกเทลไก่เป็นโมเดล นำไส้กรอกค็อกเทลไก่ ยี่ห้อซีพี ที่ซื้อจากท็อปซูเปอร์มาร์เก็ต สาขาบางเขน น้ำหนัก 11 ± 2 กรัม มาคลุกด้วยน้ำมันหอมระเหยกระชาย ความเข้มข้นร้อยละ 4 และ 5 (ปริมาตรต่อน้ำหนักไส้กรอกค็อกเทลไก่ทั้งหมด) ทิ้งไว้ให้แห้ง เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นจำลองการปนเปื้อนเชื้อ *L. monocytogenes* สายพันธุ์ 101 โดยหยดสารละลายเชื้อที่ความเข้มข้น 5 log CFU ต่อมิลลิลิตรปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงบนไส้กรอกค็อกเทลไก่แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ทำการสุ่มตัวอย่างในวันที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน โดยทำการตีปั่นใน BLEB ด้วยเครื่องตีปั่นเป็นเวลา 1 นาที แล้วเจือจางความเข้มข้นเชื้อให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม จากนั้นเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSAYE และ MOX เพื่อตรวจนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *L. monocytogenes* นำ TSAYE ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็น

เวลา 24 ชั่วโมง ส่วน MOX บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงและบันทึกผลการทดลอง ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้แผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ ANOVA ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 12 และความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์โดย Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สถานที่และระยะเวลาที่ทำการวิจัย

1. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการ Food Safety ห้อง 2414 ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

เริ่มตั้งแต่ ธันวาคม 2549 ถึงสิ้นสุด มีนาคม 2551

ผลและวิจารณ์

1. การคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะ

ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหย วัดได้จากค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimum inhibitory concentration, MIC) โดยน้ำมันหอมระเหย ที่มีค่า MIC ต่ำ จะมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดี การทดลองนี้ได้จัดกลุ่มของน้ำมันหอมระเหยตามประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์โดยใช้ค่า MIC เป็นเกณฑ์ ซึ่งอ้างอิงจาก Friedman *et al.* (2002) และ Oussalah *et al.* (2007) โดยให้กลุ่มที่มีค่า MIC น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 0.4 (v/v) จัดเป็นกลุ่มที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์สูง และกลุ่มที่มีค่า MIC มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 0.8 (v/v) จัดเป็นกลุ่มที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ต่ำ

จากผลการทดสอบค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร 11 ชนิด ได้แก่ กระชาย จิง ข่า ขมิ้น กระเพรา ตะไคร้ ตะไคร้หอม โหระพา มะกรูด ใบมะกรูด และพริกไทยดำ ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *L. monocytogenes* จำนวน 5 สายพันธุ์ และ *S. aureus* และแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *E. coli*, *S. Weltevreden* และ *S. Typhimurium* จำนวน 5 สายพันธุ์ พบว่าการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวกของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 11 ชนิด ให้ผลไปในทิศทางเดียวกันโดยน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุดคือน้ำมันหอมระเหยกระชาย ตะไคร้ ตะไคร้หอม และใบมะกรูด โดยมีค่า MIC เท่ากับร้อยละ 0.1 (ตารางที่ 6) รองลงมาคือน้ำมันหอมระเหยกระเพราและโหระพา โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.1-0.3 น้ำมันหอมระเหยข่าและผลมะกรูดมีฤทธิ์ในการยับยั้งปานกลาง ส่วนจิง ขมิ้น และพริกไทยดำมีฤทธิ์ในการยับยั้งต่ำ สำหรับน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่สุดคือน้ำมันหอมระเหยกระเพรา กระชาย และ ตะไคร้ โดยมีค่า MIC เท่ากับร้อยละ 0.1 รองลงมาคือน้ำมันหอมระเหยโหระพา (MIC ร้อยละ 0.2) ส่วนน้ำมันหอมระเหยผลมะกรูดและใบมะกรูดมีฤทธิ์ในการยับยั้งปานกลาง (MIC ร้อยละ 0.5) และน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* ต่ำ ได้แก่ ข่า พริกไทยดำ ตะไคร้หอม จิง และขมิ้น (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) ของน้ำมันหอมระเหยที่มีผลต่อแบคทีเรียก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะ

ชนิดจุลินทรีย์ทดสอบ	น้ำมันหอมระเหย (ร้อยละ, v/v)										
	กะเพรา	กระชาย	ขิง	ขมิ้น	ข่า	ตะไคร้	ตะไคร้หอม	ผลมะกรูด	ใบมะกรูด	พริกไทยดำ	โหระพา
<i>L. monocytogenes</i>											
101	0.2	0.1	0.8	8	0.7	0.1	0.1	0.5	0.1	1	0.3
108	0.2	0.1	0.8	8	0.2	0.1	0.1	0.5	0.1	1	0.1
310	0.2	0.1	0.8	8	0.7	0.1	0.1	0.5	0.1	1	0.3
Scott A	0.3	0.1	0.8	8	0.7	0.1	0.1	0.5	0.1	1	0.3
V7	0.2	0.1	0.5	8	0.7	0.1	0.1	0.4	0.1	1	0.3
<i>S. aureus</i>	0.1	0.1	8	>10	1	0.1	2	0.5	0.5	1	0.2
<i>E. coli</i>											
	0.5	0.4	>10	>10	>10	0.2	0.1	0.5	0.5	1	0.6
<i>S. Typhimurium</i>											
2380	0.3	0.2	10	>10	>10	0.1	0.2	0.4	0.5	>10	0.1
2486	0.2	0.4	10	>10	>10	0.1	2	0.5	0.5	>10	0.1
2576	0.5	0.4	10	>10	>10	0.5	2	0.5	2	>10	0.5
2582	0.4	0.2	10	>10	0.7	0.5	0.5	0.5	2	>10	0.5
13311	0.5	0.4	10	>10	0.2	0.5	5	0.5	2	>10	0.7
<i>S. Weltevreden</i>	5.0	2.0	>10	>10	>10	>10	0.5	0.6	>10	>10	0.9

สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในจุลินทรีย์ก่อโรคในกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *E. coli* O157:H7 และ *S. Typhimurium* DT104 จำนวน 4 สายพันธุ์และสายพันธุ์ปกติ 1 สายพันธุ์ และ *S. Weltevreden* พบว่าผลการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 11 ชนิดค่อนข้างหลายหลาย ทั้งนี้ขึ้นกับ ชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ ชนิดและความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย รวมทั้งอัตราส่วนของสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีที่ผสมกันในน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด อย่างไรก็ตามน้ำมันหอมระเหยกระชายมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *E. coli* และ *S. Typhimurium* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วงร้อยละ 0.2-0.4 รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยกระเพรา ตะไคร้ ผลมะกรูด และโหระพา ส่วนน้ำมันหอมระเหยจิง ข่า ขมิ้น และพริกไทยดำมีฤทธิ์ในการยับยั้งต่ำ (MIC มากกว่าหรือเท่ากับ 10) อย่างไรก็ตามน้ำมันหอมระเหยเหล่านี้มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. Weltevreden* ต่ำ ยกเว้นน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอม และผลมะกรูด ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งปานกลาง โดยมีค่า MIC เท่ากับร้อยละ 0.5 และ 0.6 ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

จะเห็นได้ว่า น้ำมันหอมระเหยน้ำมันหอมระเหยกระชายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของเอกรินทร์ (2550) พบว่า สารสกัดกระชายสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้แก่ *S. aureus* และ *L. monocytogenes* 5 สายพันธุ์ โดยให้ค่า MIC ร้อยละ 0.3-0.5 และยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้แก่ *E. coli* O157:H7 และ *S. Typhimurium* 5 สายพันธุ์ โดยให้ค่า MIC ร้อยละ 9-10 นอกจากนี้ยังมีน้ำมันหอมระเหยตะไคร้และโหระพาที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้เช่นกัน ซึ่งมีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ความเข้มข้นร้อยละ 0.1-0.6 สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *L. monocytogenes* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รวมทั้ง *E. coli* O157:H7 และ *S. Typhi* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ โดยให้ค่า MIC มากกว่าร้อยละ 0.8 (Oussalah *et al.*, 2007) และมีรายงานว่าสารสกัดโหระพาสามารถยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* ได้ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 125-250 ไมโครลิตรต่อมิลลิเมตร (Adiguzel *et al.*, 2005)

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านทานน้ำมันหอมระเหยของจุลินทรีย์ระหว่างแบคทีเรียแกรมบวกกับแบคทีเรียแกรมลบ จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียแกรมบวกมีความไวต่อสารต้านจุลินทรีย์จากน้ำมันหอมระเหยมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ จากผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Burt (2004), Thongson *et al.* (2005) และ Oonmetta-aree *et al.* (2006) ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของผนังเซลล์ที่แตกต่างกันโดยทั่วไปผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรม

ลบบจะมีเปปทิโดไกลแคน (Peptidoglycan) เหมือนกัน แต่แบคทีเรียแกรมลบจะมีผนังเซลล์ชั้นนอก (Outer membrane) ซึ่งเป็นสารประกอบในกลุ่มลิโปโพลิแซคคาไรด์ (Lipopolysaccharide, LPS) เพิ่มขึ้นอีกชั้น ทำให้ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบมีความแข็งแรงกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Pranoto, 2004) อีกทั้งเชื้อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของแบคทีเรียแกรมลบสามารถกั้นโมเลกุลของสารน้ำมันหอมระเหยไม่ให้ผ่านเข้าไปในเซลล์ได้โดยง่าย (Cloete, 2003; Pranoto, 2004; Thongson *et al.*, 2005; Oonmetta-aree *et al.*, 2006)

สารพฤกษเคมี (Phytochemicals) ชนิดต่างๆ ได้แก่ ฟีนอลและอนุพันธ์ฟีนอล เอสเทอร์ของกรดอ่อน กรดไขมัน และเทอร์พีน เป็นต้น มีรายงานว่าสารพฤกษเคมีเหล่านี้มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ (Davidson and Branen, 1981; Kim *et al.*, 1995; Mouray and Canillac, 2002; Zivanovic *et al.*, 2005) สำหรับกลไกการทำลายเซลล์แบคทีเรีย เกิดจากการที่สารเข้าไปทำลายฟอสโฟลิปิดบนเยื่อหุ้มเซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์ ทำให้ผนังเซลล์เสียรูปร่าง หรือทำให้เยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมเกิดการฉีกขาดแล้วทำให้เกิดการรั่วของสารในไซโตพลาสซึม ทำให้น้ำซึมผ่านเข้าไปได้มาก เป็นเหตุให้เกิดการปลดปล่อยของค์ประกอบต่าง ๆ ในเซลล์ หรือทำให้สารในไซโตพลาสซึมตกตะกอน อีกทั้งยังลดกิจกรรม ATP และลดพีเอช (pH) ภายในเซลล์ และอาจเกิดปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ในบริเวณผนังเซลล์ได้ (Denyer and Hugo, 1991; Sikkema *et al.*, 1995; Lin *et al.*, 2004) หรือรบกวนการทำงานของ Proton motive force หรือรบกวนการทำงานของเอนไซม์ที่สร้างพลังงานและสังเคราะห์องค์ประกอบของเซลล์ (Burt, 2004; Pranoto, 2004; Thongson *et al.*, 2005; Oonmetta-aree *et al.*, 2006) ส่วนโมโนเทอร์พีนนั้นมีผลต่อฟอสโฟลิปิดบนเยื่อหุ้มเซลล์เมมเบรน โดยไปเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบในไขมัน โดยเฉพาะในสเตอรอล (Sterols) และฟอสโฟลิปิด (Ghfir *et al.*, 1994) นอกจากนี้ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ขึ้นกับ ชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ทดสอบ รวมถึงชนิดและความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยและสารพฤกษเคมีที่เป็นองค์ประกอบ อย่างไรก็ตาม น้ำมันหอมระเหยชนิดเดียวกันอาจมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับความแตกต่างของพันธุ์พืช แหล่งที่ทำการเพาะปลูก เวลาในการเก็บเกี่ยว ตลอดจนสถานะการแปรรูปและการเก็บรักษา

จากการทดลองสรุปได้ว่า น้ำมันหอมระเหยกระชายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ดีที่สุด จึงนำไปทำการทดลองในขั้นต่อไป

2. การกักเก็บน้ำมันหอมระเหยด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินและการตรวจสอบสมบัติทางกายภาพและเคมีของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย

2.1 ผลของการตรวจสอบสมบัติการกักเก็บของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย

เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยกระชายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งชนิดแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบดีที่สุด จึงนำมาทำการกักเก็บด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน โดยกำหนดอัตราส่วนเริ่มต้นของน้ำมันหอมระเหยกระชายต่อเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ดังนี้ 25:75, 30:70, 40:60 และ 50:50 หลังจากนั้นนำไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยที่เตรียมได้ มาสกัดหาปริมาณน้ำมันทั้งหมดและน้ำมันที่ผิวไมโครแคปซูล พบว่าเมื่ออัตราส่วนของน้ำมันหอมระเหยกระชายต่อเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณน้ำมันทั้งหมด (Total oil extraction) น้ำมันที่ผิวไมโครแคปซูล (Surface oil extraction) และน้ำมันที่ถูกกักเก็บเพิ่มขึ้น รวมทั้งความสามารถในการกักเก็บ (Encapsulation capacity, EC) เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 7)

จากการทดลองพบว่า ความสามารถในการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยกระชาย อยู่ระหว่างช่วงร้อยละ 6.8-16.6 โดยความจุของเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินจะเพิ่มขึ้นเมื่อใช้อัตราส่วนของปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระชายสูงขึ้น ซึ่งค่าที่ได้จากการทดลองใกล้เคียงกับรายงานของ Pagington (1986) ที่ศึกษาการกักเก็บน้ำมันมะนาวด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน พบว่าความจุสูงสุดของเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ที่สามารถกักเก็บน้ำมันมะนาว อยู่ในช่วงร้อยละ 8-12 นอกจากนี้ Szente and Szejtli (1988) ซึ่งได้ทำการกักเก็บน้ำมันมะนาวด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน เช่นกัน พบว่าความจุสูงสุดของเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ที่สามารถกักเก็บน้ำมันมะนาว คือ ร้อยละ 9.8

เมื่อคำนวณประสิทธิภาพในการกักเก็บ (Encapsulation efficiency, EE) พบว่าน้ำมันหอมระเหยกระชายต่อเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน อัตราส่วน 30:70, 40:60 และ 50:50 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณน้ำมันหอมระเหยเริ่มต้นที่เติมลงในแต่ละอัตราส่วนเพิ่มขึ้น ทำให้มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยทั้งหมด รวมทั้งปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ผิวไมโครแคปซูลมีมากขึ้น โอกาสที่น้ำมันหอมระเหยจะถูกกักเก็บไว้ในไมโครแคปซูลจึงมีมาก จึงมีประสิทธิภาพในการกักเก็บไม่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bhandari *et al.* (1998) ที่ทำการกักเก็บน้ำมันมะนาวด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน อัตราส่วน 3:97, 6:94, 9:91, 12:88 และ 15:85 พบว่าน้ำมันมะนาวที่ถูกกักเก็บด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน อัตราส่วน 3:97, 6:94 และ 9:91 จะมีประสิทธิภาพการกักเก็บเพิ่มขึ้นตามลำดับ แต่เมื่อเพิ่มอัตราส่วนเป็น 12:88 ประสิทธิภาพการกัก

เก็บจะลดลง เนื่องจากปริมาณน้ำมันมะนาวที่เกาะที่ผิวไมโครแคปซูลเพิ่มมากขึ้น ทำให้มีปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากผิวไมโครแคปซูลเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังอาจเกิดจากการเติมน้ำมันมะนาวปริมาณมากขึ้น ทำให้เกิดการจับตัวกันเองและไม่เกิดคอมเพล็กซ์ (Noncomplex) กับเบต้าไซโคเดคซ์ทริน

ตารางที่ 7 สมบัติของไมโครแคปซูลที่มีอัตราส่วนของน้ำมันหอมระเหยกระชายต่อเบต้าไซโคเดคซ์ทรินต่างกัน

คุณสมบัติ	อัตราส่วนของน้ำมันกระชายต่อเบต้าไซโคเดคซ์ทริน			
	25:75	30:70	40:60	50:50
ปริมาณน้ำมันหอมระเหยทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง)	68.23 ^d ± 1.31	106.20 ^c ± 4.24	134.6 ^b ± 1.66	149.0 ^a ± 2.83
ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ผิวไมโครแคปซูล (มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง)	5.12 ^d ± 1.67	5.91 ^c ± 2.52	6.5 ^b ± 1.41	7.8 ^a ± 1.95
ปริมาณน้ำมันที่ถูกกักเก็บ (มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง)	63.40 ^d ± 1.54	100.83 ^c ± 1.71	128.4 ^b ± 1.35	141.6 ^a ± 1.03
ความสามารถในการกักเก็บ, EC (ร้อยละ)	6.84 ^d ± 1.93	11.32 ^c ± 3.20	14.8 ^b ± 1.41	16.6 ^a ± 2.33
ประสิทธิภาพการกักเก็บ, EE (ร้อยละ)	93.02 ^b ± 3.42	93.90 ^{ab} ± 5.10	95.4 ^a ± 3.63	95.0 ^a ± 4.31

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 6 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวนอนหมายถึง ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ประสิทธิภาพการกักเก็บมีแนวโน้มลดลง เมื่ออัตราส่วนของน้ำมันหอมระเหยเริ่มต้นที่ใช้ลดลง เนื่องจากมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยทั้งหมดน้อย ทำให้โอกาสที่น้ำมันหอมระเหยจะถูกกักเก็บไว้ในไมโครแคปซูลมีน้อย เมื่อคำนวณหาประสิทธิภาพการกักเก็บจึงให้ค่าต่ำ

2.2 ผลของอัตราส่วนเริ่มต้นของน้ำมันหอมระเหยต่อเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินต่อสีของไมโครแคปซูล

จากการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยกระชายด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 25:75, 30:70, 40:60 และ 50:50 เมื่อมองด้วยตาเปล่าพบว่าสีของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายจะมีความแตกต่างจากเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินบริสุทธิ์ โดยเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินบริสุทธิ์มีสีขาว แต่ไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายมีสีเหลืองนวลเล็กน้อย อย่างไรก็ตาม ไม่สามารถแยกความแตกต่างของสีไมโครแคปซูลที่เตรียมจากน้ำมันหอมระเหยกระชายในแต่ละอัตราส่วนด้วยตาเปล่าได้ ดังภาพที่ 15

เมื่อทำการวัดสีไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายโดยใช้เครื่อง Chroma meter จะพบว่าสีของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายมีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 8) เมื่อพิจารณาค่า L^* หรือค่าความสว่าง พบว่าเมื่ออัตราส่วนของน้ำมันหอมระเหยต่อเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินสูงขึ้น ส่งผลให้ค่า L^* เพิ่มขึ้น กล่าวคือ ผงไมโครแคปซูลจะมีความสว่างเพิ่มขึ้น และเมื่อพิจารณาค่า a^* ที่แสดงค่าระหว่างสีเขียว (-) และสีแดง (+) พบว่า เมื่ออัตราส่วนของน้ำมันหอมระเหยต่อเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินสูงขึ้น ผงไมโครแคปซูลจะมีสีเขียวเพิ่มขึ้น และเมื่อพิจารณาค่า b^* ที่แสดงค่าระหว่างสีฟ้า (-) และสีเหลือง (+) พบว่าเมื่ออัตราส่วนของน้ำมันหอมระเหยต่อเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินสูงขึ้น ผงไมโครแคปซูลจะมีสีเหลืองเพิ่มขึ้น

สรุปได้ว่าเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินบริสุทธิ์ที่ไม่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยกระชาย (Control) มีค่าความสว่างน้อยที่สุด และมีสีค่อนข้างสีแดงและฟ้า แต่ไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายจะมีสีเหลืองอมเขียว ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อใช้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระชายมากขึ้น ทำให้ไมโครแคปซูลมีความสว่างและมีสีเหลืองอมเขียวมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Bhandari (1998) ได้ทำการศึกษาอัตราส่วนของน้ำมันมะนาวที่ใช้ในการกักเก็บด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมันมะนาวในการกักเก็บมาก ส่งผลให้ไมโครแคปซูลมีค่าความสว่าง ค่าสีเขียว และค่าสีเหลืองเพิ่มขึ้น



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



(จ)

ภาพที่ 15 ลักษณะปรากฏของไมโครแคปซูลที่เตรียมจากน้ำมันกระชายและเบต้า-
ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วนต่างกัน; เบต้าไซโคลเดกซ์ทริน (ก)
ไมโครแคปซูลอัตราส่วน 25:75 (ข) ไมโครแคปซูลอัตราส่วน 30:70 (ค)
ไมโครแคปซูลอัตราส่วน 40:60 (ง) และไมโครแคปซูลอัตราส่วน 50:50 (จ)

การที่ไมโครแคปซูลมีสีเหลือง อาจเนื่องมาจากน้ำมันหอมระเหยกระชายมีสีเหลืองอ่อน เมื่อถูกกักเก็บในเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน หรือเกาะอยู่ที่ผิวของไมโครแคปซูล ทำให้ไมโครแคปซูลที่ได้มีสีเหลืองของน้ำมันหอมระเหยกระชาย และนอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยที่เกาะอยู่ที่ผิวของไมโครแคปซูลจะไวต่อการเกิดออกซิเดชันกับสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น อากาศ หรือแสง เป็นต้น ดังนั้นถ้าไมโครแคปซูลมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ผิวไมโครแคปซูลมาก การเกิดออกซิเดชันกับสิ่งแวดล้อมภายนอกก็จะมากขึ้น ทำให้ไมโครแคปซูลที่ได้มีสีเหลืองของน้ำมันหอมระเหยกระชายมากขึ้น

ผลการทดลองด้านสีข้างต้นสอดคล้องกับค่าความขาว (Whiteness) ที่ว่าไมโครแคปซูลที่เตรียมจากน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 25:75 และ 30:70 จะมีความขาวไม่ต่างจากคอนโทรล (96.21 ± 0.05) แต่เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของน้ำมันหอมระเหยกระชายเป็น 40:60 และ 50:50 ค่าความขาวจะลดลงตามลำดับ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 สีของไมโครแคปซูลที่เตรียมจากน้ำมันหอมระเหยกระชายและเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ในอัตราส่วนต่างๆ

ตัวอย่าง	ค่าสี			ค่าความขาว
	L*	a*	b*	
β-CD	$96.25^d \pm 0.09$	$0.21^a \pm 0.02$	$-0.52^c \pm 0.01$	$96.21^{ab} \pm 0.05$
25:75	$97.42^c \pm 0.03$	$-0.60^b \pm 0.02$	$2.11^d \pm 0.80$	$96.61^a \pm 0.06$
30:70	$97.51^{bc} \pm 0.09$	$-0.74^c \pm 0.01$	$2.81^c \pm 0.20$	$96.17^b \pm 0.05$
40:60	$97.55^b \pm 0.03$	$-1.08^d \pm 0.03$	$4.85^b \pm 0.06$	$94.46^c \pm 0.09$
50:50	$97.68^a \pm 0.01$	$-1.17^c \pm 0.02$	$5.11^a \pm 0.10$	$94.27^d \pm 0.09$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวตั้งหมายถึง ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

- L* คือ ค่าความสว่าง

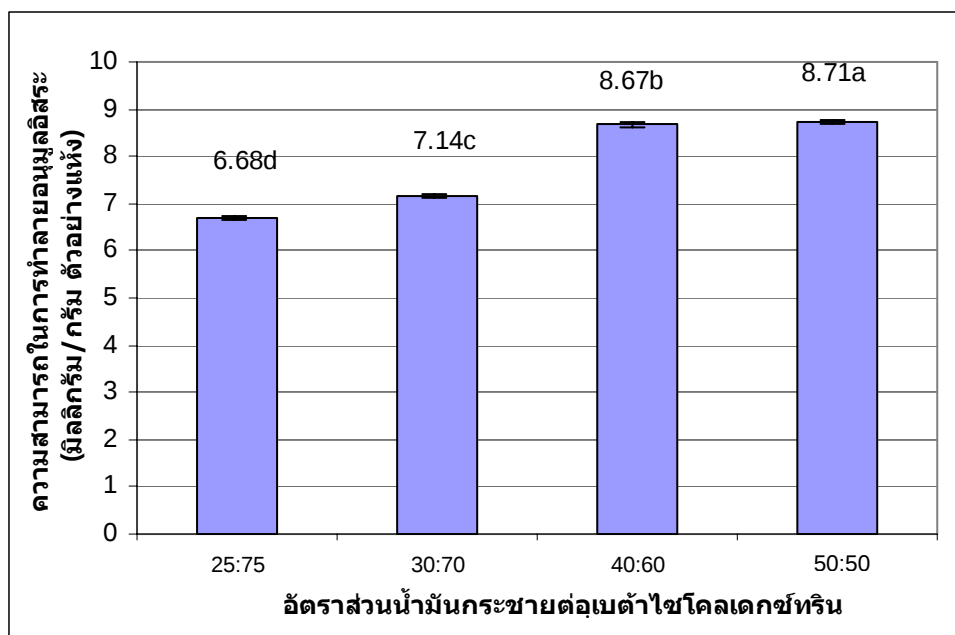
- a* คือ ค่าสีเขียว (-) ค่าสีแดง (+)

- b* คือ ค่าสีฟ้า (-) ค่าสีเหลือง (+)

2.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) โดยวัดความสามารถในการยับยั้ง 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH radical scavenging capacity assay) เป็นการตรวจสอบความสามารถในการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนของไมโครแคปซูล ซึ่ง DPPH เป็นสารอนุมูลในโตรเจนที่ค่อนข้างคงตัว ในขณะที่เริ่มต้นการทดลองจะให้สารสีม่วงเข้ม จากนั้นเมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากขึ้น สารจะมีสีซีดจางลงภายในเวลา 20 นาที ทำให้ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของ DPPH มีค่าต่ำ วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย มีความแม่นยำ ใช้เวลาน้อย และใช้เครื่องมือแค่เครื่องวัดการดูดกลืนแสงเท่านั้น เหมาะสำหรับวัดกิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันในตัวอย่างที่ละลายได้ในเมทานอล

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยกระชายทั้งหมดที่สกัดได้จากข้อ 2.2 ของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 25:75, 30:70, 40:60 และ 50:50 มาตรวจสอบคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวัดคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 50:50 มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ 8.71 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัม ตัวอย่างแห้ง (ภาพที่ 16) รองลงมา คือ ไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 40:60, 30:70 และ 25:75 โดยมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ 8.67, 7.14 และ 6.68 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัม ตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ



ภาพที่ 16 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่สกัดจากไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วนต่างๆ

น้ำมันหอมระเหยกระชายมีสารประกอบหลัก คือ สารในกลุ่มฟีนอล โมโนเทอร์พีน (Zaeoung *et al.*, 2005) ซึ่งเป็นตัวการสำคัญในการทำให้เกิดประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ โดยสารเหล่านี้มีความสามารถในการให้อิเลคตรอน ไฮโดรเจน หรือ ออกซิเจนอิสระ หรือ เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox) กับ DPPH (Huang *et al.*, 2005) ทำให้สามารถวัดการเปลี่ยนแปลงสี โดยติดตามสีม่วงของสารละลาย DPPH ที่จางลงได้

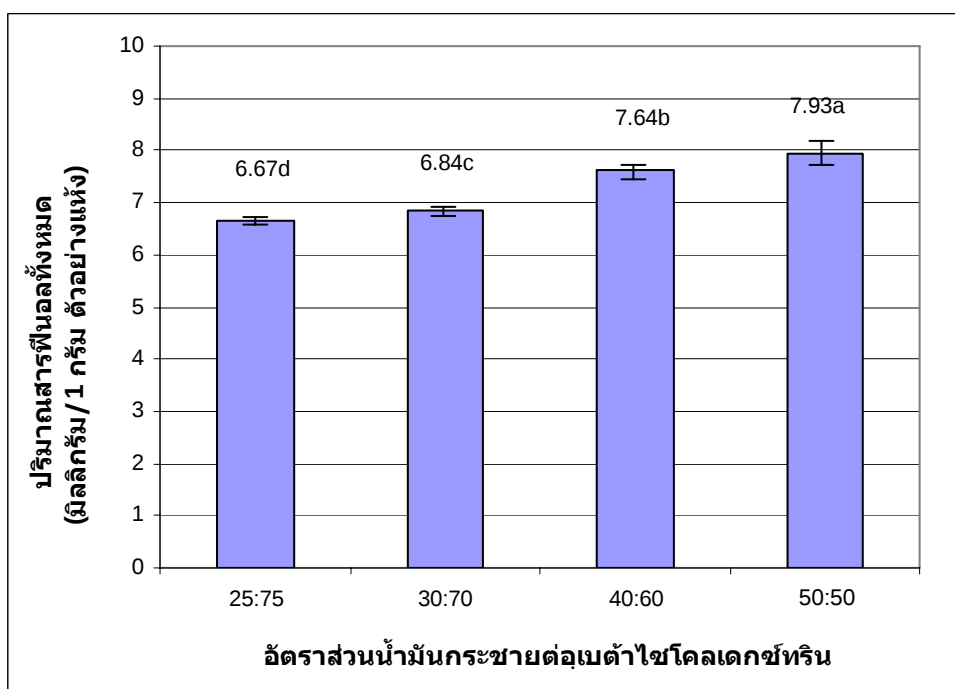
ในการทดลองวัดกิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันในสารต่างๆ จำเป็นต้องวิเคราะห์มากกว่าหนึ่งวิธี เพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลอง จึงได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณของสารฟีนอลทั้งหมด (Total phenols assay) ควบคู่กัน

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณของสารฟีนอลทั้งหมดของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด เกิดจากสารฟีนอลทำปฏิกิริยากับสาร โฟลิน-ซีโอเคาทูล (Folin ciocalteu reagent) ได้สารเชิงซ้อนสีน้ำเงิน จากนั้นติดตามการเกิดสีน้ำเงินเป็น

เวลา 90 นาที หากในระบบมีปริมาณสารฟีนอลมาก สารละลายก็จะมีสีของเข้มมากขึ้น ทำให้ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร มีค่าสูง โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (ภาพผนวกที่ ข2)

จากการวิเคราะห์ปริมาณของสารฟีนอลทั้งหมดของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย อัตราส่วน 25:75, 30:70, 40:60 และ 50:50 พบว่าเมื่ออัตราส่วนของปริมาณน้ำมันหอมระเหยกระชายสูงขึ้น ปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดมีแนวโน้มสูงขึ้น โดยไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย อัตราส่วน 50:50 จะมีปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) มีปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด 7.93 มิลลิกรัม ต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง รองลงมาคือตัวอย่างไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 40:60, 30:70 และ 25:75 ตามลำดับ โดยมีปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 7.64, 6.84 และ 6.67 มิลลิกรัม ต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ (ภาพที่ 17)



ภาพที่ 17 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วนต่างๆ

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด พบว่าให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน อาจเนื่องมาจากน้ำมันหอมระเหยกระชายมีสารฟีนอลปริมาณมาก จะส่งผลให้มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันมากด้วย อย่างไรก็ตามการตรวจพบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันกระชายที่มีการกักเก็บด้วยเบต้า-ไซโคเดคซทรินมากกว่าปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด เนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้ทดสอบในแต่ละวิธีต่างชนิดกัน โดยในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH จะใช้เมทานอลเป็นสารที่ทำปฏิกิริยา ซึ่งเหมาะกับสารที่มีขั้วน้อยกว่าน้ำ ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณของสารฟีนอลทั้งหมดจะใช้น้ำกลั่นเป็นสารที่ทำปฏิกิริยา เหมาะกับสารที่สามารถละลายน้ำได้ จึงทำให้ปริมาณสารที่ตรวจวัดได้แตกต่างกัน (Huang *et al.*, 2005) ซึ่งสารประกอบส่วนใหญ่ในน้ำมันหอมระเหยกระชายที่สกัดได้เป็นกลุ่มไม่มีขั้ว สามารถละลายในเมทานอลได้ดีกว่าน้ำกลั่น จึงทำปฏิกิริยากับสาร DPPH ได้ดี

ในการหาปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH พบว่าตัวอย่างที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันมากที่สุดจะมีปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดมากที่สุด (Kulkarni and Aradhya, 2005) จึงคาดได้ว่าค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันเมื่อวัดด้วยวิธี DPPH ขึ้นกับปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยกระชาย อย่างไรก็ตามอายุการเก็บรักษามีผลทำให้ค่าเหล่านั้นเปลี่ยนแปลงไปได้ (Robards *et al.*, 1999)

3. การทดสอบประสิทธิภาพของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะ

ในการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 25:75, 30:70, 40:60 และ 50:50 พบว่าไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 40:60 และ 50:50 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกัน โดยการยับยั้งทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ดี (MIC ร้อยละ 0.2-0.4) และมีประสิทธิภาพดีกว่าไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 25:75 และ 30:70 (MIC ร้อยละ 0.2-0.5) (ตารางที่ 9)

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ระหว่างน้ำมันหอมระเหยกระชายกับไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย พบว่าค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยกระชายในการ

ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกน้อยกว่าค่า MIC ของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย แต่ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบนั้น จะมีค่า MIC ไม่แตกต่างกัน ยิ่งไปกว่านี้การยับยั้ง *S. Weltevreden* ของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย (MIC ร้อยละ 0.4-0.5) มีประสิทธิภาพดีกว่า น้ำมันหอมระเหยกระชาย (MIC ร้อยละ 2.0) อย่างเห็นได้ชัด

ตารางที่ 9 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ (MIC) ของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายที่มีผลต่อแบคทีเรียก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะ

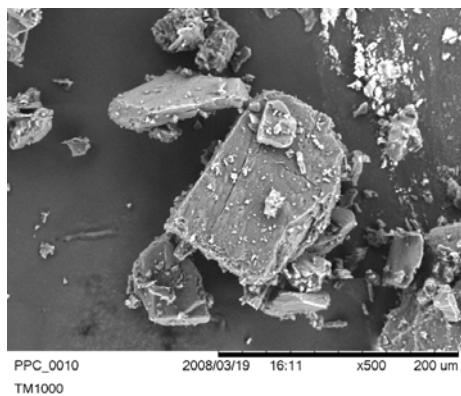
ชนิดจุลินทรีย์ ทดสอบ	ไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย				น้ำมันหอมระเหยกระชาย
	(ร้อยละ, v/v)				
	25:75	30:70	40:60	50:50	(ร้อยละ, v/v)
<i>L. monocytogenes</i>					
101	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1
108	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1
310	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1
Scott A	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1
V7	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1
<i>S. aureus</i>	0.5	0.5	0.4	0.4	0.1
<i>E. coli</i>	0.5	0.5	0.4	0.4	0.4
<i>S. Typhimurium</i>					
2380	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
2486	0.2	0.2	0.2	0.2	0.4
2576	0.3	0.2	0.2	0.2	0.4
2582	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
13311	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
<i>S. Weltevreden</i>	0.5	0.5	0.4	0.4	2.0

จากการทดลองพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 40:60 ไม่ต่างกับไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 50:50 ประกอบกับผลของประสิทธิภาพการกักเก็บไม่แตกต่างกัน และยังใช้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยเริ่มต้นน้อยกว่าอัตราส่วน 50:50 จึงเลือกไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 40:60 เป็นตัวแทนในการทดสอบในขั้นต่อไป

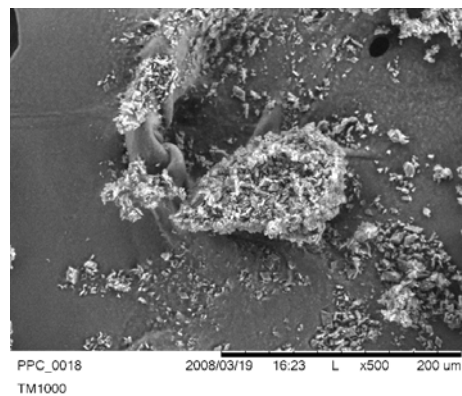
4. ลักษณะโครงสร้างของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยที่ถูกกักเก็บด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

จากภาพถ่ายอิเล็กตรอนแสดงพื้นผิวภายนอกของเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าลักษณะโครงสร้างของเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน มีรูปร่างเป็นผลึกอสัณฐาน (Amorphous) พื้นผิวค่อนข้างเรียบ โมเลกุลไม่เกาะรวมกัน (ภาพที่ 18 ก และ จ)

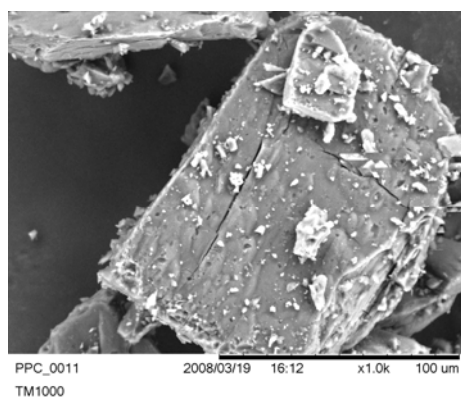
ส่วนภาพถ่ายอิเล็กตรอนของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 40:60 พบว่าบริเวณพื้นผิวของเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม มีลักษณะขรุขระ (ภาพ 18 ข) เมื่อเพิ่มกำลังขยายสูงขึ้นจะเห็นเป็นผลึกขนาดเล็กจำนวนมากเกาะอยู่บริเวณพื้นผิวของเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ซึ่งอาจเป็นผลจากการเกิดอินคลูชันคอมเพล็กซ์ของน้ำมันหอมระเหยกระชายกับเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ De Souza *et al.* (2004) ที่ศึกษาการกักเก็บของ 3-(4'-bromo- [1,1'-biphenyl]-4-yl)-3-(4-bromophenyl)-N,N-dimethyl-2-propen-1-amine (BBAP) ด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน พบว่าเมื่อเกิดอินคลูชันระหว่างสารทั้งสองชนิด จะเห็นพื้นผิวของเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินขรุขระขึ้น มองเห็นผลึกของ BBAP เกาะรวมอยู่กับเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน



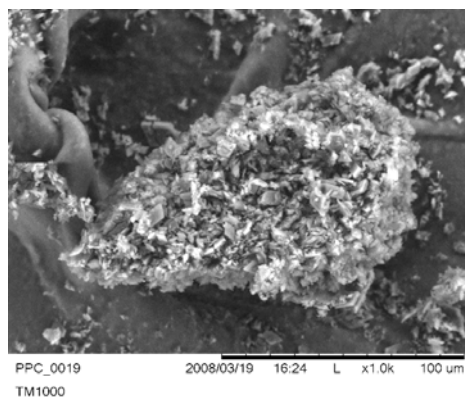
(ก)



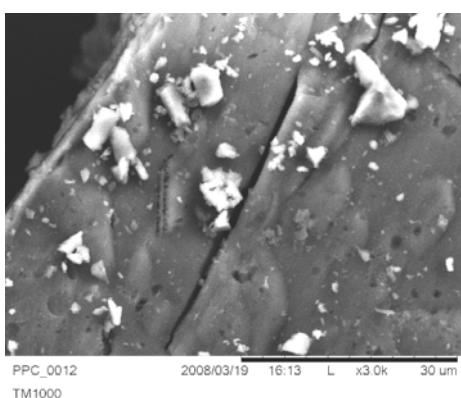
(ข)



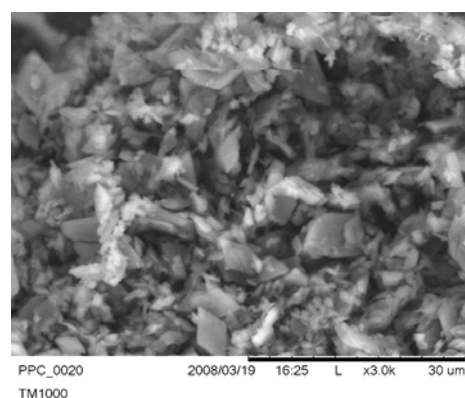
(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)

ภาพที่ 18 โครงสร้างของเบต้าไฮโดรเดกซ์ทริน (ก ค และจ) และไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 40:60 (ข ง และฉ) ที่ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด; กำลังขยาย 500 เท่า (ก และ ข) กำลังขยาย 1000 เท่า (ค และ ง) และกำลังขยาย 3000 เท่า (จ และ ฉ)

5. องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยกระชายและไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยกระชายและไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรี (GC/MS) ได้โครมาโทแกรม ดังแสดงในภาพภาคผนวกที่ ข3 พบว่าน้ำมันหอมระเหยกระชายมีสารที่เป็นองค์ประกอบ 13 ชนิด (ตารางที่ 10) ซึ่งสารที่เป็นองค์ประกอบที่พบในน้ำมันหอมระเหยกระชาย จำแนกเป็นกลุ่ม ได้ดังนี้ กลุ่มลิโตน ได้แก่ แคมเฟอร์ กลุ่มออกไซด์ ได้แก่ ยูคาลิปตัส กลุ่มแอลกอฮอล์ ได้แก่ ไอโซจูจอล (Isothujol) เทอพีนีออล และ เจอรานีออล กลุ่มอัลดีไฮด์ ได้แก่ ลินาลูล ส่วนแคมฟิน แอลฟาไพเนน (α -Pinene) เบต้าไมร์ซีน (β -Myrcene) ลิโมนีน และออกซิมีน จัดอยู่ในกลุ่มเทอร์พีน และเมทิลซินนามต จัดอยู่ในกลุ่มเอสเทอร์ โดยสารที่เป็นองค์ประกอบหลัก คือ ทรานส์เบต้าออกซิมีน (trans- β -Ocimene) แคมเฟอร์ ยูคาลิปตัส และทรานส์เจอรานีออล (trans-Geraniol) คิดเป็นปริมาณร้อยละ 25.77, 19.94, 18.04 และ 12.87 ตามลำดับ (ตารางที่ 10) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของชัยณรงค์และคณะ (2548) ที่รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยกระชาย ประกอบด้วยสารหลักอยู่ 5 ชนิด คือ แคมเฟอร์ ยูคาลิปตัส แคมฟิน ออกซิมีน และเจอรานีออล นอกจากนี้ Zaeoung *et al.* (2005) รายงานเพิ่มเติมว่าสารสำคัญที่มีปริมาณมากในน้ำมันหอมระเหยเหง้ากระชาย คือ แคมเฟอร์ ร้อยละ 81.4 เมทิลซินนามต ร้อยละ 7.2 เจอรานีออล ร้อยละ 6 และเจอรานีลหรืออีซิทรอล (Geranial, E-citral) ร้อยละ 5.4 การที่ปริมาณสารที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยกระชายมีปริมาณแตกต่างกัน เนื่องมาจากชนิดและอายุของกระชายในแต่ละแหล่งที่นำมาทดสอบ แหล่งการเพาะปลูก ระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำมันหอมระเหย เป็นต้น (ชัยณรงค์และคณะ, 2548)

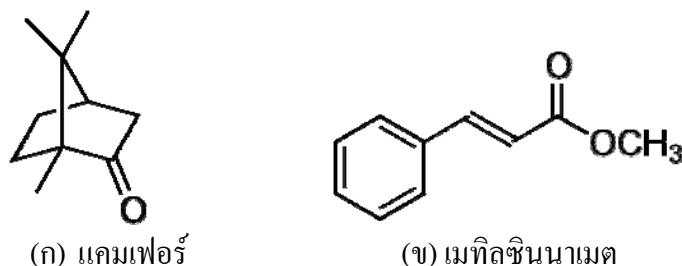
ตารางที่ 10 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยกระชายและไมโครแคปซูลของน้ำมัน
หอมระเหยกระชายเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC/MS

โครมาโทแกรมที่	ชนิดของสารประกอบ	ปริมาณร้อยละ	
		น้ำมันหอมระเหยกระชาย	ไมโครแคปซูล
1	α -Pinene	1.02	ND
2	Camphene	7.42	ND
3	β -Myrcene	0.99	ND
4	Limonene	3.23	ND
5	Eucalyptol	18.04	ND
6	cis- β -Ocimene	4.96	ND
7	trans- β -Ocimene	25.77	ND
8	Linalool	2.27	ND
9	Camphor	19.94	92.22
10	Isothujol	0.65	ND
11	α -Terpineol	0.71	ND
12	trans-Geraniol	12.87	ND
13	Methyl cinnamate	2.14	7.78

หมายเหตุ - ND คือ สารมีปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถวัดได้ หรือ ตรวจไม่พบ

- ปริมาณร้อยละ คือ ปริมาณทั้งหมดคิดเป็นร้อยละ

ส่วนในสารสกัดของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 40:60 พบสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบเพียง 2 ชนิด คือ แคมเฟอร์ ร้อยละ 92.22 และเมทิลซินนามेट ร้อยละ 7.78 (ตารางที่ 10) โดยโครงสร้างของสารประกอบทั้งสองชนิดแสดงดังภาพที่ 19



ภาพที่ 19 โครงสร้างของสารประกอบที่พบในไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย
กระชาย แคมเฟอร์ (ก) เมทิลซินนามेट (ข)

การตรวจพบสารสำคัญในไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายมีจำนวนน้อยกว่าในน้ำมันหอมระเหยกระชายบริสุทธิ์ อาจเนื่องมาจากการระเหยของสารสำคัญที่ระเหยได้ในระหว่างกระบวนการทำให้แห้ง สารสำคัญบางตัวอาจไม่เกิดอินคลูชันคอมเพล็กซ์กับเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน เนื่องจากไม่มีความจำเพาะต่อโครงสร้างของเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน เช่น ขนาดของโครงสร้างไม่เหมาะสม ความเป็นไฮโดรโฟบิกของสารที่เป็นองค์ประกอบแต่ละชนิดในน้ำมันหอมระเหย เช่น สารในกลุ่มแอลกอฮอล์ ได้แก่ เจอรานีอล ซึ่งมีความเป็นไฮโดรฟิลิก จึงไม่ถูกกักเก็บในโครงสร้างของเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ส่วนไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายจะมีปริมาณของสารที่มีขั้วน้อยหรือไม่มีขั้วอยู่มาก ได้แก่ แคมเฟอร์ ซึ่งเป็นสารในกลุ่มเทอร์พีน และเมทิลซินนามेट ซึ่งเป็นสารในกลุ่มเอสเทอร์ เนื่องจากโครงสร้างจำเพาะของเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ที่มีส่วนที่เป็นไฮโดรฟิลิกอยู่ด้านนอก และส่วนที่เป็นไฮโดรโฟบิกอยู่ภายใน ซึ่งสามารถกักเก็บสารประกอบที่มีขั้วน้อยหรือไม่มีขั้วไว้ในช่องว่างของโครงสร้างได้ดี (Fromming and Szejtli, 1994) ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Bhandari *et al.* (1998) ได้นำสารสกัดของน้ำมันหอมระเหยมะนาวที่ถูกกักเก็บด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ในอัตราส่วน 3:97 และ 6:94 พบว่าสารสำคัญที่ตรวจพบมีจำนวนน้อยกว่าน้ำมันมะนาวบริสุทธิ์ อาจเนื่องมาจากการไม่เกิดอินคลูชันคอมเพล็กซ์ของสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันมะนาวกับเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน และการระเหยของสารสำคัญที่ระเหยได้ในระหว่างกระบวนการทำให้แห้ง นอกจากนี้ Hadaruga *et al.*, 2007 ได้นำสารสกัดของน้ำมันหอมระเหยเสกที่ถูกกักเก็บด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน มาวิเคราะห์สารสำคัญเปรียบเทียบกับ น้ำมันหอมระเหยเสก ด้วยเครื่อง GC/MS พบว่าลินาลูลมีปริมาณน้อยกว่าในน้ำมันหอมระเหยเสกบริสุทธิ์ เนื่องจากลินาลูลอะซีเตต มีความเป็นไฮโดรโฟบิกสูงกว่าลินาลูล โดยลินาลูลจะมีหมู่ไฮดรอกซิลที่สามารถจับกับสารอื่น เช่น น้ำ นอกเหนือจากโครงสร้างของเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ทำให้ปริมาณลินาลูลที่วิเคราะห์ได้ลดลง

ผลจากการวิเคราะห์สารที่ถูกกักเก็บในไซโคลเดกซ์ทรินด้วย GC/MS สามารถอธิบายปรากฏการณ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยกระชายกับไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย ดังนี้ ไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในจุลินทรีย์กลุ่มแกรมบวกน้อยกว่าน้ำมันหอมระเหยกระชายที่ไม่มีการกักเก็บ เนื่องจากสารที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยกระชายที่ตรวจสอบด้วยเครื่อง GC/MS มีจำนวนมากกว่าสารที่เป็นองค์ประกอบของไมโครแคปซูล ซึ่งในน้ำมันหอมระเหยกระชายมีสารที่เป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ แคมเฟอร์ เจอรานิอล ยูคาลิปตัลหรือซินีออล ออกซิมีน แคมฟิน และเมทิลซิน-นามेत ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ (Zaeoung *et al.*, 2005) นอกจากนี้ นลินี (2545) พบว่า แคมเฟอร์ ลิโมนีน และซินีออล ซึ่งเป็นพฤษเคมีที่พบในกระชาย สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ในขณะที่สารที่เป็นองค์ประกอบในไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายมี 2 ชนิด คือ แคมเฟอร์ และเมทิลซินนามेत จากรายงานของ Baranowski and Nagel (1982) พบว่าเมทิลซินนามेतมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ โดยสารเหล่านี้จะเข้าไปทำปฏิกิริยากับจุดที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาที่เซลล์ของจุลินทรีย์แกรมลบบริเวณผนังเซลล์ชั้นนอก หรือฟอสโฟ-ลิปิดบนเยื่อหุ้มเซลล์เมมเบรน โดยไปเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบในไขมันโดยเฉพาะในสเตอรอล และฟอสโฟลิปิด (Ghfir *et al.*, 1994) แต่ผนังเซลล์ของกลุ่มแกรมบวกมีความมีไข่มากกว่ากลุ่มแกรมลบ การทำปฏิกิริยาของสารที่มีไข่น้อยหรือไม่มีไข่ว่าจะเกิดได้น้อยกว่า จึงพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในกลุ่มแกรมลบจะต่ำเดิม ในขณะที่ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์แกรมบวกลดลง

6. ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยกระชาย และไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย ในระบบอาหาร

6.1 ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยกระชาย และไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งหมด, *L. monocytogenes* และแบคทีเรียกรดแลคติก ในเนื้อไก่สด

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยกระชายและไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายโดยใช้เนื้อไก่เป็นโมเดลอาหาร ทำได้โดยจำลองการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 3 log CFU ต่อกรัมแล้วหมักด้วยน้ำมันหอมระเหยกระชายหรือไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย ความเข้มข้นร้อยละ 4 ต่อน้ำหนัก

เนื้อไก่ จากนั้นทำการเก็บในสภาวะบรรยากาศปกติ (มีอากาศ) หรือสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะมีอายุการเก็บรักษาเพียง 4 วัน ซึ่งเกณฑ์การเน่าเสียของเนื้อสัตว์สดพิจารณาจากการที่บริเวณผิวหนังของเนื้อสัตว์สดมีสีซีด มีกลิ่นเหม็นหืนหรือเหม็นเน่า เป็นเมือกเยิ้ม และมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิน 6 log CFU ต่อกรัม ซึ่งอ้างอิงจากเกณฑ์การเก็บรักษาเนื้อสัตว์ (Meat storage guidelines) โดย Loveday (2007) ที่กำหนดไว้ว่าเนื้อสัตว์แช่เย็นและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์พร้อมบริโภคต้องมีเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 6 log CFU ต่อกรัม สำหรับปริมาณเชื้อ *E. coli* นั้นจะตรวจสอบโดยวิธี MPN ซึ่งกำหนดไว้ว่าต้องมีจำนวนน้อยกว่า 3 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม และ *Salmonella* spp. และ *L. monocytogenes* ต้องไม่พบในตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ส่วนปริมาณเชื้อ *S. aureus* และ *Clostridium perfringens* ต้องไม่พบในตัวอย่างอาหาร 0.01 กรัม

จากการทดสอบพบว่าเนื้อไก่ที่ไม่ได้ใส่น้ำมันหอมระเหยกระชายหลังจำลองการปนเปื้อน (วันที่ 0) ภายใต้สภาวะบรรยากาศปกติ มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเริ่มต้นเท่ากับ 5.1 log CFU ต่อกรัม (ภาพที่ 20ก) เนื้อไก่ที่ไม่ได้ใส่น้ำมันหอมระเหย หรือไมโครแคปซูลที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะบรรยากาศปกติและสุญญากาศ พบจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยภายหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 3 วัน จุลินทรีย์ทั้งหมดมีปริมาณเกินมาตรฐานกำหนด (6 log CFU ต่อกรัม) เมื่อเติมน้ำมันหอมระเหยกระชาย ปริมาณร้อยละ 4 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก) พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดมีปริมาณลดลง 1.5 log CFU ต่อกรัม (ภาพที่ 20ก) ส่วนในเนื้อไก่ที่เติมน้ำมันหอมระเหยกระชาย ความเข้มข้นร้อยละ 4 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก) ร่วมกับการเก็บในสภาวะสุญญากาศลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง 1.9 log CFU ต่อกรัม ในวันที่ 1 ของการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดเวลา 5 วัน แต่ไม่เกินมาตรฐานกำหนด ส่วนในเนื้อไก่ที่เติมไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย ปริมาณร้อยละ 4 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก) พบว่าลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดลง 1.1 และ 1.4 log CFU ต่อกรัม เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน ภายใต้สภาวะบรรยากาศปกติและสุญญากาศ ตามลำดับ และเชื้อมีแนวโน้มคงที่เป็นเวลา 2 วันหลังจากนั้นจึงเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อย (ภาพที่ 20ข)

เนื่องจากในเนื้อไก่ส่วนใหญ่มีจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญ (Aerobic microorganisms) เป็นตัวการสำคัญที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย เช่น *Pseudomonas* และยีสต์บางชนิด

เช่น *Torulopsis* และ *Rhodotorula* เป็นต้น (สุมาลี, 2527) ดังนั้นการเก็บรักษาเนื้อไก่ภายใต้สภาวะสุญญากาศ สามารถควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดให้มีจำนวนต่ำกว่าการเก็บรักษาที่สภาวะบรรยากาศปกติ อย่างไรก็ตาม ก็ยังมีแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะมีอากาศและไม่มีอากาศ เช่น พวก *Alteromonas putrefaciens* แบคทีเรียกรดแลกติกและพวกแกรมบวกรูปร่างกลมที่ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส รวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะบางชนิด เช่น *L. monocytogenes* ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่ตรวจพบมีมากขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ในการตรวจสอบปริมาณ *L. monocytogenes* ภายหลังจำลองการปนเปื้อน พบว่าในเนื้อไก่มีปริมาณ *L. monocytogenes* เริ่มต้น $3.6 \log \text{CFU}$ ต่อกรัม การเก็บรักษาภายใต้สภาวะบรรยากาศปกติและสุญญากาศที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำให้ปริมาณเชื้อค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา เมื่อเติมน้ำมันหอมระเหยกระชาย พบว่าปริมาณเชื้อลดลง $1.9 \log \text{CFU}$ ต่อกรัมในวันที่ 1 ของการเก็บรักษา และสามารถควบคุมปริมาณให้คงที่ที่ $1.8 \log \text{CFU}$ ต่อกรัมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (ภาพที่ 20ค) เมื่อเติมไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย พบว่าปริมาณ *L. monocytogenes* ลดลง $1.0 \log \text{CFU}$ ต่อกรัมในวันที่ 1 ของการเก็บรักษา และมีปริมาณเชื้อค่อนข้างคงที่ที่ $2.5 \log \text{CFU}$ ต่อกรัม ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (ภาพที่ 20ง) จะเห็นว่าสภาวะบรรยากาศที่มีออกซิเจนหรือสุญญากาศไม่มีผลต่อการรอดชีวิตและการเจริญของ *L. monocytogenes*

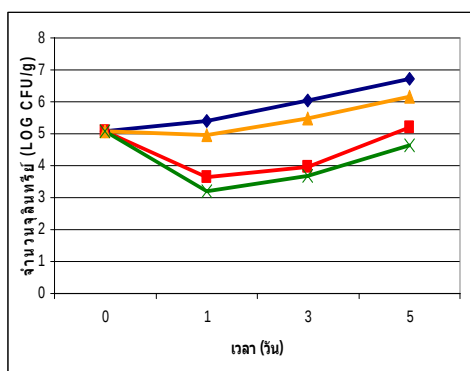
จากการทดลองพบว่าการใช้อุณหภูมิต่ำที่ 4 องศาเซลเซียส ไม่สามารถลดจำนวน *L. monocytogenes* เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ โดยส่วนใหญ่จะสามารถเจริญในอาหารได้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 25 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (Palumbo, 1986; Barnes *et al.*, 1999) การที่เชื้อ *L. monocytogenes* เจริญและปรับตัวได้ในสภาวะที่มีอุณหภูมิต่ำนั้นเป็นเพราะเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียประกอบด้วยกรดไขมันชนิดโมเลกุลสั้นและ/หรือกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว เนื่องจากกรดไขมันประเภทนี้มีจุดหลอมเหลวต่ำ ดังนั้นที่อุณหภูมิต่ำไขมันจึงยังคงสภาพความเป็นของเหลว ทำให้เซลล์ดำเนินกิจกรรมได้ตามปกติจึงสามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้ (สุมนหา, 2549)

สำหรับแบคทีเรียกรดแลกติกในเนื้อไก่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น $4.6 \log \text{CFU}$ ต่อกรัม เมื่อเก็บภายใต้สภาวะบรรยากาศปกติและสุญญากาศ เป็นเวลา 5 วัน พบว่าเชื้อมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 6.8 และ $6.3 \log \text{CFU}$ ต่อกรัม ตามลำดับ เมื่อเติมน้ำมันหอมระเหยกระชาย แบคทีเรียกรดแลกติกลดลง

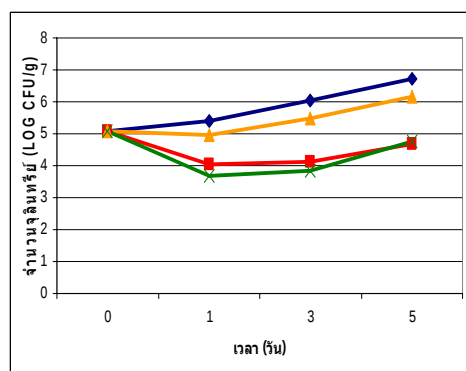
เพียง 0.7 และ 1.0 log CFU ต่อกรัมในวันที่ 1 ของการเก็บรักษา หลังจากนั้นปริมาณเชื้อคงที่เป็นเวลา 2 วันและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 20จ) แต่เมื่อเติมไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย กระชาย ร่วมกับการเก็บรักษาภายใต้สภาวะมีอากาศ สามารถควบคุมแบคทีเรียกรดแลคติกให้คงที่เป็นเวลา 3 วัน ในขณะที่การเก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศ สามารถควบคุมเชื้อได้ภายใน 1 วัน หลังจากนั้นแบคทีเรียกรดแลคติกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 20ฉ)

การที่แบคทีเรียกรดแลคติกทนต่อน้ำมันหอมระเหยกระชายสูง อาจมีกลไกบางอย่างต้านทานต่อน้ำมันหอมระเหยกระชาย ซึ่ง Cloete (2003) ได้ตั้งสมมติฐานว่าจุลินทรีย์บางชนิดอาจจะสร้างสารบางอย่างออกมาเพื่อป้องกันสารยับยั้งไม่ให้เข้าไปในเซลล์ หรือพื้นผิวของเซลล์แบคทีเรียจะทำอันตรกริยากับสารยับยั้งให้มีสภาพเป็นกลาง ทำให้คุณสมบัติของสารยับยั้งเปลี่ยนไป หรือหากสารยับยั้งเข้าสู่เซลล์จุลินทรีย์ เอนไซม์ภายในเซลล์จะเปลี่ยนโครงสร้างเคมีของสารยับยั้งทำให้ไม่สามารถทำลายเซลล์จุลินทรีย์ได้ หรือในบางกรณีเซลล์แบคทีเรียจะมีการปรับเปลี่ยนรูปร่างให้มีความต้านทานต่อสารยับยั้งสูงขึ้นก็อาจเป็นไปได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ เอกรินทร์ (2550) พบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกมีความต้านทานต่อสารสกัดกระชาย (MIC ร้อยละ 10) สูงกว่า *L. monocytogenes* ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวกเช่นกัน (MIC ร้อยละ 0.2-0.3)

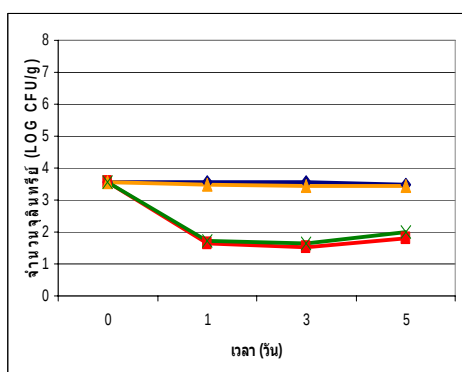
นอกจากนี้จากผลการทดลองจะเห็นว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้นทั้งหมดในเนื้อไก่ที่ใช้ในการทดลองมีปริมาณสูงมาก อันเนื่องมาจากการปนเปื้อนที่มีมาตั้งแต่แรกเป็นผลให้ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการทดลองลดลง ซึ่งถ้าไก่สดมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นต่ำกว่านี้คาดว่าน้ำมันหอมระเหยที่ใช้จะสามารถให้ผลในการยับยั้งได้มากขึ้น



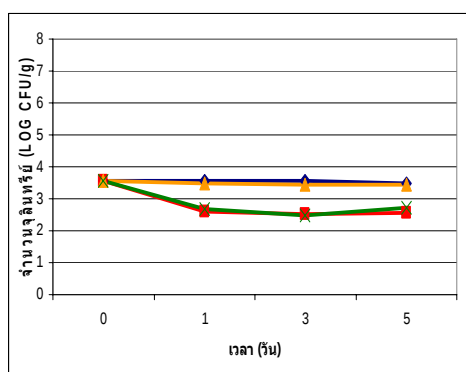
(ก)



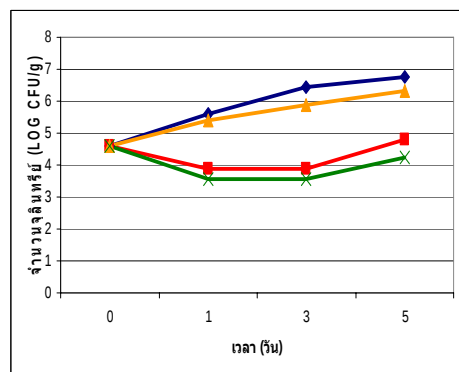
(ข)



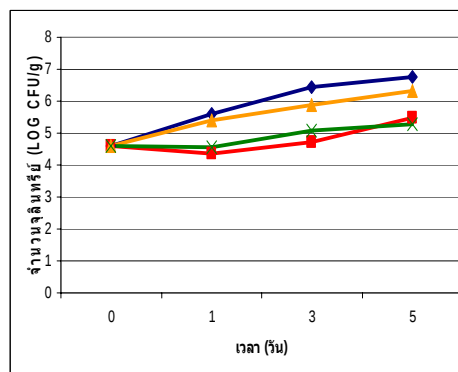
(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)

ภาพที่ 20 ผลของสภาวะการเก็บรักษาร่วมกับน้ำมันหอมระเหยกระชาย (ก ค และ จ) และไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย (ข ง และ ฉ) ต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (ก และ ข) *L. monocytogenes* (ค และ ง) และแบคทีเรียกรดแลคติก (จ และ ฉ) ของเนื้อไก่แช่เย็นในสภาวะบรรยากาศปกติและสุญญากาศ

◆ = สภาวะบรรยากาศปกติ ▲ = สภาวะสุญญากาศ

■ = น้ำมันหอมระเหยกระชายหรือไมโครแคปซูล

✕ = น้ำมันหอมระเหยกระชายหรือไมโครแคปซูล + สภาวะสุญญากาศ

ถึงแม้ว่าไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *L. monocytogenes* และแบคทีเรียกรดแลคติกได้น้อยกว่าน้ำมันหอมระเหย กระชายที่ไม่มีการกักเก็บ แต่ไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย ความเข้มข้นร้อยละ 4 สามารถควบคุมปริมาณ *L. monocytogenes* และชะลอการเจริญของแบคทีเรียแลคติกและจุลินทรีย์ ทั้งหมดได้เมื่อเทียบกับคอนโทรล อีกทั้งยังลดปัญหาด้านกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ จึงเป็น การช่วยยืดอายุการเก็บและเพิ่มความปลอดภัยของอาหารได้ในระดับหนึ่ง

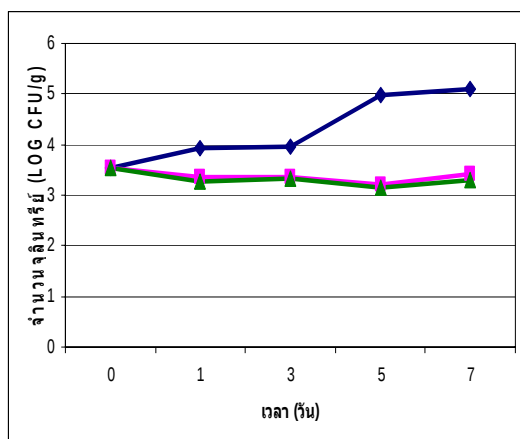
6.2 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยกระชาย และไมโคร แคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายในอาหารพร้อมบริโภค

ในอาหารพร้อมบริโภคจำพวกเนื้อสัตว์ เช่น ไส้กรอกอิมัลชันหรือฮอทดอก เป็นต้น มักเกิดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะ และจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ภายหลังการผลิต หรือในระหว่างการเก็บรักษาเพื่อรอจำหน่ายหรือบริโภคได้ง่าย โดยทั่วไปไส้ กรอกค็อกเทลไก่ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะมีอายุการเก็บรักษาเป็น 7 วัน ซึ่งพิจารณาตาม เกณฑ์การเน่าเสียของไส้กรอกแช่เย็น โดยไส้กรอกจะมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว บริเวณผิวมีลักษณะเป็น เมือกเยิ้ม และมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิน 6 log CFU ต่อกรัม (Loveday, 2007)

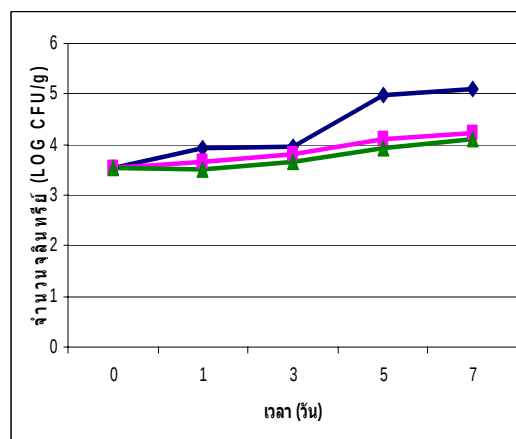
การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยกระชายและไมโครแคปซูลของน้ำมัน หอมระเหยกระชายในการป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ภายหลังกระบวนการ ผลิต โดยใช้ไส้กรอกค็อกเทลไก่เป็นโมเดลอาหารพร้อมบริโภค ทำได้โดยการเคลือบน้ำมันหอม ระเหยกระชายและไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายความเข้มข้นร้อยละ 4 และ 5 ต่อ น้ำหนักไส้กรอก บนผิวไส้กรอกค็อกเทลไก่ แล้วจำลองการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 3 log CFU ต่อกรัม ภายหลังการผลิต จากนั้นทำการเก็บในสภาวะ บรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

จากผลการทดสอบพบว่า คอนโทรลหรือไส้กรอกค็อกเทลไก่ที่ไม่ได้ใส่น้ำมันหอม ระเหยกระชายที่มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเริ่มต้นภายหลังการปนเปื้อนเท่ากับ 3.5 log CFU ต่อ กรัม และมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 5.1 log CFU ต่อกรัมในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา (ภาพที่ 21 ก และ ข) ส่วนในไส้กรอกค็อกเทลไก่ที่เติมน้ำมันหอมระเหยกระชาย ปริมาณร้อยละ 4 และ 5 (ปริมาตรต่อ

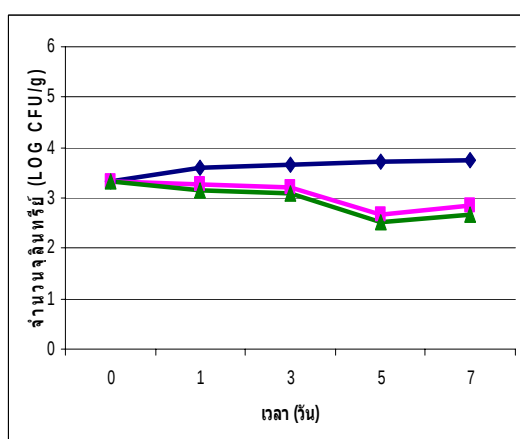
น้ำหนักร) พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดมีปริมาณค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลา 7 วัน โดยในวันที่ 7 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 3.3 และ 3.1 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 21ก)



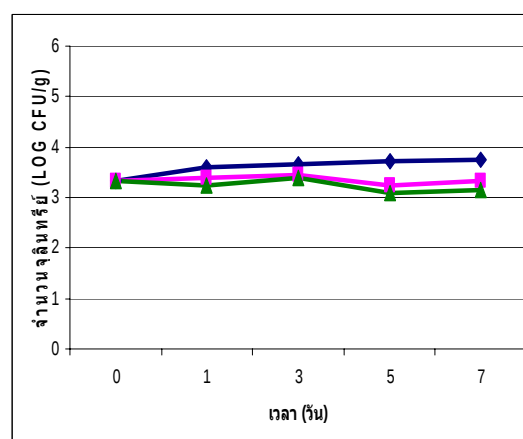
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

ภาพที่ 21 การยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยกระชาย (ก และ ค) และไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย (ข และ ง) ปริมาณร้อยละ 4 และ 5 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก) ต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (ก และ ข) และ *L. monocytogenes* (ค และ ง) ในไส้กรอกค็อกเทลไก่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสในสภาวะบรรยากาศปกติ

◆ = คอนโทรล ■ = น้ำมันหอมระเหยกระชายหรือไมโครแคปซูลร้อยละ 4
 ▲ = น้ำมันหอมระเหยกระชายหรือไมโครแคปซูลร้อยละ 5

ส่วนในไส้กรอกค็อกเทลไก่ที่เติมไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย ปริมาตรร้อยละ 4 และ 5 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก) พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยสามารถควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดให้ต่ำกว่าคอนโทรลตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (ภาพที่ 21ข)

ในการตรวจสอบปริมาณ *L. monocytogenes* ที่ปนเปื้อนบนไส้กรอกค็อกเทลไก่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 3.3 log CFU ต่อกรัม และเชื้อมีจำนวนเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บ 7 วัน การเคลือบน้ำมันหอมระเหยกระชายบนไส้กรอกค็อกเทลไก่ ปริมาตรร้อยละ 4 และ 5 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก) สามารถลดจำนวน *L. monocytogenes* ได้ในวันที่ 5 โดยลดจำนวนเชื้อสูงสุด 0.5 และ 0.6 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 21ค) เมื่อเคลือบไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายบนไส้กรอกค็อกเทลไก่ ปริมาตรร้อยละ 4 และ 5 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก) ควบคุมจำนวน *L. monocytogenes* ให้คงที่ตลอดระยะเวลาเก็บ 7 วัน โดยปริมาณความเข้มข้นของไมโครแคปซูลต่างกันให้ผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ไม่ต่างกัน (ภาพที่ 21ง)

จากการทดลองจะพบว่า การใช้ไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายปริมาตรร้อยละ 4 และ 5 สามารถควบคุม *L. monocytogenes* ไม่ให้เพิ่มจำนวนตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา แต่ไม่สามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในไส้กรอกค็อกเทลไก่ได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณสารที่เป็นองค์ประกอบของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายมีน้อย

จากการทดลองพบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อไก่และไส้กรอกค็อกเทลไก่ไม่เท่ากัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากวิธีการในการใช้น้ำมันหอมระเหยหรือไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกับอาหาร โดยในเนื้อไก่จะเป็นการแช่และหมักน้ำมันหอมระเหยหรือไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหย ส่วนในไส้กรอกค็อกเทลไก่ จะเป็นการชุบน้ำมันหอมระเหยหรือไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยในระยะเวลาสั้นๆ ทำให้น้ำมันหอมระเหยหรือไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยบนเนื้อไก่หรือไส้กรอกค็อกเทลไก่ที่ทำการเก็บรักษาในระยะเวลาเดียวกันมีปริมาณไม่เท่ากัน ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในไส้กรอกค็อกเทลไก่จึงลดลง นอกจากนี้การที่ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยกระชายและไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายในไส้กรอกค็อกเทลไก่ลดลงเมื่อเทียบกับในเนื้อไก่สด อาจเนื่องมาจากในไส้กรอกค็อกเทลไก่เป็นอาหารที่มีองค์ประกอบที่ซับซ้อนและมีสารอาหารที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากกว่าในเนื้อไก่สด ดังนั้นจุลินทรีย์จึงมีโอกาสดำรงชีพในไส้กรอกค็อกเทลไก่ได้อย่างเต็มที่ และอีก

ประการหนึ่ง ในไส้กรอกค็อกเทลก็มีปริมาณไขมันและโปรตีนสูง ทำให้น้ำมันหอมระเหยเกิดอันตรกิริยากับไขมันในอาหาร จึงมีผลต่อประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ลดลง โดยไขมันจะทำให้สารประกอบที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อของน้ำมันหอมระเหยมีโอกาสแพร่เข้าสู่เซลล์ของจุลินทรีย์ได้น้อยลง โดยไขมันจะขัดขวางการทำปฏิกิริยาของสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียกับเซลล์แบคทีเรีย จึงทำให้สารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งไม่สามารถแทรกเข้าสู่ผนังเซลล์แบคทีเรียได้ ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จึงลดลง สอดคล้องกับรายงานของ Singh *et al.* (2003) ที่พบว่าปริมาณไขมันและโปรตีนที่เพิ่มขึ้นในฮอตดอก มีผลทำให้ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยลดลง นอกจากนี้ปริมาณน้ำในอาหารยังมีผลต่อประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยเช่นกัน โดยสารที่ให้ผลในการยับยั้งการเจริญจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับจุดที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาที่เซลล์ของจุลินทรีย์ ซึ่งถ้าในอาหารมีน้ำมากจะทำให้มีการถ่ายเทสารได้ดีมากขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยเพิ่มมากขึ้น (Shelef, 1984)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. จากการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะของน้ำมันหอมระเหย 11 ชนิด ด้วยวิธี Agar dilution พบว่าน้ำมันหอมระเหยกระชายมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วงร้อยละ 0.1-2
2. เมื่อสกัดน้ำมันหอมระเหยกระชายด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินที่อัตราส่วนเริ่มต้น 25:75, 30:70, 40:60 และ 50:50 พบว่าอัตราส่วน 30:70, 40:60 และ 50:50 มีประสิทธิภาพในการสกัดน้ำมันหอมระเหยไม่แตกต่างกัน ในขณะที่อัตราส่วน 50:50 มีความสามารถในการสกัดสูงที่สุด
3. ไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายมีสีขาวนวล เมื่อมองด้วยตาเปล่าไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ แต่เมื่อตรวจสอบด้วยเครื่องวัดสีพบว่าไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย จะมีความขาวลดลงและมีสีเหลืองปนเขียวเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนของน้ำมันหอมระเหยกระชายเพิ่มขึ้น
4. ไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนของน้ำมันหอมระเหยกระชายเพิ่มขึ้น
5. ไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 40:60 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่มีอาหารเป็นพาหะต่ำกว่าน้ำมันหอมระเหยกระชายเล็กน้อย โดยมีค่า MIC ของแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวก ร้อยละ 0.2 และแบคทีเรียแกรมลบ ร้อยละ 0.2-0.4
6. จากภาพถ่ายอิเล็กตรอนพบว่าลักษณะโครงสร้างของเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน มีรูปร่างเป็นผลึกออสันฐาน พื้นผิวค่อนข้างเรียบ โมเลกุลไม่เกาะรวมกัน ส่วนไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชายอัตราส่วน 40:60 พบว่าบริเวณพื้นผิวมีลักษณะขรุขระ และมีผลึกขนาดเล็กเกาะอยู่บนพื้นผิว

7. น้ำมันหอมระเหยกระชาย มีพฤกษเคมีที่เป็นองค์ประกอบทั้งหมด 13 ชนิด สารที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ ทรานส์เบต้าออกซิมีน แคมเฟอร์ ยูคาลิปตอล และเจอร์านิออล ส่วนไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย แยกพฤกษเคมีที่เป็นองค์ประกอบออกได้เพียง 2 ชนิด คือ แคมเฟอร์ และเมทิลซินนามต

8. ไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อไก่สดและไส้กรอกค็อกเทลไก่ได้น้อยกว่าน้ำมันหอมระเหยกระชายที่ไม่มีการกักเก็บเมื่อใช้ในความเข้มข้นเดียวกัน แต่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ไม่ให้เพิ่มจำนวนตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อไก่สดแช่เย็นและไส้กรอกค็อกเทลไก่ สามารถเสนอเป็นแนวทางในการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมดังนี้

1. การศึกษานี้เป็นแนวทางในการนำไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย ไปใช้ในการป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ชนิดอื่นๆ เช่น เนื้อวัว เนื้อหมู แสม ลูกชิ้น เป็นต้น ทั้งนี้การประยุกต์นำไปใช้ควรดูความเหมาะสมและที่สำคัญที่สุดควรทำให้กลิ่น (odor) กลิ่นรส (flavor) และรสชาติ (taste) ของอาหารชนิดนั้นๆ ไม่เปลี่ยนแปลง

2. การศึกษานี้เป็นแนวทางในการนำไมโครแคปซูลของน้ำมันหอมระเหยกระชาย ไปใช้ในการป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคนิชนิดอื่นๆ ในเนื้อสัตว์ เช่น *Salmonella*, *E. coli* เป็นต้น เพื่อเพิ่มความปลอดภัยในอาหารจำพวกเนื้อสัตว์

3. ในการวิจัยครั้งต่อไปควรศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นๆ ที่มีการกักเก็บด้วยเบต้าไซโคเดกซ์ทริน เพื่อเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ และลดการเกิดกลิ่นรบกวนต่อผลิตภัณฑ์อาหาร

4. ผู้ประกอบการหรือผู้ผลิตอาหาร ควรผลิตอาหารอย่างถูกสุขลักษณะ เพื่อลดปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่มีมาตั้งแต่แรก ซึ่งงานวิจัยนี้จะไปช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ในระดับหนึ่งและควบคุมจำนวนจุลินทรีย์ที่เหลือรอดไม่ให้เพิ่มจำนวนระหว่างการเก็บรักษา จึงเป็นการเพิ่มความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์อาหาร อีกทั้งยังช่วยยืดอายุในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารให้นานขึ้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- ชัยณรงค์ รัตนกริธากุล, สุภัทรา จามกระโทก, ชลิดา เล็กสมบุญ, นววรรณ ฟารุ่งสาธ และ อุดม ฟารุ่งสาธ. 2548. องค์ประกอบทางเคมีบางประการของน้ำมันกระชายและฤทธิ์ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช, ใน รายงานการประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- บัญญัติ สุขศรีงาม. 2518. ประสิทธิภาพของเครื่องเทศบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของ จุลินทรีย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- นลินี จารกภากร. 2545. เกษตรสมุนไพร (ขมิ้น). สมุนไพรเพื่อสุขภาพ. 2(16): 77-78.
- นิจศิริ เรืองรังษี. 2534. เครื่องเทศ. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- ศศิกานต์ อึ้งนิภากุล. 2546. การใช้สารผสมเปอร์ออกไซด์ออกซิไดซ์ในการลดปริมาณ *Listeria monocytogenes* ปนเปื้อนในกึ่งสดก่อนกระบวนการแช่เยือกแข็ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- สุพจน์ ศิลาณเกตุ. 2543. สมุนไพรเครื่องเทศและพืชปรุงแต่งกลิ่นรส. สำนักพิมพ์ประพันธ์-สาส์น จำกัด, กรุงเทพฯ.
- สุมาลี เหลืองสกุล. 2527. จุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร, กรุงเทพฯ.
- สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2549. จุลชีววิทยาทางอาหาร. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- เอกรินทร์ ภัทรชนวนดี. 2550. การสกัดเครื่องเทศของไทยด้วยตัวทำละลายร่วมกับคลื่นเสียง ความถี่สูงและประสิทธิภาพของสารสกัดเครื่องเทศร่วมกับ EDTA ในการยับยั้งจุลินทรีย์ ในอาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

- Adiguzul, A., M. Gullucel, M. Sengul, H. Ogutcu, F. Sahin and I. Karaman. 2005. Antimicrobial Effects of *Ocimum basilicum* (Labiatae) Extract. **Turk J. Biol.** 29: 155-160.
- Aenderung, L. 2008. **Index of chemistry**. Available Source: <http://www.chemie.fu-berlin.de/chemistry/oc/terpene/gif/>, April 18, 2008.
- Ahmad, I and A.Z. Beg. 2001. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. **J. Ethnopharmacol** 74: 113-23.
- Akin-Osanaiye, B.C., A.S. Agbaji and M.A. Dakare. 2007. Antimicrobial activity of oils and extracts of *Cymbopogon citratus* (Lemon grass), *Eucalyptus citriodora* and *Eucalyptus camaldulensis*. **J. Med. Sci.** 7: 694-697.
- Aureli, P., A. Constatini and S. Zolea. 1992. Antimicrobial activity of some plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. **J. Food Prot.** 55: 344-348.
- Barakat, R.K. and L.J. Harris. 1999. Growth of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* on cooked modified-atmosphere-packaged poultry in the presence and absence of a naturally occurring microbiota. **Appl. Environ. Microbiol.** 65: 342-345.
- Baranowski, J. D. and C.W. Nagel. 1982. Inhibition of *Pseudomonas fluorescens* by hydroxycinnamic acids and their alkyl esters. **J. Food Sci.** 47(5): 1587-1589.
- Barnes, E.M., G.C. Mead, C.S. Impey and B.W. Adams. 1999. **Spoilage Organisms of Refrigerated Poultry Meat**. Academic Press, Inc., New York.
- Baudoux, D. 2002. Antiviral and Antimicrobial Properties of Essential Oils. **Complementary Medicine Magazine**. Available Source: <http://www.Antiviral and Antimicrobial Properties of Essential Oils by DominiqueBaudoux.html>, December 28, 2005.

- Bhandari, B.R., B.R. D'Arcy and L.L. Thi Bich. 1998. Lemon oil to β -cyclodextrin ratio effect on the inclusion efficiency of β -cyclodextrin and the retention of oil volatiles in the complex. **J. Agr. Food Chem.** 46: 1494-1499.
- Bhandari, B.R., B.R. D'Arcy and I. Padukka. 1999. Encapsulation of lemon oil by paste method using β -cyclodextrin: encapsulation efficiency and profile of oil volatiles. **J. Agr. Food Chem.** 47: 5194-5197.
- Bohaychuk, V.M., G.E. Gensler, R.K. King, K.I. Manninen, O. Sorensen, J.T. Wu, M.E. Stiles and L.M. McMullen. 2006. Occurrence of pathogens in raw and ready-to-eat meat and poultry products collected from the retail marketplace in Edmonton, Alberta, Canada. **J. Food Prot.** 69: 2176–2182.
- Branen, J.K. and P.M. Davidson. 2004. Enhancement of nisin, lysozyme, and monolaurin antimicrobial activities by ethylenediaminetetraacetic acid and lactoferrin. **Int. J. Food Microbiol.** 90: 63-74.
- Burt, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods- A review. **Food Microbiol.** 94: 223-253.
- Canillac, N. and A. Mourey. 2001. Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. **Int. J. Food Microbiol.** 18: 261-268.
- Chacon, P.A., R.A. Buffo and R.A. Holley. 2006. Inhibitory effects of microencapsulated allyl isothiocyanate (AIT) against *Escherichia coli* O157:H7 in refrigerated, nitrogen packed, finely chopped beef. **Food Microbiol.** 107: 231-237.
- Challa, R., A. Ahuja, J. Ali and R. Khar. 2005. Cyclodextrins in drug delivery: An updated review. **AAPS Pharm. Sci. Tech.** 6(2): E329-E357.

- Cloete, T.E. 2003. Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds. **Int. Biodet. Biodeg.** 51: 277-282.
- Davidson, P.M. and A.L. Branen. 1981. Antimicrobial activity of non-halogenated phenolic compounds. **J. Food Prot.** 44: 623–632.
- De Souza, A. R.R. Santos-Jra, D. N. Sato, M. M. M. de Azevedoc, A. Denise, J. F. Ferreira-Julio, P. S. Melo, M. Haun, L. S. Celio and N. Duran. 2004. Free 2-propen-1-amine derivative and inclusion complexes with β -cyclodextrin: Scanning electron microscopy, dissolution, cytotoxicity and antimycobacterial activity. **J. Braz. Chem. Soc.** 15(5): 682-689.
- Denyer, S.P. and W.B. Hugo. 1991. Mechanisms of antibacterial action-a summary, pp. 331– 334. In S.P., Denyer and W.B. Hugo, eds. **Mechanisms of Action of Chemical Biocides**, Blackwell, Oxford.
- Delaquis, P.J., K. Stanich, B. Girarg and G. Mazza. 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. **Int. J. Food Microbiol.** 74: 101–109.
- Doman, H.J. and S.G. Deans. 2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial of plant volatile oils. **J. Appl. Microbiol.** 88: 308-316.
- Dziezak, J.D. 1988. Microencapsulation and encapsulated ingredients. **Food Technol.** 42: 136–151.
- Fennema, O.R. 1996. **Food Chemistry**, 3rd ed. Marcel Dekker, Inc. New York.

- Friedman, M., P.R. Henika and R.E. Mandrell. 2002. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. **J. Food Prot.** 65: 1545-1560.
- Fromming, K.H. and J. Szejtli. 1994. **Cyclodextrin in Pharmacy**. Dordrecht, Inc. Boston-London.
- Gaysinsky. S., P.M. Davidson, B.D. Bruce and J. Weiss. 2005a. Stability and antimicrobial efficiency of eugenol encapsulated in surfactant micelles as affected by temperature and pH. **J. Food Prot.** 68: 1359-1366.
- Gaysinsky. S., P.M. Davidson, B.D. Bruce and J. Weiss. 2005b. Growth inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* by carvacral and eugenol encapsulated in surfactant micelles. **J. Food Prot.** 68: 2559-2566.
- Gaysinsky. S., T.M. Taylor, P.M. Davidson, B.D. Bruce and J. Weiss. 2007. Antimicrobial efficacy of eugenol microemulsions in milk against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7. **J. Food Prot.** 70: 2631-2637.
- Ghfir, B., J.L. Fonvieille, Y. Koulali, R. Ecalle and R. Dargent. 1994. Effect of essential oil of *Hyssopus officinalis* on the lipid composition of *Aspergillus fumigatus*. **Mycopathologia.** 126: 163-167.
- Gill, A.O., P. Delaquis, P. Russo and R.A. Holley. 2002. Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. **Int. J. Food Microbiol.** 73: 83-92
- Guven, A. and B. Patir. 1998. Studies of the *Listeria* species in some meat and meat products consumed in Elazig city. **Tur. J. Vet. Sci.** 22: 205-212.

- Hadaruga, D. I., N.G. Hadaruga, , D. Resiga, V. Pode, D. Dumbrava and A. Lupea. 2007. Obtaining and characterization of sage (*Salvia sclarea L.*) essential oil / β -cyclodextrin supramolecular system. **Rev. Chem.** 58: 566-573.
- Huang, D., O. Boxin and R. L. Prior. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J. Agric. Food Chem.** 53: 1841-1856.
- Hwang, J.K., J.Y. Chung, N.I. Baek and J.H. Park. 2004. Isopanduratin A from *Kaempferia pandurata* as an active antibacterial agent against cariogenic *Streptococcus mutans*. **Int. J. Antimicrob. Agents.** 23: 377-381.
- Jackson, S.J., and K. Lee. 1991. Microencapsulation and the food industry. **Lebensmittel-Wissenschaft Technol.** 24: 289-297.
- Jay, J.M. 1992. **Modern Food Microbiology**. 4th ed. Chapman and Hall., New York.
- Jayaprakasha, G.K., L. Jagan, M. Rao and K.K. Sakariah. 2005. Chemistry and biological activities of *Curcuma longa*. **Trends Food Sci. Tech.** 16: 533-548.
- Kenneth, T. 2003. *Listeria monocytogenes* and Listeriosis. **Todar's Online Textbook of Bacteriology**. Available Source: <http://www.textbookofbacteriology.net/Listeria.html>, December 15, 2005.
- Kim, J., M.R. Marshall and C. Wei. 1995. Antimicrobial activity of some essential oils components against five foodborne pathogens. **J. Agric. Food Chem.** 43: 2839-2845.
- Klinkesorn, U., P. Sophanodora, P. Chinachoti, E. A. Decker and D. J. McClements. 2006. Characterization of spray-dried tuna oil emulsified in two-layered interfacial membranes prepared using electrostatic layer-by-layer deposition. **Food Res. Int.** 39: 449-457.

- Kulkarni, A. P. and S. M. Aradhya. 2005. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. **Food Chem.** 93: 319-324.
- Labuza, T.P. 1982. Shelf-Life Dating of Foods. **Food and Nutrition Press Inc.**, Connecticut, USA.
- Lertsatitthanakorn, P., S. Taweechaisupapong, C. Aromdee and W. Khunkitti. 2006. In vitro bioactivities of essential oils used for acne control. **Int. J. Aromatherapy.** 16: 43-49.
- Leuschner, R.G.K. and J. Zamparini. 2002. Effects of spices on growth and survival of *Escherichia coli* O157 and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in broth model systems and mayonnaise. **Food Control.** 13: 399-404.
- Lin, Y.T, R.G. Labbe and K. Shetty. 2004. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in fish and meat systems by use of oregano and cranberry phytochemical synergies. **Appl. Environ. Microbiol.** 70: 5672-5678.
- Liu, X.D., T. Furuta , H. Yoshii , P. Linko and W.J. Coumans. 2000. Cyclodextrin encapsulation to prevent the loss of l-menthol and its retention during drying. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 64: 1608-1613.
- Loveday, H. D. 2007. **Meat Storage Guidelines**. Available Source: http://www.healthgoods.com/Education/Nutrition_Information/Food_Safety_and_Storage/meat_storage_guidelines.htm, April 18, 2008.
- Madene, A., M. Jacquot, J. Scher and S. Desobry. 2006. Flavour encapsulation and controlled release – A review. **Int. J. Food Sci. Technol.** 41: 1–21.
- Marriott, N.G. 1997. **Essential of Food Sanitation**. Chapman and Hall., New York.

- Martin, A., P. Bustamante and A.H.C. Chun. 1993. **Physical Pharmacy: Physical Chemical Principles in The Pharmaceutical Sciences**. 3rd ed . Philadelphia: Lea&Febiger.
- Mouray, A. and N. Canillac. 2002. Anti-listeria monocytogenes activity of essential oil components of conifers. **Food Control**. 13: 289–292.
- Nakahara, K., N.S. Alzoreky, T. Yoshihashi, H.T.T. Nguyen and G. Trakoon. 2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cymbopogon nardus* (Citronella Grass). **JPN. Agric. Res. Q.** 37: 249-252.
- NCCLS. 2002. **Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Baterial Isolated from Animals**; Approved Standard-2nd ed. M31-A2. 6: 22.
- Oonmetta-aree, J., T. Suzuki, P. Gasaluck and G. Eumkeb. 2006. Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. **LWT-Food Sci. Technol.** 39: 1214-1220.
- Oussalah, M., S. Caillet, L. Saucier and M. Lacroix. 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**. 18: 414-420.
- Ozbey, G., H. B. Ertas, and F. Kok. 2006. Prevalence of *Listeria* species in camel sausages from retail markets in Aydin province in Turkey and RAPD analysis of *Listeria monocytogenes* isolates. **Irish Vet. J.** 59: 342-344.
- Padukka, I, B. Bhandari and B. D'Arcy. 2000. Evaluation of various extraction methods of encapsulated oil from β -cyclodextrin-lemon oil complex powder. **J. Food Compos. Anal.** 13: 59-70.

- Pagington, J.S. 1986. **β -cyclodextrin and its use in the flavour industry**. In Development in Foods (G. G. Birch, and M.G. Lindly, Eds.) Elsevier Applied Science: London, U.K.
- Pagotto, F., C. Clark, J. Farber, N. Corneau, J. Ismail, M. Lorange and D. Warburton. 2003. Human infection in Canada caused by *Listeria monocytogenes*. In Proceedings of the International Association for Food Protection Annual Meeting, New Orleans, Los Angeles.
- Palumbo, S.A. 1986. Is refrigeration enough to restore foodborne pathogen. **J. Food Prot.** 49: 1003-1009.
- Pranoto, Y., V.M. Salokhe and S.K. Rakshit. 2004. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. **Food Res. Int.** 38: 267–272.
- Rasooli, I., M.B. Rezaei and A. Allameh. 2006. Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlock*. **Food Control.** 17: 359-364.
- Raybaudi-Massilia, R. M., J. Mosqueda-Melgar and O. Martín-Belloso. 2006. Antimicrobial activity of essential oils on *Salmonella* Enteritidis, *Escherichia coli*, and *Listeria innocua* in fruit juices. **J. Food Prot.** 69: 1579-1586.
- Riebroy, S., S. Benjakul, W. Visessanguin and M. Tanaka. 2005. Physical properties and microstructure of commercial Som-fug, a fermented fish sausage. **Eu. Food Res. Technol.** 220: 520-525.
- Risch, S.J. and G.A. Reineccius. 1988. **Flavor Encapsulation**. American Chemical Society: Washington. DC, USA.

- Risch, S.J. and G.A. Reineccius. 1995. **Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients**. American Chemical Society: Washington. DC, USA.
- Robards, K., P. D. Prenzler, G. Tucker, P. Swatsitang and W. Glover. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chem.** 66: 401-436.
- Rocourt, J., C. Jacquet and A. Reilly. 2000. Epidemiology of human listeriosis and seafood. **Int. J. Food Microbiol.** 62: 197-209.
- Samelis, J. and J. Metaxopoulos. 1999. Incidence and principal sources of *Listeria spp.* and *Listeria monocytogenes* contamination in processed meats and a meat processing plant. **Food Microbiol.** 16: 465–477.
- Scott, K. 2000. Listeria Outbreak in Cargill Turkey Poses Problems for Meat Industry. **Wall Street Journal**. Available Source: <http://www.mindfully.org/Food/Listeria-Cargill-Turkey.html>, December 15, 2005.
- Shelef, L.A. 1984. Antimicrobial effect of spices. **J. Food Safety** 6: 29-44.
- Shukla, Y. and M. Singh. 2007. Cancer preventive properties of ginger: A brief review. **Food Chem Toxicol.** 45: 683-690.
- Sikkema, J., J.A.M.D. Bont and B. Poolman. 1995. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. **Microbiol. Rev.** 59: 201– 222.
- Singh, R. P., K. N.C. Murthy and G. K. Jayaprakasha. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using *in Vitro* models. **J. Agric. Food Chem.** 40: 81-86.

- Singh, A., R.K. Singh, A.K. Bhunia and N. Singh . 2003. Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. **LWT-Food Sci. Technol.** 787–794.
- Song, S.H., H.J. Lee, S.J. Chang and G.J. Wood. 1993. Microencapsulation of garlic oil with β -cyclodextrins. **Food Biotechnol.** 2: 132-135.
- Swaminathan, B. and G.S. Peter. 2007. The epidemiology of human listeriosis. **Microbs. and Infection.** 9: 1236-1243.
- Szejtli, J. 1982. **Cyclodextrins and Their Inclusion Complexes.** Cyclolab Ltd., Budapest.
- Szente, L. and J. Szejtli. 1988. Stabilization of flavours by cyclodextrin. In *Flavour Encapsulation*. (S. J. Risch, and G. Reineccius, Eds.), pp. 148-157. American Chemical Society, Washington DC.
- Tainter, D.R. and A.T. Grenis. 2001. **Spices and Seasonings: A Food Technology Handbook.** 2nd ed. John Wiley and Sons, Inc, Canada.
- Tatsuoka, N., K. Hara, K. Mikuni, K. Hara, H. Hashimoto and H. Itabashi. 2008. Effect of the essential oil cyclodextrin complexes on ruminal methane production in vitro. **Animal Sci. J.** 79: 68-75.
- Thongson, C., P.M. Davidson, W. Mahakarnchanakul and J. Weiss. 2004. Antimicrobial activity of ultrasound-assisted solvent-extracted spices. **Lett. Appl. Microbiol.** 39: 401-406.
- Thongson, C., P.M. Davidson, W. Mahakarnchanakul and P. Vibulsreth. 2005. Antimicrobial effect of Thai spices against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* DT104. **J. Food Prot.** 68: 2054-2058.

- Tuchinda, P., V. Reutrakul, P. Claeson, U. Pongprayoon, T. Sematong, T. Santisuk and W.C. Taylor. 2002. Anti-inflammatory cyclohexenyl chalcone derivatives in *Boesenbergia pandurata*. **Phytochem.** 59: 169-173.
- Viyoch, J., N. Pisutthanan, A. Faikreua, K. Nupangta, K. Wangtorpol and J. Ngokkuen. 2006. Evaluation of *in vitro* antimicrobial activity of Thai basil oils and their micro-emulsion formulas against *Propionibacterium acnes*. **Int. J. Cosm. Sci.** 28: 125–133.
- Voravuthikunchai, S.P., W. Popaya and T. Supavita. 2004. Antibacterial activity of crude extracts of medicinal plants used in Thailand against pathogenic bacteria. **J. Ethnopharm.** 33: 60-65.
- Voravuthikunchai, S.P., S. Phongpaichit and S. Subhadhirasakul. 2005. Antibacterial activity of extracts from family Zingiberaceae against foodborne pathogens. **J. Food Safety.** 26: 325-425.
- Wolfe, K., X. Wu and R. H. Liu. 2003. Antioxidant activity of apple peels. **J. Agric. Food Chem.** 51: 609-614.
- Yano, Y., M. Satomi and H. Oikawa. 2006. Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. **Int. J. Food Microbiol.** 111: 6-11.
- Yoshii, H., F. Takeshi, M. Asada and H. Sugisava. 1992. Quantitative analysis by X-ray diffraction of the inclusion complex formed by d-limonene in a β -cyclodextrin / maltodextrin mixed powder. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 56: 384-387.
- Yousef, A.E. and C. Carlstrom. 2003. **Food Microbiology: A Laboratory Manual.** John Wiley and Sons, Inc., Canada.

Zaeoung, S., A. Plubrukarn and N. Keawpradub. 2005. Cytotoxic and free radical scavenging activity of zingiberaceous rhizome. **Songklanakarin. J. Sci. Techol.** 27: 799-812.

Zivanovic, S., S. Chi and A.F. Draughon. 2005. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. **J. Food Sci.** 70: M45-51.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Trypticase Soy Agar (TSA, Merck Laboratories, Darmstadt, Germany)

Peptone from casein	15.0	กรัม
Peptone from soymeal	5.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Agar-agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยต้มให้เดือดในอ่างน้ำร้อนหรือตั้งบนเปลวไฟโดยตรง นิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2. Trypticase Soy Agar + Yeast extract (TSAYE, Merck Laboratories, Darmstadt, Germany)

Peptone from casein	15.0	กรัม
Peptone from soymeal	5.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Agar-agar	15.0	กรัม
Yeast extract	6.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยต้มให้เดือดในอ่างน้ำร้อนหรือตั้งบนเปลวไฟโดยตรง นิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

3. Trypticase Soy Broth (TSB, Merck Laboratories, Darmstadt, Germany)

Peptone from casein	17.0	กรัม
Peptone from soymeal	3.0	กรัม
D (+) Glucose	2.5	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
<i>di</i> -Potassium hydrogen phosphate	2.5	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

4. Trypticase Soy Broth + Yeast extract (TSAYE, Merck Laboratories, Darmstadt, Germany)

Peptone from casein	15.0	กรัม
Peptone from soymeal	5.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Yeast extract	6.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยต้มให้เดือดในอ่างน้ำร้อนหรือตั้งบนเปลวไฟโดยตรง นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

5. Diluent (Merck Laboratories, Darmstadt, Germany)

Peptone from meat	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายสารในน้ำกลั่นให้เข้ากัน เทใส่หลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

6. De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar (Merck Laboratories, Darmstadt, Germany)

Peptone from casein	10.0	กรัม
Meat extract	8.0	กรัม
Yeast extract	4.0	กรัม
D (+) Glucose	20.0	กรัม
<i>di</i> -Potassium hydrogen phosphate	2.0	กรัม
Tween [®] 80	1.0	กรัม
<i>di</i> -Ammonium hydrogen citrate	2.0	กรัม
Sodium acetate	5.0	กรัม
Magnesium sulfate	0.2	กรัม
Manganese sulfate	0.04	กรัม
Agar-agar	14.0	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยต้มให้เดือดในอ่างน้ำร้อนหรือตั้งบนเปลวไฟโดยตรง นิ่งมาเชื้อที่อุณหภูมิ 118 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

7. Oxford agar (Oxoid Ltd., Hampshire, U.K.)

Oxford agar base (CM 856)

Columbia blood agar base	19.5	กรัม
Aesculin	0.5	กรัม
Ferric ammonium citrate	0.25	กรัม
Lithium chloride	7.5	กรัม

7.2 Oxford selective supplement (SR 140) สำหรับอาหาร Oxford agar base ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

Cycloheximide	200.0	มิลลิกรัม
Colistin sulphate	10.0	มิลลิกรัม
Acriflavine	2.5	มิลลิกรัม
Cefotetan	1.0	มิลลิกรัม
Fosfomycin	5.0	มิลลิกรัม

ชั่ง Oxford agar base 27.75 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที วางทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงเป็น 50 องศาเซลเซียส จากนั้นเติม Oxford selective supplement ที่ละลายในเอทานอล 70% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ข
วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH) assay (ดัดแปลงจาก Singh *et al.*, 2002)

1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1.1.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 1.1.2 เครื่องทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenizer)
- 1.1.3 เครื่องสั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียง (Sonicator)
- 1.1.4 เครื่องหมุนเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerate centrifuge)
- 1.1.5 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง
- 1.1.6 ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร
- 1.1.7 หลอดทดลอง
- 1.1.8 ปิเปตขนาด 5 มิลลิลิตร

1.2 สารเคมี

- 1.2.1 เมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80
- 1.2.2 สารละลาย DPPH เข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์

1.3 วิธีการสกัด

- 1.3.1 นำตัวอย่างแห้งซึ่งให้น้ำหนักที่แน่นอน 2.000 กรัม
- 1.3.2 เติมนเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
- 1.3.3 ปั่นด้วยเครื่องทำให้เป็นเนื้อเดียวกันที่อุณหภูมิ 4 °ซ นาน 1 นาที
- 1.3.4 นำไปเข้าเครื่องสั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียงที่อุณหภูมิ 4 °ซ นาน 20 นาที
- 1.3.5 หมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 °ซ ด้วยความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที ด้วยหัว rotor F28/36 (ประมาณ 4598 x g) นาน 20 นาที
- 1.3.6 แยกส่วนใสไว้ และนำส่วนตะกอนไปสกัดอีกครั้งหนึ่งตั้งแต่ข้อ 1.3.2 -1.3.5

1.3.7 นำส่วนใสมารวมกัน ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 ให้ได้ 50 มิลลิลิตร

1.4 วิธีการวิเคราะห์

1.4.1 นำสารสกัดมาเจือจางให้มีความเข้มข้นต่างๆ ด้วยเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80

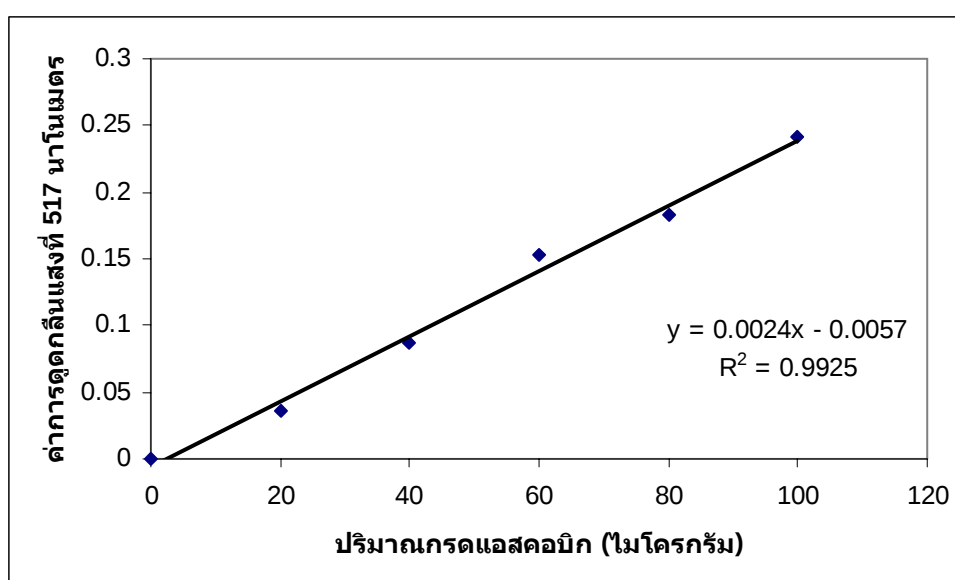
1.4.2 นำสารสกัด 100 ไมโครลิตรใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำละลาย DPPH เข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าอย่างรุนแรง ปล่อยให้ 20 นาที

1.4.3 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

1.4.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงควบคุม (Control OD) โดยทำตามข้อ 1.4.2-1.4.3 แต่ใช้สารละลายเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 แทนสารสกัด

1.5 วิธีการคำนวณ

ปริมาณสารต้านออกซิเดชันคำนวณได้โดยแทนค่าความยาวคลื่นที่วัดได้ลงในสมการจากกราฟมาตรฐาน



ภาพผนวกที่ ข1 กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และความเข้มข้นของกรดแอสคอบิก

2. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Content)

2.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

2.1.1 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง

2.1.2 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง

2.1.3 คิวเวต

2.1.4 หลอดทดลอง

2.1.5 ไมโครปิเปตขนาดช่วง 40-200 และ 100-1000 ไมโครลิตร

2.1.6 ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

2.2 สารเคมี

2.2.1 สารฟอลิน ซีโอเคาเทอ (Folin ciocalteu reagent)

2.2.2 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 7

2.2.3 สารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid)

2.3 วิธีการวิเคราะห์

2.3.1 สร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร (แกน Y) และความเข้มข้นของกรดแกลลิก (แกน X) โดยความเข้มข้นของกรดแกลลิกอยู่ในช่วง 0-100 ไมโครกรัม ได้กราฟมาตรฐานดังภาพผนวกที่ ข2

2.3.2 ปิเปตสารสกัด 100 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นอยู่ 500 ไมโครลิตร

2.3.3 เติมสารฟอลิน ซีโอเคาเทอ 100 ไมโครลิตร ปั่นไว้อย่างน้อย 6 นาที

2.3.4 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 7 ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร

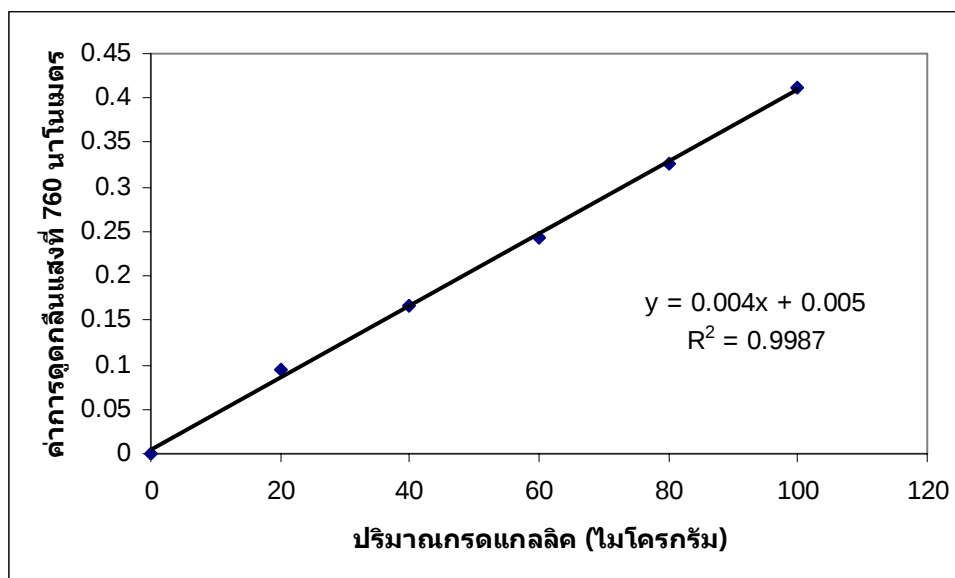
2.3.5 เติมน้ำกลั่น 1000 ไมโครลิตร

2.3.6 วัดค่าการดูดกลืนแสงทันที ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

2.3.7 วัดค่าการดูดกลืนแสงควบคุมโดยทำตามขั้นตอน 1.3.2-1.3.6 แต่ใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัด

2.4 วิธีการคำนวณ

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดคำนวณได้โดยแทนค่าความยาวคลื่นที่วัดได้ลงในสมการ
จากกราฟมาตรฐาน



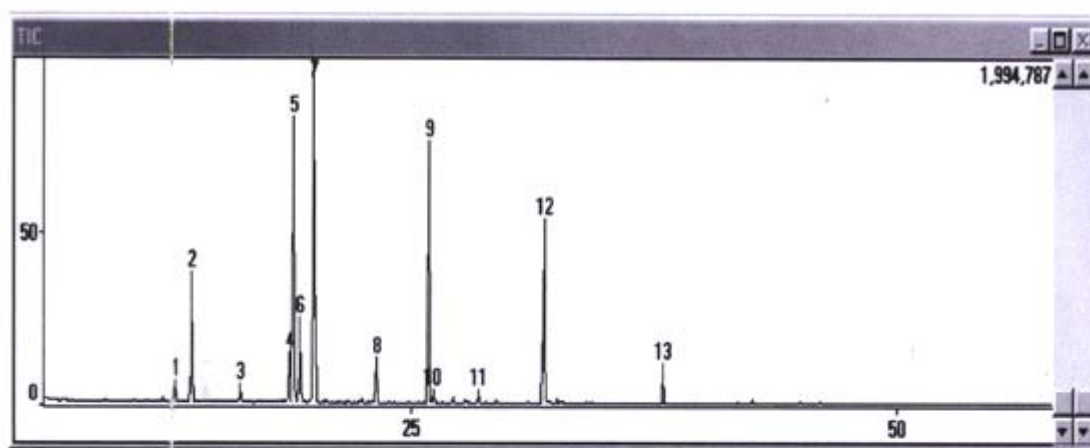
ภาพผนวกที่ ข2 กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร
และความเข้มข้นของกรดแกลลิก

3. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย และน้ำมันหอมระเหยที่ถูกกักเก็บด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรี (GC/MS)

การศึกษาสารประกอบในสารสกัดน้ำมันหอมระเหย และน้ำมันหอมระเหยที่ถูกกักเก็บด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินที่ผ่านโครมาโทกราฟีชนิดคอลัมน์โดยใช้เครื่อง GC/MS มีรายละเอียดดังนี้

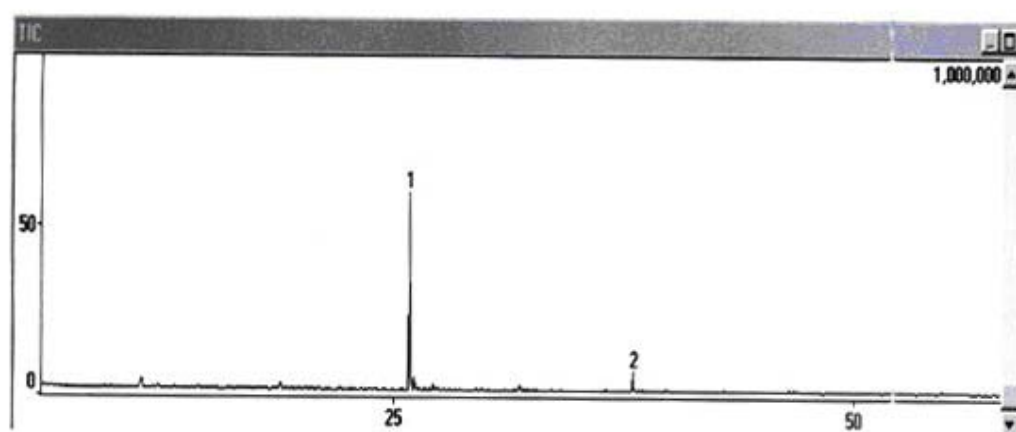
เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ : เครื่อง GC/MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, Shimadzu capillary GC-quadrupole MS system QP 5050A, Kyoto, Japan)

- | | |
|-------------------------|---|
| 3.1 ชนิดคอลัมน์ : | J&W DB-5 ขนาด 60 เมตรx 0.25 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร |
| 3.2 อุณหภูมิ Injector : | 250 องศาเซลเซียส |
| 3.3 อุณหภูมิ Detector : | 250 องศาเซลเซียส |
| 3.4 ปริมาณสารที่ฉีด : | 1 ไมโครลิตร |
| 3.5 โหมดการฉีด : | แบบทิ้งสาร (Split mode) split ratio 1:7 |
| 3.6 แก๊สตัวพา : | ฮีเลียม |
| 3.7 อัตราการไหล : | 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที |
| 3.8 โปรแกรมอุณหภูมิ : | เริ่มต้นที่ 60 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 3 นาที
เพิ่มอุณหภูมิ 1.5 องศาเซลเซียสต่อนาที
จนถึง 80 องศาเซลเซียส
เพิ่มอุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียสต่อนาที
จนถึง 200 องศาเซลเซียส |



PKNO	%SI	R.TIME	%Total	Possible compound
1	89	12.811	1.02	alpha-Pinene
2	94	13.680	7.42	Camphene
3	87	16.176	0.99	beta-Myrcene
4	95	18.713	3.23	Limonene
5	91	18.933	18.04	Eucalyptol
6	87	19.266	4.96	cis-beta-Ocimene
7	92	19.991	25.77	trans-beta-Ocimene
8	90	23.220	2.27	Linalool
9	89	25.929	19.94	Camphor
10	81	26.157	0.65	Isothujol
11	82	28.514	0.71	alpha-Terpineol
12	91	31.882	12.87	trans-Geraniol
13	89	38.000	2.14	Methyl cinnamate
			100	

ภาพผนวกที่ ข3 โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยกระชายที่แยกได้ด้วยเครื่อง GC/MS



PKNO	%SI	R.TIME	%Total	Possible compound
1	90	25.874	92.22	Camphor
2	89	37.974	7.78	Methyl cinnamate
			100	

ภาพผนวกที่ ข4 โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยกระชายที่ถูกกักเก็บด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์-
ทรินกระชายที่แยกได้ด้วยเครื่อง GC/MS

ประวัติการศึกษา

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวอาภากร สุภาพิพัฒน์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	12 พฤษภาคม พ.ศ. 2526
สถานที่เกิด	จ. กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	มัธยมต้น โรงเรียนสตรีรัตนบุรี มัธยมปลาย โรงเรียนสตรีรัตนบุรี ปริญญาตรี ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	นิสิตบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ผลงานวิจัย	เสนอผลงานทางวิชาการ ภาควิชาโภชนาการ เรื่อง ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจาก ข่า กระชาย และ ขมิ้นในการยับยั้งการเจริญของ <i>Listeria monocytogenes</i> ในเนื้อไก่สดบรรจุสุญญากาศแช่เย็นในการประชุม วิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45