



รายงานการวิจัย

เรื่อง

การลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์โดยใช้

น้ำมันหอมระเหยโหระพาและกระเพรา

Microbial Decontamination on Meat using Sweet Basil

(*Ocimum basillum*) and Holy Basil (*Ocimum sanctum*)

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. คมแข พิลาสมบัติ

นางอังคณา ทุมดี

ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ 2553

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



รายงานการวิจัย

เรื่อง

การลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์โดยใช้

น้ำมันหอมระเหยโหระพาและกระเพรา

Microbial Decontamination on Meat using Sweet Basil

(*Ocimum basillum*) and Holy Basil (*Ocimum sanctum*)

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. คมแข พิลาสมบัติ

นางอังคณา ทุมดี



ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ 2553

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการ

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์โดยใช้น้ำมันหอมระเหย
โหระพาและกระเพรา

ชื่อโครงการ (ภาษาอังกฤษ) Microbial Decontamination on Meat using Sweet Basil
(*Ocimum basillium*) and Holy Basil (*Ocimum sanctum*)

ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ 2553

จำนวนเงิน 100,000 บาท

ระยะเวลาการทำวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2552 ถึง 30 กันยายน 2553

1) หัวหน้าโครงการวิจัย : สัดส่วนที่ทำวิจัย 50%

ผศ.ดร. กมล แซ่ พิลาสมบัติ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ถ.ฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520 โทร. 02-7373000 ต่อ 3666

บทบาทในการทำวิจัย : ศึกษารวมของการทำการวิจัยทั้งหมดและศึกษาความสามารถ
ของน้ำมันหอมระเหยโหระพาและกระเพราที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และ
คุณภาพด้านกายภาพของเนื้อสันนอกสุกรบด

2) หัวหน้าโครงการวิจัย : สัดส่วนที่ทำวิจัย 50%

นางอังคณา ทุมดี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ถ.ฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

โทร. 02-7373000 ต่อ 3666

บทบาทในการทำวิจัย : ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากโหระพาและกระเพรา ในการ
ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ และความสามารถของน้ำมันหอมระเหยโหระพาและกระเพรา
ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และคุณภาพด้านกายภาพของเนื้อสันนอกสุกรบด

บทคัดย่อ

246445

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากโหระพาและกระเพรา ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค จุลินทรีย์ทำให้น้ำเสีย จุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียแลคติก จำนวน 16 สายพันธุ์ และการยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อสันนอกสุกรบด โดยแบ่งการทดลอง เป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ 1 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากโหระพาและกระเพราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (*In vitro*) ส่วนที่ 2 ศึกษาความสามารถของน้ำมันหอมระเหยโหระพาและกระเพรา ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และคุณภาพด้านกายภาพของเนื้อสันนอกสุกรบด ผลการศึกษามีดังนี้

ส่วนที่ 1 (*In vitro*) จากการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยโหระพาและกระเพรา ที่แปร ปริมาณน้ำมันหอมระเหย 10, 15, 20 และ 25 ไมโครลิตร ในการยับยั้งเชื้อทดสอบ 16 สายพันธุ์ โดยวิธีแพร่ผ่านกระดาษกรอง (Disc diffusion method) พบว่า ที่ปริมาตร 20 ไมโครลิตร สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบทุกกลุ่มและทุกปริมาตรได้สูงที่สุด โดยน้ำมันหอมระเหยโหระพาสามารถยับยั้ง *Leu. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* JCM 6124, *Leu. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* TISTR 942 ได้ดีที่สุด และไม่พบจุลินทรีย์ทดสอบเจริญในจานเพาะเชื้อเส้นผ่านศูนย์กลาง 45 มิลลิเมตร ส่วนน้ำมันหอมระเหยกระเพรายับยั้ง *L. sakei* TISTR 890 ได้ดีที่สุด จากนั้นเมื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยโหระพาและกระเพราต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) และ ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยโหระพาและกระเพราต่อการทำลายจุลินทรีย์ (MBC) พบว่าอยู่ในช่วง 625 – 2,500 ppm. และ 312.5 – 2,500 ppm. ตามลำดับ สำหรับน้ำมันหอมระเหยโหระพา ส่วนน้ำมันหอมระเหยกระเพรามีค่า MIC และ MBC อยู่ในช่วง 625 – 5,000 ppm. ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อทดสอบ

ส่วนที่ 2 แบ่งเป็น 3 ชุดการทดสอบ ได้แก่ ชุดควบคุม ชุดที่ใช้กระดาษกรองที่หยดน้ำมันหอมระเหยโหระพาและกระเพรา ปริมาตร 20 ไมโครลิตร จำนวน 1 แผ่น และ ใช้กระดาษกรอง 2 แผ่น หยดน้ำมันหอมระเหยแผ่นละ 10 ไมโครลิตร ติดไว้บริเวณฝากล่องพลาสติกบรรจุเนื้อสันนอกสุกรบดเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 0, 1, 3 และ 5 วัน ทำการศึกษาคุณภาพด้านจุลินทรีย์ พบว่า น้ำมันหอมระเหยโหระพาและกระเพราไม่มีผลต่อ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ จำนวนเชื้อราและยีสต์ จำนวนโคลิฟอร์ม

(Coliform) อีโคไล (*E. coli*) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้ศึกษาคุณภาพด้านกายภาพ ได้แก่ ค่าความเป็นกรดต่าง และค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไอน้ำระหว่างการเก็บรักษา พบความแตกต่างระหว่างชุดควบคุม กับชุดที่ใช้กระดาษกรองที่หยดนํ้ามันหอมระเหยโหระพาและกระเพรา จำนวน 1 และ 2 แผ่น ส่วนค่าสีได้แก่ ค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) และ ค่าสีเหลือง (b^*) ของ เนื้อสันนอกสุกรบด มีค่าไม่แตกต่างจากชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 5 วัน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องการลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์โดยการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพา และกระเพรา ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ 2553 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งคณะวิจัยขอขอบพระคุณแหล่งทุนที่ให้โอกาสในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบพระคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมงที่อนุเคราะห์อุปกรณ์และเครื่องมือตลอดการดำเนินการวิจัย

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.จำรูญ เล้าสินวัฒนา ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สาขาวิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่อนุเคราะห์น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการทดลอง

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณผู้ร่วมงานทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวถึงอีกมากที่ให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี และผู้วิจัยหวังว่างานวิจัยฉบับนี้คงเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจและนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไป

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทกัณฑ์.....	I
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญภาพ.....	XI
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับของการวิจัย.....	2
1.4 สถานที่ทำการทดลอง.....	2
1.5 ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	2
 บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 จุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์.....	3
2.2 การเน่าเสียของเนื้อสัตว์.....	4
2.3 ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่มักพบปนเปื้อนในเนื้อสัตว์.....	6
2.4 คุณลักษณะที่กำหนดคุณภาพเนื้อ.....	7
2.5 การใช้น้ำมันหอมระเหยจากโหระพา และกระเพรา ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์.....	9
2.6 การทดสอบประสิทธิภาพของสารทดสอบในการยับยั้งจุลินทรีย์.....	12
 บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	14
3.1 น้ำมันหอมระเหย.....	14
3.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในงานทดลอง.....	14
3.3 ตัวอย่างเนื้อทดลอง.....	15
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	15
3.5 อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	15

	หน้า
3.6 สถานที่ทำการทดลอง.....	16
3.7 ระยะเวลาที่ทำการทดลอง.....	16
3.8 วิธีการทดลอง.....	16
ส่วนที่ 1 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากโหระพาและ กระเพราในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ	16
ส่วนที่ 2 ศึกษาความสามารถของน้ำมันหอมระเหยโหระพาและ กระเพราที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และคุณภาพด้านกายภาพของเนื้อสันนอกสุกรบด.....	18
3.9 ขั้นตอนการศึกษาและการเก็บข้อมูล.....	19
3.9.1 การศึกษาทางด้านจุลินทรีย์.....	19
3.9.2 การศึกษาคุณภาพทางด้านกายภาพของเนื้อสุกร.....	22
3.10 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	22
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	23
ส่วนที่ 1 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากโหระพาและกระเพรา ในการ ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (<i>In vitro</i>).....	23
การทดลองที่ 1.1 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากโหระพา ในการยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์.....	23
1.1.1 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยโหระพา ในการยับยั้งการเจริญของ จุลินทรีย์โดยวิธีแพร่ผ่านแผ่นกระดาษกรอง (Disc diffusion method).....	23
1.1.2 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยโหระพาต่อการยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์ (minimal inhibition concentration ; MIC) ด้วยวิธี micro-dilution broth susceptibility assay.....	26
1.1.3 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยโหระพาต่อการทำลาย จุลินทรีย์ (minimal bactericidal concentration ; MBC) ด้วยวิธี micro- dilution broth susceptibility assay.....	28
การทดลองที่ 1.2 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ในการยับยั้งการ เจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ (<i>In vitro</i>).....	30

	หน้า
1.2.1 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยกระเพรา ในการยับยั้งการเจริญของ จุลินทรีย์ โดยวิธีแพร่ผ่านแผ่นกระดาษกรอง.....	30
1.2.2 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยกระเพราต่อการยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์ minimal inhibition concentration (MIC) ด้วยวิธี micro-dilution broth susceptibility assay.....	32
1.2.3 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยกระเพราต่อการทำลาย จุลินทรีย์ (minimal bactericidal concentration ; MBC) ด้วยวิธี micro- dilution broth susceptibility assay.....	24
ส่วนที่ 2 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยโหระพาและกระเพราที่มีต่อการ ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และคุณภาพทางกายภาพของเนื้อ สันนอกสุกรบด.....	36
การทดลองที่ 2.1 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยโหระพา ที่มีผลต่อการ ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และคุณภาพทางกายภาพของเนื้อ สันนอกสุกรบด	36
การทดลองที่ 2.2 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยกระเพราที่มีผลต่อการ ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และคุณภาพทางกายภาพของเนื้อสุกรบด	43
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง.....	51
ส่วนที่ 1 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากโหระพาและกระเพรา ในการ ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ (<i>In vitro</i>).....	51
การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากโหระพา ในการยับยั้งการ เจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ (<i>In vitro</i>).....	51
การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากกระเพรา ในการยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ (<i>In vitro</i>).....	52

	หน้า
ส่วนที่ 2 ศึกษาความสามารถของน้ำมันหอมระเหยโหระพาและกระเพราที่มี ผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และคุณภาพด้านกายภาพ ของเนื้อสัตว์นอกสุกรบด.....	54
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง.....	57
บรรณานุกรม.....	59
ภาคผนวก.....	66

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สายพันธุ์จุลินทรีย์ทดสอบและสภาวะการเจริญเติบโต.....	14
2	การทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ <i>E. coli</i>	21
3	ผลของน้ำมันหอมระเหยโหระพาที่ปริมาตรต่างๆ ในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี Disc diffusion method.....	24
4	ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยโหระพาต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ.....	27
5	ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยโหระพาต่อการทำลายจุลินทรีย์...	29
6	ผลของน้ำมันหอมระเหยกระเพราที่ปริมาตรต่างๆ ในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี Disc diffusion Method.....	31
7	ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยกระเพราต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์.....	33
8	ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยกระเพราต่อการทำลายจุลินทรีย์.....	35
9	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อสันนอกสุกรบด.....	37
10	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อจำนวนจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในอุณหภูมิห้องของเนื้อสันนอกสุกรบด.....	38
11	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อจำนวนราและยีสต์ของเนื้อสันนอกสุกรบด.....	38
12	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อจำนวนโคลิฟอร์มของเนื้อสันนอกสุกรบด.....	39
13	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อจำนวน <i>E. coli</i> ของเนื้อสันนอกสุกรบด.....	39
14	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อค่าความเป็นกรดค้างของเนื้อสันนอกสุกรบด.....	40
15	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาการเก็บรักษาต่ออัตราการลดลงของค่าความเป็นกรดค้างของเนื้อสันนอกสุกรบด.....	41
16	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษาของเนื้อสันนอกสุกรบด	41

ตารางที่		หน้า
17	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อ ค่าความสว่าง (L^*) ของเนื้อสันนอกสุกรบด.....	42
18	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อ ค่าสีแดง (Redness, a^*) ของเนื้อสันนอกสุกรบด	43
19	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อ ค่าสีเหลือง (yellowness, b^*) ของเนื้อสันนอกสุกรบด.....	43
20	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยกระเพราและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อสันนอกสุกรบด.....	44
21	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยกระเพราและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อ จำนวนจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในอุณหภูมิต่ำของเนื้อสันนอกสุกรบด.....	45
22	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อ จำนวนราและยีสต์ของเนื้อสันนอกสุกรบด.....	45
23	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยกระเพราและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อ จำนวนโคลิฟอร์มของเนื้อสันนอกสุกรบด.....	46
24	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยกระเพราและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อ จำนวน <i>E.coli</i> ของเนื้อสันนอกสุกรบด.....	46
25	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อ ค่าความเป็นกรดต่างของเนื้อสันนอกสุกรบด.....	47
26	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยกระเพราและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อ อัตราการลดลงของค่าความเป็นกรดต่างของเนื้อสันนอกสุกรบด	48
27	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อ ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาของเนื้อสันนอกสุกร บด.....	48
28	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อ ค่าความสว่าง (L^*) ของเนื้อสันนอกสุกรบด	49

ตารางที่		หน้า
29	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อ ค่าสีแดง (Redness, a^*) ของเนื้อสันนอกสุกรบด	50
30	ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยโหระพาและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อ ค่าสีเหลือง (yellowness, b^*) ของเนื้อสันนอกสุกรบด	50

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โหระพา.....	9
2	กระเพรา.....	11
3	การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบและความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อทดสอบ.....	13
4	วิธีการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธีแพร่ผ่านกระดาษกรอง.....	17
5	Most probable numbers (MPN) per 1 g. test portion, using 3 tubes.....	67