บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จุลินทรีย์จัดเป็นอันตรายทางชีวภาพที่สำคัญที่มีการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ เนื่องจากเนื้อสัตว์เป็นอาหารที่มีโปรตีนสูง และมีค่าความชื้น (water activity) เหมาะสมกับการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคหลายชนิด การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์สามารถเกิดขึ้นได้ในทุกขั้นตอนของการผลิตสัตว์และการผลิตเนื้อสัตว์ โดยการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สามารถพบได้ตั้งแต่อยู่ในฟาร์ม การขนส่ง และกระบวนการฆ่าในโรงฆ่าสัตว์ (Smulders and VanLaack. 1992) ซึ่งการปนเปื้อนในกระบวนการฆ่าอาจมาจากเครื่องมืออุปกรณ์หรือภาชนะ การสัมผัสของผู้ปฏิบัติงานและการสัมผัสระหว่างผิวซาก (Huffman. 2002; Pipek *et al.* 2005; Pipek *et al.* 2006) กระทั่งสภาพแวดล้อมภายของโรงฆ่าสัตว์ก็มีส่วนในการปนเปื้อน (Pipek *et al.* 2005; Pipek *et al.* 2006) ดังนั้นการป้องกันและควบคุมการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์จึงเป็นสิ่งจำเป็น (Mies *et al.* 1999) เนื่องจากจุลินทรีย์มีอยู่ตามธรรมชาติ ทั้งในดิน น้ำ รวมถึงจากตัวสัตว์เอง

2.1 จุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์

จุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ สามารถแบ่งได้เป็นประเภทต่างๆตามความสำคัญได้ดังนี้

2.1.1 จุลินทรีย์ก่อให้เกิดโรค (Pathogenic microorganisms) ประมาณ 1 ใน 3 ของโรคที่เกิดขึ้นมาจากการบริโภคเนื้อสัตว์ที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อยู่ ได้แก่ โรคที่เกิดจากการบริโภคเนื้อสัตว์ที่ป่วยเป็นโรคติดต่อซึ่งสามารถถ่ายทอดถึงคนได้ (zoonosis) เช่น โรค Brucellosis และ Tuberculosis เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) ที่เกิดจากการบริโภคเนื้อสัตว์ที่มีเชื้อแบคทีเรียเข้าไป ซึ่งเชื้อจะไปเจริญในทางเดินอาหารและเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ ได้แก่ *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., *Clostridium perfingens* และ *Campylobacter* spp. และโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากการได้รับสารพิษที่แบคทีเรียสร้างขึ้น ได้แก่ *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus* spp. และ *Bacillus* spp. ซึ่ง *S. aureus* เป็นแบคทีเรียสร้างสารพิษประเภทเอนเทอโรทอกซินที่มีผลต่อระบบทางเดินอาหารของผู้บริโภค *C. botulinum* เป็นแบคทีเรียสร้างสารพิษประเภทนิวโรทอกซิน (neurotoxin) ที่มีผลต่อระบบประสาท (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2542) จุลินทรีย์ในอาหารไม่เพียงทำให้อาหารเน่าเสียหรือเสื่อมคุณภาพลงเท่านั้น

จุลินทรีย์หลายชนิดทำให้เกิดโรคกับมนุษย์ โดยเฉพาะแบคทีเรีย จากบันทึกหรือรายงานการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ ปรากฏว่าแบคทีเรียเป็นตัวการสำคัญและเป็นความเสี่ยงสูงสุดที่ผู้ผลิตอาหารจะต้องกำจัดออกไปจากห่วงโซ่อาหารเป็นอันดับแรก (สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545)

2.1.2 จุลินทรีย์ทำให้เกิดการเน่าเสีย (Spoilage microorganisms) เนื้อสัตว์จัดได้ว่าเป็นอาหารที่ดีที่สุดต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ทำให้เกิดการเน่าเสีย (Spoilage microorganisms) เนื้อสัตว์จัดได้ว่าเป็นอาหารที่ดีที่สุดต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนซากสัตว์ภายหลังการฆ่ามีจุดเริ่มต้นจากผิวหนังสัตว์ สำไส้ และสภาพแวดล้อมภายในโรงฆ่าสัตว์ เช่น อากาศ น้ำ อุปกรณ์ต่างๆ รวมถึงจากผู้ปฏิบัติงานเอง ดังนั้นจึงสามารถพบเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด เช่น แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และรา ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถกลายเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคหรือเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย เชื้อจุลินทรีย์ที่มักพบการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ระหว่างการเก็บรักษา ได้แก่ *Micrococcus, Pseudomonas, Moraxella Acinetobater, Lactobacillus, Flavobacterium,* coryneforms, yeasts, Enterobacteriaceae, *Staphylococcus, Kurthia, Bacillus* และ *Brochothrix thermosphacta* (Dainty *et al.* 1983) จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่พบปนเปื้อนบนซากสัตว์แต่ละบริเวณจะมีจำนวนการปนเปื้อนเชื้อที่แตกต่างกันไป ตัวอย่างบริเวณที่พบว่ามีการปนเปื้อนสูง คือ หน้าอก สะโพกและคอ แต่โดยทั่วไปแล้วจะมีค่าน้อยกว่า 10^4 cfu/cm^2 (Mackey and Roberts. 1993) ซากของสัตว์ปีกมักพบการปนเปื้อนที่ค่อนข้างสูงกว่าซากโค เนื่องจากสัตว์ปีกไม่ได้เอาหนังออก (Daud *et al.* 1979)

2.2 การเน่าเสียของเนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์ที่เน่าเสีย หมายถึง เนื้อสัตว์ที่มีกลิ่น สี และรสชาติที่ผิดปกติไป เนื่องจากจุลินทรีย์สร้างสารประกอบบางชนิดขึ้นมาระหว่างเจริญบนเนื้อสัตว์ (Russo *et al.* 2006) จำนวนเชื้อที่มักพบในเนื้อสดมีค่าประมาณ 10^2 – 10^5 cfu/cm^2 แต่มีเพียงประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ที่สามารถเจริญเติบโตต่อไป โดยเชื้อเหล่านี้จะปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น การแช่เย็น (Nychas *et al.* 1998) ซึ่งเมื่อจำนวนเชื้อเพิ่มถึง 10^7 cell/cm^2 พบว่าเนื้อเริ่มมีกลิ่นเน่าเหม็น และเมื่อจำนวนเชื้อเพิ่มถึง 10^8 cell/cm^2 จะพบเมือกบริเวณผิวหน้าของเนื้อ (García-López *et al.* 1998) โดยเฉพาะที่บริเวณผิวหน้าของเนื้อสัตว์จะเน่าเสียก่อนส่วนอื่นๆ (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2542)

การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่เกิดเนื่องมาจากจุลินทรีย์เป็นสาเหตุนั้น มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง สี กลิ่น รสชาติและความนุ่มเหนียว ลักษณะการเน่าเสียของเนื้อสัตว์สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท (คมแข พิลาสมบัติ. 2550ก)

1. การเน่าเสียในสภาพที่มีอากาศ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงบริเวณผิวนอกของเนื้อสัตว์ในลักษณะดังนี้

1.1 การเกิดเมือกบริเวณผิวหน้า (surface slime) การเน่าเสียแบบนี้มักพบในเนื้อสัตว์แช่เย็นที่มีความชื้นสูง เกิดจากแบคทีเรียพวก *Pseudomonas, Achromobacter, Streptococcus, Leuconotoc, Bacillus, Micrococcus* และ *Lactobacillus* ส่วนการเสียของเนื้อสัตว์ที่แช่เย็นที่มีความชื้นต่ำจะพบเชื้อ *Micrococcus* และยีสต์เติบโตมาก และหากมีความชื้นต่ำมากจะพบการเสียของเนื้อสัตว์โดยเชื้อรา สำหรับเนื้อที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจะพบเชื้อในกลุ่ม มีโซฟายล์เป็นจำนวนมาก (บุษกร อุตรถิชาติ. 2545)

1.2 การเปลี่ยนสี เกิดจากแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* spp. และ *Leuconotoc* spp. จะสร้างสารพวกเปอร์ออกไซด์ ซึ่งจะทำให้ผิวของเนื้อสัตว์มีสีเขียว สีน้ำตาล หรือซีด การเกิดสีต่างๆ บนผิวหน้าของชิ้นเนื้อและผลิตภัณฑ์ เนื่องจากแบคทีเรียที่ปนเปื้อนอยู่สามารถสร้างรงควัตถุที่มีสีเกิดขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโต ทำให้มองเป็นจุดสีต่างๆ เช่น *Serratia marcescens* ทำให้เกิดจุดสีแดง (red spot) หรือจุดสีน้ำเงินแกมเขียว กับน้ำตาลแกมดำ เกิดจากแบคทีเรียพวก *Chromobacterium lividum*

1.3 เกิดการเรืองสี (phosphorescence) เกิดจากเชื้อ Photobacterium เจริญเติบโตบริเวณผิวเนื้อ และเกิดการเรืองสี การเสียแบบนี้จะพบได้น้อยกว่าการเสียของเนื้อแบบอื่นๆ

1.4 การมีกลิ่นรสผิดปกติ เนื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเนื้อที่มีกลิ่นผิดปกติ เนื่องจากมีแบคทีเรียเติบโตที่ผิวหน้าและ มักเกิดขึ้นก่อนที่จะมีรสเปรี้ยวเกิดขึ้น (souring) เนื่องจากแบคทีเรียเติบโตบนเนื้อ และสร้างกรดต่างๆออกมา เช่น กรดฟอร์มิก (formic acid) กรดแอซีติก (acetic acid) กรดบิวทีริก (butyric acid) และกรดโพรพิโอนิก (propionic acid) เป็นต้น

1.5 การเหม็นหืน (rancidity) การเหม็นหืนเกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาของเอนไซม์จากแบคทีเรีย และปฏิกิริยาของการออกซิไดซ์ของกรดไขมันอิ่มตัว ทำให้เกิดสารที่มีกลิ่นและรสชาติที่ผิดปกติไป แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของไขมันเป็นแบคทีเรียพวก *Pseudomonas* และ *Achromobacter*

2. การเน่าเสียในสภาพไม่มีอากาศ มักจะเป็นแบคทีเรียชนิดที่เจริญได้ทั้งที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative bacteria) หรืออาจเกิดจากแบคทีเรียชนิดที่ไม่ต้องการอากาศ (anaerobic bacteria) ทำให้เกิดการเน่าเสียได้หลายลักษณะดังนี้

2.1 การมีรสเปรี้ยว (souring) เกิดจากการย่อยสลายสารพวกคาร์โบไฮเดรตในเนื้อของแบคทีเรียประเภทที่ไม่ต้องการอากาศ (anaerobic bacteria) หรือแบคทีเรียชนิดที่เจริญได้ทั้งที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative bacteria) ทำให้เกิดกรดอินทรีย์ต่างๆเกิดขึ้น เช่น lactic acid, acetic acid และ propionic acid ทำให้เนื้อมี pH ลดลง และเกิดแก๊สขึ้นในเวลาเดียวกัน เนื้อสัตว์ที่บรรจุแบบสุญญากาศมักมีการเน่าเสียในลักษณะนี้มาก (บุษกร อุตรถิชาติ. 2545)

2.2 กลิ่นเหม็นเน่าของโปรตีน (putrification) เกิดขึ้นจากการย่อยสารประกอบพวกโปรตีนโดยแบคทีเรียพวก Proteus และ *C. perfrigens* ทำให้เกิดสารที่ทำให้เนื้อมีกลิ่นเหม็นเน่าขึ้นได้แก่ hydrogen sulphide, mercaptans, indole, ammonia, amine และอื่นๆ (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์. 2536)

2.3 ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่มักพบปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ (คมแข พิลาสมบัติ. 2550ก)

2.3.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่มักพบปนเปื้อนในเนื้อสุกร

เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มักพบปนเปื้อนในเนื้อสุกรได้แก่ *Salmonella* sp., *Campylobacter* sp., *E. coli*, *Yersinia* sp. และ *Listeria* sp. โดยทั่วไปแล้ว *Listeria* sp. มักพบในสภาพแวดล้อมทั่วไป ซึ่งอาจปนเปื้อนมากับตัวสัตว์ที่มีชีวิต และแพร่กระจายมายังโรงฆ่าสัตว์ ทำให้เกิดการปนเปื้อนในเนื้อสุกร ส่วน *Salmonella* sp., *Campylobacter* sp., *E. coli* และ *Yersinia* sp. พบในระบบทางเดินอาหารและอุจจาระของสัตว์ จึงสามารถแพร่กระจายมายังบริเวณผิวหนังของสุกร นอกจากนี้ยังสามารถพบ *Campylobacter* sp. บริเวณลิ้นและต่อมทอนซิลอีกด้วย โดยผลดังกล่าวทำให้เกิดการปนเปื้อนข้ามอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้

2.3.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่มักพบปนเปื้อนในเนื้อโค

เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มักพบปนเปื้อนในเนื้อโคได้แก่ *Salmonella* sp., *Campylobacter* sp., *E.coli*, *Listeria* sp. และ *E. coli* O157:H7 นอกจากนี้เชื้อที่เป็นสาเหตุสำคัญทำให้เนื้อเน่าเสียที่มักพบในเนื้อโคได้แก่ แบคทีเรียกรดแลกติก, *Pseudomonas* sp., *Acinetobacter* sp. และ *Moraxella* sp. ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถปนเปื้อนในเนื้อโคได้ในระหว่างขบวนการผลิต

2.3.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่มักพบปนเปื้อนในเนื้อไก่

เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มักพบปนเปื้อนในเนื้อไก่ได้แก่ *Salmonella* sp. และ *Campylobacter* sp. โดยเนื้อไก่เป็นแหล่งการปนเปื้อนที่สำคัญของเชื้อ *Campylobacter* sp. และสายพันธุ์ที่พบเป็นส่วนใหญ่ในฝูงสัตว์ปีก คือ *C. jejuni* นอกจากนี้ยังพบเชื้อ *Listeria monocytogenes*

สำหรับการลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ แม้ว่าอุตสาหกรรมอาหารต่าง ๆ ได้มีความพยายามควบคุมขบวนการผลิตให้มีความปลอดภัยโดยมีการนำระบบประกันคุณภาพด้านความปลอดภัยของอาหาร เช่น GMP และ HACCP มาใช้ แต่ก็ยังพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในอาหาร ดังนั้นการหาวิธีการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์เป็นสิ่งที่จำเป็นที่ต้องนำมาปฏิบัติ

2.4 คุณลักษณะที่กำหนดคุณภาพเนื้อ (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2542)

2.4.1 คุณลักษณะทางโภชนะ (Nutritional factor)

คุณลักษณะทางโภชนะของเนื้อขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ไวตามิน และเกลือแร่ นอกจากนี้แล้วยังคำนึงถึงความเป็นประโยชน์ต่อร่างกายได้มากน้อยเพียงใด โดยจะเกี่ยวกับส่วนประกอบและสัดส่วนของกรดอะมิโนในโปรตีนของเนื้อสัตว์หรือปริมาณสัดส่วนโปรตีนต่อไขมันที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์

2.4.2 คุณลักษณะทางการบริโภค (Sensory factor)

1) สีของเนื้อ (color)

สีของเนื้อขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ เพศ อายุ ลักษณะการทำงานของกล้ามเนื้อ ปริมาณเม็ดสีในกล้ามเนื้อ (myoglobin) ปริมาณเม็ดสีในเลือด (haemolobin) หรือการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายในกล้ามเนื้อภายหลังจากการฆ่าสัตว์ เป็นต้น

2) กลิ่นและรสชาติ (Flavor)

เนื้อสัตว์แต่ละชนิดจะมีกลิ่นและรสชาติที่เป็นลักษณะพิเศษเฉพาะตัว ขึ้นอยู่กับสัดส่วนของสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่น นอกจากนี้ยังอาจมีกลิ่นผิดปกติ (off-odours) ซึ่งจะอาจเกิดขึ้นในเนื้อสัตว์ เนื่องมาจากกลิ่นเพศของสุกรเพศผู้ที่ไม่ได้ตอน กลิ่นจากอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ เป็นต้น

3) คุณลักษณะทางสุขศาสตร์ (Hygienic factors)

คุณภาพเนื้อสัตว์ที่เกี่ยวข้องในด้านนี้หมายความรวมถึงเนื้อสัตว์ที่สะอาด ไม่มีปนเปื้อนในเรื่องต่อไปนี้คือ

3.1 การปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ (Microbial contamination)

เชื้อจุลินทรีย์นี้อาจติดมากับสภาพแวดล้อมภายในคอกโรงเรือน และอาหารสัตว์โดยเฉพาะวัตถุดิบที่กรรมวิธีการผลิตไม่ผ่านขั้นตอนการฆ่าเชื้อ (sterilization) และถ้าโรงฆ่าสัตว์นั้นไม่ได้มาตรฐาน ก็ยิ่งทำให้เชื้อมีโอกาสปนเปื้อนติดไปกับเนื้อสัตว์ มีผลทำให้มีเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ในเนื้อสัตว์เกินกว่าที่มาตรฐานจะยอมได้

เกณฑ์กำหนดที่จุลินทรีย์อาจปนเปื้อนเนื้อสุกรในประเทศไทยตามมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.6001). (2547ก)

1) จำนวนจุลินทรีย์รวมต้องไม่เกิน $5x10^5$ โคโลนี ต่อตัวอย่าง 1 กรัม วิธีทดสอบให้ปฏิบัติตาม Association of Analytical Communicaties (AOAC, 2000) ข้อ 966.23C หรือวิธีทดสอบที่เทียบเท่า

2) โคลิฟอร์ม (Coliform organisms) กำหนดค่า Most Probable Number (MPN) ตัวอย่าง 1 กรัมต้องไม่เกิน 5×10^3 วิธีทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 966.24 หรือวิธีทดสอบที่เทียบเท่า

3) ซาลโมเนลล่า (*Salmonella* sp.) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม วิธีทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 966.26 หรือวิธีทดสอบที่เทียบเท่า

4) สตาฟิโลคอคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) กำหนดค่า Most Probable Number (MPN) ตัวอย่าง 1 กรัมต้องไม่เกิน $1x10^2$ วิธีทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 966.55 หรือวิธีทดสอบที่เทียบเท่า

3.2 การปนเปื้อนจากปาราสิต

3.3 การปนเปื้อนจากมลพิษสิ่งแวดล้อม เช่น สารโลหะหนัก ยาฆ่าวัชพืช ยาฆ่าแมลง และยาฆ่าเชื้อรา

3.4 สารตกค้าง เช่น ยาปฏิชีวนะและยารักษาโรค ฮอร์โมนและฮอร์โมนสังเคราะห์ สารเร่งการเจริญเติบโต

4) คุณค่าที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปเนื้อสัตว์ (Technological value)

ได้แก่ ค่าความเป็นกรดด่างในเนื้อ ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนในเนื้อ การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาและระหว่างการปรุงสุก เนื้อที่มีคุณภาพดีเหมาะที่จะนำไปแปรรูปทำผลิตภัณฑ์ คือเนื้อที่มีคุณสมบัติในการอุ้มน้ำของเนื้อสูงซึ่งมีความสัมพันธ์กับความเป็นกรดด่างในเนื้อ โดยเนื้อที่มีความเป็นกรดด่างต่ำก็จะมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูง

5) คุณภาพที่เกี่ยวข้องทางด้านมโนธรรมและจิตใจ (Ethical value)

การเลี้ยงสัตว์จะต้องไม่ทรมานและการผลิตเนื้อที่มีคุณภาพจะต้องมาจากการเลี้ยงที่ไม่ทำลายสภาพแวดล้อม มีระบบการจัดการของเสีย

2.5 การใช้น้ำมันหอมระเหยจากโหระพา และกระเพรา ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

2.5.1 โหระพา

ภาพที่ 1 โหระพา

ที่มา : นิรนาม (2554)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ocimum basilicum* Linn.

วงศ์ Labiatae

ชื่อภาษาอังกฤษ Sweet Basil, Thai Basil

ลักษณะของพืช เป็นไม้ล้มลุก สูง 0.3-0.9 เมตร ลำต้นและกิ่งเป็นเหลี่ยม ผิวของลำต้นมีสีเขียวอมม่วง ยอดอ่อนมีขนปกคลุม มีกลิ่นหอมเฉพาะ ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงตรงข้าม รูปรียาว กว้าง 2-3 เซนติเมตร ยาว 4-6 เซนติเมตร โคนใบเรียวแหลม ขอบใบเรียบหรือหยักเล็กน้อย ส่วนดอกออกเป็นช่อตั้ง ออกที่ปลายยอด ดอกย่อยสีขาว กลีบดอกมี 5 กลีบ โคนติดกัน แบ่งเป็น 2 ปาก

ปากบนใหญ่กว่าปากล่าง มีแถบสีม่วงแดงตามยาว กลีบเลี้ยงเชื่อมติดกันเป็นหลอด ส่วนปลายแยกเป็น **5** กลีบ ผลเป็นผลแห้งสีน้ำตาล ผลหนึ่งมี **4** เมล็ด รูปกลมรี แข็ง สีดำ (นิจศิริ เรืองรังษี. 2547)

สมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

Hussian *et al*. (2008) นำต้นโหระพา (*Ocimum basilicum* L.) มากลั่นด้วยน้ำ (hydro-distilled) และนำน้ำมันหอมระเหยมาวิเคราะห์องค์ประกอบพบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้ ประกอบด้วย linalool 56.7 - 60.6% epi-α-cadinol 8.6-11.4% α-bergamotene 7.4 – 9.2% และ Ý – cadinene 3.2 – 5.4% จากนั้นนำน้ำมันหอมระเหยมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี disc diffusion method พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* และ *Pasteurella multocida* ซึ่งประสิทธิภาพของการยับยั้งที่ได้จะมีความแตกต่างกันในแต่ละฤดูกาล (ฤดูร้อน, ฤดูใบไม้ร่วง, ฤดูหนาว และฤดูใบไม้ผลิ)

Patel *et al*. (2008) เมื่อน้ำมันหอมระเหยโหระพามาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) ด้วยวิธี agar-well diffusion assay method พบว่าโหระพาที่สกัดด้วยน้ำ ปิโตรเลียมอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม และ เอธานอล สามารถยับยั้ง Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) ได้ถึง 200–500 x 10^5 CFU/ml., 50-200 x 10^5 CFU/ml., 50-200 x 10^5 CFU/ml. และ <50 x 10^5 CFU/ml. ตามลำดับ

Wannissorn *et al*. (2005) นำพืชสมุนไพรมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี Disc diffusion method พบว่า น้ำมันหอมระเหยโหระพา (*Ocimum basilicum* var. *citratum*) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบที่ทำให้เกิดโรคในสัตว์ รวมถึง *Salmonella* sp. , *Escherichia coli* O157 , *Campylobacter jejuni* และ *Clostridium perfringen* ซึ่งแบคทีเรียที่มักพบปนเปื้อนในไก่ส่งออก โดยเสนอว่าอาจจะเป็นทางเลือกสำหรับใช้ผสมในอาหารสัตว์

Runyaro (2009) นำโหระพา 4 ชนิด (*O.basilicum*, *O.kilimandscharicum*, *O.lamiifolium* และ *O.suave*) มาสกัด ซึ่งองค์ประกอบหลักมีทั้งอนุพันธ์ของ phenyl propane และ terpenoids รวมทั้ง methyl eugenol, 1,8-cineole, camphor, bornyl acetate, germacrene-D, E-myroxide, germacrene-B,caryophylene oxide และ *p*-cymene จากนั้นนำน้ำมันหอมระเหยที่ได้มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย ด้วยวิธี agar dilution พบว่า *O.basilicum* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย *S.aureus*, *S.epidermis*, *P.aeroginosa*, *E.cloacae*, *K.pneumoniae* และ *E.coli* แต่ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *S.mutans*, *S.viridans*

2.5.2 กระเพรา

ภาพที่ 2 กระเพรา

ที่มา : นิรนาม (2554)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ocimum sanctum* L.

วงศ์ Labiatae

ชื่อภาษาอังกฤษ Holy Basil

ลักษณะของพืช เป็นไม้พุ่ม สูงประมาณ 30-60 เซนติเมตร ส่วนโคนเป็นไม้เนื้อแข็งใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงตรงข้าม รูปรีกว้าง 1-3 เซนติเมตร ยาว 2.5 – 5 เซนติเมตร ปลายใบมนหรือแหลม โคนใบแหลม ขอบใบจักรเป็นฟันเลื่อยและเป็นคลื่น หลังใบและท้องใบมีขน ส่วนดอกออกเป็นช่อที่ปลายยอด ดอกย่อยมีจำนวนมากดอกสีขาวแกมม่วงแดงแบ่งเป็น 2 ปาก ปากบนมี 4 กลีบ ปากล่างมี 1 กลีบ ยาวกว่าปากบน มีขนประปรายกลีบเลี้ยงโคนเชื่อมติดกัน ปลายเรียวแหลม ด้านนอกมีขน เกสรตัวผู้มี 4 อัน ผลเป็นผลแห้งเมื่อแตกออกจะมีมีดสีดำรูปไข่ (นิจศิริ เรืองรังษี. 2547)

สมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

ปทุม อรุณวัชรินทร์และคณะ (2550) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากกระเพรา พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากกระเพรามีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคแกรมลบ ซึ่งได้แก่ *E. coli* และ *S.* Typhimurium ได้ดี ยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียคือ *Lactobacillus plantarum*, *L. cellobiosus* ได้ดี (Minimal inhibition concentrations 0.1-0.2%) และต้านทานต่อรา 4 ชนิด คือ *Aspergillus flavus*, *A. niger, A. parasiticus* และ *Fusarium oxysporum* ได้ดีโดยมีค่า Minimal inhibition concentrations 0.1-0.3%

Wiart *et al*. (2004) นำกระเพรา (*Ocimum sanctum* L.) ทั้งต้นมาสกัด และทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี disc diffusion method พบว่า สามารถยั้งยับการเจริญของ *Pseudomonas aeroginosa* และ *Staphylococcus aureus* โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณวงใสเท่ากับ 15 และ 7 มิลลิเมตร ตามลำดับ

2.6 การทดสอบประสิทธิภาพของสารทดสอบในการยับยั้งจุลินทรีย์

2.6.1 การแพร่ในอาหารวุ้น (Agar diffusion method)

อาศัยหลักการแพร่ (diffusion) โดยนำสารที่ต้องการทดสอบใส่ในสิ่งรองรับ จากนั้นสารที่ต้องการทดสอบจะแพร่จากจุดเริ่มต้นออกไปในอาหารวุ้น เมื่อระยะทางที่สารแพร่ออกไปเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นของสารจะลดลงทำให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้น ในขณะเดียวกันจุลินทรีย์ที่อยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ถูกยับยั้งโดยสารทดสอบก็จะเจริญและเพิ่มจำนวนเพิ่มขึ้นจนเห็นได้ชัด แต่บริเวณใกล้กระดาษกรองซึ่งมีความเข้มข้นของสารทดสอบมากพอที่จะยับยั้งเชื้อได้จะไม่มีการเจริญของเชื้อทำให้เห็นเป็นบริเวณใส (inhibition zone) ภายหลังการบ่ม วิธีนี้สามารถทำได้หลายรูปแบบ (พสุดา เจี่ยปิยะสกุล. 2550) เช่น สิ่งรองรับที่ที่เป็นหลุมซึ่งได้เจาะลงในอาหารวุ้นแล้วเติมสารทดสอบ เรียกว่า agar well diffusion method ถ้าสิ่งรองรับเป็นกระดาษซับกลมซึ่งใส่สารทดสอบก่อนวางบนอาหารวุ้น เรียกว่า agar disc diffusion method สิ่งรองรับเป็นถ้วยทรงกระบอก เรียกว่า cup diffusion method

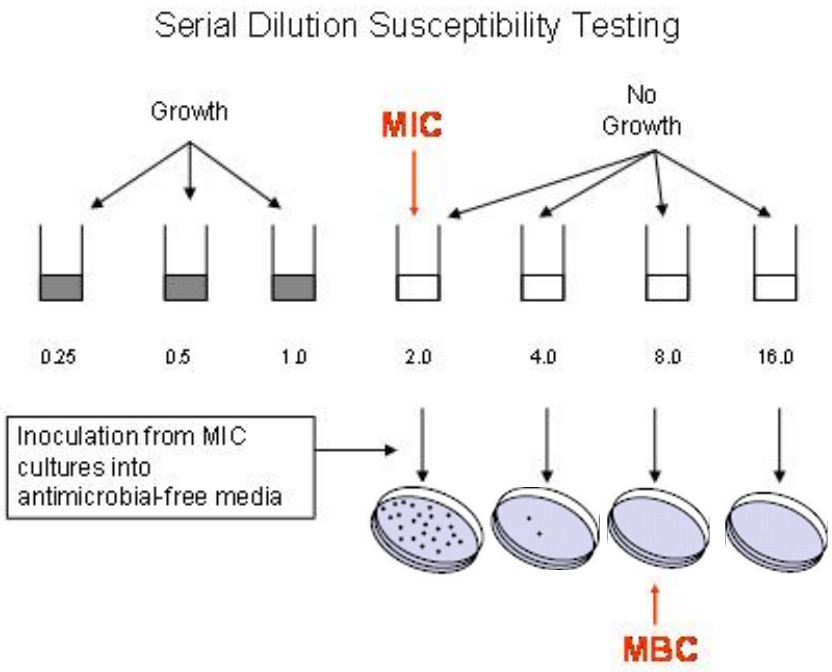
2.6.2 การเจือจางในอาหารวุ้น (Agar dilution method)

สารทดสอบจะถูกเจือจางในน้ำหรือตัวทำละลายแล้วผสมกับอาหารวุ้นตั้งทิ้งไว้ให้แข็ง หลังจากนั้นทำการเพาะเชื้อทดสอบลงบนอาหารวุ้นที่เตรียมไว้ สังเกตการเจริญของเชื้อบนอาหารหลังการบ่ม

2.6.3 การเจือจางในอาหารเหลว (Broth dilution method)

ทำโดยเจือจางความเข้มข้นสารทดสอบด้วยอาหารเหลวในหลอดทดลอง จากนั้นเพาะเชื้อทดสอบลงในหลอดทดลองดังกล่าว แล้วสังเกตการเจริญภายหลังการบ่ม โดยดูจากความขุ่นของอาหารที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่เชื้อไม่เจริญและแปลผลทดสอบเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (Minimum Inhibition Concentration : MIC) จากนั้นนำหลอดทดลองทุกหลอดที่เชื้อไม่เจริญไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ อาจเป็นอาหารเหลวหรือ

อาหารแข็งก็ได้ หลอดทดลองหรือจานเพาะเชื้อที่ไม่มีเชื้อทดสอบเจริญ คือ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อทดสอบ (Minimum Bactericidal Concentration : MBC) ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบและความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อทดสอบ