

บทนำ

ประเทศไทยจัดเป็นประเทศเกษตรอุตสาหกรรม สินค้าที่ส่งออกส่วนใหญ่จึงเป็นสินค้าที่มาจากภาคการเกษตรโดยเฉพาะอาหาร ปัจจุบันอุตสาหกรรมอาหารได้เจริญก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็ว ตลาดทั้งในและต่างประเทศได้ขยายตัวขึ้นเป็นลำดับ ทำให้สามารถนำเงินตราต่างประเทศเข้าสู่ประเทศได้มาก ตัวอย่างเช่น ในปี 2549 มูลค่าการส่งออกของอุตสาหกรรมอาหารทะเลแปรรูปมีมูลค่าสูงถึง 117,400 ล้านบาท รองลงมาที่ 2 ได้แก่ ผักผลไม้สดและแปรรูป คิดเป็นมูลค่า 25,725 ล้านบาท (ศิริพร, 2549) อย่างไรก็ตาม ปัญหาที่สำคัญที่มีผลกระทบต่อ การส่งออกผลิตภัณฑ์อาหารได้แก่ ปัญหาของคุณภาพของสินค้าไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของประเทศผู้นำเข้า โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาเรื่องการปนเปื้อนของสารพิษตกค้าง และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโทษ ปัญหาดังกล่าวยังส่งผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยของผู้บริโภคภายในประเทศด้วย จึงทำให้ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2547 เป็นต้นมา รัฐบาลได้ประกาศให้เป็นปีแห่งความปลอดภัยด้านอาหารของประเทศไทย “Food Safety Year 2004” เพื่อรณรงค์และเผยแพร่คุณภาพและมาตรฐานสินค้าอาหารชนิดต่างๆ ของไทยให้เป็นที่รู้จักแพร่หลาย และกว้างขวางออกไป ตลอดจนเป็นการเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันสินค้าอาหารของไทยในตลาดโลก และเพิ่มคุณภาพชีวิตของคนไทยให้ได้บริโภคอาหารที่มีคุณภาพมาตรฐานเท่าเทียมกับสินค้าส่งออกในแง่ของสารพิษตกค้าง ได้มีการปรับเปลี่ยนระบบการปลูกพืชให้มีการลดปริมาณการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชให้น้อยลง เช่น การผลิตในระบบเกษตรอินทรีย์ การปลูกพืชในสภาพโรงเรือน ตลอดจนปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน อีกทั้งยังมีงานวิจัยจากหลายโครงการที่มุ่งเป้าในการหาสารจากธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืช มาทดแทนหรือลดปริมาณ การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชให้น้อยลง (พรหมมาศ และอิทธิสุนทร 2549 ; อุมา และคณะ 2550)

ในส่วนของ การปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ พบว่ามีจุลินทรีย์หลายชนิดที่ก่อให้เกิดอันตรายทางชีวภาพ (biological hazards) ได้ หากเกิดการปนเปื้อนลงไปพืชผัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียในกลุ่ม psychrotroph ซึ่งมีความสามารถที่เจริญได้ดีในสภาพที่อุณหภูมิต่ำ แบคทีเรียในกลุ่มนี้มีทั้งพวกที่เป็น post-harvest pathogens และ food-borne pathogens ดังนั้นในผลิตภัณฑ์จากผักที่พร้อมบริโภค ซึ่งถึงแม้ว่าจะทำการเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น หรือห้องเย็นในระหว่างการขนส่งอาจพบจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ได้ ตัวอย่างเช่น แบคทีเรียในกลุ่ม *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. ซึ่งตามข้อกำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ ปี 2548 (มกอช. 9007-2548) กำหนดไว้ว่าปริมาณ *E. coli* ในผักและผลไม้สดตัดแต่งบรรจุพร้อมบริโภค ไม่ควรมีเกิน 100 cfu/g จากจำนวน 2 ใน 5 ตัวอย่างที่ทำการสุ่มตรวจ และหากมีเกิน 1,000 cfu/g ถือว่าเป็นจำนวนที่ไม่สามารถยอมรับได้ ในกรณีของ *Salmonella* spp. ต้องไม่พบเลยในตัวอย่างจำนวน 25 g จาก 5 ตัวอย่างที่ทำการสุ่มตรวจ (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2548) นอกจากนี้ยังอาจมีแบคทีเรียในกลุ่ม

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์เรื่อง ผลของสารสกัด และน้ำมันหอมระเหยจากพืช ต่อการเจริญของแบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาพอุณหภูมิต่ำ ที่ตรวจพบในผักสลัดหลังการเก็บเกี่ยว พรหมมาศ คูหากาญจน์ และ คณะ (2553) Page 1

Pseudomonas spp, และ *Erwinia* spp. ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของพืชผักที่เกิดจากแบคทีเรีย (bacterial rot) และโรคเน่าและ (soft rot) ในการปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าวสามารถปนเปื้อนเข้ามาในผักบริโภคสดได้ ตั้งแต่ขั้นตอนการเพาะปลูกและการเก็บเกี่ยว ตลอดจนกระบวนการแปรรูปขั้นต้น จนถึงขั้นสุดท้าย (Tauxe, 1997) จากโครงการวิจัยที่ได้ทำมาแล้วพบว่า สารสกัดจากกากานพลูและวุ้นน้ำ มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ และการนำไปฉีดพ่นในสภาพแปลงปลูกพบว่าสารสกัดจากกากานพลูสามารถลดความรุนแรงของโรคใบจุดของผักสลัดได้ในระดับหนึ่ง (พรหมมาศ และอิทธิสุนทร, 2549) นอกจากนี้ยังได้มีการทดสอบเบื้องต้นถึงคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากใบกะเพรา และโหระพา ก็พบว่ามีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา หลังการเก็บเกี่ยวได้เช่นกัน (แพรวนภา และอุมา, 2551) มีรายงานว่า จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเริ่มต้นจะเป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์และหากมีจุลินทรีย์เริ่มต้นปนเปื้อนอยู่มากจะทำให้ผักผลไม้มีคุณภาพที่ต่ำลง และมีอายุการเก็บที่สั้นกว่าปกติ (Zagory, 1999) นอกจากนี้ยังพบว่าพืชผักที่เป็นโรคเน่าและ (soft rot) จะชักนำให้มีการเพิ่มจำนวนของเชื้อ *Salmonella* มากขึ้น (Castillo and Rodriguez-Garcia, 2004) โดยผักประเภทใบเป็นผักที่มีโอกาสในการปนเปื้อนสูงที่สุด เนื่องจากมีพื้นผิวสัมผัสมากทำให้ง่ายต่อการยึดเกาะของจุลินทรีย์ (NACMCF, 1999) ถึงแม้ว่าการตัดแต่งส่วนที่เน่าเสียออกก่อนและการล้างจะช่วยกำจัดจุลินทรีย์ออกบางส่วนก็ตาม แต่การตัดแต่งอาจทำให้เนื้อเยื่อพืชฉีกขาดทำให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับน้ำหรือสิ่งแวดล้อมสามารถเข้าทำลายได้ง่ายขึ้น เหตุผลดังกล่าวจึงน่าจะมีการศึกษาถึงคุณสมบัติเพิ่มเติมของสารที่ได้จากธรรมชาติ ซึ่งในที่นี้ได้แก่สารสกัดจากกากานพลู อบเชย กะเพรา และโหระพาทั้งในรูปของน้ำมันหอมระเหย และสารสกัด ว่านอกจากจะมีผลในการลดความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อราแล้ว ยังมีผลในการลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นในกลุ่ม psychrotrophs ด้วยหรือไม่ ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางหนึ่งในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษและพัฒนาคุณภาพของผลผลิต ให้มีมาตรฐานความปลอดภัยต่อผู้บริโภคให้สูงขึ้น ตลอดจนช่วยยืดอายุการเก็บรักษาพืชผักหลังการเก็บเกี่ยวให้นานขึ้น

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อทราบปริมาณเชื้อแบคทีเรีย ที่ปนเปื้อนอยู่ในผักสลัดบริโภคสดบางชนิด ที่มีขายในท้องตลาดและแปลงปลูก
2. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดหรือน้ำมันหอมระเหยจากพืชบางชนิด (กานพลู อบเชย กะเพรา และโหระพา) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบ
3. เพื่อศึกษาแนวทางการใช้ประโยชน์จากสารสกัดจากพืชหรือน้ำมันหอมระเหย ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในผักสลัดบริโภคสด

ขอบเขตของโครงการวิจัย

ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย และสารสกัดจากพืช ได้แก่ กานพลู อบเชย กะเพรา และโหระพา ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากผักสลัดบริโภคสด หรือแบคทีเรียทดสอบ ในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยเน้นในกลุ่มแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยว หรือแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคติดต่อทางอาหาร. รวมไปถึงการตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรียในตัวอย่างที่วางจำหน่ายในท้องตลาด ตลอดจนแปลงปลูกพืชของเกษตรกร เพื่อเป็นข้อมูลในการกำหนดกลุ่มตัวอย่างที่จะทำการทรีตด้วยน้ำมันหอมระเหย หรือสารสกัดจากพืช และเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่เป็นโทษ ในกลุ่มตัวอย่างดังกล่าว

กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

แบคทีเรียในกลุ่ม psychrotroph มีทั้งพวกแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยว (post-harvest pathogens) และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร (food-borne pathogens) แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญ และเพิ่มจำนวนได้ในที่อุณหภูมิต่ำต้งนั้นในผักบริโภคสด เช่นผักสลัดที่เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นเพื่อรอการบริโภค ในตู้แสดงสินค้าเพื่อรอการจำหน่าย ตลอดจนในห้องเย็น เพื่อรอหรือระหว่างการขนส่งจึงอาจพบแบคทีเรียในกลุ่มนี้ได้ การใช้สารออกฤทธิ์จากธรรมชาติมาควบคุมปริมาณแบคทีเรียในกลุ่มนี้ ไม่ให้มีการเพิ่มจำนวนมากเกินไป หรือชะลอการเพิ่มจำนวนลง จะเป็นแนวทางหนึ่งที่สำคัญในการพัฒนาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ผักบริโภคสดหลังการเก็บเกี่ยว โดยคาดว่าจะสร้างความเชื่อมั่นให้แก่ผู้บริโภค ช่วยเพิ่มมูลค่าการผลิต หรือช่วยยืดอายุการเก็บรักษา ได้

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

กลุ่มจุลินทรีย์ไซโครโทรฟ (psychrotroph) หรือจุลินทรีย์ที่ชอบเจริญในสภาพที่มีอุณหภูมิต่ำ ในปี ค.ศ.1960 มีผู้แนะนำให้ใช้คำนี้เรียก กลุ่มของจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 5°C หรือต่ำกว่า ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับโดยทั่วกันว่า ไซโครโทรฟเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญที่อุณหภูมิ 5°C ถึง 7°C ซึ่งจะสร้างโคโลนีให้เห็นได้บนอาหารแข็ง หรือทำให้เกิดความขุ่นในอาหารเหลวภายใน 7-10 วัน ไซโครโทรฟมีอุณหภูมิต่ำสุดสำหรับการเจริญระดับเดียวกับไซโครฟายล์ (psychrophile) แต่มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญที่ 25°C ถึง 30°C และอุณหภูมิสูงสุดสำหรับการเจริญที่ 30°C ถึง 35°C ไซโครโทรฟที่พบบ่อยในอาหารได้แก่ *Pseudomonas* และ *Enterococcus* จุลินทรีย์เหล่านี้เจริญได้ที่อุณหภูมิแช่เย็นจึงทำให้เนื้อสัตว์ สัตว์ปีก ไข่ ผักผลไม้ และอาหารอื่นๆ ที่เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 0°C ถึง 5°C เสื่อมเสีย (Cusin *et al.*, 1992 ; สุริย์, 2549) ในกรณีของ *Pseudomonas* เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคเน่าในผักผลไม้ที่เกิดจากแบคทีเรีย (bacterial rot) เป็นผลทำให้ผลิตผลหลังการเก็บเกี่ยวเกิดการสูญเสียทั้งในขั้นตอนกระบวนการขนส่ง จนถึงการวางขายในท้องตลาด ตลอดจนผักพร้อมบริโภคสดที่เก็บรักษาไว้ในตู้เย็น โดยการเน่าเสียของอาหารมักจะสังเกตเห็นได้เมื่อมีจำนวนจุลินทรีย์ประมาณ $10^{-7} - 10^{-8}$ เซลล์ต่อกรัมของอาหาร ซึ่งการลดปริมาณของเชื้อดังกล่าว อาจส่งผลให้ช่วยยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวได้ สำหรับไซโครโทรฟชนิดอื่นเช่น *Alteromonas*, *Photobacterium* และ *Vibrio* นั้นมีความสำคัญต่อการเน่าเสียของปลา ส่วนเชื้อ *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* และ *Yersinia* ทำให้ผักแช่เย็นเน่าเสีย นอกจากนี้ psychrotroph บางชนิดยังเป็นสาเหตุของโรคที่เกิดในอาหาร (food borne disease) โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหารสามารถแบ่งตามความรุนแรงออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ดังนี้

1. อันตรายขั้นรุนแรง มีผลกระทบโดยตรงกับสุขภาพ (severe, direct health hazards) เช่น *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157 : H7, *Clostridium botulinum*, *Salmonella typhi* และ *S. paratyphi* A and B
2. อันตรายปานกลาง แต่อาจแพร่กระจายได้ (moderate hazards with potentially extensive spread) เช่น *Salmonella* spp. pathogenic *E. coli* (e.g., enterotoxigenic), *Streptococcus pyogenes* และ *Shigella* spp.
3. อันตรายปานกลาง สามารถควบคุมได้ (moderate hazards with limited spread) เช่น *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Campylobacter jejuni* และ *Yersinia enterocolitica* (ICMSF, 1986)

ผักและผลไม้เป็นผลิตผลทางการเกษตรที่มีการเสื่อมเสียได้ง่าย การผลิตในระดับอุตสาหกรรมจึงต้องมีการควบคุมที่ดี โดยเริ่มตั้งแต่แหล่งเพาะปลูก จนกระทั่งผลิตออกมาเป็นผลิตภัณฑ์พร้อมจำหน่าย นอกจากนี้ในปัจจุบันมีความต้องการในการบริโภคผักและผลไม้สดพร้อมบริโภคสูงขึ้น เช่น ผักสลัด ผลไม้บรรจุสดพร้อมรับประทาน ดังนั้นกระบวนการผลิตจึงต้องผ่านวิธีการที่ทำให้มั่นใจว่าผักและผลไม้ที่นั้นสะอาดและปลอดภัยต่อการบริโภค จากรายงานการเกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจากการบริโภคผักผลไม้ พบว่ามีสาเหตุมาจากผักเป็นส่วนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งผักสลัด ซึ่งมักเป็นผักสดที่ต้องผ่านการจับต้องจากผู้ประกอบการอาหาร ดังนั้น ผู้ที่ปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องจึงต้องระมัดระวังเรื่องสุขอนามัยเป็นอย่างยิ่ง แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษและมักพบว่าปนเปื้อนมากับผักผลไม้พร้อมบริโภค คือ *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Shigella*, *Salmonella* และไวรัสตับอักเสบบี (Singh et.al., 2002)

ในกรณีของ *E. coli* และ *Salmonella* spp. พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้เป็นสาเหตุของการทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหารที่สำคัญ โดยเชื้อ *E. coli* จัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ โคโลนิกรวม ขอบเรียบ สีครีมหรือขาวขุ่น ปกติจะเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่พบมากในลำไส้ของคนและสัตว์ แต่จะมีบาง serotype ที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงได้ โดยการปนเปื้อนเชื้อในอาหารและเครื่องดื่ม เช่น *E. coli* O157:H7, O26:H11, O26:H⁻ และ O111:H⁻ ในการเกิดโรคนั้น เชื้อจะเกาะติดกับเซลล์เยื่อบุลำไส้และสร้างสารพิษที่เรียกว่า shiga toxin1 และ shiga toxin2 ทำให้ผู้ป่วยเกิดโรคลำไส้ใหญ่อักเสบมีเลือดออก ผู้ติดเชื้อจะมีอาการตั้งแต่อุจจาระร่วงไม่รุนแรง ไม่มีเลือดออกไปจนถึงอุจจาระร่วงเป็นเลือดแต่ไม่พบเม็ดเลือดขาว ในผู้ป่วยบางรายโดยเฉพาะเด็กและผู้สูงอายุจะเกิดกลุ่มอาการเม็ดเลือดแดงแตกและไตถูกทำลาย เป็นผื่นจ้ำเลือดจากเกร็ดเลือดน้อยเพราะไขกระดูกน้อยจากการทำลายของสารพิษทั้งสองตัว บางรายอาจมีอาการทางประสาท โคม่าและเสียชีวิตได้ในที่สุด โดยมีระยะเวลาในการพักตัวประมาณ 3-9 วัน สำหรับการแพร่กระจายของเชื้อมีสัตว์กักเก็บ เช่น วัว ควาย แพะ และแกะ ซึ่งเป็นแหล่งกักเก็บเชื้อตามธรรมชาติ นอกจากนี้ยังพบในหมูและไก่วงอีกด้วย ทั้งยังสามารถตรวจพบเชื้อในสัตว์ที่มีสุขภาพแข็งแรงและสัตว์ที่มีอาการอุจจาระร่วงได้เช่นกัน โดยปกติแล้วการติดเชื้อมาสู่คนมักเกิดจากการรับประทานอาหารที่ประกอบมาจากสัตว์ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ และปรุงสุกๆ ดิบๆ หรือรับประทานดิบ รวมทั้งเชื้อนี้สามารถแพร่กระจายจากผู้ป่วยไปยังคนอื่นได้โดยตรงอีกด้วย อย่างไรก็ตาม เราสามารถป้องกันการติดเชื้อโคไลได้หลายวิธี ตั้งแต่การป้องกันการปนเปื้อนในโรงฆ่า การปรุงอาหารให้สุก รวมทั้งผัก ผลไม้ และน้ำดื่ม ต้องเตรียมให้สะอาด ถูกสุขอนามัย และผู้ป่วยต้องล้างมือให้สะอาดเพื่อลดการกระจายของเชื้อและลดการติดต่อจากคนสู่คน

ส่วนเชื้อซัลโมเนลลาเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่พบได้ทั่วไปทั้งสัตว์ปีก สัตว์เลี้ยงคละน สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (รวมมนุษย์ด้วย) ลักษณะของเชื้อมีรูปร่างเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ ขนาดประมาณ 0.7-

1.5 ไมโครเมตร ยาว 2.0-5.0 ไมโครเมตร เจริญได้ดีทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน สำหรับโคลินในอาหารเลี้ยงเชื้อมีขอบเรียบ ผิวมัน ไม่มีสี เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2-4 มิลลิเมตร เจริญได้ดีในอุณหภูมิประมาณ 37-45 องศาเซลเซียส ไม่ทนทานต่อความร้อน จะถูกทำลายได้ที่ อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หรือ 60 องศาเซลเซียส นาน 15-20 นาที หรือที่ 62 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที ในขณะที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ เชื้อแต่ไม่สามารถทำลายเชื้อได้ ผู้ที่ได้รับเชื้อเข้าไปในปริมาณมากจึงจะทำให้เกิดโรค โดยจะเกิดอาการ ภายใน 12-36 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องร่วง เป็นไข้ และเป็นนานถึง 1-8 วัน แล้วแต่กรณี ในรายที่รุนแรงอาจติดเชื้อเข้าไปในกระแสเลือด (อังคณา, 2549)

กานพลูมีชื่อสามัญว่า Clove ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Eugenia caryophyllus* (Sprengel) ชื่อพ้อง *E. caryophyllata* (Thunberg); *Syzygium aromaticum* (Linn.); *Caryophyllata aromaticus* (Linn.) โดยทางพฤกษศาสตร์จัดเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง จัดเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการรักษาอาการปวดท้อง ท้องเสีย ท้องขึ้น ขับลมในลำไส้ ฯลฯ ในส่วนของน้ำมันที่ได้จากการพุด มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรค ทั้งเชื้อรา แบคทีเรีย และยีสต์ (นันทวัน และอรนุช, 2543) ในส่วนของเชื้อราสาเหตุโรคพืช มีรายงานว่าสารสกัดจากกานพลู ที่ความเข้มข้น 0.05% ผสมลงไปในการอาหารเลี้ยงเชื้อ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Fusarium* และ *Botrytis* ได้อย่างสมบูรณ์ ในกรณีของเชื้อ *Alternaria* และ *Septoria* คุณสมบัติดังกล่าว จะอยู่ในความเข้มข้นที่มากกว่า 0.3% (Soatthiamroong et al., 2003) การใช้กานพลูในอัตราส่วน 0.5% (W/V) ผสมลงไปในวัสดุเพาะกล้า สามารถลดความรุนแรงของการเกิดโรคเน่าคอดินที่เกิดจากเชื้อ *Rhizoctonia solani* ได้ 52-60% โดยพบว่า eugenol เป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ (Lin et al., 2002) นอกจากนี้ยังพบว่า การพุดมีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อราสาเหตุโรคพืชชนิดอื่นๆ อีก เช่น *Helminthosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Phytophthora* sp. และ *Sclerotium* sp. (Kritzing et al., 2002; Tombe et al. 1995) องค์ประกอบที่สำคัญในกานพลูมีดังตารางที่ 1 นอกจากนี้ยังพบ cinnamic aldehyde, vanillin และ trans caryophylla ในปริมาณที่เล็กน้อย (สมสุข มัจฉาชีพ. 2542 ; รูปานีย์ หงส์รัตนวรกิจ. 2550, ; สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2555 ก)

ตาราง A องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของกานพลู

องค์ประกอบ (Component)	ปริมาณ(%)		
	ดอก	ใบ	ลำต้น
Eugenol	36 - 90	75 - 90	85 - 95
Eugenyl acetate	11 - 27	Trace - 10	Trace - 5
b-Caryophyllene	Trace - 16	15 - 19	2.5 - 3.5
α -Humulene	Trace - 2	1.5 - 2.5	0.3 - 0.4

ที่มา: รูปนีย หงส์รัตนวรกิจ (2550)

อบเชยมีชื่อสามัญว่า cinnamon ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cinnamomum verum* (J. Presl.) ชื่อพ้อง *Cinnamomum zeylanicum* (Blume); *Laurus cinnamomum* (L.) จัดเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก เปลือก ลำต้นมีสีเทาและหนา ใบเป็นใบเดี่ยว คล้ายรูปไข่ ปลายใบแหลม ดอกออกเป็นช่อตามปลายกิ่ง ขนาด เล็ก สีเหลือง มีกลิ่นหอม ผลมีสีดำคล้ายรูปไข่ ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ได้แก่ส่วนของเปลือกลำต้นต้น ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญดังตารางที่ 2 คุณสมบัติทางยา สามารถใช้อบเชยเป็นส่วนผสมในยา หอมต่างๆ ส่วนเปลือกลำต้นใช้แก้จุกเสียด แน่นท้อง ทำยานัตถุ์ใช้สูดดม เพิ่มความสดชื่น ลดอาการ อ่อนเพลีย แก้โรคท้องร่วงเพราะมีส่วนช่วยต้านแบคทีเรียในกระเพาะอาหาร ขับปัสสาวะ ช่วยในการ ย่อยอาหาร สลายไขมัน บำรุงหัวใจ และบดเป็นผงใช้เป็นเครื่องเทศใส่อาหาร (สมสุข มัจฉาชีพ. 2542 ; รูปนีย หงส์รัตนวรกิจ. 2550, ; สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2555 ข)

ตาราง B องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของอบเชย

องค์ประกอบ (Component)	ปริมาณ(%)	
	เปลือกไม้	ใบ
Cinnamaldehyde	60 - 75	1.3 - 2.0
r-Cymene	0.6 - 1.2	0.4 - 1.2
α -Pinene	0.2 - 0.6	0.2 - 0.1
Eugenol	0.8	70 - 96
Cinnamyl acetate	5.0	0.8 - 1.7
Caryophyllene	1.4 - 3.3	1.9 - 5.8
Benzylbenzoate	0.7 - 1.0	2.7 - 3.5

ที่มา: รูปนีย หงส์รัตนวรกิจ (2550)

กะเพรา มีชื่อสามัญว่า Holy basil ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ocimum sanctum* (Linn.) ชื่อพ้อง *O. brachiatum* (Hassk); *O. flexuosum* (Blanco) จัดเป็นพืชล้มลุก ใบรูปไข่ บางและนุ่ม มีสีเขียว มีรสเผ็ดร้อน ลำต้นและใบมีขนปกคลุม จัดเป็นพืชผักจำพวกเครื่องเทศที่ใช้ใบสดประกอบอาหาร เพื่อช่วยดับกลิ่นคาวและให้อาหารมีกลิ่นหอม ประโยชน์และการนำไปใช้ทางยา ใบ บำรุงธาตุไฟ ขับลม แก้ปวดท้อง แก้ลมตานซาง แก้กुकเสียด และแก้คลื่นเหียนอาเจียน เมล็ด นำไปแช่น้ำจะพองตัวเป็นเมือกขาว ใช้พอกบริเวณตาเมื่อมีผงหรือฝุ่นละอองเข้าตา ราก ใช้รากแห้งชงหรือต้มกับน้ำร้อนดื่มแก้โรคธาตุพิการ ลดการบีบตัวของลำไส้ รักษาแผลในกระเพาะอาหาร ใบ มีฤทธิ์ขับน้ำดี ย่อยไขมันและลดอาการจุกเสียด นอกจากนี้ใช้เป็นยาสมุนไพรทำให้เลือดลมดี (สมสุข มัจฉาชีพ. 2542 ; ฐานันท์ หงส์รัตนวร กิจ. 2550) กะเพรา มีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญดังตารางที่ 3

ตาราง C องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของกะเพรา

องค์ประกอบ (components)	ปริมาณ (%)
methyl eugenol	73.4
camphene	0.4
b-pinene	0.3
1,8-cineole+limonene	0.3
linalool	0.2
borneol	0.8
b-copaene	1.0
b-bourbonene	0.4
[+]-b-elemene	5.4
α -pinene	0.3,
Caryophyllene	10.9
α -humulene	1.3
germacrene D	3.0
d-cadinene	0.3
cyclohexane-1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis[1-methyl-ethenyl]	0.4

ที่มา: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (2555 ค)

โหระพามีชื่อสามัญว่า Sweet Basil ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ocimum basilicum* (Linn.) จัดเป็นพืชล้มลุก อายุสั้น มีความสูงของทรงพุ่มไม่เกิน 60 เซนติเมตร ลำต้นเป็นรูปสี่เหลี่ยม ก้านใบและลำต้นมีสีม่วงแดง ใบสีเขียว ใบเป็นรูปหอก มีกลิ่นหอม ออกดอกเป็นช่อ ดอกสีขาว ม่วงหรือชมพู โหระพาสามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินแทบทุกชนิดที่มีความชื้นสม่ำเสมอ ต้องการแสงแดดเต็มที่ตลอดวัน ปลูกกันอย่างแพร่หลายในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ไทย มาเลเซีย และอินโดนีเซีย ประโยชน์และการนำไปใช้ เช่น แก้อืดท้องเฟ้อ ขับลมจากลำไส้ ต้มดื่มแก้ลมวิงเวียน ช่วยย่อยอาหาร ประคบแก้ไขข้ออักเสบ แผลอักเสบ แก้อหิวต์ ขับเหงื่อ นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งของเบต้าแคโรทีน ซึ่งมีส่วนสำคัญในการป้องกันโรคร้าย เช่น โรคหัวใจขาดเลือดและมะเร็ง โดยที่โหระพา 1 ชีด มีเบต้าแคโรทีนสูงถึง 452.2 ไมโครกรัม (สมสุข มัจฉาชีพ. 2542 ; ฐานิย์ หงส์รัตนวรกิจ. 2550) องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญในโหระพามีดังตารางที่ 4

ตาราง D องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของโหระพา

องค์ประกอบ (components)	ปริมาณ (%)
methyl chavicol	91.73
1,8-cineole	1.49
linalool	0.52
camphor	0.51
methyl eugenol	0.59

ที่มา: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (2555 ง)

แพรวนภา และอุมา (2551) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย 4 ชนิด ได้แก่ กะเพรา โหระพา มะกรูด และส้มโอ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 10 และ 20 μl 70 cm^{-3} ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในโรงเก็บ 3 ชนิด คือ *A.flavus*, *A. niger* และ *Penicillium* spp. พบว่าน้ำมันหอมระเหยต่างชนิดกันมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยสูงขึ้น มีผลทำให้การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อเพิ่มขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดในการทดลอง (20 μl 70 cm^{-3}) น้ำมันหอมระเหยกะเพรา สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus*, *A. niger* และ *Penicillium* spp. ได้ 92.61, 88.56 และ 79.06% ตามลำดับ และน้ำมันหอมระเหยโหระพา สามารถยับยั้งได้ 94.04, 79.88 และ 80.57% ตามลำดับ และจากการทดสอบผลของน้ำมันหอมระเหยกะเพราและโหระพาที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 9 ระดับ คือ 0, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30 และ 35 μl 70 cm^{-3} พบว่า ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิดจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเพิ่มขึ้น ซึ่งระดับความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิด ที่สามารถแสดง

การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทั้ง 3 ชนิดได้ คือ $5 \mu\text{l } 70 \text{ cm}^{-3}$ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดย น้ำมันหอมระเหยกะเพราสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus*, *A. niger* และ *Penicillium* spp. ได้ 14.14, 32.54 และ 16.55% ตามลำดับ และน้ำมันหอมระเหยโหระพาสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 7.20, 14.00 และ 16.45% ตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยกะเพราที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทั้ง 3 ชนิดได้อย่างสมบูรณ์ อยู่ที่ระดับความเข้มข้น $25 \mu\text{l } 70 \text{ cm}^{-3}$ ทั้งนี้มีรายงานว่า น้ำมันหอมระเหยกะเพรา มีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ คือ methyl chavicol, linalol และ eugenol ส่วนน้ำมันหอมระเหยโหระพา มีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ คือ methyl chavicol, alpha-humulene และ eugenol (เฉลิมชัย, 2551)

Hanif *et.al.* (2011) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารยับยั้งแบคทีเรียและสารต้านอนุมูลอิสระจากน้ำมันโหระพา พบว่าน้ำมันโหระพามีสารประกอบทั้งหมด 75 ตัว เช่น Linalool (69.9%), geraniol (10.9%), 1,8-cineole (6.4%), α -bergamotene (1.6%) และ geranyl acetate (1.4%) น้ำมันโหระพาสามารถยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae* 1, *S. pneumoniae* 2, *Candida albicans*, *Hemophilus influenzae* และ *Aspergillus niger* ส่วนปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันโหระพาที่พบจากการคำนวณที่ $50.32 \pm 1.8 \text{ mM}$ ในการสกัดน้ำมันโหระพาพบ linalool เป็นสารยับยั้งแบคทีเรีย และสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณที่สูง

Kim *et.al.* (2011) ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช 12 ชนิดในการลดปริมาณ *S. Typhimurium* *E. coli* O157:H7 และ *Listeria monocytogenes* พบว่า สารสกัดจากกานพลูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทดสอบได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ

Pandey and Singh (2011) ทดสอบประสิทธิภาพสารยับยั้งแบคทีเรียของกานพลู (*Syzygium aromaticum* L.) ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ที่เตรียมจาก ethanolic extract และ methanolic extract พบว่าสารสกัดกานพลูจาก methanolic ยับยั้ง *E. coli* ได้ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 2.31 mg/ml *S. aureus* ยับยั้งได้ 0.385 mg/ml และ *P. aeruginosa* ยับยั้งได้ 0.01 mg/ml และยังสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* (MTCC 2940), *P. aeruginosa* (MTCC 2453) และ *E. coli* (MTCC 739) ได้

Keskinen *et al.* (2009) เปรียบเทียบสาร chlorine (20–200 ppm), acidic electrolyzed water (50 ppm; chlorine), acidified sodium chlorite (20–200 ppm; chlorite ion; Sanova®) และ aqueous chlorine dioxide (20–200 ppm; chlorite ion; TriNova®) ในการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 ในผักสลัด โดยจุ่มผักลงในเชื้อ *E. coli* O157:H7 ที่ความเข้มข้น $8 \log \text{ cfu/ml}$ เป็นเวลา 5 นาทีและผึ่งให้แห้ง แล้วล้างสารที่ใช้ทดสอบ 2 นาทีจากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็น

เวลา 24 ชั่วโมง พบว่าการล้างด้วย chlorite ที่ความเข้มข้นของ 100 และ 200 ppm สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 มากที่สุด ลดลงมากกว่า 1.0 log cfu/ml และ 1.0 log cfu/ml รองลงมาคือ TriNova® และ Sanova® ตามลำดับ

Puangpronpitag *et.al.* (2009) ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากกานพลู ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *S. epidermidis* ATCC 12228, *L. plantarum* ATCC 14917 และ *P. vulgaris* ATCC 25922 พบว่าเกิดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบทุกชนิด โดยมีค่า MIC และ MBC ของเชื้อทดสอบอยู่ในช่วง 1-4 g/L และ 2-8 g/L ตามลำดับ

Tayel and El-Tras (2009) ทดสอบประสิทธิภาพของสารยับยั้งจุลินทรีย์ 25 ชนิดและสารสกัดจากสมุนไพรโดยใช้น้ำและแอลกอฮอล์ จาก กระวาน (*Amomum kervan* Pierre.), อบเชย (*Cinnamomum verum.*), กานพลู (*Syzygium aromaticum* L.), ตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* DC.), ออริกาโน (*Origanum vulgare*), โหระพา (*Ocimum basilicum* Linn.), โรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis* L.) มัสตาด (*Brassica alba* L.) และไทม์ (*Thymus vulgaris*) ในการยับยั้งแบคทีเรียทางเดินอาหาร 8 ชนิดพบว่า อบเชยมีการยับยั้งสูงสุดรองลงมาคือกานพลู นอกจากนี้พบว่าเชื้อ *Bacillus subtilis* อ่อนแอต่อสารสกัด เชื้อ *Clostridium sporogenes* และ *Pseudomonas fluorescens* ต้านทานต่อสารสกัด

Gupta *et. al.* (2008) ศึกษาประสิทธิภาพของพืชสมุนไพร 10 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อทางเดินอาหารพบว่า น้ำมันอบเชยและกานพลูมีการยับยั้งได้กว้าง รองลงมาคือ น้ำมันเปเปอร์มิน และยูคาลิปตัส โดยที่น้ำมันอบเชยแสดงค่าการยับยั้งของ MIC ต่ำสุดเท่ากับ 1.25% (v/v) รองลงมาคือน้ำมันกานพลูมีค่า MIC เท่ากับ 2.5% (v/v)

Hussain *et. al.* (2008) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี สารต้านอนุมูลอิสระ และสารยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันโหระพาทั้ง 4 ฤดู ได้แก่ ฤดูร้อน ฤดูใบไม้ร่วง ฤดูหนาว และฤดูใบไม้ผลิ ที่สกัดด้วยน้ำพบว่า ในฤดูหนาวได้น้ำมันสูงสุดอยู่ที่ 0.5%-0.8% ขณะที่ฤดูร้อนได้น้ำมันน้อยกว่า ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีที่พบคือ linalool (56.7-60.6%), epi- α -cadinol (8.6-11.4%), α -bergamotene (7.4-9.2%) และ γ -cadinene (3.2-5.4%) ในฤดูร้อนพบ sesquiterpene hydrocarbons (24.3%) และองค์ประกอบของสารเคมีจะแตกต่างกันตามฤดูกาล นอกจากนี้เมื่อนำมาทดสอบกับเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pasteurella multocida* และเชื้อรา *Aspergillus niger*, *Mucor mucedo*, *Fusarium solani*, *Botryodiplodia theobromae* และ *Rhizopus solani* พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อที่ทดสอบได้ทุกสายพันธุ์

Hoque et al. (2008) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากอบเชย (*Cinnamomum verum.*), กานพลู (*Syzgium aromaticum* L.) ต่อเชื้อ *Listeria monocytogenes* (5 strains), *Staphylococcus aureus* (4 strains), *Escherichia coli* O157: H7 (6 strains), *Salmonella* Enteritidis (4 strains), *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. putida*, *alcaligenes faecalis* และ *Aeromonas hydrophila* (2 strains) พบว่า ค่า MIC ของสารสกัดที่ได้จาก ethanol น้ำ และน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูมีค่าเท่ากับ 0.5-5.5 mg/ml, 0.8-5.5 mg/ml และ 1.3-5% mg/ml ตามลำดับ ค่า MIC ของสารสกัดที่ได้จาก ethanol น้ำ และน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยมีค่าเท่ากับ 1.0-3.5 mg/ml, 2.5 mg/ml และ 1.3-5.0% mg/ml ตามลำดับ

Saeed and Tariq (2008) ศึกษาประสิทธิภาพของกานพลูแช่น้ำ สารสกัด และน้ำมันหอมระเหยต่อการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* (36 isolates), *Proteus mirabilis* (6 isolates), *Pseudomonas aeruginosa* (10 isolates), *Enterobacter aerogenes* (5 isolates), *Klebsiella ozaenae* (2 isolates), *Klebsiella pneumoniae* (24 isolates), *Serratia marcescens* (4 isolates), *Salmonella* Typhi (3 isolates), *Shigella dysenteriae* (5 isolates) และ *Vibrio cholerae* (5 isolates) โดยวิธี disc diffusion พบว่ากานพลูแช่น้ำและการสกัดสามารถยับยั้ง *P. aeruginosa* ได้ โดยพบบริเวณยับยั้งเท่ากับ 10.5 ± 1.8 mm และ 10.9 ± 1.5 mm ตามลำดับ น้ำมันกานพลูมีการยับยั้ง *V. cholerae* เท่ากับ 23.8 ± 3.0 mm ซึ่งกานพลูแช่น้ำและสารสกัดไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *K. ozaenae*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *S. Typhimurium*, *S. dysenteriae* และ *V. cholera*

Oussalah et al. (2007) ศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยต่อเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7, *L. monocytogenes* 2812 1/2a, *S. Typhimurium* SL 1344 และ *S. aureus* โดยวิธี MIC และ MTC (maximal tolerated concentration) ที่ความเข้มข้น 0.003%, 0.006%, 0.013%, 0.025%, 0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.4% และ 0.8% (v/v) พบว่าน้ำมันหอมระเหย สเปนนิสออริกาน (Corydorthymus capitatus) อบเชยจีน (*Cinnamomum cassia*) กรีกออริกาน (Origanum heracleoticum) ชาโรวี (*Satureja montana*) และอบเชยเทศ (*Cinnamomum verum*) สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีมีค่า MIC อยู่ที่เป็น $\leq 0.05\%$ ยกเว้น *Salmonella* Typhimurium และ *Listeria monocytogenes* มีค่า MTC ที่ 0.025% จากน้ำมันอบเชยเทศและอบเชยจีน ตามลำดับ ขณะที่ค่า MTC ของน้ำมันอีก 3 ตัวที่กล่าวมีค่าเท่ากับ $\leq 0.013\%$

Raybaudi-Massilia et al. (2006) ใช้ น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ อบเชย เจอรานีโอล พาลมาโรชาและเบนซิลดีไฮด์ มาศึกษาค่า MIC และ MBC ในการยับยั้งเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *L. innocua* โดยการเจือจางในอาหารแข็งและอาหารเหลว ซึ่งพบว่าน้ำมันหอมระเหยทั้งหมดสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *L. innocua* ได้ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครลิตรต่อ

มิลลิลิตร จากนั้นจึงเลือกใช้น้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด คือ ตะไคร้ อบเชยและเจอรานีโอล ที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้มากที่สุดไปวิเคราะห์ค่า MBC และพบว่าการใช้ น้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ชนิด ที่ความเข้มข้น 2 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *L. innocua* ในแอปเปิ้ลและน้ำลูกแพร์

Senhaji *et.al.* (2005) ศึกษาประสิทธิภาพของอบเชยที่สกัดจากน้ำ เฮกเซน เมทานอลและเอทานอล ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ยีสต์ และ *Leishmania infantum* ด้วยวิธี microtitration พบว่าอบเชยที่สกัดจากเฮกเซนและเมทานอลแสดงการยับยั้งของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและลบ และยีสต์

Moreiraa *et. al.* (2005) ศึกษาการใช้ น้ำมันหอมระเหยและสารจากธรรมชาติ จากยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.), ตรีทรี (*Melaleuca alternifolia*), โรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis* L.), มินท์ (*Mentha arvensis* Linn.), มัสตาดโรส (*Rosa Moschata*), กานพลู (*Syzygium aromaticum* L.), เลมอน (*Citrus limonum*), ออริกาโน (*Origanum vulgare*), ไพล์ (*Pinus silverstrys*) และ โหระพา (*Ocimum basilicum* Linn.) มายับยั้งการอยู่รอดและการเจริญของเชื้อ *E. coli* O157:H7 พบว่า น้ำมันกานพลูแสดงค่า MIC และ MBC ต่ำสุด เท่ากับ 0.25ml/100ml และ 0.3ml/100ml ตามลำดับ และสามารถแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อได้ดี

Wannissorn *et al.* (2005) ได้ศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร 32 ชนิด ต่อเชื้อโรคในทางเดินอาหาร คือ *Salmonella* sp., *E. coli* O157:H7, *Campylobacter jejuni* และ *Clostridium perfringens* พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก ไพล (*Zingiber cassumunar*), อบเชยไทย (*Cinnamomum bejolghota*), เปเปอรัมินท์ (*Mentha arvensis* var. *piperacens*), ตะไคร้ (*Cymbopogon citrates*) และโหระพา (*Ocimum basilicum* var. *citratum*) มีฤทธิ์ในการยับยั้งและต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย

Mau *et. al.* (2001) ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากกุยช่าย (*Allium tuberosum*) อบเชย (*Cinnamomum verum.*) และ ชันจูหวี (*Cornus officinalis*) ในการยับยั้งแบคทีเรียทางเดินอาหารทั้งแบบการใช้ตัวเดียวและนำมาใช้ร่วมกัน พบว่าการรวมกันของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* มากกว่าการใช้สาร potassium sorbate ที่ความเข้มข้น 2-5 mg/mL และยังยับยั้งการเจริญของ *Pichia membranaefaciens* ที่ระดับต่ำกว่า 2 mg/mL

Khafagi *et. al.* (2000) ศึกษาความเป็นพิษของสารต้านเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์ในการต่อต้านของน้ำมันหอมระเหย 7 ชนิดคือ เทียนสัตตบุษย์ (*Pimpinella anisium* L.), เทียนดำ (*Nigella sativa* L.) เทียนตากบ (*Carum carve* L.) กานพลู (*Syzygium aromaticum* L.) เทียนขาว (*Cuminum*

cyminum L.), ผักชีล้อม (*Foeniculum graveolens* Mill.), และ โรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis* L.) ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* และ และยีสต์ 2 ตัว ได้แก่ *Candida albicans* และ *Candida tropicalis* พบว่า เทียนดำ กานพลู ผักชีล้อม และโรสแมรี่แสดงกิจกรรมการต่อต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดี ส่วนน้ำมันกานพลูแสดงกิจกรรมการต้านเชื้อแบคทีเรียได้กว้าง

อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินการวิจัย

1. การตรวจหาเชื้อแบคทีเรียในผักสลัด

1.1 ตัวอย่างที่ทำการตรวจสอบ จะทำการตรวจหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว ในผักตระกูลสลัด (lettuce) จำนวน 2-3 ชนิด จากแหล่งต่างๆ ดังนี้

- 1) ที่ขายอยู่ตามตลาดสด จำนวน 3 แห่ง
- 2) ที่ขายอยู่ในห้างสรรพสินค้า จำนวน 3 แห่ง
- 3) จากแปลงเกษตรกร จำนวน 3 สถานที่
- 4) จากฟาร์มปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน จำนวน 3 ฟาร์ม

ผักใบแต่ละชนิดที่นำมาตรวจ จะเฉพาะเจาะจงลงไปในกลุ่มแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร (food-borne pathogens) ซึ่งได้แก่ *E. coli* และ *Salmonella* และ post-harvest pathogens ซึ่งได้แก่ *Pseudomonas* และ *Erwinia* โดยแต่ละแห่งจะสุ่มเก็บมา 15 ตัวอย่าง ในการตรวจสอบแต่ละครั้ง

1.2 การตรวจปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

ทำการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิต โดยวิธี agar plate count บนอาหารจำเพาะ (selective media) ที่ใช้ในการตรวจนับเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด และบนอาหารที่ใช้ตรวจนับแบคทีเรียทั่วไป (plate count agar)

1.3 การจัดจำแนกเชื้อ

โดยการส่งไปวิเคราะห์ภายนอกเพื่อยืนยันชนิดของแบคทีเรีย พร้อมทั้งเก็บรักษาเชื้อไว้เพื่อการทดสอบในขั้นตอนต่อไป

2. การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ในสภาพ *in vitro*

2.1 การเตรียมน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากพืช

1) การเตรียมน้ำมันหอมระเหย โดยนำกานพลู และอบเชยในรูปของผงบดแห้ง ส่วนกะเพรา และโหระพาใช้ใบสด (ที่ทำการปลูกในแปลงปลูกคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จนถึงระยะเริ่มออกดอก) นำไปสกัดน้ำมันด้วยวิธี hydro distillation โดยนำส่วนของพืชที่จะสกัดใส่ boiling flask ประมาณสองในสามส่วน จากนั้นเติมน้ำกลั่นจนท่วมชิ้นส่วนของพืช ให้ความร้อนที่เหมาะสมตลอดระยะเวลาในการกลั่นประมาณ 3-12 ชั่วโมง จากนั้นเก็บน้ำมันหอมระเหยที่ได้ในขวดที่บดแสงแล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10°C เพื่อรอการทดสอบต่อไป

2) การเตรียมสารสกัด ด้วยวิธี extraction solvent โดยชั่งตัวอย่างพืชอย่างละ 1 กิโลกรัม เติม 95% ethanol โดยใช้อัตราส่วนสมุนไพรต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:10 แช่ไว้เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นกรองเอาส่วนที่เป็นสารละลายออกด้วยผ้าขาวบางแล้วกรองซ้ำด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำส่วนของสารละลายที่กรองได้ไประเหย ethanol ออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จนได้สารสกัดหยาบ (crude extract) นำเก็บใส่ขวดที่บ่มแสงแล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10 °C ของคาเพื่อรอการทดสอบ

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดโดยวิธี paper disc agar diffusion

นำส่วนของสารสกัดจากพืชที่แยกได้จากข้อ 2.1 มาศึกษากรรมวิธีในการทำให้สารสามารถละลายหรือแขวนลอยในน้ำ และจากนั้นทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ โดยวิธี paper disc agar diffusion บนอาหาร NA (nutrient agar) หรือ TSA (tryptone soya agar) โดยใช้ micropipette ขนาด 10 ไมโครลิตร หยดสารสกัดแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 100, 500, 1,000, 5,000 และ 10,000 ppm (0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 mg/ml หรือ ul/ml) ลงบนกระดาษกลม (paper disc) ขนาด 6 มม. ที่นั่งฆ่าเชื้อแล้ว นำกระดาษกลมนี้ไปวางบนผิวหน้าอาหาร โดยมี control (0 ppm) อยู่ตรงกลาง ทำ 4 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 10, 15 และ 25°C เป็นเวลา 24 ชม. บันทึกผลโดยตรวจดูการเกิดบริเวณยับยั้ง วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง หาค่าเฉลี่ยและบันทึกภาพ

2.3 การหาค่า MIC (minimal inhibitory concentration) และ MBC (minimal bactericidal concentration) ของสารสกัด หรือน้ำมันหอมระเหย

ทำการหาค่าโดยใช้วิธี Broth dilution method (Davison and Branen, 1993) โดยใช้หลอดทดลองจำนวน 14 หลอด ปิเปตอาหาร TSB (Tryptone soya broth) จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่ 1-11 ส่วนหลอดที่ 12 เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารสกัด 1 มิลลิลิตร หรือน้ำมันหอมระเหย (ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 100 mg/ml หรือ 100 ul/ml) ลงในหลอดที่ 1 และ หลอดที่ 13 จากนั้นผสมสารในหลอดที่ 1 ให้เข้ากัน แล้วปิเปตสารในหลอดที่ 1 มา 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่ 2 ทำซ้ำวิธีการเดียวกันจนถึงหลอดที่ 10 เตรียมเชื้อที่ต้องการทดสอบโดยเตรียมสารแขวนลอยแบคทีเรียให้มีความเข้มข้นเท่ากับ McFarland No 0.5 (ซึ่งจะมีความเข้มข้นประมาณ 10^8 cfu/ml) จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้นประมาณ 1×10^6 cfu/ml (ศวรรณี เหลืองสุนทร และ วลัยลักษณ์ จันทรปานนท์. 2550) แล้วปิเปตเชื้อที่ได้ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่ 1-11, 13 และ 14 ส่วนในหลอดที่ 14 ปิเปต DMSO ที่ความเข้มข้น 10% 1 มิลลิลิตร ลงไป จากนั้นนำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจผลโดยดูว่ามีความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ทำให้สารละลายภายในหลอดไม่มีความขุ่นเกิดขึ้นให้ถือว่าเป็น

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) จากนั้นนำสารละลายจากหลอดทดลองที่ไม่มีการเจริญของเชื้อมาขีดลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร TSB แล้วนำไปป้อน optimum temperature เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบโดยดูว่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหลังจากนำมาขีดแล้วไม่มีเชื้อเจริญจะถือว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดนั้นเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) ทำการทดลอง 3 ซ้ำในแต่ละความเข้มข้นที่ทดสอบ

2.4 การทดสอบประสิทธิภาพไธโรของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร

ทำการทดสอบโดยวิธีการ pour plate เจือจางสารแขวนลอยของแบคทีเรียทดสอบให้ได้ความเข้มข้นเชื้อ 10^4 cfu/ml ปิเปตเชื้อมาปริมาณ 10 ไมโครลิตร ลงจานเลี้ยงเชื้อขนาดเล็ก (5 มิลลิเมตร) เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ลงไป ปิดด้วยฝาที่มีกระดาศกรองผ่านการฆ่าเชื้อที่หัดด้วยน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 และ 10.0 μ l /ml ปริมาตร 20 ไมโครลิตร แล้วพันด้วยพาราฟิล์มนำไปป้อนที่อุณหภูมิ 15, 25 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น ในแต่ละความเข้มข้นทำการทดลองจำนวน 5 ซ้ำ

3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด หรือน้ำมันหอมระเหยจากพืช ในการลดปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในผักสลัด ก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว

3.1 การทรีตสารทดสอบในสภาพแปลงปลูก

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองในหัวข้อ 1 และ 2 มาประมวลผล เพื่อให้ทราบส่วนของสารทดสอบ และความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแต่ละชนิด ตลอดจนแหล่งที่มาของผัก ที่ตรวจพบปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นโทษมากที่สุด มาทำทดสอบโดยการฉีดพ่นสารดังกล่าวลงในแปลงปลูกจำนวน 2 ครั้ง ก่อนการเก็บเกี่ยว

3.2 การตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรีย

โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างผักในแปลงทดลองที่ทำการทรีตด้วยสารทดสอบ มาตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่มีความสำคัญตามวิธีการในข้อ 1.2 เปรียบเทียบกับตัวอย่างผักในแปลงเดียวกันที่ไม่ได้ทำการ ทรีตด้วยสารทดสอบ

3.3 การทดสอบในผักสลัดหลังการเก็บเกี่ยว

ทำการเตรียมสารสกัด หรือน้ำมันให้อยู่ในรูปของเหลว ตามความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพที่ได้จากข้อ 2 จากนั้นนำผักสลัดล้างทำความสะอาด และแช่ด้วยสารละลายของสารทดสอบดังกล่าว ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ และระยะเวลาต่างๆ ตามกรรมวิธีที่จะกำหนด ซึ่งอาจจะต้องมีการปลูกเชื้อทดสอบลงไปด้วย จากนั้นทำการตรวจนับประชากรของแบคทีเรียในกลุ่มที่มีความสำคัญ เปรียบเทียบกับ control