ผลของน้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบตในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus* ในผลิตภัณฑ์น้ำพริก

EFFECT OF CINNAMON OIL AND POTASSIUM SORBATE ON INHIBITION OF STAPHYLOCOCCUS IN CHILLI PASTE PRODUCTS

นายจตุรนต์ รัตนวราหะ

นางสาวณิชากร วิชกิจ

นายวีรยุทธ วัฒนาเอี๊ยบพันธ์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFECT OF CINNAMON OIL AND POTASSIUM SORBATE ON INHIBITION OF STAPHYLOCOCCUS IN CHILLI PASTE PRODUCTS

Mr. JATURON RATTANAWARAHA

Miss. NICHAKORN VICHAKIJ

Mr. WIRUYOOT WUTTUNA-IEPPUN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN BIOTECHNOLOGY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ผลของน้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบตในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus* ในผลิตภัณฑ์น้ำพริก Effect of cinnamon oil and potassium sorbate on inhibition of *Staphylococcus* in chilli paste products
นักศึกษา	นายจตุรนต์ รัตนวราหะ นางสาวณิชากร วิชกิจ นายวีรยุทธ วัฒนาเอี๊ยบพันธ์
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	ชีววิทยาประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา ชีววิทยาประยุกต์ ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ. ดร. ดวงใจ โอชัยกุล	
กรรมการ ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล	
กรรมการ รศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ	

.....

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ.ระนอง)

ประธานสาขาวิชาชีววิทยา

ลิขสิทธิ์ของ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ผลของน้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบตในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus* ในผลิตภัณฑ์น้ำพริก
นักศึกษา	นายจตุรนต์ รัตนวราหะ
	นางสาวณิชากร วิชกิจ
	นายวีรยุทธ วัฒนาเอี๊ยบพันธ์
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา	2553
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ

บทคัดย่อ

ในการศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำพริก 10 ชนิด ได้แก่ น้ำพริกปลาย่าง น้ำพริกปลาร้า น้ำพริกตาแดง น้ำพริกแมงดา น้ำพริกกะปิ น้ำพริกนรก น้ำพริกไข่เค็ม น้ำพริกกุ้งเสียบ น้ำพริกปลาทูและน้ำพริกมะขาม พบว่าน้ำพริกทุกตัวอย่างที่ตรวจสอบมีเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนจำนวนมากโดยมีจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 1.2×10^4 - 6.0×10^8 CFU ต่อกรัม พบเชื้อ *Staphylococcus* sp. อยู่ในช่วง 3.0×10^3 - 1.0×10^7 CFU ต่อกรัม และมีจำนวนยีสต์และเชื้อราอยู่ในช่วง 1.2×10^4 - 3.1×10^7 CFU ต่อกรัม จากนั้นได้ทำการแยกเชื้อ *Staphylococcus* จากน้ำพริกปลาทูจำนวน 2 ไอโซเลต ได้แก่ ไอโซเลต I_1 และไอโซเลต I_4 และได้นำเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลตมาศึกษาคุณลักษณะและจำแนกชนิดโดยอาศัยคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสมบัติทางชีวเคมีพบว่าเชื้อ *Staphylococcus* ไอโซเลต I_1 เป็นเชื้อ *Staphylococcus xylosus* และเชื้อ *Staphylococcus* ไอโซเลต I_4 เป็น *Staphylococcus lugdunensis*

การศึกษาผลของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบตต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดคือ *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505 และ *S. lugdunensis* ที่แยกได้จากน้ำพริกปลาทู และในอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA), อาหาร Chilli model agar (CMA) และอาหาร Fish Model Agar (FMA) ที่ระดับพีเอช 5.0 และพีเอช 5.5 พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อของจุลินทรีย์โดยน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบตขึ้นอยู่กับชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อและค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อโดยในบรรดาอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 ชนิดที่ใช้ทดสอบพบว่า แบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดมีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยน้ำมันอบเชยมากที่สุดในอาหาร CMA ที่ทั้ง 2 ระดับพีเอช และโดยส่วนใหญ่แบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดค่อนข้างต้านทานน้ำมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อบเชยในอาหาร TSA และอาหาร FMA ในบรรดา *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิดที่ทดสอบ *S. aureus* มีความไวมากที่สุดต่อการถูกยับยั้งโดยน้ำมันอบเชยในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 ชนิด ขณะที่ *S. lugdunensis* สามารถต้านทานต่อน้ำมันอบเชยได้ดีที่สุด โพแทสเซียมซอร์เบตมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิด ที่พีเอช 5.0 (ค่า MIC เท่ากับ 0.0625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ได้ดีกว่าที่พีเอช 5.5 ซึ่งต่างกับเชื้อ *S. lugdunensis* ที่สามารถต้านทานต่อโพแทสเซียมซอร์เบตในอาหาร TSA ที่พีเอช 5.0 (ค่า MIC เท่ากับ 30ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ได้ดีกว่าที่พีเอช 5.5 และในการทดสอบผลการใช้ร่วมกันของน้ำมันอบเชยกับโพแทสเซียมซอร์เบต พบว่าในอาหาร CMA ที่พีเอช 5.0 น้ำมันอบเชยกับโพแทสเซียมซอร์เบตให้ผลเสริมฤทธิ์กันในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิด (ค่า FICI เท่ากับ 0.1873) สำหรับในอาหาร FMA การใช้น้ำมันอบเชยผสมกับ โพแทสเซียมซอร์เบตให้ผลเสริมฤทธิ์กันในการยับยั้งการเจริญของ *S. lugdunensis* เพียงชนิดเดียว โดยเฉพาะที่ระดับพีเอช 5.0 (ค่า FICI เท่ากับ 0.1873)

คำสำคัญ : น้ำมันอบเชย โพแทสเซียมซอร์เบต *Staphylococcus* sp. น้ำพริก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Effect of cinnamon oil and potassium sorbate on inhibition of *Staphylococcus aureus* in chilli paste products
Students	Mr. Jaturon Rattanawaraha
	Miss. Nichakorn Vichakij
	Mr. Wiruyoot Wuttuna-ieppun
Degree	Bachelor of Science
Major Program	Biotechnology
Academic Year	2010
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Suree Nanasombat

ABSTRACT

The microbiology and chemical qualities of 10 types of chilli paste products including Namprik Playang, Namprik Plara, Namprik Tadang, Namprik Mangda, Namprik Kapi, Namprik Narok, Namprik Kaikhem, Namprik Kungsieb, Namprik Platu and Namprik Makham were studied. All chilli paste samples tested contained high number of bacteria, yeaste and mold. Total bacterial counts, *Staphylococcus* counts, and yeast and mold counts in chilli paste samples were in the range of $1.2x10^4$-$6.0x10^8$ CFU/g, $3.0x10^3$-1.0×10^7 CFU/g and $1.2x10^4$-$3.1x10^7$ CFU/g, respectively. Then, 2 *Staphylococcus* isolates (isolate I_1 and isolate I_4) isolated from Namprik Platu were identified by using morphological characteristics and biochemical properties. The selected *Staphylococcus* strains (isolate I_1 and isolate I_4) were *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus lugdunensis*, respectively.

Antibacterial activities of cinnamon oil and potassium sorbate in Tryptic Soy Agar (TSA), Fish Model Agar (FMA) and Chilli Model Agar (CMA) at pH levels of 5.0 and 5.5 against *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505 *and Staphylococcus lugdunensis* isolated from Namprik Platu were investigated. Efficacy of cinnamon oil and potassium sorbate on growth inhibition of all *Staphylococcus* species tested was found to depend on the types of medium and their pH level. Among all three types of medium tested, all three *Staphylococcus* species were most susceptible in CMA at both pH levels. Mostly, all three *Staphylococcus* species were resistant to cinnamon oil in TSA and FMA. Among all *Staphylococcus* species tested, *S. aureus* were most sensitive to be inhibited by

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cinnamon oil in all three types of medium, whereas *S. lugdunensis* exhibited the highest resistance to cinnamon oil. In FMA and CMA, potassium sorbate showed more effective to inhibit the growth of all three *Staphylococcus* at pH 5.0 (MIC value of 0.0625 μg/ml) than at pH 5.5. Differently, *S. lugdunensis* showed more resistance to potassium sorbate at pH 5.0 (MIC value of 30 μg/ml) than at pH 5.5. Synergy testing of cinnamon oil mixed with potassium sorbate revealed the synergistic effect on growth inhibition of all three *Staphylococcus* species in CMA at pH 5.0 with the fractional inhibitory concentration index (FICI) of 0.1873. In FMA medium at pH 5.0, synergistic effect of cinnamon oil and potassium sorbate were found against *S. lugdunensis* only (FICI value of 0.1873)

Keyword : Cinnamon oil, Potassium sorbate, *Staphylococcus* sp., chilli paste

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาวิชาโครงงานพิเศษ ในหัวข้อเรื่อง ผลของน้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบตในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในผลิตภัณฑ์น้ำพริก

โครงงานพิเศษนี้ไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปด้วยดีหากไม่ได้รับการช่วยเหลือจากบุคคลดังต่อไปนี้

ทางผู้จัดทำขอขอบพระคุณ รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ ที่ให้ความรู้และคำแนะนำต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการทดลอง ข้อเสนอแนะ การตอบข้อซักถามที่เกิดขึ้นในการทำการทดลอง รวมทั้งกำลังใจ และข้อคิดดีๆจนกระทั่งโครงงานพิเศษลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณพี่ๆปริญญาโทและเพื่อนๆทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในเรื่องต่างๆที่ทำให้โครงงานพิเศษเป็นไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณบิดา-มารดาของผู้จัดทำที่เป็นกำลังใจและสนับสนุนกำลังทรัพย์ในการทำโครงงานพิเศษนี้

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานที่จัดทำขึ้นฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับโครงงานพิเศษนี้ หากมีข้อผิดพลาดประการใด ผู้จัดทำขออภัย ณ ที่นี้ด้วย

จตุรนต์ รัตนวราหะ

ณิชากร วิชกิจ

วีรยุทธ วัฒนาเอี๊ยบพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ III
กิตติกรรมประกาศ V
สารบัญ VI
สารบัญตาราง IX
สารบัญรูป XI
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ 1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ 2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ 3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ 4
2.1 น้ำพริก 4
2.1.1 กรรมวิธีการผลิตน้ำพริกในระดับอุตสาหกรรม 4
2.2 จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน 7
2.3 น้ำมันหอมระเหย 10
2.3.1 Hydrocarbon 11
2.3.2 Phenylpropane 14
2.3.3 อบเชย 15
2.3.3.1 อบเชยเทศ 16
2.3.3.2 อบเชยอินโดนีเซีย 16
2.3.3.3 อบเชยจีน 16
2.3.3.4 อบเชยญวน 17
2.3.3.5 อบเชยไทย 17
2.4 กรดซอร์บิก 17
2.4.1 ลักษณะโดยทั่วไป 17
2.4.2 กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 21

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 25

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี 25

3.1.1 วัตถุดิบ 25

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ 25

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ 25

3.1.4 สารเคมี 26

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ 26

3.2 วิธีการทดลอง 27

3.2.1 การศึกษาคุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำพริก 27

3.2.2 การแยกเชื้อ ศึกษาคุณลักษณะและจำแนกชนิดของ Staphylococcus ที่แยกได้จากน้ำพริก 29

3.2.2.1 การทดสอบเพื่อยืนยันว่าเชื้อที่แยกได้เป็น *Staphylococcus* sp. ไม่ใช่ *Micrococcus* sp. 29

3.2.2.1 การจำแนกชนิดของ *Staphylococcus* โดยใช้ชุดทดสอบ API staph 31

3.2.3 การศึกษาผลของน้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบตในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* *Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus* sp. 31

3.2.3.1 การเตรียมน้ำมันอบเชย 31

3.2.3.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ 32

3.2.3.3 การเตรียมอาหารจำลอง 32

3.2.3.4 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี agar dilution 32

3.2.3.5 การทดสอบด้วยวิธี agar dilution checkerboard 33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง 35

4.1 คุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำพริก 35

4.2 การแยกเชื้อ และการศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดของ *Staphylococcus* ที่แยกจากน้ำพริก 37

4.3 สมบัติทางชีวเคมีของ *Staphylococcus* ที่คัดเลือก 39

4.4 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus lugdunensis* โดยวิธี agar dilution 42

4.5 การศึกษาอิทธิพลของน้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบต ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* และ *S. lugdunensis* โดยวิธี agar dilution checkerboard 45

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 50

เอกสารอ้างอิง 52

ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายที่ใช้ในการทดลอง 58

ภาคผนวก ข ผลการทดลอง 62

ภาคผนวก ค การเตรียมสารละลายอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบต 77

ภาคผนวก ง การหาค่า fractional inhibitory concentration (FIC) และการคำนวณค่า FIC index 82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

2.1 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของกรดซอร์บิกและโพแทสเซียมซอร์เบต 18

4.1 คุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำพริกที่จำหน่ายในตลาดกรุงเทพมหานครฯและปริมณฑล 37

4.2 จำนวนไอโซเลตของเชื้อ *Staphylococcus* ที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำพริกและผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส 39

4.3 ผลการทดสอบทางเคมีของเชื้อที่แยกจากน้ำพริกเพื่อตรวจสอบว่าเป็น *Staphylococcus* หรือ *Micrococcus* 40

4.4 การทดสอบ API Staph ของเชื้อที่คัดเลือกจากน้ำพริกที่จำหน่ายในตลาดในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล 41

4.5 ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบตที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในอาหารชนิดต่างๆที่พีเอช 5.0 และพีเอช 5.5 42

4.6 ค่า Fractional Inhibitory Concentration (FIC) และค่า FIC index (FICI) ของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบตใน Fish model agar 48

4.7 ค่า Fractional Inhibitory Concentration (FIC) และค่า FIC index (FICI) ของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบตใน Chilli model agar 49

ข.1 คุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำพริกที่จำหน่ายในตลาดกรุงเทพและปริมณฑล 63

ข.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase test) และโคแอคกลูเลส (Coagulase test) ของ*Staphylococcus* ที่คัดแยกจากน้ำพริก 67

ค.1 การเตรียมน้ำมันอบเชยที่ความเข้มข้นต่างๆกันเพื่อใช้ในการทดสอบหาค่า minimum inhibitoty concentration 79

ค.2 การเตรียมโพแทสเซียมซอร์เบตที่ความเข้มข้นต่างๆกันเพื่อใช้ในการทดสอบหาค่า minimum inhibitoty concentration 81

ง.1 รูปแบบการผสมของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบต 83

ง.2 ความเข้มข้นของ stock solution และความเข้มข้นสุดท้ายของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบต 86

ง.3 การยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* โดยน้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบต 87

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ง.4 Stock solution ของโพแทสเซียมซอร์เบตที่เตรียมได้จากค่า MIC และค่าความเข้มข้นสุดท้ายที่ใช้ในการทดสอบ 89

ง.5 Stock solution ของน้ำมันอบเชยที่เตรียมได้จากค่า MIC และค่าความเข้มข้นสุดท้ายที่ใช้ในการทดสอบ 90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

	หน้า
2.1 การคัดเลือกวัตถุดิบ	4
2.2 การบดวัตถุดิบ	5
2.3 การเคี่ยวด้วยความร้อน	5
2.4 การบรรจุผลิตภัณฑ์	6
2.5 นำน้ำพริกลงตะกร้า	6
2.6 การฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์	7
2.7 การทดสอบคุณภาพน้ำพริก	7
2.8 โครงสร้างสารเคมีพวก Ketonic volatile oil	11
2.9 โครงสร้างสารเคมีพวก Aldehyde volatile oil	11
2.10 โครงสร้างสารเคมีพวก Alcoholic volatile oil	11
2.11 โครงสร้างสารเคมีพวก Ester volatile oil	12
2.12 โครงสร้างสารเคมีพวก Terpene oxide	13
2.13 โครงสร้างสารเคมีพวก Phenolic volatile oil	13
2.14 โครงสร้างสารเคมีพวก Sesquiterpene	13
2.15 โครงสร้างสารเคมีพวก Monoterpene	14
2.16 ต้นอบเชย	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

น้ำพริกแบ่งได้ 2 ชนิด ได้แก่ น้ำพริกชนิดเปียกและน้ำพริกชนิดป่นแห้ง โดยน้ำพริกชนิดเปียก คือ น้ำพริกที่ทำจากเครื่องเทศที่เผา คั่ว หรือทอด แล้วนำมาบดผสมให้เข้ากันปรุงแต่งด้วยเครื่องปรุงรสแล้วจึงนำไปผัดหรือนึ่ง (มก.-ธ.ก.ส. 055/2549) ส่วนน้ำพริกแห้งคือ น้ำพริกที่ทำมาจากเนื้อสัตว์หรือพืชที่ทำให้แห้งโดยผ่านความร้อนและบด นำมาเคล้าให้เข้ากันและเติมเครื่องปรุงรส (มก.ธ.ก.ส. 004/2547) วัตถุดิบที่มักใช้ในการผลิตน้ำพริกส่วนใหญ่ได้แก่ พริกแห้ง กระเทียม หอมแดง กุ้งแห้ง ซึ่งน้ำพริกส่วนใหญ่ที่วางจำหน่ายตามท้องตลาดมักจะมีกรรมวิธีการผลิตแบบครัวเรือนที่มีการควบคุมคุณภาพในการผลิตต่ำ รวมถึงการมีสุขลักษณะการผลิตที่ไม่ดี ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้มากและมีอายุการเก็บรักษาสั้น ตามมาตรฐานมก.ธ.ก.ส. ของผลิตภัณฑ์น้ำพริกชนิดเปียกและน้ำพริกป่นแห้ง กำหนดว่าในตัวอย่าง 1 กรัม จะต้องมีจำนวนจุลินทรีย์ไม่เกิน 1×10^4 โคโลนี ยีสต์และราไม่เกิน 100 โคโลนี และ*Escherichia coli* โดยวิธี MPN น้อยกว่า 3 ในกรณีของน้ำพริกชนิดเปียกต้องไม่พบเชื้อ *Staphylococcus aureus* รุ่งระวี และคณะ (2545) ได้ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำพริกจากชุมชน พบว่าน้ำพริกมีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 1 สัปดาห์ และพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เกินมาตรฐานในตัวอย่างน้ำพริกร้อยละ 81.67 นอกจากนี้ พัชราวัลย์ และคณะ (2548) ได้รายงานการตรวจพบจำนวนจุลินทรีย์ ยีสต์ และเชื้อราในน้ำพริกหนุ่มอยู่ในช่วง 3.0 - 6.95 logCFU ต่อกรัม และ 2.79 - 6.49 logCFU ต่อกรัมตามลำดับและยังตรวจพบจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* อยู่ในช่วงที่เกินกว่ามาตรฐานกำหนด การปนเปื้อนโดยเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำพริกมักจะมาจากวัตถุดิบ ขั้นตอนการผลิตหรือแม้กระทั่งจากมือของผู้ประกอบอาหาร สิริพร และคณะ (2539) ได้ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในวัตถุดิบสำหรับผลิตน้ำพริกสำเร็จรูป ได้แก่ หัวหอม กระเทียม พริกแห้ง กะปิ กุ้งแห้ง พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ค่อนข้างสูง โดยพริกแห้งมีจำนวนจุลินทรีย์มากที่สุดและพบ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* มีจำนวนอยู่ในช่วง 0 - 3.3 และ 0 - 2.0 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่ง *Staphylococcus aureus* เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญสามารถบ่งชี้ถึงการผลิตที่ไม่ได้มาตรฐาน โดยอาจเกิดการปนเปื้อนจากผู้ประกอบอาหารซึ่งมีลักษณะส่วนบุคคลไม่ดี ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้สุ่มตัวอย่างน้ำพริกที่จำหน่ายตามท้องตลาดมาตรวจหาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวน *Staphylococcus aureus* และจำนวนยีสต์และเชื้อรา เพื่อให้ทราบถึงคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำพริกและเพื่อหาวิธีการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำพริก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้สารถนอมอาหารจากธรรมชาติ เช่น น้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศ เป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ โดยปกติมักใช้เครื่องเทศในการปรุงแต่งกลิ่นรส แต่เครื่องเทศหลายชนิดยังมีคุณสมบัติในการต้านทานจุลินทรีย์ได้ดี ดังการวิจัยของ Gupta และคณะ (2008) ได้ศึกษาสมบัติการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันอบเชยและสารสกัดจากอบเชย พบว่าน้ำมันอบเชยและสารสกัดจากอบเชยระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้คือที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ Nanasombat และ Wimuttigosol (2010) ได้รายงานว่าน้ำมันอบเชยมีสมบัติการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยของเครื่องเทศชนิดอื่น โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจึงน่าสนใจที่จะนำน้ำมันอบเชยมาใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus* ที่แยกได้จากน้ำพริก แต่โดยทั่วไปประสิทธิภาพของสารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารจะต่ำกว่าถ้าเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Jay และคณะ, 2005) ถ้าหากต้องการใช้น้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารอย่างมีประสิทธิภาพจำเป็นต้องใช้ในระดับความเข้มข้นสูง แต่การใช้น้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศมีข้อจำกัด คือ หากใช้ในปริมาณมากจะมีกลิ่นฉุน ทำให้อาหารนั้นไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค การใช้น้ำมันอบเชยร่วมกับสารยับยั้งชนิดอื่นอาจเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร ซึ่งได้มีนักวิจัยหลายท่านได้ประสบความสำเร็จในการใช้สารยับยั้งหลายชนิดร่วมกันในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร ดังเช่นการรายงานของ Souza และคณะ (2009) ที่ได้แสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยร่วมกับกรดแอซีติกสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในอาหาร Nutrient broth ได้ดีกว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยหรือกรดแอซีติกเพียงอย่างเดียว แต่ประสิทธิภาพของน้ำมันอบเชยร่วมกับเกลือของกรดอินทรีย์ เช่น โพแทสเซียมซอร์เบตในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารยังไม่เคยมีผู้ใดศึกษามาก่อน ซึ่งโพแทสเซียมซอร์เบตเป็นเกลือของกรดอินทรีย์ที่นิยมใช้ยับยั้งการเจริญของยีสต์และเชื้อราแต่ก็มีฤทธิ์ในการยับยั้งและช่วยชะลอการเจริญของแบคทีเรียได้เช่นกัน (Sofos และ Busta, 1993) ดังนั้นถ้าหากสามารถนำน้ำมันอบเชยไปใช้ร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบตในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ในน้ำพริกได้ก็จะช่วยเพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้บริโภคมากยิ่งขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 เพื่อศึกษาคุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำพริกที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล

1.2.2 เพื่อศึกษาคุณภาพทางชีวเคมีของเชื้อ *Staphylococcus* ที่แยกได้จากน้ำพริก

1.2.3 เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus* โดยใช้น้ำมันอบเชย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพแทสเซียมซอร์เบต และน้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบต

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันอบเชย โพแทสเซียมซอร์เบต และน้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบต ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus* sp.

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ทราบถึงผลของการใช้น้ำมันอบเชย โพแทสเซียมซอร์เบต และน้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบต ที่อาจมีผลในการยับยั้ง *Staphylococcus* sp. โดยสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 น้ำพริก (chili paste)

น้ำพริก หมายถึง น้ำพริกที่พร้อมบริโภค มีพริก และอื่นๆ เช่น หอม กระเทียม พริกไทย เครื่องปรุงแต่งกลิ่นรส เครื่องเทศ เป็นเครื่องปรุง ทั้งนี้อาจมีเนื้อสัตว์ผสมอยู่ด้วยก็ได้ บรรจุในภาชนะพร้อมจำหน่ายทันที น้ำพริกมีชื่อเรียกต่างๆกัน ตามวิธีทำและเครื่องปรุงนั้นๆ (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำพริก, 2536)

อุตสาหกรรมน้ำพริก ถือเป็นสินค้ากลุ่มที่มีความเป็นเอกลักษณ์ของไทย และมีแนวโน้มในการส่งออกที่เพิ่มขึ้นตลอดเวลา 5 ปีที่ผ่านมา โดยปี 2549 สินค้ากลุ่มเครื่องแกงสำเร็จรูปทำรายได้นำเข้าประเทศสูงเกือบ 1000 ล้านบาท มั่นใจว่าหากสินค้ากลุ่มนี้ได้รับการสนับสนุนพัฒนาศักยภาพโดยเฉพาะระบบโครงสร้างพื้นฐานด้านมาตรฐานและคุณภาพสินค้า จะสามารถนำรายได้เข้าสู่ประเทศเพิ่มขึ้นและสร้างรายได้แก่เกษตรกรอีกทางหนึ่ง

2.1.1 กรรมวิธีการผลิตน้ำพริกในระดับอุตสาหกรรม

ก. คัดและตัดแต่งวัตถุดิบ

รูปที่ 2.1 การคัดเลือกวัตถุดิบ

ที่มา : http://www.lampangfood.com

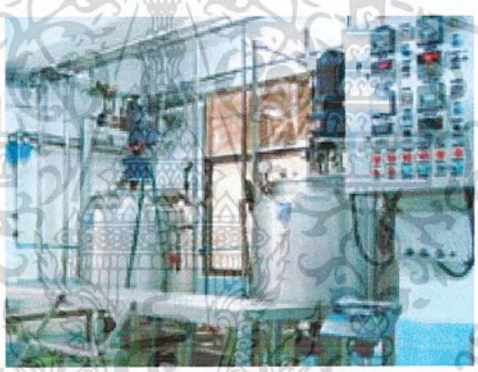
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข. นำวัตถุดิบเข้าเครื่องสับและบด

รูปที่ 2.2 การบดวัตถุดิบ

ที่มา : http://www.lampangfood.com

ค. เคี่ยวและผสมวัตถุดิบโดยให้ความร้อน



รูปที่ 2.3 การเคี่ยวด้วยความร้อน

ที่มา : http://www.lampangfood.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง. นำผลิตภัณฑ์ผ่านเครื่องบรรจุขวด

รูปที่ 2.4 การบรรจุผลิตภัณฑ์

ที่มา : http://www.lampangfood.com

จ. เรียงน้ำพริกที่บรรจุแล้วลงตะกร้า

รูปที่ 2.5 นำน้ำพริกลงตะกร้า

ที่มา : http://www.lampangfood.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฉ. ทำการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์

รูปที่ 2.6 การฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์

ที่มา : http://www.lampangfood.com

ช. ตรวจสอบคุณภาพน้ำพริก

รูปที่ 2.7 การทดสอบคุณภาพน้ำพริก

ที่มา : http://www.lampangfood.com

2.2 จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กมากที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าพบได้ทั่วไป ไม่ว่าจะเป็นในดิน น้ำ อากาศ ตามผิวหนังหรือลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ มีบทบาทสำคัญต่อมนุษย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งทางด้านอาหารทั้งชนิดที่เป็นประโยชน์และโทษแก่ผู้บริโภค ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อรา สำหรับบทบาทที่เป็นประโยชน์ ได้แก่ การก่อให้เกิดอาหารหมักชนิดต่างๆ การยืดอายุการเก็บรักษาอาหารให้ได้นานยิ่งขึ้น สำหรับบทบาทที่เป็นโทษ ได้แก่ การทำให้อาหารเน่าเสีย การก่อให้เกิดโรคจากการรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนจุลินทรีย์หรือสารพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณมากพอ จุลินทรีย์ต่างชนิดก็มีบทบาทในอาหารต่างชนิดกันขึ้นอยู่กับปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (บุษกร, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์ในอาหารสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ (อดิศร, 2538)

ก. จุลินทรีย์ที่ต้องการให้มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ จุลินทรีย์ดังกล่าวมักเติมลงในผลิตภัณฑ์เพื่อให้เกิดกลิ่นรสที่ต้องการ เช่น การเติมยีสต์ เพื่อผลิตแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ในเครื่องดื่มหรือขนมปัง

ข. จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสุขลักษณะ จุลินทรีย์กลุ่มนี้ไม่จัดว่าเป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค แต่มักใช้เป็นตัวบ่งชี้ว่าอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อโรคลำไส้ในผลิตภัณฑ์ เช่น *E. coli* coliforms และ faecal coliforms

ค. จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคกับผู้บริโภค ซึ่งเมื่อผู้บริโภคได้รับประทานอาหารที่มีเชื้อเหล่านี้ปนเปื้อนอยู่ในปริมาณมากพอที่จะก่อให้เกิดโรคแล้วผู้บริโภคจะเกิดอาการผิดปกติในร่างกาย เช่น คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย ฯลฯ เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มนี้ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ รา ไวรัส และพาราสิต

แบคทีเรียก่อโรคในคนของกลุ่ม *Staphylococcus* คือ *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม ไม่เคลื่อนที่ โคโลนีมีสีขาวจนถึงสีทอง ให้ผลการทดสอบโคแอคกูเลสเป็นบวกและทำให้พลาสมาเกิดเป็นลิ่ม เชื้อนี้เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางการแพทย์มากโดยสามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อกับทุกๆบริเวณของร่างกาย การติดเชื้อที่ผิวหนังสามารถทำให้ติดเชื้ออย่างอ่อนจนถึงขั้นรุนแรง รวมทั้งการเกิดหนองและเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดอย่างรุนแรง การติดเชื้อในกลุ่ม Staphylococci จะเรียกว่า scalded-skin syndrome นอกจากนี้ *Staphylococcus aureus* อาจพบจากการติดเชื้อไวรัส เช่น ไวรัสไข้หวัดใหญ่และสามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อในคนที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องได้ การติดเชื้อในกระแสเลือดจาก *Staphylococcus aureus* มักพบเสมอและอาจก่อให้เกิดโรคต่างๆมากมาย เช่น ลิ้นหัวใจอักเสบ ปอดอักเสบ *Staphylococcus aureus* บางสายพันธุ์ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งเป็นผลมาจากสารเอนเทอโรทอกซินที่ *Staphylococcus aureus* สร้างขึ้น โดยจะมีอาการ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดศีรษะ กล้ามเนื้อเป็นตระคิว อ่อนเพลีย อุจจาระเป็นมูกเลือด มีไข้ต่ำ หนาวสั่นและอาจมีอาการช็อคได้ (นันทวัน และคณะ, 2543)

เชื้อ *Staphylococcus aureus* ทำให้เกิดโรคโดยการบุกรุก แพร่กระจายเข้าไปในเนื้อเยื่อของร่างกายและสามารถสร้างสารพิษและเอนไซม์ต่างๆที่เป็นอันตรายต่อร่างกายได้แก่ (นันทนา, 2537)

ก. Hemolysins (Staphylolysins) เป็นสารประกอบที่เชื้อปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ ถูกทำลายด้วยความร้อน ออกฤทธิ์ที่เยื่อหุ้มเซลล์และมีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน เช่น Alpha hemolysin มีคุณสมบัติทำลายเม็ดเลือดแดงกระต่าย และทำลายเกล็ดเลือดได้ทำให้เกิดอาการอักเสบอย่างรุนแรงและทำให้เนื้อเยื่อส่วนนั้นเน่าตาย หากฉีดเข้ากระแสเลือดจะทำให้สัตว์ทดลองนั้นตายได้ Beta hemolysin สามารถทำลายเม็ดเลือดแดงแกะ แต่ไม่ทำลายเม็ดเลือดแดงกระต่าย จะเห็นคุณสมบัตินี้เมื่อเลี้ยงบนอาหาร Blood agar Delta hemolysin มีคุณสมบัติเป็นพิษต่อเม็ดเลือดขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และต่อเนื้อเยื่ออีกหลายชนิด Gamma hemolysin มีฤทธิ์น้อยกว่าชนิดอื่น ไม่ค่อยมีความสำคัญในการทำให้เกิดโรค

ข. Leukocidin ออกฤทธิ์ทำลายเม็ดเลือดขาวของสัตว์หลายชนิด ละลายน้ำได้ มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน ถูกทำลายด้วยความร้อนได้ง่ายกว่า exotoxin

ค. Enterotoxins เป็นสารที่ *Staphylococcus aureus* สร้างขึ้น สามารถละลายน้ำได้ มี 6 ชนิดด้วยกัน ได้แก่ A B C C_2 D และ E เชื้อจะสร้างสารดังกล่าวได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลวในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูง สารนี้ทนต่อเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร และเป็นสาเหตุสำคัญของการก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษในคน

ง. Coagulase เอนไซม์นี้สามารถทำให้พลาสมาแข็งตัวได้ มี 2 ชนิด คือ Bound coagulase เป็น receptor ที่จะมีปฏิกิริยากับ fibrinogen ในพลาสมาทำให้เลือดเกิดการแข็งตัว และตัวที่สองคือ Free coagulase เอนไซม์นี้ทำให้พลาสมาแข็งตัว ทำให้ร่างกายของเซลล์เจ้าบ้านไม่สามารถกำจัดโดยเม็ดเลือดขาวได้ โดยเอนไซม์จะไปจับกับ coagulase reacting factor (CRF) ในพลาสมาทำให้โปรทรอมบิน (prothrombin) เปลี่ยนไปเป็นทรอมบิน (thrombin) และไฟบริโนเจน (fibrinogen) เปลี่ยนไปเป็นไฟบริน (fibrin) ทำให้เลือดแข็งตัว ทำให้เม็ดเลือดขาวไม่สามารถจับทำลายเชื้อได้

จ. Hyaluronidase เป็นเอนไซม์ที่ช่วยเรื่องของการบุกรุกของเนื้อเยื่อได้ดี เนื่องจากเอนไซม์จะไปทำลาย hyaluronic acid ซึ่งเป็นสารที่เชื่อมทำให้เซลล์ติดกันเป็นเนื้อเยื่อได้

ฉ. Exfoliatin ส่วนใหญ่ถูกสร้างโดย *Staphylococcus aureus* phage type 2 สารพิษดังกล่าวทำให้เกิดอาการหลุดลอกของหนังกำพร้าทั่วร่างกาย โรคนี้มักพบในเด็ก สำหรับผู้ใหญ่ที่มีภูมิต้านทานต่ำก็สามารถพบได้เช่นกัน

ช. Penicilinase เป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการดื้อต่อยากลุ่มเพนนิซิลิน โดยที่เอนไซม์จะทำลาย beta-lactam ring

นอกจากนี้ *Staphylococcus aureus* ยังสามารถสร้างเอนไซม์พวก lipase proteinase และ DNase ทำให้การแพร่กระจายของเชื้อโรคเป็นไปได้มากขึ้น (นันทนา, 2537)

อาการของโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* มักเกิดขึ้นโดยมีสาเหตุมาจากการย่อยสารพิษ หรือเอนเทอโรทอกซินของ *Staphylococcus aureus* ที่เจริญในอาหาร สารพิษนี้ทำให้กระเพาะและลำไส้อักเสบ *Staphylococcus aureus* ที่สามารถผลิตสารพิษมักเป็นพวกที่สามารถสังเคราะห์เอนไซม์โคแอคกลูเลสได้ แต่ไม่จำเป็นว่าทุกสายพันธุ์ของ *Staphylococcus aureus* ที่ผลิตเอนไซม์โคแอคกลูเลส จะสามาถสร้างสารพิษได้ บางสายพันธุ์มีความสามารถในการทนเกลือที่มีความเข้มข้นได้สูงถึงร้อยละ 10 – 20 และยังสามารถทนไนไตรท์ได้ค่อนข้างดี ดังนั้นเชื้อนี้จึงสามารถเจริญได้ดีในเนื้อเค็ม นอกจากในสภาวะที่ความเข้มข้นของเกลือสูงแล้ว เชื้อยังเจริญได้ดีในที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลได้สูงถึงร้อยละ 50 – 60 ยังมีความสามารถในการย่อยโปรตีนแต่ไม่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นและ*Staphylococcus aureus* จะเจริญได้ช้าลงถ้ามีแบคทีเรียชนิดอื่นร่วมอยู่ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และแบคทีเรียชนิดอื่นที่ทำให้อาหารเสียจนสังเกตได้ก่อนที่ *Staphylococcus aureus* จะผลิตสารพิษถึงระดับที่เป็นอันตราย แต่การแข่งขันนี้จะไม่เกิดขึ้นถ้าหากอาหารนั้นได้รับความร้อนมาก่อน *Staphylococcus aureus* จะถูกทำลายที่ความร้อน 66 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 12 นาที หรือ 60 องสาเซลเซียส นาน 83 นาที ทั้งนี้การทนความร้อนของเชื้อจะแตกต่างกันไปตามชนิดของอาหารและสายพันธุ์ (นันทวัน และคณะ, 2543)

อาการของโรคอาหารเป็นพิษ ขั้นแรกที่พบอยู่เสมอคือ ผู้ป่วยจะมีน้ำลายออกมามากผิดปกติ คลื่นไส้ อาเจียน เป็นตะคริวที่ท้อง ท้องเสีย บางรายมีอาการมากอาจพบเลือด และมูกเลือดในอุจจาระด้วย บางรายปวดศีรษะ กล้ามเนื้อเป็นตะคริว เหงื่อออก หนาวสั่น อ่อนเพลีย ชีพจรอ่อนและช็อค มักพบว่ามีไข้ต่ำๆมากกว่าไข้สูง อาการจะคงอยู่ 1 – 2 วัน ก็จะหายโดยไม่ต้องรักษา อัตราการตายต่ำในรายที่มีอาการมากอาจต้องให้น้ำเกลือ (สุมาลี, 2539)

ปัจจัยที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Staphylococcus* ชนิดที่สร้างสารพิษจะเจริญในอาหารนั้นๆ อาหารต้องมีความเหมาะสมต่อการเจริญด้วยคือมีพีเอช 4.8 – 7.4 และอุณหภูมิ 15.6 – 46.6 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดของการเจริญของเชื้อนี้ในอาหารคือ 40 องศาเซลเซียส และเชื้อนี้จะใช้เวลานานในการสร้างสารพิษ (นันทวัน และคณะ, 2543)

2.3 น้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหย หมายถึง น้ำมันที่พืชผลิตขึ้นตามธรรมชาติ เก็บไว้ตามส่วนต่างๆ เช่น กลีบดอก ใบ ผิวของผล เกสร ราก หรือเปลือกของลำต้น อนุภาคเล็กๆของน้ำมันหอมระเหยเหล่านี้จะระเหยออกมาเป็นกลุ่มไอรอบๆ เมื่อได้รับความร้อนทำให้เราได้กลิ่นหอมอบอวลทั่วไป นอกจากนี้ยังช่วยดึงดูดแมลงให้มาผสมเกสรดอกไม้ ปกป้องการรุกรานจากศัตรูและรักษาความชุ่มชื่นให้กับพืช สำหรับประโยชน์ต่อมนุษย์นั้น น้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรค บรรเทาอาการอักเสบหรือลดบวม คลายเครียดหรือกระตุ้นให้สดชื่น ทั้งนี้ขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด (พิมพร, 2545)

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยค่อนข้างจะซับซ้อน และแปรผันตามระยะเวลาการปลูก ฤดูกาลและช่วงเวลาที่เก็บเกี่ยวพืช ส่วนของพืชที่นำมาใช้ ชนิดของดิน ตลอดจนภูมิอากาศและภูมิประเทศ องค์ประกอบทางเคมีมักเป็นสารกลุ่ม terpene sesquiterpene ester alcohol phenol aldehyde ketone และ organic acid นอกจากนี้ยังประกอบด้วย วิตามิน ฮอร์โมน สารปฏิชีวนะและ antiseptic น้ำมันหอมระเหยที่กลั่นหรือสกัดได้จากพืชอาจมีปริมาณตั้งแต่ 0.005 – 10 เปอร์เซ็นต์ของพืช แล้วแต่ชนิดพืช น้ำมันหอมระเหยเป็นเป็นสารประกอบอโรมาติก ซึ่งสามารถแบ่งได้ 2 ประเภทใหญ่ๆตามองค์ประกอบที่เป็นโครงสร้างในโมเลกุล ดังนี้ (พิมพร, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 Hydrocarbon มีองค์ประกอบในโมเลกุลของวงอโรมาติก เป็นสารคาร์บอนและไฮโดรเจน อาจเรียกว่า Terpenoid Essential Oil ได้แก่ terpene sesquiterpene ketone aldehyde alcohol phenol diterpene หรือ monoterpene โดยน้ำมันหอมระเหยกลุ่มนี้อาจมีโซ่กิ่งหรือ functional group ต่างๆ อาจแบ่งได้ คือ

ก. Ketonic volatile oil มีสารคีโตนเป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ thujone การบูร methone carvone และ piperitone พบในสะระแหน่ ไม้วอร์มวูด พืชไม้ดอกสีน้ำเงิน ยี่หร่า มินต์ pennyroyal และ thuja สารกลุ่มนี้มักมีคุณสมบัติเสริมสร้างเนื้อเยื่อ ลดอาการอักเสบ แต่อาจเป็นสารพิษต่อระบบประสาท

menthone carvone

รูปที่ 2.8 ตัวอย่างโครงสร้างสารเคมีพวก Ketonic volatile oil

ที่มา : http://www.angelo.edu/faculty/kboudrea/molecule_gallery/02_alkenes/00_alkenes.htm

ข. Aldehyde volatile oil มีสารแอลดีไฮด์เป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ citral citronellal neral และ geranial พบใน Melissa เลมอน มิ้นต์ ตะไคร้ ตะไคร้หอม verbena และยูคาลิปตัส สารกลุ่มนี้มักมีคุณสมบัติฆ่าเชื้อโรค ลดอาการอักเสบ ลดความดัน ขยายหลอดเลือดและกล่อมประสาท สารกลุ่มนี้อาจทำให้แพ้หรือระคายเคืองได้

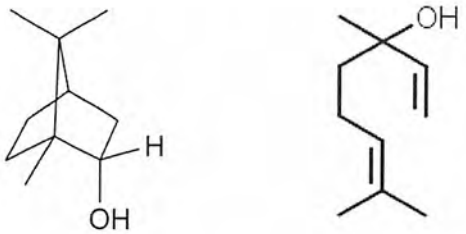
geranial citronellal

รูปที่ 2.9 ตัวอย่างโครงสร้างสารเคมีพวก Aldehyde volatile oil

ที่มา : http://commons.wikimedia.org/wiki/Gallery_Terpenes?uselang=tr

ค. Alcoholic volatile oil มีแอลกอฮอล์เป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ linalol borneol citronellol geraniol santalol estragol และ nerol พบในลาเวนเดอร์ petitgrain ชิงชัน ทีทรี ไม้จันทน์ และ jouniper สารกลุ่มนี้มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรค ต้านไวรัส กระตุ้นและฝาดสมานแผล สารกลุ่มนี้มักไม่มีพิษและไม่ก่อการระคายเคืองต่อผิวหนัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



borneol linalool

รูปที่ 2.10 ตัวอย่างโครงสร้างสารเคมีพวก Alcoholic volatile oil

ที่มา : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Borneol_Structure.png

http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Linalol.png

ง. Ester volatile oils มีสารพวกเอสเทอร์เป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ linalyl acetate geranyl acetate bornyl และ methyl salicylate พบในลาเวนเดอร์ คาโมไมล์ โรสแมรี่และสะระแหน่ สารกลุ่มนี้มักพบในกลิ่นผลไม้และดอกไม้ทั้งหลาย มีคุณสมบัติลดอาการเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ เป็นยากล่อมประสาท ลดอาการอักเสบและต้านเชื้อรา

linalyl acetate terpenoid bornyl acetate

รูปที่ 2.11 ตัวอย่างโครงสร้างสารเคมีพวก Ester volatile oil

ที่มา : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Linalyl_acetate_terpenoid.png

http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bornyl_acetate.png

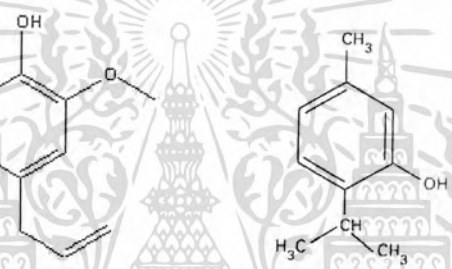
จ. Oxide และ peroxide มีออกไซด์เป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ cineol linalool oxide พบในสารยูคาลิปตัสและ cajuput มีคุณสมบัติในการขับเสมหะ สารกลุ่มนี้ระคายเคืองต่อผิวหนัง โดยเฉพาะในเด็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.12 ตัวอย่างโครงสร้างสารเคมีพวก Terpene oxide

ที่มา : http://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Cineol-1,4.png

ฉ. Phenolic volatile oils มีสารฟีนอลเป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ thymol carvacrol และ eugenol พบในโหระพา ออริกาโน ต้นชาเบอร์ ใบอบเชย กานพลู น้ำมันดินสนและ ajowan มีคุณสมบัติฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เสริมสร้างภูมิต้านทานและกระตุ้นต่อระบบประสาทและระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย สารกลุ่มนี้อาจเป็นพิษต่อตับและระคายเคืองผิวหนัง จึงไม่ควรใช้ในปริมาณที่สูง



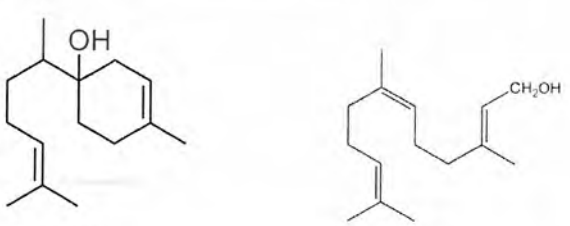
euglenol thymol

รูปที่ 2.13 ตัวอย่างโครงสร้างสารเคมีพวก Phenolic volatile oil

ที่มา : http://www.food-info.net/uk/qa/qa-wi27.htm

http://www.answers.com/topic/thymol

ช. สารกลุ่ม Sesquiterpene ได้แก่ chamazulene bisabolol santalol zingiberol carotol caryophyllen และ farnesol สามารถพบได้ในพืชหลายชนิด มีคุณสมบัติคลายการปวดเกร็ง ฆ่าเชื้อโรค ยากล่อมประสาทและลดอักเสบ



bisabolol farnesol terpene

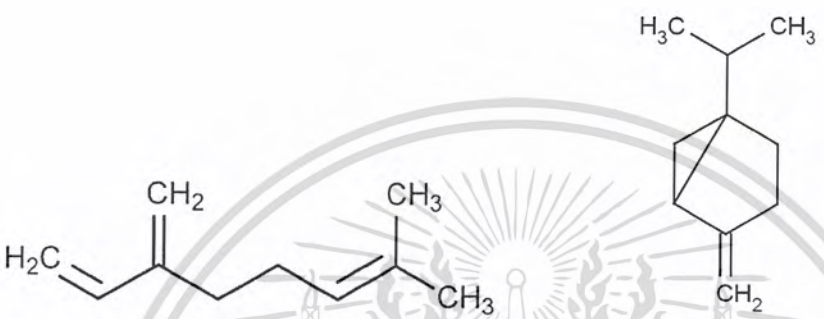
รูปที่ 2.14 ตัวอย่างโครงสร้างสารเคมีพวก Sesquiterpene

ที่มา : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bisabolol_beta.svg

http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Farnesol_terpene.png

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซ. สารกลุ่ม Monoterpene ได้แก่ camphene limonene myrcene α และ β – pinene α และ γ – terpinene และ sabinene มีคุณสมบัติกระตุ้นและบำรุง ฆ่าเชื้อโรค พบในต้นเบ พริกไทย citus มะนาว เลมอนและโรสแมรี่



myrcene sabinene

รูปที่ 2.15 ตัวอย่างโครงสร้างสารเคมีพวก Monoterpene

ที่มา : http://chemistry.about.com/od/factsstructures/ig/Chemical-Structures---M/Myrcene.htm

http://www.chemnet.com/dict/dict--3387-41-5--in.html

2.3.2 Phenylpropane มีองค์ประกอบในโมเลกุลของ aromaticring เป็นสารคาร์บอนไฮโดรเจนและออกซิเจน อาจเรียกว่า Phenylpropane Derived Essential Oil เช่น eugenol anethol safrol cinnamic aldehyde และ methylchavicol ซึ่งสารกลุ่มนี้สามารถแบ่งตามโครงสร้างของอนุพันธ์ คือ

ก. Eugenol และ Cinnamic aldehyde พบในกานพลูและอบเชย eugenol พบมากในน้ำมันกานพลู มีฤทธิ์ฆ่าเชื้ออย่างแรงและทำให้ชาเฉพาะที่ และมีรายงานว่าสามารถต้านมะเร็งบางชนิดได้ สารกลุ่มนี้อาจระคายเคืองผิวหนังต้องระมัดระวังในการใช้

ข. Anethol และ Methylchavicol พบในaniseed โหระพา teragon ผักชีฝรั่ง ลูกจันทน์เทศ และ sassafras มีฤทธิ์คลายการปวดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบและขับเสมหะ

ค. Safrol Myristicin และ Apiol พบในลูกจันทน์เทศ ผักชีฝรั่ง มีคุณสมบัติคลายปวดเกร็งและกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 อบเชย

รูปที่ 2.16 ต้นอบเชย

ที่มา : http://www.tonkla.tht.in/168j.html

อบเชย เป็นได้ทั้งพืชเครื่องเทศและสมุนไพร

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Cinnamomum zeylanicum* Nees.

ชื่อวงศ์ : Lauraceae

ชื่อสามัญ : Cinnamon

ชื่อท้องถิ่น : อบเชยต้น มหาปราบ (ภาคกลาง) กระแจะโมง ไมงหอม (ชลบุรี) กระดังงา (กาญจนบุรี) ฝักคาบ (พิษณุโลก) สุรามิด (สุโขทัย) บอกคอก (ลำปาง) พญาปราบ (นครราชสีมา) สะวง (ปราจีนบุรี) กระเจียด เจียด กระทังหัน (ยะลา) (รุ่งรัตน์, 2535)

ลักษณะทั่วไป : อบเชยเป็นพืชยืนต้นประเภทไม้เนื้อแข็งไม่ผลัดใบ ลำต้นมีทั้งขนาดใหญ่และขนาดเล็ก สามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อน เมื่อเปลือกของกิ่งก้านหรือเปลือกของลำต้นแห้งจะมีลักษณะเป็นท่อนยาวและม้วนกลม มักจะมีสีเหลืองเข้มหรือสีน้ำตาลส้ม ประเภทใบเลี้ยงเดี่ยว จัดแบบตรงกันข้ามหรือใบสลับ ส่วนมากมักจะมีเส้นใบจากฐานใบจำนวน 3 เส้น ลักษณะดอกออกเป็นช่อ ดอกมีขนาดเล็กสีเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนใหญ่จะเป็นดอกสมบูรณ์เพศ แต่บางชนิดจะเป็นดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่คนละดอก ดอกตัวผู้จะมีขนาดเล็กกว่าดอกตัวเมียและอยู่บนแกนใกล้ๆกับปลายช่อ จะเริ่มออกดอกเดือนพฤษภาคมและเริ่มติดผลในเดือนกรกฎาคม ผลเป็นผลเดี่ยว ขนาดเล็ก ผลรูปไข่มีขนาดความยาวประมาณ 1.50 – 2.0 เซนติเมตร ผลจะแก่ภายหลังจากที่ดอกบานแล้วประมาณ 6 เดือน ลักษณะของรากเป็นรากแก้ว ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด (รุ่งรัตน์, 2535)

สรรพคุณ : ใช้ในการขับลมในลำไส้ได้ดี มีรสหวานหอม ให้ความสดชื่น แก้อ่อนเพลีย บำรุงธาตุ ใช้เป็นส่วนผสมของยาบำรุงกำลัง บำรุงธาตุ แก้จุกเสียดแน่นท้อง ท้องเดิน มีกลิ่นหอมฉุนและรสหวาน อบเชยใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารชนิดต่างๆ ได้แก่ ผักดองซอส ส่วนผสมของเครื่องพะโล้ ขนมคุกกี้ ขนมเค้ก อาหารว่างต่างๆ ผงกะหรี่ เครื่องเทศผสมเครื่องดื่มประเภทโคคาโคล่า แยม ไส้กรอกและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ต่างๆ (รุ่งรัตน์, 2535)

อบเชยสามารถแบ่งได้ 5 ชนิดคือ (รุ่งรัตน์, 2535)

2.3.3.1 อบเชยเทศ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cinnamomum zeylanicum* Nees. เป็นไม้ไม่ผลัดใบหากปลูกตามธรรมชาติ ลำต้นสูงประมาณ 8 – 17 เมตร และเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นประมาณ 30 – 60 เซนติเมตร ถ้าปลูกเพื่อการค้าจำเป็นต้องตัดแต่งกิ่งและลำต้นอยู่เสมอ จะทำให้ได้ลำต้นที่มีความสูงประมาณ 2 – 2.5 เมตรเท่านั้น เปลือกลำต้นหนามีสีเทา แต่ถ้าเป็นต้นที่มีขนาดเล็กเปลือกจะมีจุดสีเขียวเข้มและสีส้ม กิ่งจะทอดขนานและชันขึ้น ใบลักษณะรูปไข่หรือรี ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ มีเส้นใบ 3 เส้น เห็นได้ชัดเจน ตัวใบยาวประมาณ 3 – 10 เซนติเมตร ดอกมีขนาดเล็ก มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 มิลลิเมตร กลีบดอกสีเหลืองมีกลิ่นหอมมักเกิดตามปลายกิ่ง ผลมีลักษณะเปลือกนิ่มสีดำ รูปไข่ ยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร

2.3.3.2 อบเชยอินโดนีเซีย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cinnamomum burmannii* เป็นอบเชยที่พบมากที่เกาะสุมาตรา เกาะชวาและทางฝั่งตะวันตกของเกาะติมอร์ สามารถขึ้นได้ในพื้นที่ตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนถึงความสูงประมาณ 2,000 เมตร แต่จะเจริญเติบโตได้ดีในระดับความสูงตั้งแต่ 530 – 1,300 เมตร

2.3.3.3 อบเชยจีน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cinnamomum cassia* Nees. Ex Blume ซึ่งเป็นไม้ไม่ผลัดใบ มีขนาดลำต้นใหญ่กว่าอบเชยเทศ ลำต้นสูงประมาณ 18 เมตร เปลือกเรียบสีเทา ใบมีรูปร่างแบบรูหอก สีเขียวเข้มเป็นมัน ใบยาวประมาณ 15 เซนติเมตร กว้างประมาณ 7.5 เซนติเมตร ดอกมีขนาดเล็กออกเป็นช่อยาวประมาณ 3 – 6 นิ้ว ก้านดอกมีขนและมีลักษณะคล้ายเป็นสี่เหลี่ยม ผลมีเนื้อนิ่ม ขนาดโตเท่ากับเมล็ดถั่ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3.4 อบเชยญวน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cinnamomum loureirii* Nees. อบเชยชนิดนี้เป็นไม้ขนาดกลาง ใบเดี่ยว ขอบใบเรียบ ใบรูปร่างยาวรีและจะยาวเรียวไปจนแหลมที่ปลายใบ ใบมีลักษณะค่อนข้างบาง ก้านใบยาวประมาณ ½ นิ้ว ตัวใบกว้างประมาณ 3 – 5 นิ้ว ดอกมีขนาดเล็กมาก ผลมีขนาดเล็กเนื้อนิ่ม อบเชยชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินเกือบทุกชนิด แต่จะมีคุณภาพดีหากปลูกในบริเวณพื้นที่ที่ลาดเชิงเขาและมีปริมาณน้ำฝนประมาณปีละ 2,500 – 3,000 มิลลิเมตร

2.3.3.5 อบเชยไทย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cinnamomum iners* Blume. อบเชยชนิดนี้เป็นไม้ขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ลำต้นสูงประมาณ 15 เมตรขึ้นไป เป็นไม้ไม่ผลัดใบ พบตามป่าดงดิบทั่วไป เรือนยอดเป็นพุ่มกลมรูปเจดีย์ต่ำทึบ เปลือกเรียบสีเทาแก่หรือสีเทาปนสีน้ำตาล ใบเป็นใบเดี่ยวขอบใบขนานกัน ใบมีเนื้อหนาเกลี้ยง แข็งและกรอบ มีเส้นใบขนานจากโคนใบ 3 เส้น ท้องใบมีคราบสีขาวๆ ดอกมีขนาดเล็กสีเหลืองอ่อนหรือสีเขียวอ่อน มักจะเกิดเป็นช่อโตๆตามปลายกิ่ง ผลเป็นผลเดี่ยวขนาดเล็ก มีลักษณะแข็งรูปไข่ ตามผิวของผลมีคราบสีขาวๆ

2.4 กรดซอร์บิก

2.4.1 ลักษณะโดยทั่วไป

กรดซอร์บิกเป็นกรดไขมันประเภทที่ไม่อิ่มตัว ชนิดทรานซ์ที่มีคาร์บอนต่อกันเป็นสายตรง (2,4-hexadienoic acid; CH_3-CH=CH-CH=CH-COOH) มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 112.13 (ตารางที่ 2.1) หมู่คาร์บอกซิลของกรดซอร์บิกทำปฏิกิริยาได้ดี และสามารถทำให้อยู่ในรูปของเกลือและเอสเทอร์ของกรดซอร์บิกได้หลายชนิด พันธะคู่ของกรดซอร์บิกก็สามารถทำปฏิกิริยาได้และมีผลในการทำให้กิจกรรมการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งจะมีผลต่อคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหาร (Sofos และ Busta, 1993)

กรดซอร์บิกที่มีจำหน่ายทางการค้า จะอยู่ในรูปของเกลือของกรดซอร์บิก ได้แก่ แคลเซียมซอร์เบต โซเดียมซอร์เบตและโพแทสเซียมซอร์เบต กรดซอร์บิกเมื่อตกผลึกจะมีลักษณะเป็นรูปเกล็ดหรือรูปเข็มที่ไม่มีสี ซึ่งจะอยู่ในรูปของผงหรือเม็ดสีขาวที่ร่วนๆ แต่มีกลิ่นเผ็ดร้อนและรสชาติคล้ายกรด โพแทสเซียมซอร์เบตที่ผลิตในรูปของผงหรือเม็ด (ตามน้ำหนักโมเลกุลของกรด) มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ร้อยละ 74 โซเดียมซอร์เบตมีลักษณะเป็นผงสีขาว ส่วนชนิดที่เป็นสารละลายก็มีจำหน่ายเช่นกัน แต่จะค่อนข้างไวต่อการเกิดออกซิเดชัน กรดซอร์บิกในรูปของเกลือแคลเซียมเป็นผลึกที่ไม่มีกลิ่นและไม่มีรส (Sofos และ Busta, 1993)

ความสามารถในด้านการละลายของกรดซอร์บิกในน้ำที่อุณหภูมิห้องคือ 0.15 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ความสามารถในการละลายจะเพิ่มขึ้นหรือจะเพิ่มขึ้นตามค่าพีเอชที่เพิ่มขึ้นของสารละลายหรืออาหาร ความสามารถในการละลายจะสูงในสารละลายแอลกอฮอล์โดยเฉพาะเอทานอลและในกรดแอซิติก (glacial acetic acid) เกลือของกรดซอร์บิก เช่น โพแทสเซียมซอร์เบตมีการนำไปใช้ประโยชน์บ่อยในอาหาร เพราะสามารถละลายได้ดีในน้ำ แคลเซียมซอร์เบตมีความสามารถในการ

เอกสารนี้มีไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้นำไปดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายในน้ำเท่ากับร้อยละ 1.2 และไม่สามารถละลายได้ในไขมัน เกลือโซเดียมของกรดซอร์บิกมีความสามารถในการละลายในน้ำเท่ากับร้อยละ 32 (น้ำหนักโดยประมาณ) น้ำหนักโมเลกุลของโพแทสเซียมซอร์เบตเท่ากับ 150.22 และอยู่ในรูปที่ละลายได้เป็นส่วนใหญ่ ในระบบของอาหาร ความสามารถในการละลายของสารประกอบชนิดนี้มีมากกว่าร้อยละ 50 การที่โพแทสเซียมซอร์เบตมีความสามารถในการละลายที่ดี เสถียร และผลิตง่าย ทำให้มีการนำมาใช้ในอาหารอย่างกว้างขวาง (Sofos และ Busta, 1993)

กรดซอร์บิกที่ละลายอยู่ในส่วนของน้ำในอาหาร จะมีปริมาณต่ำลงเมื่อปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น เพราะความสามารถในการละลายของกรดซอร์บิกในไขมันสูงกว่าความสามารถในการละลายในน้ำถึง 3 เท่า ซอร์เบตที่ละลายในน้ำจะไม่เสถียรและแตกสลายได้โดยการออกซิเดชัน แต่ซอร์เบตบริสุทธิ์ในรูปของแห้งจะมีความเสถียร และผลจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดซอร์บิกจะทำให้ได้สารประกอบประเภทคาร์บอนิล เช่น โครโตนาลดีไฮด์ (Crotonaldehyde) มาลโลนาลดีไฮด์ (Malonadehyde) อะเซททอลดีไฮด์ (Acetaldehyde) และเบต้า-คาร์บอกซีแลคโตเลอิน (β-carboxylactolein) ในสภาพที่มีแสง กรดและอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น อัตราของปฏิกิริยาของออกซิเดชัน สารละลายที่เป็นน้ำจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีพีเอชต่ำ ปฏิกิริยาออกซิเดชันและการสูญเสียของกรดซอร์บิกจะถูกยับยั้งโดยสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) และวัสดุที่เหมาะสมที่ใช้ในการบรรจุและสภาวะไร้อากาศ (Sofos และ Busta, 1993)

การสูญเสียกรดซอร์บิกในระหว่างการเก็บรักษาอาหารขึ้นอยู่กับปริมาณซอร์เบต ค่าพีเอช และธรรมชาติของอาหาร ปริมาณความชื้น สภาวะในกระบวนการแปรรูป สารเจือปนในอาหารที่มีอยู่ วัสดุภาชนะบรรจุ และอุณหภูมิและเวลาในการเก็บรักษา (Sofos และ Busta, 1993)

สมบัติของผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ส่วนประกอบ ลักษณะทางกายภาพ โครงสร้าง ความชื้น และปริมาณอิสระในอาหารที่มีผลต่อการแพร่กระจายของซอร์เบตในอาหาร โดยทั่วไปมีความสำคัญที่ต้องควบคุมการแพร่กระจายของกรดซอร์บิก ในระหว่างกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษาอาหาร เนื่องจากการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอของซอร์เบต มีผลต่อการถนอมรักษาอาหาร (Sofos และ Busta, 1993)

ถึงแม้ว่าเกลือของกรดซอร์บิกได้ถูกพัฒนาและตรวจสอบ เพื่อการจำหน่ายและได้มีการทำสารนี้ไปใช้เป็นสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อย่างกว้างขวาง แล้วแต่อนุพันธ์ของกรดซอร์บิกก็มีการตรวจสอบด้วยเช่นกัน อนุพันธ์ของกรดซอร์บิกรวมถึงเอสเทอร์ แอลกอฮอล์ อัลดีไฮด์ เกลือเอมีนและอนุพันธ์เอไมด์ (Amide dervative) โดยเฉพาะซอร์บิล ปาล์มิเตต (Sorbyl palmitate) ซอร์บาไมด์ เมทิล ซอร์เบต (Sorbamide methyl sorbate) เอธิลซอร์เบต (Ethyl sorbate) กรดซอร์โบไฮโดรซามิก (Sorbohydroxamic acid) และซอร์บิกแอนไฮไดด์ (Sorbic anhydride)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของกรดซอร์บิกและโพแทสเซียมซอร์เบต

คุณสมบัติ	กรดซอร์บิก	โพแทสเซียมซอร์เบต
Chemical name	2,4-Hexadienoic acid	2,4-Hexadienoic acid
Molecular formula	CH_3-CH=CH-CH=CH-COOH	CH_3-CH=CH-CH=CH-COOK
Molecular weight	112.13	150.22
Flash point, °C		
(COC ASTM D-92)	126	-
Ionization constant at 25 °C	1.73×10^{-5}	-
Density at 20 °C, g/ml	-	1.36
Melting rang, °C	132-137	Decomposes above 270 °C
Heat of combustion at 25 °C		
Btu/ lb	11,927	-
Alkalinity / acidity	-	1.1 ml 0.1 *N* NaOH
		To 0.8 ml 0.1 *N* HCl per 1.1 g
Vapor pressure, mm Hg, at		
20 °C	< 0.001	-
120 °C	10	-
140 °C	43	-
Boiling point, °C		
760 mm Hg	Decomposes	-
50 mm Hg	143	-
10 mm Hg	119	-
Purity, %	> 98	> 98
Water content, maximum %	0.5	1.0
Heavy metal content,		
Maximum ppm	10	10
Arsenic content, maximum %	3	3
Ash, maximum %	0.2	-

แหล่งที่มา: Sofos (1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารผสมของกรดซอร์บิกและกรดปาล์มิติกที่ปราศจากน้ำเรียกว่า ซอร์บิล ปาล์มิเตต (Sorbyl palmitate) ได้ถูกนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ขนมอบที่ทำให้ขึ้นฟูโดยยีสต์ กรดซอร์โบไฮดรอกซามิก (Sorbohydroxamic acid) มีค่าคงที่ของการแตกตัว (ค่า pKa) เท่ากับ 8.8 ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ช่วงพีเอชกว้าง (3.6-9.2) และซอร์บิกอัลดีไฮด์ (Sorbic aldehyde) ก็มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย อย่างไรก็ตาม ข้อเสียของสารอนุพันธ์เหล่านี้คือ มีความสามารถในการละลายต่ำ ทำให้เกิดกลิ่นรสผิดปกติและมีปัญหาต่อสุขภาพ (Sofos และ Busta, 1993)

ซอร์เบตจะอยู่ในรูปของกรดหรือเกลือโพแทสเซียม เกลือแคลเซียมหรือเกลือโซเดียม มีจำหน่ายในรูปของผง เม็ด สารแขวนลอยหรือสารละลาย เนื่องจากสารประกอบเหล่านี้ไวต่อความร้อน ความชื้นและแสง ดังนั้นจึงต้องบรรจุสารเหล่านี้ในถังที่หุ้มด้วยวัสดุป้องกันความชื้น และเก็บไว้ในห้องมืดที่เย็นและแห้ง (Sofos และ Busta, 1993)

2.4.2 กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์

ซอร์เบตมีกิจกรรมการยับยั้งการเจริญของยีสต์และรา เป็นอันดับแรก ส่วนการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียนั้น ยังไม่ค่อยเป็นที่เข้าใจกันดีและจะเลือกยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้เพียงไม่กี่ชนิด ความเข้มข้นของซอร์เบตที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารส่วนใหญ่ คือ อยู่ในช่วงร้อยละ 0.05-0.30

กิจกรรมของซอร์เบตในการยับยั้งการเจริญของยีสต์ ได้มีการรายงานครั้งแรกในช่วงปี ค.ศ. 1950-1959 ในผลิตภัณฑ์ผักดอง นอกจากนี้ซอร์เบตยังยับยั้งยีสต์ในน้ำผลไม้ ไวน์ cottage cheese ผลไม้อบแห้ง และผลิตภัณฑ์เนื้อและปลา ซอร์เบตสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ได้หลายชนิด เช่น *Brettanomyces, Candida, Cryptococcus, Debaryomyces, Endomycopsis, Hansenula, Kloeckera, Pichia, Rhodotorula, Saccharomyces, Sporobolomyces, Torulaspora, Torulopsis* และ *Zygosaccharomyces* (Sofos และ Busta, 1993)

การใช้ซอร์เบตสำหรับการยับยั้งการเจริญของยีสต์ มีความสำคัญในผลิตภัณฑ์ที่มีพีเอชต่ำและ/หรือ ในสภาพที่มีปริมาณน้ำอิสระในระดับปานกลาง เช่น ในเครื่องดื่มที่มีก๊าซคาร์บอเนต น้ำสลัด น้ำเชื่อม ผลิตภัณฑ์จากมะเขือเทศ แยม ลูกอม เยลลี่และน้ำเชื่อมช็อคโกแลต (Chocolate syrup) ชนิดของราที่ถูกยับยั้งโดยซอร์เบตอยู่ในสกุล *Alternaria, Ascochyta, Aspergillus, Botrytis, Cephalosporium, Chaetomium, Cladosporium, Colletrichum, Cunninghamella, Curvularia, Fusarium, Geotrichum, Gliocladium, Helminthosporium, Heteroporium, Humicola, Monilia, Mucor, Penicillium, Phoma, Pepularia, Pestalotiopsis, Pullularia, Rhizoctonia, Rhizopus, Rosellinia, Sporotrichum, Trichoderma, Truncatella* และอื่นๆ มีการนำซอร์เบตไปใช้กันมากในผลิตภัณฑ์อาหารโดยเฉพาะใช้สำหรับการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในเนยแข็ง และใช้ซอร์เบตในการยับยั้งของเชื้อราในเนย (butter) ไส้กรอก ผลไม้และน้ำผลไม้ เค้ก เมล็ดธัญพืช ขนมปังและปลา

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รมควันอีกด้วย นอกจากนี้ซอร์เบตสามารถยับยั้งการสร้างสารพิษ (mycotoxin) โดยเชื้อราหลายชนิด ในอาหารเลี้ยงเชื้อและในอาหาร (Sofos และ Busta, 1993)

ชนิดของแบคทีเรียที่ถูกยับยั้งโดยซอร์เบตอยู่ในสกุล *Acetobacter, Achromobacter, Acinetobater, Enterobacter, Aeromonas, Alcaligenes, Alteromonas, Arthrobacter, Bacillus, Campylobacter, Clostridium, Escherichia, Klebsiella, Lactobacillus, Micrococcus, Moraxella, Mycobacterium, Pediococcus, Proteus, Pseudomonas, Salmonella, Serratia, Staphylococcus, Vibrio, Yersinia* และอื่นๆ ซอร์เบตยับยั้งหรือหยุดการเจริญของ *Listeria monocytogenes* ในอาหารเหลว โดยขึ้นอยู่กับพีเอชและความเข้มข้น เชื้อแบคทีเรียบางสายพันธุ์ไม่ถูกยับยั้งโดยซอร์เบต กล่าวโดยรวม ซอร์เบตสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบที่สร้างเอนไซม์คะตะเลสและที่ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส แบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาวะมีอากาศและไร้อากาศ และจุลินทรีย์ที่ชอบเจริญที่อุณหภูมิปานกลาง และจุลินทรีย์ที่ชอบเจริญที่อุณหภูมิต่ำ รวมทั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคการเน่าเสีย และแบคทีเรียก่อโรค การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยซอร์เบต ทำให้ช่วง lag phase ยาวนานขึ้น พร้อมกับส่งผลที่น้อยกว่าต่ออัตราการเจริญและขอบเขตของการเจริญ (Sofos และ Busta, 1993)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พรรณชรินทร์ (2543) ได้ศึกษาเรื่อง การตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในขนมไทย เป็นจำนวน 100 ตัวอย่างพบว่า *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างทั้งหมด โดยส่วนใหญ่ตรวจพบเชื้ออยู่ในช่วงระหว่าง 1.0×10^{-2} - 1.0×10^{-3} โคโลนีต่อกรัม คิดเป็นร้อยละ 34 ของตัวอย่างทั้งหมด และพบว่า ปริมาณ *Staphylococcus aureus* ในขนมไทยแต่ละชนิดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และจากการศึกษาพบว่า ขนมไทยที่มีมะพร้าวคลุกหรือโรยหน้าจะตรวจพบเชื้อมากกว่าขนมไทยที่ไม่มีมะพร้าวคลุก

กนกวรรณ (2544) ได้ทำการศึกษาเรื่องผลของสมุนไพรบางชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในอาหารวุ้น โดยใช้สารสกัด 3 ชนิด คือ ใบมะกรูด ผลมะระขี้นกและใบยาสูบ พบว่า สารสกัดที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสูงสุดคือสารสกัดที่ได้จากใบยาสูบซึ่งสกัดโดยใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย โดยในวันที่ 7 สารสกัดดังกล่าวที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 สามารถลดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราจาก 87 มิลลิเมตรเป็น 22.60 มิลลิเมตร สารสกัดที่มีประสิทธิภาพรองลงมาก็คือ สารสกัดจากใบมะกรูดและมะระขี้นกที่ความเข้มข้นร้อยละ 10

รวิวรรณ (2545) ได้ทำการวิจัยเรื่องปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสร้างสารพิษของเชื้อ *Bacillus cereus* ในน้ำพริก โดยจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมทั้งในสภาวะจำลอง (model system) และในสภาพที่แท้จริง (น้ำพริก) ของการสร้างสารพิษประเภทที่ทำให้ท้องเสีย (diarrheal enterotoxin, DE)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยวิธี Visual Immunoassay (VIA) จากน้ำพริกทั้งหมดจำนวน 62 ตัวอย่าง พบว่าน้ำพริกสำเร็จรูปที่นำมาทดสอบทุกชนิดมีจำนวนเชื้อแบคทีเรียตั้งแต่ $3.0x10^{-3}$ ถึง $3.0x10^{-7}$ โคโลนีต่อกรัม พบเชื้อ *Bacillus cereus* 64 ตัวอย่าง โดยพบจำนวน *Bacillus cereus* ในระดับที่ต่ำกว่า 10^{-5} โคโลนีต่อกรัม ค่าพีเอชของน้ำพริกมีค่าระหว่าง 4.21-5.23 ค่า Water activity (A_w) ของน้ำพริก มีค่าระหว่าง 0.45-0.94 และมีปริมาณเกลือในระดับร้อยละ 7.83-10.29 ตรวจสอบการสร้างสารพิษที่ทำให้เกิดอาการท้องเสียจากเชื้อ *Bacillus cereus* เมื่อเจริญในอาหาร Brain heart infusion (BHI) ที่เติมกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 0.1 พบว่าเชื้อที่ทดสอบมีการสร้างสารพิษ ตั้งแต่ระยะ log phase และเริ่มมีปริมาณสารพิษเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะกลางถึงปลาย log phase และลดลงในระยะ stationary phase เมื่อศึกษาการเจริญ ของ *Bacillus cereus* ในสภาวะจำลอง โดยทำการเลียนแบบสภาวะในน้ำพริก คือปรับอาหาร Nutrient agar (NA) ให้มีค่าพีเอชและปริมาณของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับในน้ำพริก คือให้ค่าพีเอชอยู่ที่ 4.8 (เป็นค่าพีเอชสูงสุดในกลุ่มน้ำพริกที่ตรวจสอบ)ปริมาณของโซเดียมคลอไรด์อยู่ที่ร้อยละ 8.14 (ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ต่ำสุดในกลุ่มน้ำพริกที่ตรวจสอบ) พบว่าที่พีเอช 4.8 เชื้อ *Bacillus cereus* มีจำนวนลดลงจากเดิม 2 log แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus cereus* ได้อย่างสมบูรณ์ ส่วนใน Nutrient agar (NA) ที่มีการปรับปริมาณเกลือร้อยละ 8.14 พบว่า *Bacillus cereus* ไม่สามารถเจริญได้ เมื่อตรวจสอบการยับยั้งการเจริญของ *Bacillus cereus* จากสารสกัดน้ำพริกโดยตรงพบว่า น้ำพริกแต่ละชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* และเมื่อศึกษาการเจริญของ *Bacillus cereus* ในน้ำพริกที่ทดสอบ พบว่าเชื้อ *Bacillus cereus* เจริญได้ในระดับที่ต่ำกว่า 10^{-5} โคโลนีต่อกรัม และตรวจไม่พบสารพิษและมีแนวโน้มที่ลดลง ส่วนการศึกษาการประเมินความเสี่ยงด้วยโมเดลคณิตศาสตร์ (Pathogen Modeling Program: PMP version 6.0, growth model) ของเชื้อ *Bacillus cereus* ในสภาวะจริงที่ได้จากการตรวจสอบ พบว่าค่าปัจจัยภายในของน้ำพริก (ค่าพีเอชของปริมาณเกลือและค่า Water activity) ไม่สามารถลงในโปรแกรมทางคณิตศาสตร์ PMP version 6.0 ได้อย่างสมบูรณ์ เนื่องจากข้อจำกัดของปัจจัยที่กำหนดในโปรแกรมจึงไม่สามารถใช้โปรแกรม PMP ในการทำนายการเจริญของน้ำพริกสำเร็จรูปของไทยที่ทดสอบได้

พัชณี (2545) ได้ทำการวิจัยเรื่องการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาเสริมโปรตีนและวิตามินบี 12 จากถั่วเหลืองหมัก โดยพบว่า การรอดชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในน้ำพริกเผาทั้ง 3 สูตร เชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค คือ *Staphylococcus aureus* *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli* ซึ่งได้รับการเติมเชื้อที่เวลา 0 วัน ลงไปในปริมาณดังนี้ 6.83 ± 0.08 , 7.56-7.60 และ 5.04 ± 0.00 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ พบว่า เชื้อ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาทั้ง 3 สูตร มีแนวโน้มลดลงจาก 0 วัน เหลือเชื้ออยู่รอดเพียง 5.16-5.39 log CFU ต่อกรัม ที่ 15 วัน และไม่มีชีวิตรอดเมื่อเก็บน้ำพริกเผาได้ 30 และ 45 วัน สำหรับเชื้อ *B. cereus* ในน้ำพริกเผาทั้ง 3 สูตรมีแนวโน้มปริมาณของเชื้อลดลงตลอดเวลา จากเชื้อเริ่มต้นที่ 0 วันลดจำนวนลงมาเป็น 6.53-6.58 log CFU ต่อกรัม ที่ 15 วัน และ 30 วัน เชื้อได้ลดปริมาณลงมาอีกเหลือ 6.55-6.59 log CFU ต่อกรัม และลดลงมาเหลือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพียง 5.59-5.91 log CFU ต่อกรัม ที่ 45 วัน แนวโน้มการลดลงของเชื้อ *B. cereus* เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาขึ้น สำหรับเชื้อ *E.coli* ในน้ำพริกเผาทั้ง 3 สูตร มีแนวโน้มลดลงและไม่มีชีวิตรอดภายในระยะเวลา 15 30 และ 45 วัน และในการตรวจติดตามค่าพีเอชและ ค่า A_w ของน้ำพริกเผาทั้ง 3 สูตร ทั้งก่อนเติมเชื้อจุลินทรีย์และหลังเติมเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ที่ 0-45 วัน พบว่าค่าพีเอชอยู่ในช่วง 4.7-4.9 และค่า A_w อยู่ในช่วง 0.78-0.80 และเมื่อนำน้ำพริกเผาทั้ง 3 สูตร มาทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 0 1 3 และ 6 เดือน พบว่าการยอมรับของผู้บริโภคทางด้านประสาทสัมผัสต่อผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผา ในด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส ความสามารถในการทาขนมปัง และความชอบโดยรวม ผู้บริโภคยังให้การยอมรับน้ำพริกเผา ถึงแม้ว่าจะเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน สำหรับวิตามินบี 12 อยู่ในช่วง (0.07-0.11) ไมโครกรัมต่อกรัม และมีค่า peroxide value เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยที่ 0 เดือน (1.09-1.17) มิลลิกรัมต่อกรัม เพิ่มขึ้นมาเป็น (1.23-1.32) มิลลิกรัมต่อกรัม ที่ 6 เดือน ค่าความสามารถในการกระจายตัว (spread ability) ของน้ำพริกเผาทั้ง 3 สูตร เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน มีค่าแรงอยู่ในช่วง 105.94 – 108.93 กรัม คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาทั้ง 3 สูตร ไม่พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา และ *Clostridium* sp. เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ เมื่อทำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาทั้ง 3 สูตร ที่ 0 1 3 และ 6 เดือน

ศรินยา (2546) ได้ศึกษาเรื่องผลของสารสกัดจากใบบัวบกและใบพลูต่อการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 พบว่า วิธีการสกัดแบบต่อเนื่องให้ผลในการยับยั้งได้มากกว่าวิธีการสกัดแบบหยาบ คือ สารสกัดจากใบบัวบกที่สกัดต่อเนื่องด้วยเอทานอลให้ผลยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณวงใสเท่ากับ 3.03 เซนติเมตร ส่วนสารสกัดจากใบพลูโดยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยเฮกเซนให้ผลยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณวงใสเท่ากับ 4.96 เซนติเมตร

อดิพล (2546) ได้ศึกษาเรื่องราและอะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบ โดยพบว่ากระเทียมเป็นเครื่องเทศที่พบเชื้อราปริมาณสูงที่สุด 4.92 ± 0.39 logCFU ต่อกรัม ส่วนข่าพบราปริมาณต่ำที่สุด 0.08 ± 0.20 logCFU ต่อกรัม ราที่พบมากในเครื่องเทศ ได้แก่ *Aspergillus niger Penicillium citrinum P. corylophilum Cladosporium* spp. *A. aculeatus* และ *A. flavus* ตามลำดับ สำหรับปริมาณราในน้ำพริกแกงพบว่า แกงส้มพบราปริมาณเฉลี่ยสูงที่สุด 2.40 ± 1.07 logCFU ต่อกรัม รองลงมาได้แก่แกงเผ็ด 1.44 ± 1.12 logCFU ต่อกรัม แกงมัสมั่น 0.78 ± 0.79 logCFU ต่อกรัม และแกงเขียวหวาน 0.68 ± 1.09 logCFU ต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งราที่พบมากที่สุดได้แก่ *A. niger Monascus* spp. และ *Paecilomyces* spp. ตามลำดับ ทั้งนี้พบว่าฤดูกาลไม่มีผลต่อปริมาณราในเครื่องเทศและน้ำพริกแกงแต่ละชนิด ($p>0.05$) ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณของเบนโซเอตและซอร์เบตพบการใช้เบนโซเอตสูงกว่า 1000 ppm ถึงร้อยละ 40 ของตัวอย่างทั้งหมด ในขณะที่ร้อยละ 20 ไม่พบการใช้เบนโซเอต ทั้งนี้ไม่พบการใช้ซอร์เบตในทุกตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจสอบปริมาณอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบพบว่า พริกชี้ฟ้าแห้ง พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้าเขียว ตะไคร้ และกระชาย พบอะฟลาทอกซินปนเปื้อนต่ำกว่า 5 ppb ข่าและผิวมะกรูดปนเปื้อนต่ำกว่า 20 ppb ในขณะที่หอมแดง กระเทียม และรากผักชี ไม่พบอะฟลาทอกซินปนเปื้อน นอกจากนี้พบว่าน้ำพริกแกงทุกตัวอย่างที่ตรวจสอบพบ อะฟลาทอกซินปนเปื้อนต่ำกว่า 20 ppb สำหรับอายุการเก็บที่อุณหภูมิห้อง เมื่อใช้การประเมินทางประสาทสัมผัสเป็นเกณฑ์ พบว่าน้ำพริกแกงส้มมีอายุการเก็บ 2 วัน แกงเขียวหวานมีอายุการเก็บ 3 วัน น้ำพริกแกงเผ็ดมีอายุการเก็บ 5 วัน และน้ำพริกแกงมัสมั่นมีอายุการเก็บนานถึง 13 วัน ทั้งนี้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงปริมาณราในระหว่างการเก็บ และพบว่าการใช้เบนโซเอตและซอร์เบตที่ความเข้มข้น 500 ppm ไม่ช่วยยืดอายุการเก็บน้ำพริกแกงสูตรที่ใช้ในการทดสอบ

เยาวลักษณ์ (2551) ได้ศึกษาเรื่องประสิทธิภาพของเคอร์คูมินอยด์ในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* จำนวน 45 isolates ซึ่งประกอบด้วย *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อยา Methicillin (Methicillin-resistant *S. aureus*; MRSA) จำนวน 20 isolates และสายพันธุ์ที่ไวต่อยา Methicillin (Methicillin-susceptible *S. aureus*; MSSA) จำนวน 25 isolates ด้วยวิธี Agar dilution พบว่าเคอร์คูมินอยด์สามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA ได้โดยมีค่า MIC 90 เท่ากัน คือ 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของเคอร์คูมินอยด์รวมกับยาปฏิชีวนะ พบว่าฤทธิ์รวมระหว่างเคอร์คูมินอยด์กับยา Tetracycline เมื่อทดสอบกับ MRSA และ MSSA เป็นแบบไม่แตกต่างจากฤทธิ์เดิม (Indifference) ส่วนฤทธิ์รวมระหว่างเคอร์คูมินอยด์กับยา Gentamicin เมื่อทดสอบกับ MRSA เป็นแบบ Indifference แต่เมื่อทดสอบกับ MSSA มีฤทธิ์แบบเสริมกัน (Synergism) แสดงว่าเคอร์คูมินอยด์ที่ระดับความเข้มข้น 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA ได้และสามารถเสริมฤทธิ์กับยา Gentamicin ในการยับยั้งการเจริญของ MSSA บางสายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ น้ำพริกปลาย่าง น้ำพริกปลาร้า น้ำพริกแมงดา น้ำพริกตาแดง น้ำพริกปลาทู น้ำพริกมะขาม น้ำพริกกุ้งเสียบ น้ำพริกไข่เค็ม น้ำพริกกะปิและน้ำพริกนรก ชนิดละ 5 ตัวอย่าง ได้มาจากสถานที่ต่างๆ (ตลาดมารวย ตลาดมีนบุรี ตลาดหัวตะเข้ ตลาดสำโรง ตลาดประเวศ ตลาดนัดลำลูกกา ตลาดบึงบัว ตลาดยิ่งเจริญ ตลาดแฮปปี้แลนด์ ตลาดพรานนก ตลาดพงศ์ทรัพย์) ภายในจังหวัดกรุงเทพฯและปริมณฑล และโรงอาหารของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง (โรงอาหารวิทยาศาสตร์และโรงอาหารวิศวกรรมศาสตร์)

วัตถุดิบที่ใช้ในการเตรียมอาหารจำลอง ได้แก่ มะเขือยาว พริกชี้ฟ้าเขียว และปลาทูสด

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองได้แก่ เชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ที่ได้จากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยและเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505 ที่ได้จากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ได้แก่ อาหาร Plate Count Agar (PCA) อาหาร Potato Dextrose Agar (PDA; Scharlau chemie S.A. ประเทศสเปน) ที่ปรับพีเอชให้ได้ 3.5 ด้วยสารละลายกรดทาร์ทาริกความเข้มข้นร้อยละ 10 (acidified PDA) อาหาร Baird-Parker Agar (BPA; Difco Laboratories ประเทศสหรัฐอเมริกา) ที่เติม Egg Yolk tellurite enrichment อาหาร Nutrient agar (NA) อาหาร Brain Heart Infusion (BHI; Merck KGaA ประเทศเยอรมัน) อาหาร Mueller Hinton Broth (MHB; Difco Laboratories ประเทศสหรัฐอเมริกา) อาหาร Tryptone Yeast Extract Agar (TYEA) อาหาร Tryptic Soy Broth (TSB; Difco Laboratories ประเทศสหรัฐอเมริกา) และ API STAPH PLUS 25 MEDIA 25 (BioMérieux ประเทศฝรั่งเศส)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4 สารเคมี

สารที่ใช้เจือจางตัวอย่าง ได้แก่ สารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง สารเคมีสำหรับผสมในอาหาร Acidified PDA ได้แก่ สารละลายกรดทาร์ทาริกความเข้มข้นร้อยละ 10 สารเคมีสำหรับผสมในอาหาร BPA ได้แก่ สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 และสารละลายโพแทสเซียมเทลลูไรส์ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 สารเคมีสำหรับย้อมสี ได้แก่ คริสตัลไวโอเลต (crystal violet) แกรมไอโอดีน (Gram's iodine) เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และซาฟานีน (safanin) สารเคมีสำหรับทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase test) ได้แก่ สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร้อยละ 3 สารเคมีสำหรับทดสอบการสร้างเอนไซม์โคแอคกลูเลส (Coagulase test) ได้แก่ โคแอคกลูเลสพลาสมา (Difco Laboratories, Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา) สารเคมีสำหรับทดสอบความไวต่อไลโซสตาฟิน ได้แก่ สารละลายฟอสเฟตซาลีนความเข้มข้นร้อยละ 0.85 และสารละลายไลโซสตาฟริน (Lysostaphin; Sigma-Aldrich, Co. ประเทศสหรัฐอเมริกา) 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารเคมีสำหรับทดสอบการผลิตกรดจากกลีเซอรอล ได้แก่ ไฮโดรเจนฟอสเฟต โพแทสเซียมคลอไรด์ แมกนีเซียมซัลเฟต สารสกัดยีสต์ กลีเซอรอล โบรโมคลีซอลเพอร์เพิล (Fisher Scientific UK Limited ประเทศอังกฤษ) และอีริโทรมัยซินความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (The Medicpharma, Co., Ltd. ประเทศไทย) สารเคมีสำหรับทดสอบการยับยั้งของฟูราโซลิโดน ได้แก่ ฟูราโซลิโดน (Furozolidone; Sigma-Aldrich, Co. ประเทศสหรัฐอเมริกา) ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม สารเคมีสำหรับทดสอบความต้านทานต่อเบซิตราซิน ได้แก่ เบซิตราซิน (Bacitracin; Sigma-Aldrich, Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา) สารเคมีที่ใช้สำหรับการทดสอบการสร้างเอนไซม์ออกซิเดส ได้แก่ N,N,N,N-Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride (Sigma-Aldrich, Co. ประเทศสหรัฐอเมริกา) ความเข้มข้น 0.01 กรัมต่อมิลลิลิตร สารเคมีสำหรับการทดสอบหาปริมาณเกลือ ได้แก่ สารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรตความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมไทโอไซนาเนตความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ สารละลายแอมโมเนียมเฟอร์ริกซัลเฟตอิ่มตัวและกรดไนตริกเข้มข้น สารเคมีสำหรับทดสอบ การใช้กลูโคสในสภาพไร้อากาศ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคสและน้ำมันพาราฟิน และสารเคมีสำหรับการทดสอบการใช้แมนนิทอลในสภาพไร้อากาศ ได้แก่ น้ำตาลแมนนิทอลและน้ำมันพาราฟิน

ชุดทดสอบสำหรับการจำแนก *Staphylococcus* โดยวิธีทางชีวเคมีด้วยชุดทดสอบ API STAPH kit (BioMérieux Vitek, Inc. ประเทศฝรั่งเศส)

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow; Clean รุ่น V6 บริษัทแลบ เซอร์วิส) ตู้บ่มเชื้อ (Memmert บริษัท Memmert Gmblt+co.KG ประเทศญี่ปุ่น) หม้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น

นึ่งอัดไอ (autoclave; ToMy รุ่น ES-315 บริษัท ToMy kogyo ประเทศญี่ปุ่น) เครื่องตีป่น (Stomachar; Masticator รุ่น V220 บริษัท IUL Instruments Masticator ประเทศสเปน) เครื่องวัดพีเอช (pH meter; Testo รุ่น 205 ประเทศเยอรมนี) เครื่องวัดค่าปริมาณน้ำอิสระ (เครื่องวัด a_w; AquaLAB รุ่น 3TE บริษัท จาร์พา เท็คเซ็นเตอร์ จำกัด ประเทศสหรัฐอเมริกา) กล้องจุลทรรศน์ (microscope; Olympus CH30 รุ่น CH30RF 200 บริษัท อี ฟอร์ แอล อินเตอร์เนชั่นแนล ประเทศญี่ปุ่น) เครื่องผสมสาร (vortex; Scientific Industries รุ่น G560E บริษัท Scientific industries Inc. ประเทศญี่ปุ่น) เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge; Falcon 6/300) เครื่องนับจำนวนจุลินทรีย์ (manual colony counter; Reicher รุ่น 3328 บริษัท เค.วี.ซายน์ จำกัด ประเทศสหรัฐอเมริกา) และเครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์ต่างๆ ที่จำเป็น

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การศึกษาคุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำพริก

ทำการสุ่มตัวอย่างน้ำพริกจำนวน 10 ชนิด ชนิดละ 5 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำพริกตาแดง น้ำพริกปลาย่าง น้ำพริกปลาทู น้ำพริกแมงดา น้ำพริกปลาร้า น้ำพริกไข่เค็ม น้ำพริกกุ้งเสียบ น้ำพริกกะปิ น้ำพริกนรก และน้ำพริกมะขาม นำมาวัดค่าพีเอช วิเคราะห์หาปริมาณเกลือและวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนยีสต์และรา และจำนวน *Staphylococcus* ซึ่งรายละเอียดของวิธีการวิเคราะห์ มีดังนี้

ก. การวัดพีเอชของน้ำพริก

นำมาตรวจสอบโดยใช้เครื่องวัดพีเอช (pH meter; Testo รุ่น 205 ประเทศเยอรมนี)

ข. การวิเคราะห์หาปริมาณเกลือของน้ำพริก

ตามวิธีของ Kirk และ Sawyer (1991) โดยชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำ 10 มิลลิลิตร และสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร (หรือเติมจนมากเกินพอที่จะตกตะกอนคลอไรด์ทั้งหมดในตัวอย่าง) จากนั้นเติมกรดไนตริกเข้มข้นปริมาตร 10 มิลลิลิตร และปิดฟลาสก์ด้วยลูกแก้วเพื่อป้องกันการเดือดอย่างรุนแรง (หรืออีกวิธีหนึ่ง ละลายเถ้าจากตัวอย่างในกรดไนตริก เติมน้ำและซิลเวอร์ไนเตรท) ต้ม 10 นาที โดยมีกรวยกรองเล็กใส่ไว้ที่ฟลาสก์จนสารละลายเป็นสีเหลืองอ่อน ทิ้งให้เย็น เติมน้ำ 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายแอมโมเนียมเฟอร์ริกซัลเฟตอิ่มตัว 5 มิลลิลิตร และหยดไนโตรเบนซินเล็กน้อยเขย่าฟลาสก์เพื่อให้เกิดการเคลือบซิลเวอร์คลอไรด์ด้วยไนโตรเบนซิน และไตเตรทซิลเวอร์ไนเตรทที่มากเกินพอด้วยสารละลายแอมโมเนียมไทโอไซยาเนตหรือโพแทสเซียมไทโอไซยาเนตความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนกระทั่งเกิดสีน้ำตาลแดงอย่างถาวรซึ่งคงอยู่เป็นเวลา 15 นาที อาจจะเติมยูเรีย 0.5 กรัม ลงในสารละลายที่ร้อนเพื่อขจัดควันไนตรัสสีเหลือง (yellow nitrous fumes) เปรียบเทียบกับ blank ที่เตรียมโดยไม่ใส่ตัวอย่าง แต่ใส่ reagent อย่างเดียว ความแตกต่างระหว่างปริมาณสารละลายที่ใช้ในเตรียมโดยไม่ใส่ตัวอย่าง แต่ใส่ reagent อย่างเดียว ความแตกต่างระหว่างปริมาณสารละลายที่ใช้ในการไตรเตรท blank และตัวอย่างเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของคลอไรด์คือสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตรทำปฏิกิริยาพอดีกับโซเดียมคลอไรด์ 0.005844 กรัม

ค. การวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีในน้ำพริก

ทำโดยชั่งน้ำพริก 25 กรัม ใส่ในถุงที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 225 มิลลิลิตร (1:9) พับปากถุงแล้วใส่ลงในเครื่องตีป่นเป็นเวลา 1 นาที ปิเปตสารละลายน้ำพริกปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จะได้ความเจือจางที่ 10^{-2} และทำการเจือจางจนถึง 10^{-5} หลังจากเจือจางแล้วนำไปเขย่าจนสารละลายเข้ากัน ปิเปต 0.1 มิลลิลิตรของแต่ละความเจือจาง ใส่ลงในอาหาร Plate Count Agar (PCA) ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลที่ทำการฆ่าเชื้อโดยจุ่มในแอลกอฮอล์และเผาไฟ ทำการ spread จานอาหารและคว่ำจานอาหาร นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ง. การวิเคราะห์หาจำนวนเชื้อราและยีสต์ที่มีในน้ำพริก

ทำโดยชั่งน้ำพริก 25 กรัม ใส่ในถุงที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 225 มิลลิลิตร (1 : 9) พับปากถุงแล้วใส่ลงในเครื่องตีป่นเป็นเวลา 1 นาที ปิเปตสารละลายน้ำพริกปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จะได้ความเจือจางที่ 10^{-2} และทำการเจือจางจนถึง 10^{-5} หลังจากเจือจางแล้วนำไปเขย่าจนสารละลายเข้ากัน ปิเปตมา 0.1 มิลลิลิตรของแต่ละความเจือจาง ใส่ลงในอาหาร Acidified Potato Dextrose Agar (Acidified PDA) ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลที่ทำการฆ่าเชื้อโดยจุ่มในแอลกอฮอล์และเผาไฟ ทำการ spread จานอาหารและไม่ต้องคว่ำจานอาหาร นำไปบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

จ. การวิเคราะห์หาเชื้อ *Staphylococcus* sp. ในน้ำพริก

ทำโดยชั่งน้ำพริก 25 กรัม ใส่ในถุงที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 225 มิลลิลิตร (1 : 9) พับปากถุงแล้วใส่ลงในเครื่องตีป่นเป็นเวลา 1 นาที ปิเปตสารละลายน้ำพริกปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จะได้ความเจือจางที่ 10^{-2} และทำการเจือจางจนถึง 10^{-6} หลังจากเจือจางแล้วนำไปเขย่าจนสารละลายเข้ากัน ปิเปต 1 มิลลิลิตร ของแต่ละความเจือจาง ใส่ลงในอาหาร Baird-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการใช้

Parker Agar (BPA) ที่มี Egg Yolk tellurite enrichment โดยใส่จานละ 0.3, 0.3 และ 0.4 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลที่ทำการฆ่าเชื้อโดยจุ่มในแอลกอฮอล์และเผาไฟ ทำการ spread จานอาหาร และไม่ต้องคว่ำจานอาหาร นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบแล้วให้ทำการคว่ำจานเลี้ยงเชื้อและบ่มต่อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.2.2 การแยกเชื้อ ศึกษาคุณลักษณะและจำแนกชนิดของ *Staphylococcus* ที่แยกได้จากน้ำพริก

ทำการเขี่ยเชื้อจากตัวอย่างน้ำพริกแต่ละชนิดที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร Baird-Parker Agar (BPA) โดยเขี่ยเชื้อมา 10 โคโลนี จากโคโลนีที่มีลักษณะกลม ผิวเรียบ ชื้น มีสีเทาถึงดำที่ขอบโคโลนีมีสีอ่อนลง รอบๆโคโลนีมีโซนสีขาวขุ่นโดยนำมาแยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหาร Nutrient Agar (NA) ได้เชื้อบริสุทธิ์ทั้งหมด 100 ไอโซเลตจากตัวอย่างน้ำพริก 10 ชนิด

3.2.2.1 การทดสอบเพื่อยืนยันว่าเชื้อที่แยกได้เป็น *Staphylococcus* sp. ไม่ใช่ *Micrococcus* sp.

ก. การทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส

ตามวิธีของ Holzapfel (1998) เขี่ยเชื้อมา 1 ลูป ลงบนแผ่นสไลด์ จากนั้นหยดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร้อยละ 3 ถ้าเกิดก๊าซทันทีเป็นบวก เนื่องจากมีการผลิตเอนไซม์คะตะเลส แต่ถ้าไม่มีฟองก๊าซเกิดขึ้นแสดงว่าเป็นลบและไม่ใช่เชื้อ *Staphylococcus*

ข. การทดสอบการสร้างเอนไซม์โคแอกกูเลส

ตามวิธีการของ Bennett และ Lancette (2001) เขี่ยเชื้อจากโคโลนีที่สงสัยลงในหลอดอาหาร BHI ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมโคแอคกลูเลสพลาสมา 0.5 มิลลิลิตร ลงในอาหาร BHI บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยถ้ามีการเกิดลิ่มจะถือว่าเป็นบวก (เป็น *Staphylococcus aureus*)

ค. การทดสอบการใช้กลูโคสในสภาพไร้อากาศ

ตามวิธีของ Baker (1984) เขี่ยเชื้อลงในอาหาร TYEA ที่มีกลูโคสร้อยละ 0.5 ลงก้นหลอด ปิดผิวหน้าด้วยน้ำมันพาราฟิน 25 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ถ้าอินดิเคเตอร์เปลี่ยนเป็นสีเหลืองแสดงว่าสร้างกรดในสภาพไร้อากาศ เป็นบวก (*Staphylococcus*) แต่ถ้าไม่มีการสร้างกรด เป็นลบ (*Micrococcus*)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง. การทดสอบการใช้แมนนิทอลในสภาพไร้อากาศ

ตามวิธีของ Baker (1984) เขี่ยเชื้อลงใน TYEA ที่มีแมนนิทอลร้อยละ 0.5 ลงก้นหลอด ปิดผิวหน้าด้วยน้ำมันพาราฟิน 25 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ถ้าอินดิเคเตอร์เปลี่ยนเป็นสีเหลืองแสดงว่าสร้างกรดในสภาพไร้อากาศ เป็นบวก (*Staphylococcus*) แต่ถ้าไม่มีการสร้างกรด เป็นลบ (*Micrococcus*)

จ. การทดสอบความไวต่อไลโซสตาฟิน (Lysostaphin)

ตามวิธีการของ Facklam และ Smith (1976) เขี่ยเชื้อจากอาหารแข็งลงหลอดทดลองที่มีสารละลายฟอสเฟตซาลีน ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร และเติมสารละลายไลโซสตาฟริน 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ถ้าหลอดมีความขุ่นหายไปแสดงว่าเป็น *Staphylococcus aureus* และถือว่าเป็นลบ แต่ถ้าความขุ่นยังคงอยู่ แสดงว่าเป็น *Micrococcus* และถือว่าเป็นบวก

ฉ. การทดสอบการผลิตกรดจากกลีเซอรอล

ตามวิธีการของ Schleifer และ Kloos (1975) เทอาหารที่ประกอบด้วย ไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 กรัม โพแทสเซียมคลอไรด์ 0.2 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต 0.2 กรัม สารสกัดยีสต์ 2 กรัม กลีเซอรอล 10 มิลลิลิตร โบรโมคลีซอลเพอร์เพิล 0.04 กรัม วุ้น 9 กรัม น้ำ 1000 มิลลิลิตร ทำการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอ จากนั้นเติมอีริโทรมัยซิน ที่มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อผสมเสร็จแล้ว เทลงในจานเพาะเชื้อที่ปลอดเชื้อ จากนั้นเขี่ยเชื้อลงในอาหาร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้าเกิดการเปลี่ยนสีของอาหารเป็นสีเหลืองบริเวณเชื้อถือว่าเป็นบวก แสดงว่ามีการสร้างกรด (*Staphylococcus*) แต่ถ้าอาหารไม่มีการเปลี่ยนสีถือว่าเป็นลบ แสดงว่าไม่สร้างกรด (*Micrococcus*)

ช. การทดสอบการยับยั้งของฟูราโซลิโดน (Furozolidone)

ตามวิธีการของ Facklam และ Smith (1976) ใช้ไม้พันสำลีปลอดเชื้อจุ่มเซลล์แขวนลอยของเชื้อที่ปรับ Mcfarland standard เบอร์ 0.5 เกลี่ยให้ทั่วอาหาร MHB นำแผ่นดิสก์ที่มีฟูราโซลิโดน 100 ไมโครกรัม วางลงบนกลางจานเพาะเชื้อ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง ถ้าเกิด โซนใส (clear zone) แสดงว่ามีการยับยั้งการเจริญได้ ถือว่าเป็นบวก (*Staphylococcus*) แต่ไม่มีการเจริญ ถือว่าเป็นลบ (*Micrococcus*)

ซ. การทดสอบความต้านทานต่อแบซิตราซิน (Bacitracin)

เอกสารนี้เป็นเอ... ไม่อนุญาตให้ใช้เพื่อการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์ก่อนนำไปใช้

ตามวิธีการของ Facklam และ Smith (1976) ใช้ไม้พันสำลีปลอดเชื้อจุ่มเซลล์แขวนลอยของเชื้อที่ปรับ Mcfarland standard เบอร์ 0.5 เกลี่ยให้ทั่วอาหาร MHB นำแผ่นดิสก์ที่มีแบซิตราซินค

วามเข้มข้น 0.04 ยูนิต วางลงบนกลางจานเพาะเชื้อ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ถ้าเกิดโซนใส (clear zone) ถือว่าเป็นลบ (*Staphylococcus*) แต่ถ้าไม่เกิดโซนใส ถือว่าเป็นบวก (*Micrococcus*)

ฌ. การทดสอบการสร้างเอนไซม์ออกซิเดส

ตามวิธีการของ Bennett และ Lancette (2001) โดยลากเชื้อที่แยกได้แต่ละไอโซเลตลงบนกระดาษกรองที่ชุ่มด้วย N,N,N,N-Tetramethyl-p-phenylenediamine ความเข้มข้น 0.01 กรัมต่อมิลลิลิตร สังเกตผลภายใน 30 วินาที ถ้ากระดาษกรองเปลี่ยนเป็นสีม่วงเข้มถือว่าเป็นบวก แสดงว่าเป็นเชื้อ *Staphylococcus* แต่ถ้าไม่มีการเปลี่ยนแปลงถือว่าเป็นลบ แสดงว่าเป็นเชื้อ *Micrococcus*

3.2.2.1 การจำแนกชนิดของ *Staphylococcus* โดยใช้ชุดทดสอบ API staph (BioMérieux)

เติมน้ำกลั่นหรือน้ำ demineralized หรือน้ำที่ไม่มีสารเคมีเจือปนที่อาจจะปล่อยก๊าซปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำ strip วางลงบนถาด และเลี้ยงเชื้อบนอาหาร TSA บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เปิดฝา ampoule API staph medium เขี่ยเชื้อลงในอาหาร เพื่อเตรียมสารแขวนลอยที่ปรับ McFarland standard เบอร์ 0.5 จากนั้นนำเชื้อที่จะทดสอบมาใส่ในหลอด (cupule) โดยเอียงถาดตั้งขึ้นเพื่อป้องกันการเกิดฟองอากาศ แล้วใช้ปิเปตหยดสารแขวนลอยที่เตรียมไว้ลงตรงด้านข้างของหลุมทดสอบ และเติมให้ครบทุกหลุม หยด Mineral oil ลงในช่องที่ขีดเส้นใต้ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นหยด VP1 และ VP2 ลงในช่อง VP อย่างละ 1 หยด รอ 10 นาที ถ้าเปลี่ยนเป็นสีชมพู-ม่วง บันทึกเป็นบวก หยด NIT1 และ NIT2 ลงในช่อง NIT อย่างละ 1 หยด รอ 10 นาที ถ้าเปลี่ยนเป็นสีแดงให้บันทึกเป็นบวก แต่ถ้าเป็นสีชมพูอ่อนให้บันทึกเป็นลบ และหยด ZYM A และ ZYM B ลงในช่อง PAL อย่างละ 1 หยด รอ 10 นาที ถ้าเปลี่ยนเป็นสีม่วงให้บันทึกเป็นบวก ส่วนในหลอดอื่นที่มีสีของสับสเตรทเริ่มต้นก่อนบ่มเป็นสีแดง ถ้าหลังบ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองให้บันทึกเป็นบวก ส่วนในหลอด ADH และ URE เริ่มต้นก่อนบ่มเป็นสีเหลือง ถ้าหลังบ่มเปลี่ยนเป็นสีแดง-ส้ม หรือสีแดง-ม่วง ให้บันทึกเป็นบวก ถ้าไม่มีการเปลี่ยนแปลงให้บันทึกเป็นลบ นำไปแปรผลโดยใช้โปรแกรม Identification software หรือ API Staph Analytical Profile Index

3.2.3 การศึกษาผลของน้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบตในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus* ที่แยกได้จากน้ำพริก

3.2.3.1 การเตรียมน้ำมันอบเชย

น้ำมันอบเชยที่ใช้ในการทดลอง เตรียมโดยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ โดยนำอบเชยมาบดให้เป็นชิ้นเล็กๆ และชั่งอบเชยปริมาณ 150 กรัม ใส่ลงในขวดกลั่น เติมน้ำให้ท่วม จากนั้นให้ความร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา รวมถึงการนำไปเผยแพร่ต่อ

ประมาณ 3-4 ชั่วโมง รอจนกระทั่งปริมาณน้ำมันที่ได้คงที่จึงหยุดให้ความร้อน เก็บน้ำมันอบเชยในขวดสีชาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปทดสอบ

3.2.3.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

ทำการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus* ที่แยกได้จากน้ำพริก ลงในอาหาร TSB นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนใสทิ้งไป จากนั้นล้างเซลล์ 2 ครั้ง ในการล้างเซลล์แต่ละครั้งทำได้โดยเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ลงไป แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเช่นเดียวกับข้างต้น เทส่วนใสทิ้งไป แล้วจึงทำให้ได้สารแขวนลอยเซลล์ โดยเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปรับความขุ่นของเซลล์แขวนลอยให้เท่ากับ McFarland Standard เบอร์ 0.5 เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของ *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus* ที่แยกได้จากน้ำพริก เท่ากับ 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร

3.2.3.3 การเตรียมอาหารจำลอง

การเตรียมอาหาร Fish model agar ที่มีค่าพีเอช 2 ระดับ คือ พีเอช 5.0 และพีเอช 5.5 ทำได้โดย นำเนื้อปลาทูสดมาแล่และล้างให้สะอาด แล้วหั่นเนื้อปลาเป็นชิ้นเล็กขนาด 2x1x1 เซนติเมตร หลังจากนั้นนำเนื้อปลา 200 กรัมมาเติมน้ำ 500 มิลลิลิตร ต้มจนเดือดเป็นเวลา 20 นาที แยกเอาแต่น้ำปลาทูต้มแล้วพักไว้ จากนั้นละลายเกลือ 5 กรัมและเปปโตน 5 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปผสมกับน้ำต้มปลาทู เติมวุ้น 15 กรัม นำไปให้ความร้อนจนกระทั่งวุ้นละลาย จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็น นำมาปรับพีเอชด้วยสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

การเตรียมอาหาร Chilli model agar ทำได้โดย นำมะเขือยาว 175 กรัมต้มในน้ำ 500 มิลลิลิตรจนเดือดแล้วนำมากรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำ ส่วนพริกชี้ฟ้าเขียว 25 กรัม เติมน้ำ 100 มิลลิลิตร นำไปบดด้วยเครื่องปั่นแยกกาก นำน้ำพริกที่ได้เติมลงในน้ำมะเขือพักไว้ จากนั้นละลายเกลือ 5 กรัมและเปปโตน 5 กรัม ในน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร แล้วนำไปผสมกับน้ำมะเขือ เติมวุ้น 15 กรัม นำไปให้ความร้อนจนกระทั่งวุ้นละลาย จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็น นำมาปรับพีเอชด้วยสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

3.2.3.4 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี agar dilution

ทำการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus* ที่แยกได้จากน้ำพริกของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบตโดยวิธี agar dilution ขั้นแรกเตรียม stock solution ของน้ำมันอบเชยใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 จากนั้นเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำมันอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 17 ระดับ (8000, 6000, 4000, 2000, 1000, 500, 250, 125, 63, 31, 15, 7.8, 5, 2.5, 1.25, 0.625 และ 0.3125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยเติมน้ำมันอบเชยจาก stock ความเข้มข้นที่เตรียมไว้ลงในจานเพาะเชื้อ และน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อปริมาตรที่เหมาะสมลงในจานเพาะเชื้อเปล่าที่ปราศจากเชื้อ โดยปริมาตรของสารละลายอบเชยและปริมาตรน้ำกลั่นรวมกันได้ 1 มิลลิลิตร (ภาคผนวก ค.) จากนั้นทำการเทอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม (Tryptic soy agar, Chilli model agar และ Fish model agar) ที่ยังหลอมเหลวอยู่ซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ปริมาตร 19 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อทิ้งไว้จนกระทั่งอาหารแข็งตัว แล้วจึงหยดสารแขวนลอยเซลล์ของ *Staphylococcus aureus Staphylococcus epidermidis* หรือ *Staphylococcus* ที่แยกได้จากน้ำพริก ที่ได้เตรียมไว้แล้วตามข้อ 3.2.3.2 ลงไปตรงกลางของจานเพาะเชื้อปริมาตร 5 ไมโครลิตรต่อจาน จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรีย ในกรณีของการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus* ที่แยกได้จากน้ำพริก โดยโพแทสเซียมซอร์เบตทำได้โดยใช้วิธีการเดียวกับน้ำมันอบเชย แต่ใช้ความเข้มข้นของโพแทสเซียมซอร์เบตในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 15 ระดับ ได้แก่ 40, 30, 20, 10, 5, 2.5, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.05, 0.04, 0.03, 0.02 และ 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดย negative control ให้ใช้น้ำกลั่นแทนน้ำมันอบเชยหรือโพแทสเซียมซอร์เบต โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการบ่มแล้วทำการประเมินโดยดูที่จานเพาะเชื้อที่ไม่มีการเจริญเกิดขึ้น โดยค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญ (MIC) เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันอบเชย ซึ่งยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อย่างสมบูรณ์

3.2.3.5 การทดสอบด้วยวิธี agar dilution checkerboard

ทำการทดสอบผลของน้ำมันอบเชยผสมกับโพแทสเซียมซอร์เบตในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus* ที่แยกได้จากน้ำพริกในอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิดได้แก่ Fish model agar และ Chilli model agar โดยวิธี checkerboard ตามวิธีการของ Rosato และคณะ (2007) ขั้นแรกเตรียม stock solution ของน้ำมันอบเชยที่อยู่ในสารละลาย DMSO ร้อยละ 10 และสารละลายโพแทสเซียมซอร์เบต ปิเปต stock สารละลายของน้ำมันอบเชยและสารละลายโพแทสเซียมซอร์เบตชนิดละ 0.5 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อ จากนั้นทำการเทอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบแต่ละชนิด เช่น Fish model agar หรือ Chilli model agar ที่ยังหลอมเหลวอยู่ซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ปริมาตร 19 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อเพื่อทำให้ได้ระดับความเข้มข้น 1/2, 1/4, 1/8 และ 1/16 เท่าของค่า MIC ของน้ำมันอบเชยซึ่งได้จากผลการทดลอง ทิ้งไว้จนกระทั่งอาหารแข็งตัว แล้วจึงหยดสารแขวนลอยของ *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* หรือ *Staphylococcus* ที่แยกได้จากน้ำพริก (1.0×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร) ลงไปตรงกึ่งกลางของจานเพาะเชื้อปริมาตร 5 ไมโครลิตรต่อจาน จากนั้นนำไปบ่มที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการประเมินผลของน้ำมันอบเชยโดยคำนวณเป็นค่า Fractional Inhibitory Concentration (FIC) ในการคำนวณค่า FIC index (FICI) มีสูตรดังนี้

$$\text{FIC index} = FIC_A + FIC_B$$

เมื่อ FIC_A = ค่า MIC ของน้ำมันอบเชยที่มีซอร์เบต / ค่า MIC ของน้ำมันอบเชย

FIC_B = ค่า MIC ของน้ำมันอบเชยที่มีน้ำมันอบเชย / ค่า MIC ของซอร์เบต

ซึ่งถ้าค่า $FICI \leq 0.5$ ถือว่ามีฤทธิ์เสริมกัน (synergistic effect)

$0.5 < FICI < 1$ ถือว่า additive หรือไม่มีความแตกต่าง (indifferent effect)

$FICI \geq 1$ ถือว่าเป็นปฏิปักษ์กัน (antagonistic effect)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 คุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำพริก

จากผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำพริกทั้งหมด 10 ชนิด ชนิดละ 5 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำพริกปลาย่าง น้ำพริกปลาร้า น้ำพริกแมงดา น้ำพริกตาแดง น้ำพริกปลาทู น้ำพริกมะขาม น้ำพริกกุ้งเสียบ น้ำพริกไข่เค็ม น้ำพริกกะปิ และน้ำพริกนรก (ตารางที่ 4.1) พบว่าน้ำพริกส่วนใหญ่มีเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน โดยพบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนต่ำสุดในช่วง 10^4 - 10^5 CFU ต่อกรัม และปริมาณสูงสุดอยู่ในช่วง 10^7 - 10^8 CFU ต่อกรัม โดยเฉพาะในน้ำพริก ตาแดงและน้ำพริกไข่เค็ม สำหรับจำนวน *Staphylococcus* sp. ในน้ำพริกส่วนใหญ่ปนเปื้อนอยู่ในช่วง 10^3 - 10^5 CFU ต่อกรัม ยกเว้นน้ำพริกปลาร้า น้ำพริกปลาทู และน้ำพริกกะปิ พบเชื้อ *Staphylococcus* sp. ปนเปื้อนปริมาณมาก คือในช่วง 10^6 - 10^7 CFU ต่อกรัม ส่วนจำนวนยีสต์และเชื้อราที่ปนเปื้อนในน้ำพริกส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 10^4 - 10^6 CFU ต่อกรัม ยกเว้นน้ำพริกมะขามและน้ำพริกไข่เค็มพบยีสต์และเชื้อราปนเปื้อนมากที่สุดที่ 10^7 CFU ต่อกรัม นอกจากนี้ยังได้ทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของน้ำพริกทั้ง 10 ชนิด ได้แก่ ค่าพีเอช ค่า Water activity (A_w) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และปริมาณเกลือ สำหรับค่าพีเอช น้ำพริกปลาย่าง น้ำพริกปลาร้า น้ำพริกปลาทู และน้ำพริกนรกมีค่าพีเอชอยู่ในช่วงสูงสุด คือ 4.83 - 5.95 รองลงมาเป็นน้ำพริกแมงดา น้ำพริกตาแดง น้ำพริกกุ้งเสียบ และน้ำพริกกะปิมีค่าพีเอชในช่วง 4.06 - 5.13 ส่วนน้ำพริกมะขามและน้ำพริกไข่เค็มมีค่าพีเอชต่ำสุด คือ ช่วง 3.75 - 4.40 และพบว่าน้ำพริกแต่ละชนิดมีค่า A_w แตกต่างกัน โดยน้ำพริกปลาร้ามีค่า A_w สูงสุด คือ 0.942 - 0.999 ในช่วงรองลงมาได้แก่ น้ำพริกปลาย่าง น้ำพริกแมงดา น้ำพริกตาแดง และน้ำพริกกะปิในช่วง A_w 0.789 - 0.988 ส่วนน้ำพริกมะขามและน้ำพริกไข่เค็มมีค่า A_w อยู่ในช่วงต่ำเล็กน้อย คือ 0.737 - 0.838 และน้ำพริกที่มีค่า A_w ต่ำสุดคือ ในช่วง 0.441 - 0.899 ได้แก่ น้ำพริกกุ้งเสียบและน้ำพริกนรก สำหรับปริมาณเกลือของน้ำพริกส่วนใหญ่อยู่ในช่วงใกล้เคียงกัน คือร้อยละ 2.71 – 2.91 ยกเว้นน้ำพริกปลาร้ามีปริมาณเกลือต่ำกว่าน้ำพริกชนิดอื่นคืออยู่ในช่วงร้อยละ 1.62 – 1.77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 คุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำพริกที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล

ชนิดของน้ำพริก	จำนวน (ตัวอย่าง)	ค่าพีเอช	ค่า A_w (25 องศาเซลเซียส)	ปริมาณเกลือ (%)	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/g)	จำนวน *Staphylococcus* sp. (CFU/g)	จำนวนยีสต์และรา (CFU/g)
น้ำพริกปลาย่าง	5	4.83-5.79	0.874-0.988	2.87-2.90	2.1×10^4 - 2.0×10^7	3.5×10^4 - 5.1×10^5	5.9×10^4 - 2.8×10^6
น้ำพริกปลาร้า	5	4.89-5.76	0.942-0.982	1.62-1.77	3.1×10^5 - 3.5×10^7	7.2×10^3 - 1.0×10^7	2.6×10^4 - 2.0×10^6
น้ำพริกแมงดา	5	4.21-5.09	0.789-0.956	2.84-2.90	1.3×10^4 - 4.1×10^7	2.9×10^4 - 2.5×10^5	2.8×10^4 - 3.3×10^5
น้ำพริกตาแดง	5	4.06-4.98	0.877-0.898	2.88-2.90	2.4×10^4 - 6.0×10^8	5.1×10^3 - 2.8×10^4	1.3×10^4 - 4.5×10^5
น้ำพริกปลาทู	5	4.85-5.75	0.977-0.999	2.71-2.89	1.3×10^5 - 1.9×10^6	3.3×10^4 - 1.6×10^6	1.6×10^4 - 7.2×10^5
น้ำพริกมะขาม	5	3.79-4.40	0.741-0.838	2.87-2.91	1.2×10^4 - 5.0×10^6	2.6×10^3 - 6.4×10^4	1.2×10^4 - 1.7×10^7
น้ำพริกกุ้งเสียบ	5	4.36-5.13	0.498-0.546	2.82-2.88	1.2×10^4 - 1.7×10^6	3.2×10^3 - 3.2×10^4	5.6×10^4 - 3.6×10^5
น้ำพริกไข่เค็ม	5	3.75-4.10	0.737-0.778	2.88-2.89	1.3×10^5 - 5.5×10^8	7.2×10^3 - 4.1×10^5	1.5×10^4 - 3.1×10^7
น้ำพริกกะปิ	5	4.17-4.66	0.894-0.959	2.88-2.90	1.2×10^4 - 1.6×10^5	5.0×10^4 - 1.1×10^6	2.0×10^4 - 1.2×10^6
น้ำพริกนรก	5	5.19-5.95	0.441-0.699	2.87-2.89	3.3×10^5 - 1.7×10^7	2.7×10^4 - 3.1×10^5	6.1×10^5 - 3.4×10^6

การที่น้ำพริกชนิดต่างๆที่นำมาวิเคราะห์มีค่าพีเอช ค่า A_w และปริมาณเกลือแตกต่างกัน พบว่ามีความสัมพันธ์กับจุลินทรีย์ที่ตรวจพบบ้าง ซึ่งปกติจุลินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ที่ค่าพีเอชประมาณ 7.0 (6.6 - 7.5) และมีจุลินทรีย์เพียงเล็กน้อยที่สามารถเจริญได้ที่ค่าพีเอชต่ำกว่า 4.0 (Jayและคณะ, 2005) โดยเชื้อราและยีสต์เจริญได้ดีที่ช่วงพีเอช 3.5 - 4.0 และ 4.5 - 6.0 ตามลำดับ ค่า A_w ต่ำสุดที่เชื้อราส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ คือ 0.80 และยีสต์ส่วนใหญ่มีค่า A_w ต่ำสุดสำหรับการเจริญ คือ 0.88 สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* สามารถเจริญได้ที่ค่าพีเอชต่ำสุดคือ 4.0 พีเอชที่เหมาะสมอยู่ที่ช่วง 6.0 - 7.0 (Lund และ Exlund, 2000) และสามารถเจริญได้ในช่วงพีเอช และช่วงA_w ที่ 4.0 - 9.8 และ 0.83 – มากกว่า 0.99 ตามลำดับ โดยที่ค่า A_w ต่ำสุดที่เชื้อ *Staphylococcus aureus*สามารถเจริญได้คือ 0.86 (Adum และ Moss, 2008) แต่ในน้ำพริกบางตัวอย่างมีเชื้อจุลินทรีย์เจริญถึงแม้ว่ามีค่า A_w หรือค่าพีเอชไม่เหมาะสม อาจเป็นเพราะเชื้อจุลินทรีย์นั้นเป็น Xerophilic molds ซึ่งสามารถเจริญได้ที่ค่า A_w ต่ำถึง 0.61 (Jayและคณะ, 2005) หรือจุลินทรีย์ที่พบในน้ำพริกอาจมาจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในวัตถุดิบที่ใช้ผลิตน้ำพริก ภาชนะ อุปกรณ์และมือของผู้ผลิต มีรายงานการวิจัยของ Stonsaovapak และคณะ(1996) ที่ได้ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในวัตถุดิบสำหรับผลิตน้ำพริกสำเร็จรูป พบว่า วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำพริก เช่น หัวหอม กระเทียม กุ้งแห้ง พริกแห้ง กะปิ มีปริมาณจุลินทรีย์ค่อนข้างสูง มีจำนวนอยู่ระหว่าง 4.279 - 7.778 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม โดยพริกแห้งมีปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนมากที่สุดและพบ *Clostridium perfringens* อยู่ในวัตถุดิบทุกชนิด โดยมีจำนวนเชื้ออยู่ระหว่าง 1.000 - 4.623 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม และยังมีรายงานของ มณฑล และคณะ(2548) ที่ได้วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของอาหาร ภาชนะอุปกรณ์ที่สัมผัสอาหาร และผู้สัมผัสอาหาร พบว่ามีการปนเปื้อนโคลิฟอร์มแบคทีเรียโดยมือผู้สัมผัสมีการปนเปื้อนสูงที่สุดคือ 16 ตัวอย่างจาก 59 ตัวอย่าง

หลังจากทำการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางจุลินทรีย์แล้ว ได้เขี่ยเชื้อ *Staphylococcus* จำนวน 100 ไอโซเลต จากน้ำพริก 10 ชนิด ชนิดละ 10 ไอโซเลต นำไปแยกให้บริสุทธิ์ แล้วนำไปทดลองคุณภาพทางชีวเคมี เพื่อจำแนกชนิดในระดับสปีชีส์ต่อไป

4.2 การแยกเชื้อ และการศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดของ *Staphylococcus* ที่แยกจากน้ำพริก

ทำการเขี่ยเชื้อจากตัวอย่างน้ำพริกแต่ละชนิดที่ขึ้นบนผิวหน้าอาหาร Baird-Parker Agar (BPA) โดยเขี่ยเชื้อมา 10 โคโลนี จากโคโลนีที่มีลักษณะกลม ผิวเรียบ ชื้น มีสีเทาถึงดำที่ขอบโคโลนีมีสีอ่อนลง รอบๆโคโลนีมีโซนสีขาวขุ่นโดยนำมาแยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหาร Nutrient Agar (NA) ได้เชื้อบริสุทธิ์ทั้งหมด 100 ไอโซเลตจากตัวอย่างน้ำพริก 10 ชนิด จากนั้นนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลสและโคแอกกูเลสพบว่ามีเชื้อจำนวน 23 ไอโซเลตจากจำนวนทั้งหมด 100 ไอโซเลตซึ่งคิดเป็นร้อยละ 23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่สามารถสร้างเอนไซม์คะตะเลสได้ (ตารางที่ 4.2) จึงนำเชื้อทั้ง 23 ไอโซเลตนี้มาทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์โคแอกลูเลส พบว่าเป็นเชื้อที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์โคแอกลูเลสได้ทั้งหมด (coaglulase negative) และเมื่อทำการศึกษาลักษณะโคโลนีทั้ง 23 ไอโซเลตนี้บนอาหาร NA พบว่าไอโซเลต I_1 และ I_4 ซึ่งแยกได้จากน้ำพริกปลาทู มีลักษณะที่ค่อนข้างแตกต่างจากลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตอื่น คือ มีลักษณะกลม ผิวเรียบ ชื้น มีสีเหลือง จึงคัดเลือกมาทำการย้อมแกรม ผลปรากฏว่าเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลตนี้เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะเซลล์กลมและจับตัวเป็นกลุ่ม จึงนำเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลตนี้มาทำการทดสอบเพื่อยืนยันว่าเป็นเชื้อ *Staphylococcus* ไม่ใช่เชื้อ *Micrococcus* ซึ่งได้ทำการทดสอบคุณลักษณะต่างๆทั้งหมด 7 คุณลักษณะ ได้แก่ การสร้างเอนไซม์ออกซิเดส การยับยั้งโดยฟูราโซลิโดน (furazolidone) ความไวต่อไลโซสตาฟิน (lysostaphin) การผลิตกรดจากกลีเซอรอล การต้านทานต่อเบซิตราซิน (bacitracin) การหมักน้ำตาลกลูโคส และการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ถ้าหากเป็นเชื้อ *Staphylococcus* จะให้ผลการทดสอบดังนี้คือ การสร้างเอนไซม์ออกซิเดสให้ผลเป็นลบ การยับยั้งโดยฟูราโซลิโดนให้ผลเป็นบวก ความไวต่อไลโซสตาฟินให้ผลเป็นลบ การผลิตกรดจากกลีเซอรอลให้ผลเป็นบวก การต้านทานต่อแบซิตราซินให้ผลเป็นลบ การหมักน้ำตาลกลูโคสและการหมักน้ำตาลแมนนิทอลให้ผลเป็นบวก แต่ถ้าเป็น *Micrococcus* จะให้ผลดังนี้ การสร้างเอนไซม์ออกซิเดสให้ผลเป็นบวก การยับยั้งโดยฟูราโซลิโดนให้ผลเป็นลบ ความไวต่อไลโซสตาฟินให้ผลเป็นบวก การผลิตกรดจากกลีเซอรอลให้ผลเป็นลบ การต้านทานต่อเบซิตราซินให้ผลเป็นบวก การหมักน้ำตาลกลูโคสและการหมักน้ำตาลแมนนิทอลให้ผลเป็นลบ (Koneman และคณะ, 1994) จากผลทดสอบเชื้อไอโซเลต I_1 และไอโซเลต I_4 ได้ผลดังตารางที่ 4.3 จึงสามารถบ่งชี้ได้ว่าเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลตนี้เป็นเชื้อ *Staphylococcus* และได้นำไปทำการจำแนกชนิดโดยใช้ชุดทดสอบ API staph เพื่อระบุชนิดของ *Staphylococcus* ต่อไป

จากการที่พบ *Staphylococcus* จำนวนมากในน้ำพริกชี้ให้เห็นว่าน้ำพริกที่สุ่มตัวอย่างมาทดสอบ ผ่านการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะ เชื้อ *Staphylococcus* ที่ปนเปื้อนในน้ำพริกอาจมีแหล่งการปนเปื้อนมาจากผู้ผลิตน้ำพริก เนื่องจาก *Staphylococcus* มีแหล่งที่อยู่อาศัยตามผิวหนังและเยื่อบุเมือกของคนและสัตว์ (Koneman และคณะ, 1994) ดังนั้นถ้าหากผู้ประกอบอาหารมีสุขลักษณะส่วนบุคคลไม่ดี เช่น มีการใช้มือสัมผัสบริเวณใบหน้าหรือรูจมูกแล้วไม่ล้างมือก่อนประกอบอาหารอาจทำให้เชื้อ *Staphylococcus* ปนเปื้อนลงไปยังอาหารที่ผลิตได้ ซึ่ง *Staphylococcus* ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดที่พบทั้งในคนและสัตว์จะผลิตเอนไซม์โคแอกกลูเลส ในบรรดาเชื้อ *Staphylococcus* ทั้งหมด *S. aureus* ซึ่งที่สร้างเอนไซม์โคแอกลูเลสได้ (coagulase positive) และ *Staphylococcus* ที่ไม่สามารถสร้างโคแอกลูเลส (coagulase negative) อีก 2 ชนิดคือ *Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus saprophyticus* พบบ่อยในการติดเชื้อในคน (Koneman และคณะ, 1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 เชื้อ *Staphylococcus* ที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำพริกและผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส

แหล่งที่มาของเชื้อ	จำนวนไอโซเลตที่คัดเลือก	การสร้างคะตะเลส	
		จำนวนไอโซเลต	รหัสไอโซเลต
น้ำพริกปลาย่าง	10	9	A_1, A_3, A_4, A_5, A_6, A_7, A_8, A_9, A_{10}
น้ำพริกปลาร้า	10	7	B_1, B_2, B_3, B_4, B_5 B_7, B_8
น้ำพริกแมงดา	10	2	C_1, C_4
น้ำพริกตาแดง	10	0	-
น้ำพริกมะขาม	10	1	E_1
น้ำพริกกุ้งเสียบ	10	0	-
น้ำพริกไข่เค็ม	10	0	-
น้ำพริกกะปิ	10	0	-
น้ำพริกปลาทู	10	3	I_1, I_4, I_{10}
น้ำพริกนรก	10	1	J_5

อย่างไรก็ตามถึงแม้การตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus* ในตัวอย่างน้ำพริกทั้งหมด พบเฉพาะ *Staphylococcus* ที่ไม่สามารถสร้างโคแอคกลูเลสได้ แต่ก็ไม่ได้หมายความว่า *Staphylococcus* ที่พบนี้จะไม่ก่อให้เกิดโรค Piette และ Verschregen (2009) ได้กล่าวว่า *Staphylococcus* ชนิดที่ไม่สามารถสร้างโคแอคกลูเลสได้ก็มีแหล่งที่อยู่อาศัยที่ผิวหน้าของคนเช่นกัน ปัจจุบันพบว่า *Staphylococcus* กลุ่มนี้ก็มีความสามารถในการก่อโรคได้เช่นเดียวกับเชื้อ *Staphylococcus* ที่สร้างโคแอกลูเลสได้เช่น โรคเยื่อบุโพรงหัวใจอักเสบ (endocarditis) การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ (urinary tract infection) ที่เกิดจากเชื้อ *S. saprophyticus* เชื้อ *Staphylococcus* ชนิดนี้เป็นชนิดที่ไม่สามารถสร้างโคแอคกลูเลสได้และพบบ่อยในการเป็นสาเหตุของการติดเชื้อ

4.3 สมบัติทางชีวเคมีของ *Staphylococcus* ที่คัดเลือก

จากการศึกษาสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Staphylococcus* ที่คัดเลือกมากจากน้ำพริกปลาทู ได้แก่ ไอโซเลต I_1 และไอโซเลต I_4 โดยใช้ชุดทดสอบ API Staph และประมวลผลด้วยโปรแกรม API Identification Softwate (BioMerieux) พบว่า *Staphylococcus* ไอโซเลต I_1 มีความคล้ายคลึงกับคุณสมบัติทางชีวเคมีทางชีวเคมีของเชื้อ *Staphylococcus xylosus* ร้อยละ 99.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยมีการหมักกลูโคส ฟรุคโตส แมนโนส (mannose) มอลโตส (moltose) ทรีฮาโลส (trehalose) แมนนิทอล (mannital) แนปทิสฟอสเฟต (naphtyl phosphate) ไซโลส (xylose) ซูโครส (Sucrose) อะซีติลกลูโคซามีน (acetylglucosamine) ยูเรีย (usea) แต่ไม่มีการหมักไซลิทอล (xylital) โพแทสเซียมไนเตรต (potassium nitrate) ราฟฟิโนส (raffinose) เมทิลกลูโคไพราโนไซด์ (methylgucopyranaside) อาร์จินีน (arginine) และโซเดียมไพรูเวต (sodium pyruvate) ส่วนผสมทางชีวเคมีของ *Staphylococcus* ไอโซเลต I_4 พบว่ามีความคล้ายคลึงกับสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Staphylococcus lugdunensis* ร้อยละ 89.7 และเชื้อ *Staphylococcus haminis* ร้อยละ 9.8 เนื่องมาจากเชื้อไอโซเลต I_4 สามารถหมักกลูโคส ฟรุคโตส ไซลิทอล เมลิไบโอส โพแทสเซียมไนเตรต ราฟฟิโนส ไซโลส ซูโครส อะซีติลกลูโคซามีน และยูเรีย แต่ไม่สามารถหมักแมนโนส มอลโตส แลคโตส แมนนิทอล แนปทิลฟอสเฟต โซเดียมไพรูเวต เมทิลโคไพราโนไซด์ และอาร์จินีน ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.3 การทดสอบเชื้อที่แยกจากน้ำพริกเพื่อยืนยันว่าเป็น *Staphylococcus* ไม่ใช่ *Micrococcus*

ประเภทการทดสอบ	รหัสไอโซเลต	
	I_1	I_4
การสร้างเอนไซม์คะตะเลส	+	+
การสร้างเอนไซม์โคแอคกลูเลส	-	-
การสร้างเอนไซม์ออกซิเดส	-	-
การยับยั้งโดยฟูราโซลิโดน	+	+
การผลิตกรดจากกลีเซอรอล	+	+
ความไวต่อไลโซสตาฟิน	-[a]	-[a]
การต้านทานต่อเบซิตราซิน	-	-
การหมักน้ำตาลกลูโคสใน สภาวะไร้อากาศ	+	+
การหมักน้ำตาลแมนนิทอลใน สภาวะไร้อากาศ	+	+

หมายเหตุ + เกิดปฏิกิริยา
- ไม่เกิดปฏิกิริยา
-[a] ความขุ่นหายไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 การทดสอบ API Staph ของเชื้อที่คัดเลือกจากน้ำพริกที่จำหน่ายในตลาดกรุงเทพมหานครและปริมณฑล

ชนิดของสารประกอบที่ใช้ในการทดลอง	ผลการทดลอง	
	ไอโซเลต I_1	ไอโซเลต I_4
No substrate	-	-
D – glucose	+	+
D – fructose	+	+
D – mannose	+	-
D – maltose	+	-
D – lactose(bovine origin)	+	-
D – trehalose	+	-
D – mannitol	+	-
xylitol	-	+
D – melibilose	-	+
Potassium nitrate	-	+
β – naphthyl phosphate	+	-
sadium pyruvate	-	-
D – raffinose	-	+
D – xylose	+	+
D – saccharose (sucrose)	+	+
methyl – αD –glucopyranoside	-	-
N-qcetyl-glucosqmine	+	+
L-arginine	-	-
urea	+	+
Lysostaphin test	+	+

หมายเหตุ + คือ มีการใช้สับสเตรท

- คือ ไม่มีการใช้สับสเตรท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบตในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* และ*Staphylococcus lugdunensis* โดยวิธี agar dilution

จากการศึกษาผลของน้ำมันอบเชยต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus lugdunensis* บนอาหาร 3 ชนิด คือ Tryptic soy agar (TSA), Fish model agar (FMA) และ Chilli model agar (CMA) ที่มีค่าพีเอชต่างกัน 2 ระดับ ได้แก่พีเอช 5.0 และพีเอช 5.5 ได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิด ดังตารางที่ 4.5 พบว่าในอาหาร TSA ที่ระดับพีเอช 5.0 เชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* จะถูกยับยั้งโดยน้ำมันอบเชยที่ค่า MIC เท่ากันคือ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และที่ระดับพีเอช 5.5 เชื้อ *S. aureus* มีความไวต่อการถูกยับยั้งการเจริญด้วยน้ำมันอบเชยในอาหาร TSA ได้ดีกว่าเชื้อ *Staphylococcus* อีก 2 ชนิด คือมีค่า MIC เท่ากับ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเชื้อ *S. epidermidis* ต้านทานต่อการถูกยับยั้งโดยน้ำมันอบเชยในอาหาร TSA ที่พีเอช 5.5 ได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 4000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนในอาหาร FMA เชื้อ *S. aureus* ถูกยับยั้งโดยน้ำมันอบเชยได้ดีที่สุด ที่ระดับพีเอช 5.0 และพีเอช 5.5 โดยมีค่า MIC เท่ากับ 125 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าค่า MIC ของเชื้อ *Staphylococcus* อีก 2 ชนิด และสำหรับเชื้อ *S. lugdunensis* ต้านทานต่อการถูกยับยั้งโดยน้ำมันอบเชยในอาหาร FMA ที่พีเอช 5.0 และพีเอช 5.5 มากที่สุด โดยมีค่า MIC สูงถึง 6000 และ 4000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในอาหาร CMA ที่พีเอช 5.0 เชื้อ *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิด มีความไวต่อการถูกยับยั้งด้วยน้ำมันอบเชย ที่ค่า MIC ระดับเดียวกัน คือ 7.8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ที่พีเอช 5.5 เชื้อ *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิด ถูกยับยั้งการเจริญโดยน้ำมันอบเชยที่ระดับ MIC สูงกว่าที่พีเอช 5.0

เมื่อเปรียบเทียบผลการหาค่า MIC ของน้ำมันอบเชยในอาหารทั้ง 3 ชนิด จะเห็นได้ว่าเชื้อ *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิด ไวต่อการถูกยับยั้งโดยน้ำมันอบเชยในอาหาร CMA มากกว่าในอาหาร TSA และ FMA ที่ระดับพีเอช 5.0 และพีเอช 5.5 แต่เมื่อพิจารณาชนิดของเชื้อจะเห็นได้ว่าเชื้อ *S. lugdunensis* ส่วนใหญ่ต้านทานต่อการถูกยับยั้งการเจริญในอาหารทั้ง 3 ชนิด ได้ดีกว่าเชื้อ *S. epidermidis* และเชื้อ *S. epidermidis* ต้านทานได้ดีกว่า *S. aureus*

ในการศึกษาผลของโพแทสเซียมซอร์เบตต่อการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิดบนอาหาร 3 ชนิด Tryptic soy agar (TSA), Fish model agar (FMA) และ Chilli model agar (CMA) พบว่า ในอาหาร TSA ที่พีเอช 5.0 มีค่า MIC ต่ำกว่าที่พีเอช 5.5 โดยที่พีเอช 5.0 ในอาหาร TSA เชื้อ *S. lugdunensis* มีความต้านทานต่อการถูกยับยั้งโดยโพแทสเซียมซอร์เบตมากที่สุด คือมีค่า MIC เท่ากับ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และที่พีเอช 5.5 *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิดจะถูกยับยั้ง

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในเชิงการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

ที่ค่า MIC เดียวกัน คือ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนในอาหาร FMA และ CMA ที่พีเอช 5.0 เชื้อ *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิด จะมีความไวต่อการถูกยับยั้งที่ค่า MIC ของโพแทสเซียมซอร์เบตที่เท่ากัน คือ 0.0625 ไมโครกรัมตอมิลลิลิตร และในอาหาร FMA ที่พีเอช 5.5 เชื้อ *S. aureus* จะถูกยับยั้งได้ดีที่สุด ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เชื้อ *S. lugdunensis* มีความต้านทานมากที่สุด คือมีค่า MIC เท่ากับ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และในอาหาร CMA ที่พีเอช 5.5 เชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* มีความไวต่อการถูกยับยั้งมากกว่า *S. lugdunensis* โดยมีค่า MIC ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus S. epidermidis* และ *S. lugdunensis* เท่ากับ 2.5 2.5 และ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับดังตารางที่ 4.5

จากผลการทดลองในครั้งนี้ การที่พบว่า น้ำมันอบเชยสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้ดี ผลการทดลองสอดคล้องกับผลการทดลองหลายท่าน ดังเช่นการรายงานของ Nanasombat และ Wimuttigosol (2011) ซึ่งได้พบว่าน้ำมันอบเชยสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้เช่นกัน ที่ค่า MIC 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ Goñi และคณะ (2009) ก็ได้รายงานว่า ค่า MIC ของน้ำมันอบเชยที่อยู่ในเฟสของก๊าซ (Vapour phase) ของน้ำมันอบเชย ซึ่งอยู่ในช่องว่างในอากาศ (Head space) มีค่าเท่ากับ 36 ± 5 มิลลิกรัมของน้ำมันอบเชยต่อลิตรของ head space อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองในครั้งนี้แตกต่างจากผลการทดลองของ Gupta และคณะ (2008) ที่ได้พบว่าเชื้อ *S. aureus* และเชื้อ *S. epidermidis* มีความไวในการถูกยับยั้งการเจริญโดยน้ำมันอบเชย เนื่องจากได้ค่า MIC ที่เท่ากัน คือ ร้อยละ 2.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) และ Puangpronpitag และ Sittiwet (2009) ได้ศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันอบเชย (*Cinmamomum verum*) ในการยับยั้งการเจริญของ *S. epidermidis* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การที่น้ำมันอบเชยสามารถยับยั้ง *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิดได้ อาจเป็นเพราะน้ำมันอบเชยประกอบสารหลายชนิดที่มีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ EI-Baroty และคณะ (2010) ได้จำแนกชนิดของสารที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันอบเชย พบสารประกอบหลายชนิด ซึ่งพบว่าสารประกอบหลักในน้ำมันอบเชย ได้แก่ ทรานซ์-ซินนามอลดีไฮด์ (trans-Cinnamaldehyde) ร้อยละ 45.13 ซินนามิลแอลกอฮอล์ (Cinnamyl alcohol) ร้อยละ 8.21 ยูจีนอล (Eugenol) ร้อยละ 7.47 เมธิลยูจีนอล (Methyl eugenol) ร้อยละ 5.23 ซินนามิลแอลกอฮอล์ (Cinnamyl alcohol) ร้อยละ 5.13 เอธิล ซิส-ซินนาเมท (Ethylcis-cinnamate) ร้อยละ 3.86 ไดไฮโรยูจีนอล (Dihyroeugenol) ร้อยละ 3.31 ที-เมทิลซินนาเมท (t-Methyl cinnamate) ร้อยละ 2.19 จีราเนล (Geranial) ร้อยละ 1.79 ไอโซยูจีนอล (Isoeugenol) ร้อยละ 1.59 ไลโมนีน (Limonene) ร้อยละ 1.48 นีรัล (Neral) ร้อยละ 1.16 แอลฟา-ไพนีน (α-pinene) ร้อยละ 1.12 นีรอล (Nerol) ร้อยละ 1.06 1,8-ซีนีโอล (1,8-cineole) ร้อยละ 1.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบตที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในอาหารชนิดต่างๆที่พีเอช 5.0 และพีเอช 5.5

ชนิดของแบคทีเรีย	ค่า MIC (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)					
	Tryptic soy agar		Fish model agar		Chili model agar	
	พีเอช 5.0	พีเอช 5.5	พีเอช 5.0	พีเอช 5.5	พีเอช 5.0	พีเอช 5.5
น้ำมันอบเชย						
S. aureus	1000	250	125	500	7.8	125
S. epidermidis	1000	4000	500	1000	7.8	500
S. lugdunensis	2000	2000	6000	4000	7.8	1000
โพแทสเซียมซอร์เบต						
S. aureus	10	5	0.0625	0.5	0.0625	2.5
S. epidermidis	10	5	0.0625	2.5	0.0625	2.5
S. lugdunensis	30	5	0.0625	5	0.0625	5

Burt (2004) ได้กล่าวว่าลักษณะที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหยและสารประกอบของน้ำมันหอมระเหยคือ ความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) ซึ่งทำให้น้ำมันหอมระเหยสามารถเข้าไปแทรกอยู่ในชั้นไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ และไมโทคอนเดรียของแบคทีเรียได้ โดยจะเข้าไปรบกวนโครงสร้างจนทำให้สารต่างๆสามารถผ่านเข้าออกจากเยื่อหุ้มเซลล์ได้มากขึ้น จึงทำให้เกิดการรั่วไหลของอิออนและองค์ประกอบภายในเซลล์และการที่เชื้อ *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิดมีความไวต่อการถูกยับยั้งในอาหาร CMA มากกว่าในอาหาร TSA และอาหาร FMA ที่พีเอชทั้ง 2 ระดับ คือพีเอช 5.0 และ 5.5 คาดว่าเป็นผลมาจากสารยับยั้งที่เป็นส่วนประกอบในพริกชี้ฟ้า (*Capsicum annuum* L.) โดย Ziio และคณะ (2008) ได้วิเคราะห์สารประกอบที่มีอยู่ในพริกชี้ฟ้า พบว่า *C. annuum* var. *abbreuiatum, C. annuum* var. *fasciculatum* และ *C. annuum* var. *cerasiferum* ประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิด ซึ่งพบสารประกอบหลักในพริกชี้ฟ้าเรียงจากปริมาณมากไปหาปริมาณน้อยดังนี้ แคปไซซินอยด์ (Capsaicinoids) รองลงมาคือ แคปไซซิน (Capsaicin) ไดไฮโดรแคปไซซิน (Dihydrocapsaicin) และนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน (nordihygrocapsaicin) Soetarno และคณะ (1997) ได้ศึกษาสมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพริกชี้ฟ้าที่สกัดด้วยเอทานอล พบว่าสารสกัดจากพริกที่ค่า MIC ร้อยละ 0.40 สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ สำหรับในอาหาร TSA และอาหาร FMA การที่พบว่าเชื้อ *Staphylococcus* ค่อนข้างต้านทานการยับยั้งโดยน้ำมันอบเชยคาดว่าน่าจะเป็นเพราะส่วนประกอบ เช่น ไขมันและโปรตีนในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้มีผลช่วยป้องกันเซลล์ของ *Staphylococcus* ต่อการบาดเจ็บโดยสารยับยั้งในน้ำมันอบเชยเนื่องจากในอาหาร FMA ซึ่งเตรียมจากน้ำต้มปลาทูมีโปรตีน ไขมันและสารประกอบอื่นๆเป็นองค์ประกอบ Chaijan และคณะ (2004) ได้ศึกษาลักษณะเฉพาะและคุณสมบัติของเนื้อปลาทู พบว่าในเนื้อปลาทู ที่มีสีเข้มมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 17.14 $\pm$ 0.68 และไขมันร้อยละ 0.99 $\pm$ 0.43 ในขณะที่เนื้อปลาทูที่มีสีอ่อนมีปริมาณร้อยละ 17.54 $\pm$ 1.27 และไขมันร้อยละ 0.27 $\pm$ 0.22 และในการใช้โพแทสเซียมซอร์เบตเพื่อยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ในการทดลองครั้งนี้ มีความสอดคล้องกับการรายงานของ Stanojevic และคณะ (2009) ที่ได้ศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยโพแทสเซียมซอร์เบต พบว่า โพแทสเซียมซอร์เบตสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ Nanasombat และ Chooprang (2009) ยังรายงานว่า โพแทสเซียมซอร์เบตในอาหารเหลว MHB มีผลต่อการเจริญของ *S. aureus* เช่นกัน โดยมีค่า MIC เท่ากับ 64.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4.5 การศึกษาอิทธิพลของน้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบตที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* และ *S. lugdunensis* โดยวิธี agar dilution checkerboard

เอกสารนี้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น

จากการศึกษาอิทธิพลของน้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบตที่มีผลต่อการยับยั้งการ

เจริญของ *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิด ในอาหาร Fish model agar (FMA) ที่พีเอชต่างกัน 2 พีเอช คือ 5.0 และ 5.5 พบว่า ที่พีเอช 5.0 เชื้อ *S. lugdunensis* มีความไวต่อการยับยั้งด้วยสารผสมของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบต โดยพิจารณาจากค่า FIC index ที่ได้มีค่าน้อยกว่า 0.5 (ตารางที่ 4.6) หมายความว่า เมื่อผสมน้ำมันอบเชยกับโพแทสเซียมซอร์เบต จะให้ผลเสริมฤทธิ์กันในการยับยั้งเชื้อ *S. lugdunensis* ในขณะที่เชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* มีความต้านทานต่อสารผสมนี้ เนื่องจากให้ค่า FIC index เท่ากับ 1 ซึ่งหมายถึง เมื่อใช้น้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบต เพื่อยับยั้ง *Staphylococcus* ทั้ง 2 ชนิด จะให้ผลที่ด้อยกว่าในการใช้อย่างใดอย่างหนึ่งเพียงชนิดเดียว และที่พีเอช 5.5 ค่า FIC index ของ *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิด มีค่ามากกว่า 0.5 ซึ่งจะให้ผลในการยับยั้ง *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิด ที่ดีกว่าเพียงเล็กน้อยหรืออาจจะไม่มีความแตกต่าง เมื่อเทียบกับน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบตเพียงชนิดเดียว ยกเว้นของ MIC_c ของน้ำมันอบเชยเท่ากับ 250 และ 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ MIC_c ของโพแทสเซียมซอร์เบตเท่ากับ 0.625 และ 0.3125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร FIC index ของ *S. epidermidis* มีค่าน้อยกว่า 0.5 ซึ่งจะให้ผลเสริมฤทธิ์กันเช่นเดียวกับการใช้น้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบต ที่พีเอช 5.0 ในอาหาร CMA มีผลในการยับยั้งการเจริญของ *S. lugdunensis* ได้ดีที่สุด เนื่องจากมีค่า FIC index น้อยกว่า 0.5 (0.1873) จึงให้ผลเสริมฤทธิ์กัน

ในอาหาร Chilli model agar (CMA) ที่พีเอช 5.0 เชื้อ *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิด มีความไวต่อสารผสมของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบตมากกว่าที่พีเอช 5.5 ซึ่งพิจารณาจากค่า FIC index ที่มีค่า 0.1873 - 0.1874 ซึ่งน้อยกว่า 0.5 (ตารางที่ 4.7) จึงแสดงผลเป็น synergistic effect มีความหมายคือ เมื่อใช้น้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบตที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับค่า MIC_c (ตารางที่ 4.7) ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิด จะให้ผลในการยับยั้งได้ดีเป็น 2 เท่า กว่าการใช้อย่างใดอย่างหนึ่งเพียงชนิดเดียว และที่พีเอช 5.5 เชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* มีความต้านทานต่อสารผสมนี้ เนื่องจากมีค่า FIC index เท่ากับ 0.75 ซึ่งมากกว่า 0.5 ให้ผลเป็น additive หรือ indifferent effect มีความหมายคือ การใช้น้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบตที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับค่า MIC_c (ตารางที่ 4.7) จะให้ผลในการยับยั้ง *S. aureus* และ *S. epidermidis* ดีกว่าเพียงเล็กน้อยหรืออาจจะไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเทียบกับการใช้น้ำมันอบเชยหรือโพแทสเซียมซอร์เบตเพียงชนิดเดียว ในขณะที่เชื้อ *S. lugdunensis* ให้ผลของค่า FIC index เท่ากับ 1 ซึ่งให้ผลเป็น antagonistic effect ความหมายคือ ในการใช้น้ำมันอบเชยร่วมร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบตที่ระดับ MIC_c (ตารางที่ 4.7) เพื่อยับยั้งเชื้อ *S. lugdunensis* จะให้ผลที่ด้อยกว่าการใช้น้ำมันอบเชยหรือโพแทสเซียมซอร์เบตเพียงชนิดเดียว

จากการทดสอบอิทธิพลของน้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบต ในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ผลที่ได้สอดคล้องกับ Goñi และคณะ (2009) ได้รายงานว่า น้ำมันอบเชยเมื่ออยู่ในรูปสารผสมมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* โดยพิจารณาจากค่า FIC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

index มีค่าเท่ากับ 1.1 ซึ่งใกล้เคียงกับค่า FIC index ในอาหาร FMA ที่พีเอช 5.0 ที่ได้จากผลการทดลองนี้ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1 แสดงว่าเป็นปฏิปักษ์กัน (antagonistic) ผลการทดลองที่จะสรุปได้ว่าไม่มีความแตกต่างกัน (additive effect) ได้จากผลของการใช้สารหลายชนิดร่วมกัน ที่มีค่าเท่ากับผลรวมของผลที่ได้จากการใช้สารยับยั้งเดี่ยวแต่ละชนิด ส่วนในกรณีที่ได้ผลสรุปว่า เป็นปฏิปักษ์กัน (antagonistic effect) จะหมายถึงผลของสารยับยั้งเพียงหนึ่งชนิดหรือสารยับยั้งสองชนิด เมื่อมาใช้ร่วมกันให้ผลน้อยกว่าเมื่อใช้เพียงชนิดเดียวเดี่ยวๆ และในกรณีของการที่ได้ผลสรุปว่ามีการเสริมฤทธิ์กัน (synergistic effect) จะหมายถึงผลของการใช้สารยับยั้งหลายชนิดร่วมกัน ให้ผลที่มากกว่าผลรวมของการใช้สารยับยั้งเพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง (Davidson และ Parish, 1989) นอกจากนี้ Stanojevic และคณะ (2009) ได้รายงานผลของการศึกษาโพแทสเซียมซอร์เบตร่วมกับสารอื่นในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* พบว่า ค่า FIC index ของโพแทสเซียมซอร์เบตเมื่อผสมกับโซเดียมไนเตรต และโซเดียมเบนโซเอต มีค่าเท่ากับ 1.125 และ 1.25 ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้มีความใกล้เคียงกับค่า FIC index ในอาหาร FMA ที่พีเอช 5.0 คือ 1.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ค่า Fractional Inhibitory Concentration (FIC) และค่า FIC index (FICI) ของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบตใน Fish model agar

พีเอช	น้ำมันอบเชย (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			โพแทสเซียมซอร์เบต (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			FICI
	MIC_a	MIC_c	FIC	MIC_a	MIC_c	FIC	
S. aureus							
5.0	125	62.5	0.5	0.0625	0.0312	0.5	1
5.5	500	250	0.5	0.5	0.0625	0.125	0.625
S. epidermidis							
5.0	500	250	0.5	0.0625	0.0312	0.5	1
5.5	1000	500	0.5	2.5	0.3125	0.125	0.625
	1000	250	0.25	2.5	0.625	0.25	0.5
	1000	125	0.125	2.5	1.25	0.5	0.625
	1000	62.5	0.0625	2.5	0.3125	0.125	0.1875
S. lugdunensis							
5.0	6000	375	0.0625	0.0625	0.0078	0.1248	0.1873
5.5	4000	2000	0.5	5	0.3125	0.0625	0.5625

MIC_a = MIC ของตัวอย่างของสารเพียงชนิดเดียว (น้ำมันอบเชยหรือโพแทสเซียมซอร์เบต)

MIC_c = MIC ของตัวอย่างของสาร (น้ำมันอบเชยหรือโพแทสเซียมซอร์เบต) เมื่ออยู่ในรูปสารผสม

FIC = ค่า MIC ของตัวอย่างสารเมื่ออยู่ในรูปสารผสม / ค่า MIC ของตัวอย่างของสารเพียงชนิดเดียว

FICI = FIC ของน้ำมันหอมระเหยอบเชย + FIC ของโพแทสเซียมซอร์เบต

ตารางที่ 4.7 ค่า Fractional Inhibitory Concentration (FIC) และค่า FIC index (FICI) ของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบตใน Chili model agar

พีเอช	น้ำมันอบเชย (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			โพแทสเซียมซอร์เบต (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			FICI
	MIC_a	MIC_c	FIC	MIC_a	MIC_c	FIC	
S. aureus							
5.0	7.8	0.4875	0.0625	0.0625	0.0078	0.1248	0.1873
5.5	125	62.5	0.5	2.5	0.625	0.25	0.75
	125	7.8125	0.0625	2.5	0.625	0.25	0.75
S. epidermidis							
5.0	7.8	0.4875	0.0625	0.0625	0.0078	0.1248	0.1873
5.5	500	250	0.5	2.5	0.625	0.25	0.75
	500	125	0.25	2.5	1.25	0.5	0.75
	500	62.5	0.125	2.5	1.25	0.5	0.625
S. lugdunensis							
5.0	7.8	0.975	0.125	0.0625	0.0039	0.0624	0.1874
5.5	1000	500	0.5	5	2.5	0.5	1

MIC_a = MIC ของตัวอย่างของสารเพียงชนิดเดียว (น้ำมันอบเชยหรือโพแทสเซียมซอร์เบต)

MIC_c = MIC ของตัวอย่างของสาร (น้ำมันอบเชยหรือโพแทสเซียมซอร์เบต) เมื่ออยู่ในรูปสารผสม

FIC = ค่า MIC ของตัวอย่างสารเมื่ออยู่ในรูปสารผสม / ค่า MIC ของตัวอย่างขางสารเพียงชนิดเดียว

FICI = FIC ของน้ำมันหอมระเหยอบเชย + FIC ของโพแทสเซียมซอร์เบต

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ผลการตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำพริกจำนวน 10 ชนิด ได้แก่ น้ำพริกปลาทู น้ำพริกปลาย่าง น้ำพริกปลาร้า น้ำพริกกุ้งเสียบ น้ำพริกไข่เค็ม น้ำพริกแมงดา น้ำพริกตาแดง น้ำพริกนรก น้ำพริกมะขาม และน้ำพริกกะปิ สรุปได้ว่าน้ำพริกมีคุณภาพทางจุลินทรีย์ค่อนข้างต่ำเนื่องจากมีการปนเปื้อนโดยจุลินทรีย์จำนวนมาก เช่น เชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย น้ำพริกทั้งหมดที่ตรวจสอบมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 1.2×10^4 - 6.0×10^8 CFU ต่อกรัม มีจำนวนยีสต์และราอยู่ในช่วง 1.2×10^4 - 3.1×10^7 CFU ต่อกรัมและจำนวน *Staphylococcus* อยู่ในช่วง 3.0×10^3 - 1.0×10^7 CFU ต่อกรัม เมื่อนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ผลปรากฏว่าค่าพีเอชของน้ำพริกทั้งหมดอยู่ในช่วง 3.75 - 5.95 ค่า A_w ที่อุณภูมิ 25 องศาเซลเซียสอยู่ในช่วง 0.441 - 0.999 และมีปริมาณเกลืออยู่ในช่วงร้อยละ 1.62 - 2.91 จากนั้นทำการแยกเชื้อ *Staphylococcus* จากน้ำพริกและคัดเลือกมาจำนวน 2 ไอโซเลต (ไอโซเลต I_1 และ ไอโซเลต I_4) จากตัวอย่างน้ำพริกปลาทู นำมาศึกษาคุณลักษณะและจำแนกชนิดด้วยชุดทดสอบ API staph สามารถระบุได้ว่าไอโซเลต I_1 และไอโซเลต I_4 คือ *Staphylococcus xylosus* และ *Staphylococcus lugdunensis* ตามลำดับ

ในการศึกษาสมบัติของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบตในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *S. lugdunensis* โดยใช้วิธีการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งได้ (MIC) ในอาหาร 3 ชนิด คือ Tryptic Soy Agar (TSA), Chilli Model Agar (CMA) และ Fish Model Agar (FMA) ที่ระดับพีเอช 5.0 และพีเอช 5.5 พบว่าในอาหาร CMA ที่ผสมน้ำมันอบเชยที่ระดับพีเอช 5.0 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิดได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 7.8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ *S. lugdunensis* จะสามารถต้านทานต่อน้ำมันอบเชยได้ดีที่สุดในอาหาร FMA ที่พีเอช 5.0 (ค่า MIC เท่ากับ 6000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ในขณะที่อาหาร CMA และอาหาร FMA ที่ผสมโพแทสเซียมซอร์เบตที่ระดับพีเอช 5.0 จะสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิดได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 0.0625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ *S. lugdunensis* จะสามารถต้านทานต่อโพแทสเซียมซอร์เบตได้ดีที่สุดในอาหาร TSA ที่ระดับพีเอช 5.0 (ค่า MIC เท่ากับ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

การศึกษาอิทธิพลของน้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบตที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus* ทั้ง 3 ชนิด พบว่าในอาหาร CMA ที่ระดับพีเอช 5.0 จะสามารถยับยั้งการเจริญของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Staphylococcus ทั้ง 3 ชนิดได้ดีที่สุด (ค่า FICI เท่ากับ 0.1873) และในอาหาร FMA ที่ระดับพีเอช 5.5 ของ *S. epidermidis* และระดับพีเอช 5.0 ของ *S. lugdunensis* จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด (ค่า FICI เท่ากับ 0.1875 และ 0.1873 ตามลำดับ) ซึ่งค่า FICI ที่น้อยกว่า 0.5 แสดงว่ามีการเสริมฤทธิ์กัน (synergistic) ในขณะที่อาหาร FMA ที่ระดับพีเอช 5.0 ของเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* และอาหาร CMA ที่ระดับพีเอช 5.5 ของเชื้อ *S. lugdunensis* มีค่า FICI เท่ากับ 1 แสดงว่าสารทั้ง 2 ชนิดเป็นปฏิปักษ์กัน

ในการทดสอบนี้ได้ทำการทดสอบน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบต ยังมีสารอื่นอีกมากที่มีผลส่งเสริมและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดนี้ อาจทำการศึกษาในจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหารชนิดอื่นๆ นอกจากนี้อาจพิจารณาถึงองค์ประกอบโดยละเอียดในอาหารต่างชนิด เมื่อทำการทดลองในการใช้สารที่มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ หากมีการใช้สารเหล่านั้นร่วมกันมากกว่า 2 ชนิดขึ้นไป อาจมีผลทำให้ยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดียิ่งขึ้นก็เป็นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ ปั้นดีและกิตติพันธ์ อุดมวงศ์ทรัพย์. "ผลของสุมนไพรบางชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา". ปริญญานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 2544.

นันทนา อรุณฤกษ์. (2537). การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรบ. โอเอส พรินติ้ง เฮ้าส์, กรุงเทพฯ. 411 น.

นันทวัน ศรีกาฬสินธุ์, พรรณสิทธิ์ ภูวสรรเพชรและอัญชลี เพ็งสาธร. (2543). "การตรวจสอบเชื้อ *Stapylococcus aureus* ในตัวอย่างอาหารโดยการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วน 23 เอส ไรโบโซมอล ดีเอ็นเอ ด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่ (PCR)". ปริญญาปริญญามหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

น้ำพริก. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2536. มอก. 1152-2536. กระทรวงอุตสาหกรรม กรุงเทพฯ : 1.

บุษกร อุตรภิชาติ. (2547). จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภารกิจเอกสารและตำรา มหาวิทยาลัยทักษิณ.

พัชณี รัตนสมบัติ. (2545). "การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาเสริมโปรตีนและวิตามินบี 12 จากถั่วเหลืองหมัก". วิทยานิพนธ์นิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พัชราวัลย์ ตรังตรีชาติ, จิรวัฒน์ กันต์เกรียงวงศ์, ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์ และวรพจน์ สุนทรสุข. (2545). "การศึกษาลักษณะทางจุลชีววิทยาของน้ำพริกหนุ่ม". ปริญญานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. (2545). สุคนธบำบัด. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

พรรณชรินทร์ ศรัทธาและสุพรรณี เสนาอาด. (2543). "การตรวจหา *Stapylococcus aureus* ในขนมไทย". ปริญญานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เยาวลักษณ์ บานเพียนและพรรนิภา ศิริเพิ่มพูล. (2551). "ประสิทธิภาพของเคอร์คูมินอยด์ในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus*". ปริญญานิพนธ์นิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รวิวรรณ พรหมเจริญ. (2545). "ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสร้างสารพิษของเชื้อ *Bacillus cereus* ในน้ำพริก". วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล, สุมาลย์ สาระยา, ยุวดี วงษ์กระจ่าง, นงลักษณ์ เรืองวิเศษและวงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล. "โครงการศึกษาวัตถุกันเสียจากสมุนไพรเพื่อยืดอายุผลิตภัณฑ์น้ำพริกชุมชน". งานวิจัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. (2535). พืชเครื่องเทศและสมุนไพร. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์การศาสนา.

ศรินยา ลิ้มวงศ์วิรัช. (2546). "การศึกษาผลของสารสกัดจากใบบัวบกและใบพลูต่อการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ATCC 25923". ปริญญานิพนธ์นิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสถาบันราชภัฏวไลยอลงกรณ์.

สิริพร สธนเสาวภาคย์, ปราโมทย์ ธรรมรัตน์และกาญจนิจ วาจนะวินิจ. (2539). "การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในวัตถุดิบสำหรับผลิตน้ำพริกสำเร็จรูปและการศึกษาระยะเวลาในการอบเพื่อลดปริมาณ". สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุมาลี เหลืองสกุล. (2539). จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. หน้า 220-227, โรงพิมพ์ชัยเจริญ.

อดิพล ดิลกพิมล. (2546). "ราและอะฟลาทอกซินในน้ำพริกแกงและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบ". วิทยานิพนธ์นิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อดิศร เสวตวิวัฒน์. (2538). อาหารแช่แข็งพร้อมบริโภคกับความปลอดภัยในด้านจุลชีววิทยา. เกษตรพระจอมเกล้า 13(2):29-38

Adam, M. R., & Moss, M. O. (2008). *Food microbiology* (3rd edition). Cambridge: RSC Publishing, (Chapter 7).

Baker, J. S. (1984). Comparison of various methods for differentiation of Staphylococci and Micrococci. *Journal of Clinical Microbiology, 19*, 875-879.

Bennett, R. W., & Lancette, G. A. (2001). *Staphylococcus aureus*. In: Bacteriological Analytical Manual Online. U. S. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-12.html

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology, 94*, 223-253.

เอกสารนี้ ... ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Carlos, E. V. de Oliveira, Tania, L. M. S., Nelson, J. G. N., & Evandro, L. de Souza (2010). Inhibition of Staphylococcus aureus in broth and meat broth using synergies of phenolics and organic acids. *International Journal of Food Microbiology*, *137*, 312-316.

Chaijan, M., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Faustman, C. (2004). Characteristics and gel properties of muscles from sadine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) caught in Thailand. *Food Research International, 37,* 1021-1030.

Davidson, P. M., & Parish, M. E. (1989). Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technology, 43,* 148-155.

de Souza, E. L., de Barros, J. C., da Conceição, M. L., Neto, N. J. G., & da Casta, A. C. V. (2009). Combined application of *Origanum vulgarei* L. essential oil and acetic acid for controlling the growth of *Staphylococcus aureus* in foods. *Brazilian Journal of Microbiology, 40,* 387-393.

EI-Baroty, G. S., Abd, E., H. H., Farang, R. S., & Saleh, M. A. (2010). Characterization of antioxidant and antimicrobial compounds of cinnamon and ginger essential oils. *Journal of Biochemistry Research, 4*, 167-174.

Facklam, R. R., and P. B. Smith. (1976). The gram positive cocci. Hum. Pathol. 7:187-194.

FDA. 1992. *Staphylococcus aureus*. http://vm.cfsan. Fda.gov/~mow/chap3.html (19 september 2010)

Goñi, P., López, P., Sánchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril, R., & Nerín, C. (2009). Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry, 116*, 982-989

Gupta, C., Garg, A. P., Uniyal, R. C., & Kumari, A. (2008). Comparative analysis of the antimicrobial activity of cinnamon oil and cinnamon extract on some food-borne microbes. *African Journal of Microbiology Research, 2*, 247-251.

Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., & Bourke, P. (2008). The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology, 124,* 91-97

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Holzapfel, W. H. (1998). The gram-positive bacteria associated with meat and meat products. In A. Davies, & R. Board, *The microbiology of meat and poultry* (pp. 35-74). London: Blackie Academic & Professional.

Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). *Modern food microbiology.* (7th ed.). Springer Science+Business Media, Inc., New York.

Kirk, R. S., & Sawyer R. (1991). *Pearson's composition and analysis of foods.* (9th ed.). Singapore: Longman Singapore Publishers, (Chapter)

Koneman, E. W., Janda, W. M., Allen, S. D., Schreckenberger, P. C., & Winn, W. C. (1994). *Introduction to diagnostic microbiology*. Philadelphia: J. B. Lippincott Company, (Chapter 8).

Lund, B. M., & Exlund, T. (2000). Control of pH and use of organic Acids. In B. M. Lund, & T. C. Baird-Parker, & G. W. Gould (Eds.), *The microbiological safety and quality of food* volume I (pp. 175-186). USA: Aspen Publishers, Inc.

Monson,L. S. (2011). Staphylococci. In C. R. Mahon., D. C. Lehman., & G. Manuselis.(Eds.), *Diagnostic microbiology* (pp.316-329). Maryland Heights, Missouri: W. B. Saunders Company

Nanasombat S., & Wimuttigosol P. (2011). Antimicrobial and antioxidant activity of spice essential oils. *Food Science and Biotechnology*, *20*, 45-53.

Nanasombat S., & Chooprang K. (2009). Control of pathogenic bacteria in raw pork using organic acid salts in combination with freezing and thawing. *Kasetsart Journal (Natural Sciences), 43*, 576-583.

Piette, A., & Verschraegen, G. (2009). Role of coaglulase negative staphylococci in human disease. *Veterinary Microbiology*, *134*, 45-54.

Puangpronpotag, D., & Sittiwet, C. (2009). Antimicrobial properties of *Cinnamomum verum* aqueous extract. *Journal of Biological Sciences, 2*, 49-53.

Rosato, A., Vitali, C., De Laurentis, N., Armenise, D. & Milillo, M.A. (2007). Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with Norfloxacin. *Phytomedici ne*, *14*, 727-732.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Santiesteban-López, A., Palou, E., & López-Malo, A. (2006). Susceptibility of food-borne bacteria to binary combination of antimicrobials at selected a_W and pH. *Journal of Applied Microbiology, 102*, 486-497.

Schleifer, K. H., & W. E. Kloos. (1975). A simple test system for the separation of staphylococci from micrococci. *Journal of Clinical Microbiology*. 1:337-338.

Soetarno, S., Yulinah, Sukrasno, E., & Sylvia (1997). Antimicrobial activities of the ethanol extracts of capsicum fruits with different levels of pungency. *Journal of* mass *spectrometry, 2*, 57-63.

Sofos, J. N., & Busta, F. F. (1993). Sorbic acid and sorbates. In P. M. Davidson, & A. L. Branen (Eds), *Antimicrobial in foods* (pp. 49-57). New York: Marcel Dekker, Inc.

Stanojevic, D., Comic, L., Stefanovic, O., & Solujic-Sukdolak, Sl. (2009). Antimicrobial effect of sodium bensoate, sodium nitrite and potassium sorbate and their synergistic action *in Vitro*. *Journal of Agricultural Science, 15*, 307-311.

Stonsaovapak S., & Tammarate P., & Vachanavinich K. (1996). Occurrence of pathogenic bacteria in raw materials used in producing ready-made chilli paste and study on thermal inactivation time. *Kasetsart Journal (National Science), 30*, 193-199

Ziino, M., Concetta, C., Vincenza, R., Gianluca, T., & Antonella, V. (2008). Volatile compounds and capsaicinoid content of fresh hot peppers (*Capsicum annuum* L.) of different Calabrian varieties. *Journal of Science Food Agricultural, 89*, 774-780.

[Online].Available : www.lampangfood.com (19 กันยายน 2553)

[Online].Available : www.angelo.edu/faculty/kboudrea/molecule_gallery/02_alkenes/ 00_alkenes .htm (19 กันยายน 2553)

[Online].Available : http://commons.wikimedia.org/wiki/Gallery_Terpenes?uselang=tr (19 กันยายน 2553)

[Online].Available : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Borneol_Structure.png (19 กันยายน 2553)

[Online].Available : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Linalol.png (19 กันยายน 2553)

[Online].Available : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Linalyl_acetate_terpenoid.png (19 กันยายน 2553)

[Online].Available : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bornyl_acetate.png (19 กันยายน 2553)

[Online].Available : http://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Cineol-1,4.png (19 กันยายน 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[Online].Available : http://www.food-info.net/uk/qa/qa-wi27.htm (19 กันยายน 2553)

[Online].Available : http://www.answers.com/topic/thymol (19 กันยายน 2553)

[Online].Available : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bisabolol_beta.svg (19 กันยายน 2553)

[Online].Available : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Farnesol_terpene.png (19 กันยายน 2553)

[Online].Available : http://chemistry.about.com/od/factsstructures/ig/Chemical-Structures---M/Myrcene.htm (19 กัน ยายน 2553)

[Online].Available : http://www.chemnet.com/dict/dict--3387-41-5--in.html (19 กันยายน 2553)

[Online].Available : http://www.tonkla.tht.in/168j.html (19 กันยายน 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายที่ใช้ในการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 สูตรอาหาร Plate Count Agar (PCA)

Tryptone	5	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Dextrose	1	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ผสมส่วนผสมทุกชนิดในน้ำกลั่น ให้ความร้อนจาวุ้นละลาย นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที พีเอชสุดท้ายเท่ากับ 7.0 ± 0.2

1.2 สูตรอาหาร Acidified Potato Dextrose Agar (acidified PDA)

Potato infusion	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
วุ้น	20	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 48 องศาเซลเซียส แล้วเติมสารละลายกรดทาร์ทาริก (tartaric acid) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 18.5 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ลงใน PDA ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

1.3 สูตรอาหาร Nutrient agar (NA)

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ผสมส่วนผสมทุกอย่างในน้ำกลั่น ให้ความร้อนจนวุ้นละลาย นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พีเอชสุดท้าย 6.8 ± 0.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 สูตรอาหาร Tryptic Yeast Extract Agar (TYEA)

Tryptone	10	กรัม
Yeast extract	1	กรัม
Carbohydrate*	10	กรัม
Bromcresol purple	1	ลิตร
วุ้น	2	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ให้ความร้อนพร้อมทั้งคนจนวุ้นละลาย ปรับพีเอชให้ได้ 7.0 ± 0.2 นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที (* Glucose และ Mannitol เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ใช้สำหรับการจำแนกชนิด *Staphylococcus aureus*)

1.5 สูตรอาหาร Braid-Parker egg yolk agar (BPA)

Braid Parker agar	63.0	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วเติมสารละลายผสมระหว่างสารละลายไข่แดงและสารละลายเทลลูไรต์ (tellulite) โดยวิธีเตรียมสารละลายไข่แดงเป็นดังนี้ ปิเปตไข่แดง ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 35 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายเทลลูไรต์ความเข้มข้น 1 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงไป ผสมให้เข้ากัน จากนั้นปิเปตสารละลายผสม 30 มิลลิลิตร เติมลงใน Braid Parker agar ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

2. สารละลายที่ใช้ในการทดลอง

2.1 การเตรียมสาระลายกรดทาร์ทาริกความเข้มข้นร้อยละ 10

ละลายกรดทาร์ทาริก 10 กรัม ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.2 การเตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85

ละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 กรัม ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมเทลลูไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 1

ละลายโพแทสเซียมเทลลูไรต์ 1 กรัม ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.4 การเตรียมสารละลายไดเมธิลซัลฟอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 10

ปิเปตสารละลายไดเมธิลซัลฟอกไซด์ 10 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.1 คุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำพริกที่จำหน่ายในตลาดกรุงเทพและปริมณฑล

ตัวอย่างน้ำพริก	แหล่งที่มา	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/g)	จำนวน *Staphylococcus* sp. (CFU/g)	จำนวนยีสต์และรา (CFU/g)	pH	A_w (25 °C)	ปริมาณเกลือ (%)
น้ำพริกปลาย่าง 1	โรงอาหารวิศวะ	2.0×10^7	3.5×10^4	3.1×10^5	4.83	0.988	2.87
น้ำพริกปลาย่าง 2	ตลาดมารวย	1.8×10^7	3.4×10^5	2.8×10^6	5.32	0.878	2.90
น้ำพริกปลาย่าง 3	ตลาดมีนบุรี	2.0×10^5	5.1×10^5	5.9×10^4	4.85	0.874	2.89
น้ำพริกปลาย่าง 4	ตลาดหัวตะเข้	3.1×10^5	1.4×10^5	5.9×10^4	5.79	0.979	2.89
น้ำพริกปลาย่าง 5	ตลาดสำโรง	2.1×10^4	2.9×10^5	6.5×10^4	4.98	0.896	2.87
น้ำพริกปลาร้า 1	ตลาดประเวศ	3.9×10^7	1.6×10^5	7.3×10^4	4.98	0.961	1.66
น้ำพริกปลาร้า 2	ตลาดนัดคลอง 7	1.8×10^7	1.0×10^7	2.0×10^6	5.75	0.942	1.62
น้ำพริกปลาร้า 3	ตลาดบึงบัว	3.7×10^5	7.2×10^3	9.4×10^4	5.59	0.967	1.63
น้ำพริกปลาร้า 4	ตลาดยิ่งเจริญ	3.1×10^5	1.0×10^4	2.6×10^4	5.76	0.982	1.70
น้ำพริกปลาร้า 5	ตลาดแฮปปี้แลนด์	1.8×10^6	7.1×10^4	7.3×10^4	5.58	0.974	1.77
น้ำพริกแมงดา 1	ตลาดนัดคลอง 7	4.1×10^7	4.7×10^4	2.8×10^4	5.09	0.876	2.90
น้ำพริกแมงดา 2	ตลาดนัดหัวตะเข้	4.2×10^5	7.9×10^4	9.0×10^4	4.21	0.956	2.88
น้ำพริกแมงดา 3	ตลาดประเวศ	2.6×10^5	2.9×10^4	5.9×10^4	4.92	0.932	2.89
น้ำพริกแมงดา 4	ตลาดหัวตะเข้	1.3×10^4	2.0×10^5	2.6×10^5	4.96	0.930	2.87
น้ำพริกแมงดา 5	ตลาดพรานนก	1.2×10^7	8.6×10^4	3.3×10^5	4.25	0.789	2.84

ตารางที่ ข.1 คุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำพริกที่จำหน่ายในตลาดกรุงเทพและปริมณฑล (ต่อ)

ตัวอย่างน้ำพริก	แหล่งที่มา	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/g)	จำนวน *Staphylococcus* sp. (CFU/g)	จำนวนยีสต์และรา (CFU/g)	pH	A_w (25°C)	ปริมาณเกลือ (%)
น้ำพริกตาแดง 1	ตลาดมีนบุรี	6.0×10^8	2.6×10^4	2.0×10^5	4.06	0.891	2.88
น้ำพริกตาแดง 2	ตลาดประเวศ	1.4×10^5	5.1×10^3	2.8×10^5	4.35	0.877	2.89
น้ำพริกตาแดง 3	ตลาดหัวตะเข้	2.6×10^5	2.8×10^4	1.3×10^4	4.95	0.898	2.90
น้ำพริกตาแดง 4	ตลาดพงษ์ทรัพย์	2.4×10^4	5.8×10^3	4.5×10^5	4.87	0.896	2.88
น้ำพริกตาแดง 5	ตลาดยิ่งเจริญ	2.8×10^5	6.0×10^3	4.1×10^4	4.98	0.895	2.89
น้ำพริกปลาทู 1	ตลาดนัดคลอง 7	1.7×10^6	1.2×10^5	2.9×10^5	4.85	0.995	2.77
น้ำพริกปลาทู 2	ตลาดมีนบุรี	1.2×10^6	1.6×10^6	1.7×10^4	5.75	0.980	2.81
น้ำพริกปลาทู 3	ตลาดหัวตะเข้	1.9×10^6	4.9×10^4	7.2×10^5	5.11	0.978	2.74
น้ำพริกปลาทู 4	ตลาดสำโรง	1.5×10^5	3.3×10^4	4.8×10^5	5.11	0.977	2.71
น้ำพริกปลาทู 5	ตลาดพรานนก	1.3×10^5	1.0×10^5	1.6×10^4	5.13	0.999	2.89
น้ำพริกมะขาม 1	ตลาดมารวย	1.7×10^6	5.9×10^4	6.8×10^4	3.79	0.741	2.91
น้ำพริกมะขาม 2	ตลาดมีนบุรี	1.2×10^4	6.4×10^4	1.3×10^4	4.40	0.795	2.88
น้ำพริกมะขาม 3	ตลาดนัดคลอง 7	2.4×10^6	5.5×10^4	4.4×10^5	3.94	0.772	2.88
น้ำพริกมะขาม 4	ตลาดหัวตะเข้	5.0×10^6	3.9×10^4	1.2×10^4	4.02	0.838	2.87
น้ำพริกมะขาม 5	ตลาดพรานนก	2.9×10^4	2.6×10^4	1.7×10^7	3.96	0.779	2.88

ตารางที่ ข.1 คุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำพริกที่จำหน่ายในตลาดกรุงเทพและปริมณฑล (ต่อ)

ตัวอย่างน้ำพริก	แหล่งที่มา	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/g)	จำนวน *Staphylococcus* sp. (CFU/g)	จำนวนยีสต์และรา (CFU/g)	pH	A_w (25°C)	ปริมาณเกลือ (%)
น้ำพริกกุ้งเสียบ 1	ตลาดมีนบุรี	6.0×10^5	2.5×10^4	1.3×10^5	5.13	0.546	2.85
น้ำพริกกุ้งเสียบ 2	ตลาดมารวย	3.1×10^5	1.7×10^4	3.6×10^5	4.36	0.498	2.82
น้ำพริกกุ้งเสียบ 3	ตลาดนัดคลอง 7	1.7×10^6	2.2×10^4	5.6×10^4	5.37	0.531	2.87
น้ำพริกกุ้งเสียบ 4	ตลาดพงษ์ทรัพย์	1.7×10^6	3.2×10^4	8.7×10^4	4.72	0.554	2.88
น้ำพริกกุ้งเสียบ 5	ตลาดแฮปปี้แลนด์	1.2×10^4	3.0×10^3	2.9×10^5	4.89	0.542	2.87
น้ำพริกไข่เค็ม 1	ตลาดมีนบุรี	5.5×10^8	7.2×10^4	3.1×10^7	3.75	0.756	2.89
น้ำพริกไข่เค็ม 2	ตลาดมารวย	1.9×10^6	1.1×10^5	1.5×10^5	3.83	0.778	2.88
น้ำพริกไข่เค็ม 3	ตลาดนัดคลอง 7	1.5×10^7	1.0×10^5	2.0×10^4	3.97	0.755	2.88
น้ำพริกไข่เค็ม 4	ตลาดบึงบัว	7.0×10^6	4.0×10^5	1.5×10^4	4.10	0.737	2.89
น้ำพริกไข่เค็ม 5	ตลาดยิ่งเจริญ	1.3×10^5	4.1×10^5	1.1×10^5	4.08	0.749	2.89
น้ำพริกกะปิ 1	โรงอาหารวิศวะ	3.1×10^5	1.1×10^6	1.2×10^6	4.17	0.959	2.89
น้ำพริกกะปิ 2	คลาดนัดหัวตะเข้	1.6×10^6	4.2×10^4	9.1×10^5	4.51	0.898	2.88
น้ำพริกกะปิ 3	ตลาดมารวย	2.2×10^5	2.0×10^5	1.5×10^5	4.50	0.894	2.89
น้ำพริกกะปิ 4	ตลาดแฮปปี้แลนด์	6.8×10^5	5.0×10^4	6.1×10^5	4.65	0.931	2.88
น้ำพริกกะปิ 5	โรงอาหารวิทยา	1.2×10^4	3.0×10^4	2.0×10^4	4.66	0.930	2.90

ตารางที่ ข.1 คุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำพริกที่จำหน่ายในตลาดกรุงเทพและปริมณฑล (ต่อ)

ตัวอย่างน้ำพริก	แหล่งที่มา	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/g)	จำนวน *Staphylococcus* sp. (CFU/g)	จำนวนยีสต์และรา (CFU/g)	pH	A_w (25°C)	ปริมาณเกลือ (%)
น้ำพริกนรก 1	ตลาดมารวย	6.2×10^6	9.4×10^4	8.9×10^5	5.19	0.567	2.87
น้ำพริกนรก 1	ตลาดมีนบุรี	1.4×10^6	3.1×10^5	9.5×10^5	5.19	0.441	2.88
น้ำพริกนรก 1	ตลาดนัดคลอง 7	1.7×10^7	4.4×10^5	6.1×10^5	5.95	0.459	2.88
น้ำพริกนรก 1	ตลาดพงษ์ทรัพย์	2.1×10^6	2.7×10^4	3.4×10^6	5.29	0.505	2.89
น้ำพริกนรก 1	ตลาดพรานนก	3.3×10^5	2.9×10^4	1.5×10^6	5.42	0.699	2.88

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ข.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase test) และ โคแอคกลูเลส (Coagulase test) ของ *Staphylococcus* ที่คัดแยกจากน้ำพริก

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	รหัสไอโซเลต	ผลการทดลอง	
			Catalase	Coagulase
น้ำพริกปลาย่าง 1	GF_1	A_1	+	ไม่เกิดลิ่ม
	GF_1	A_2	-	NT
	GF_1	A_3	+	ไม่เกิดลิ่ม
	GF_1	A_4	+	ไม่เกิดลิ่ม
	GF_1	A_5	+	ไม่เกิดลิ่ม
น้ำพริกปลาย่าง 2	GF_2	A_6	+	ไม่เกิดลิ่ม
	GF_2	A_7	+	ไม่เกิดลิ่ม
	GF_2	A_8	+	ไม่เกิดลิ่ม
	GF_2	A_9	+	ไม่เกิดลิ่ม
	GF_2	A_{10}	+	ไม่เกิดลิ่ม
น้ำพริกปลาย่าง 3	GF_3	A_{11}	-	NT
	GF_3	A_{12}	-	NT
	GF_3	A_{13}	-	NT
	GF_3	A_{14}	-	NT
	GF_3	A_{15}	-	NT
น้ำพริกปลาย่าง 4	GF_4	A_{16}	-	NT
	GF_4	A_{17}	-	NT
	GF_4	A_{18}	-	NT
	GF_4	A_{19}	-	NT
	GF_4	A_{20}	-	NT
น้ำพริกปลาย่าง 5	GF_5	A_{21}	-	NT
	GF_5	A_{22}	-	NT
	GF_5	A_{23}	-	NT
	GF_5	A_{24}	-	NT
	GF_5	A_{25}	-	NT

หมายเหตุ + คือ เกิดฟองขึ้น (positive), - คือ ไม่เกิดฟอง (negative), NT คือ ไม่มีการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase test) และ โคแอคกลูเลส (Coagulase test) ของ *Staphylococcus* ที่คัดแยกจากน้ำพริก (ต่อ)

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	รหัสไอโซเลต	ผลการทดลอง	
			Catalase	Coagulase
น้ำพริกปลาร้า 1	RF_1	B_1	+	ไม่เกิดลิ่ม
	RF_1	B_2	+	ไม่เกิดลิ่ม
	RF_1	B_3	+	ไม่เกิดลิ่ม
	RF_1	B_4	+	ไม่เกิดลิ่ม
	RF_1	B_5	+	ไม่เกิดลิ่ม
น้ำพริกปลาร้า 2	RF_2	B_6	-	NT
	RF_2	B_7	+	ไม่เกิดลิ่ม
	RF_2	B_8	+	ไม่เกิดลิ่ม
	RF_2	B_9	-	NT
	RF_2	B_{10}	-	NT
น้ำพริกปลาร้า 3	RF_3	B_{11}	-	NT
	RF_3	B_{12}	-	NT
	RF_3	B_{13}	-	NT
	RF_3	B_{14}	-	NT
	RF_3	B_{15}	-	NT
น้ำพริกปลาร้า 4	RF_4	B_{16}	-	NT
	RF_4	B_{17}	-	NT
	RF_4	B_{18}	-	NT
	RF_4	B_{19}	-	NT
	RF_4	B_{20}	-	NT
น้ำพริกปลาร้า 5	RF_5	B_{21}	-	NT
	RF_5	B_{22}	-	NT
	RF_5	B_{23}	-	NT
	RF_5	B_{24}	-	NT
	RF_5	B_{25}	-	NT

หมายเหตุ + คือ เกิดฟองขึ้น (positive), - คือ ไม่เกิดฟอง (negative), NT คือ ไม่มีการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase test) และ โคแอคกลูเลส (Coagulase test) ของ *Staphylococcus* ที่คัดแยกจากน้ำพริก (ต่อ)

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	รหัสไอโซเลต	ผลการทดลอง	
			Catalase	Coagulase
น้ำพริกแมงดา 1	MD_1	C_1	+	ไม่เกิดลิ่ม
	MD_1	C_2	-	NT
	MD_1	C_3	-	NT
	MD_1	C_4	+	ไม่เกิดลิ่ม
	MD_1	C_5	-	NT
น้ำพริกแมงดา 2	MD_2	C_6	-	NT
	MD_2	C_7	-	NT
	MD_2	C_8	-	NT
	MD_2	C_9	-	NT
	MD_2	C_{10}	-	NT
น้ำพริกแมงดา 3	MD_3	C_{11}	-	NT
	MD_3	C_{12}	-	NT
	MD_3	C_{13}	-	NT
	MD_3	C_{14}	-	NT
	MD_3	C_{15}	-	NT
น้ำพริกแมงดา 4	MD_4	C_{16}	-	NT
	MD_4	C_{17}	-	NT
	MD_4	C_{18}	-	NT
	MD_4	C_{19}	-	NT
	MD_4	C_{20}	-	NT
น้ำพริกแมงดา 5	MD_5	C_{21}	-	NT
	MD_5	C_{22}	-	NT
	MD_5	C_{23}	-	NT
	MD_5	C_{24}	-	NT
	MD_5	C_{25}	-	NT

หมายเหตุ + คือ เกิดฟองขึ้น (positive), - คือ ไม่เกิดฟอง (negative), NT คือ ไม่มีการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase test) และ โคแอคกลูเลส (Coagulase test) ของ *Staphylococcus* ที่คัดแยกจากน้ำพริก (ต่อ)

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	ไอโซเลต	ผลการทดลอง	
			Catalase	Coagulase
น้ำพริกตาแดง 1	RE_1	D_1	-	NT
	RE_1	D_2	-	NT
	RE_1	D_3	-	NT
	RE_1	D_4	-	NT
	RE_1	D_5	-	NT
น้ำพริกตาแดง 2	RE_2	D_6	-	NT
	RE_2	D_7	-	NT
	RE_2	D_8	-	NT
	RE_2	D_9	-	NT
	RE_2	D_{10}	-	NT
น้ำพริกตาแดง 3	RE_3	D_{11}	-	NT
	RE_3	D_{12}	-	NT
	RE_3	D_{13}	-	NT
	RE_3	D_{14}	-	NT
	RE_3	D_{15}	-	NT
น้ำพริกตาแดง 4	RE_4	D_{16}	-	NT
	RE_4	D_{17}	-	NT
	RE_4	D_{18}	-	NT
	RE_4	D_{19}	-	NT
	RE_4	D_{20}	-	NT
น้ำพริกตาแดง 5	RE_5	D_{21}	-	NT
	RE_5	D_{22}	-	NT
	RE_5	D_{23}	-	NT
	RE_5	D_{24}	-	NT
	RE_5	D_{25}	-	NT

หมายเหตุ + คือ เกิดฟองขึ้น (positive), - คือ ไม่เกิดฟอง (negative), NT คือ ไม่มีการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase test) และ โคแอคกลูเลส (Coagulase test) ของ *Staphylococcus* ที่คัดแยกจากน้ำพริก (ต่อ)

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	ไอโซเลต	ผลการทดลอง	
			Catalase	Coagulase
น้ำพริกมะขาม 1	MK_1	E_1	+	ไม่เกิดลิ่ม
	MK_1	E_2	-	NT
	MK_1	E_3	-	NT
	MK_1	E_4	-	NT
	MK_1	E_5	-	NT
น้ำพริกมะขาม 2	MK_2	E_6	-	NT
	MK_2	E_7	-	NT
	MK_2	E_8	-	NT
	MK_2	E_9	-	NT
	MK_2	E_{10}	-	NT
น้ำพริกมะขาม 3	MK_3	E_{11}	-	NT
	MK_3	E_{12}	-	NT
	MK_3	E_{13}	-	NT
	MK_3	E_{14}	-	NT
	MK_3	E_{15}	-	NT
น้ำพริกมะขาม 4	MK_4	E_{16}	-	NT
	MK_4	E_{17}	-	NT
	MK_4	E_{18}	-	NT
	MK_4	E_{19}	-	NT
	MK_4	E_{20}	-	NT
น้ำพริกมะขาม 5	MK_5	E_{21}	-	NT
	MK_5	E_{22}	-	NT
	MK_5	E_{23}	-	NT
	MK_5	E_{24}	-	NT
	MK_5	E_{25}	-	NT

หมายเหตุ + คือ เกิดฟองขึ้น (positive), - คือ ไม่เกิดฟอง (negative), NT คือ ไม่มีการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase test) และ โคแอคกลูเลส (Coagulase test) ของ *Staphylococcus* ที่คัดแยกจากน้ำพริก (ต่อ)

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	ไอโซเลต	ผลการทดลอง	
			Catalase	Coagulase
น้ำพริกกุ้งเสียบ 1	SS_1	F_1	-	NT
	SS_1	F_2	-	NT
	SS_1	F_3	-	NT
	SS_1	F_4	-	NT
	SS_1	F_5	-	NT
น้ำพริกกุ้งเสียบ 2	SS_2	F_6	-	NT
	SS_2	F_7	-	NT
	SS_2	F_8	-	NT
	SS_2	F_9	-	NT
	SS_2	F_{10}	-	NT
น้ำพริกกุ้งเสียบ 3	SS_3	F_{11}	-	NT
	SS_3	F_{12}	-	NT
	SS_3	F_{13}	-	NT
	SS_3	F_{14}	-	NT
	SS_3	F_{15}	-	NT
น้ำพริกกุ้งเสียบ 4	SS_4	F_{16}	-	NT
	SS_4	F_{17}	-	NT
	SS_4	F_{18}	-	NT
	SS_4	F_{19}	-	NT
	SS_4	F_{20}	-	NT
น้ำพริกกุ้งเสียบ 5	SS_5	F_{21}	-	NT
	SS_5	F_{22}	-	NT
	SS_5	F_{23}	-	NT
	SS_5	F_{24}	-	NT
	SS_5	F_{25}	-	NT

หมายเหตุ + คือ เกิดฟองขึ้น (positive), - คือ ไม่เกิดฟอง (negative), NT คือ ไม่มีการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase test) และ โคแอคกลูเลส (Coagulase test) ของ *Staphylococcus* ที่คัดแยกจากน้ำพริก (ต่อ)

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	ไอโซเลต	ผลการทดลอง	
			Catalase	Coagulase
น้ำพริกไข่เค็ม 1	SE_1	G_1	-	NT
	SE_1	G_2	-	NT
	SE_1	G_3	-	NT
	SE_1	G_4	-	NT
	SE_1	G_5	-	NT
น้ำพริกไข่เค็ม 2	SE_2	G_6	-	NT
	SE_2	G_7	-	NT
	SE_2	G_8	-	NT
	SE_2	G_9	-	NT
	SE_2	G_{10}	-	NT
น้ำพริกไข่เค็ม 3	SE_3	G_{11}	-	NT
	SE_3	G_{12}	-	NT
	SE_3	G_{13}	-	NT
	SE_3	G_{14}	-	NT
	SE_3	G_{15}	-	NT
น้ำพริกไข่เค็ม 4	SE_4	G_{16}	-	NT
	SE_4	G_{17}	-	NT
	SE_4	G_{18}	-	NT
	SE_4	G_{19}	-	NT
	SE_4	G_{20}	-	NT
น้ำพริกไข่เค็ม 5	SE_5	G_{21}	-	NT
	SE_5	G_{22}	-	NT
	SE_5	G_{23}	-	NT
	SE_5	G_{24}	-	NT
	SE_5	G_{25}	-	NT

หมายเหตุ + คือ เกิดฟองขึ้น (positive), - คือ ไม่เกิดฟอง (negative), NT คือ ไม่มีการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase test) และ โคแอคกลูเลส (Coagulase test) ของ *Staphylococcus* ที่คัดแยกจากน้ำพริก (ต่อ)

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	ไอโซเลต	ผลการทดลอง	
			Catalase	Coagulase
น้ำพริกกะปิ 1	KP_1	H_1	-	NT
	KP_1	H_2	-	NT
	KP_1	H_3	-	NT
	KP_1	H_4	-	NT
	KP_1	H_5	-	NT
น้ำพริกกะปิ 2	KP_2	H_6	-	NT
	KP_2	H_7	-	NT
	KP_2	H_8	-	NT
	KP_2	H_9	-	NT
	KP_2	H_{10}	-	NT
น้ำพริกกะปิ 3	KP_3	H_{11}	-	NT
	KP_3	H_{12}	-	NT
	KP_3	H_{13}	-	NT
	KP_3	H_{14}	-	NT
	KP_3	H_{15}	-	NT
น้ำพริกกะปิ 4	KP_4	H_{16}	-	NT
	KP_4	H_{17}	-	NT
	KP_4	H_{18}	-	NT
	KP_4	H_{19}	-	NT
	KP_4	H_{20}	-	NT
น้ำพริกกะปิ 5	KP_5	H_{21}	-	NT
	KP_5	H_{22}	-	NT
	KP_5	H_{23}	-	NT
	KP_5	H_{24}	-	NT
	KP_5	H_{25}	-	NT

หมายเหตุ + คือ เกิดฟองขึ้น (positive), - คือ ไม่เกิดฟอง (negative), NT คือ ไม่มีการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase test) และ โคแอคกลูเลส (Coagulase test) ของ *Staphylococcus* ที่คัดแยกจากน้ำพริก (ต่อ)

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	ไอโซเลต	ผลการทดลอง	
			Catalase	Coagulase
น้ำพริกปลาทู 1	MC_1	I_1	+	ไม่เกิดลิ่ม
	MC_1	I_2	-	NT
	MC_1	I_3	-	NT
	MC_1	I_4	+	ไม่เกิดลิ่ม
	MC_1	I_5	-	NT
น้ำพริกปลาทู 2	MC_2	I_6	-	NT
	MC_2	I_7	-	NT
	MC_2	I_8	-	NT
	MC_2	I_9	-	NT
	MC_2	I_{10}	+	ไม่เกิดลิ่ม
น้ำพริกปลาทู 3	MC_3	I_{11}	-	NT
	MC_3	I_{12}	-	NT
	MC_3	I_{13}	-	NT
	MC_3	I_{14}	-	NT
	MC_3	I_{15}	-	NT
น้ำพริกปลาทู 4	MC_4	I_{16}	-	NT
	MC_4	I_{17}	-	NT
	MC_4	I_{18}	-	NT
	MC_4	I_{19}	-	NT
	MC_4	I_{20}	-	NT
น้ำพริกปลาทู 5	MC_5	I_{21}	-	NT
	MC_5	I_{22}	-	NT
	MC_5	I_{23}	-	NT
	MC_5	I_{24}	-	NT
	MC_5	I_{25}	-	NT

หมายเหตุ + คือ เกิดฟองขึ้น (positive), - คือ ไม่เกิดฟอง (negative), NT คือ ไม่มีการทดสอบ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase test) และ โคแอคกลูเลส (Coagulase test) ของ *Staphylococcus* ที่คัดแยกจากน้ำพริก (ต่อ)

ชนิดของตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	รหัสไอโซเลต	ผลการทดลอง	
			Catalase	Coagulase
น้ำพริกนรก 1	HE_1	J_1	-	NT
	HE_1	J_2	-	NT
	HE_1	J_3	-	NT
	HE_1	J_4	-	NT
	HE_1	J_5	+	ไม่เกิดลิ่ม
น้ำพริกนรก 2	HE_2	J_6	-	NT
	HE_2	J_7	-	NT
	HE_2	J_8	-	NT
	HE_2	J_9	-	NT
	HE_2	J_{10}	-	NT
น้ำพริกนรก 3	HE_3	J_{11}	-	NT
	HE_3	J_{12}	-	NT
	HE_3	J_{13}	-	NT
	HE_3	J_{14}	-	NT
	HE_3	J_{15}	-	NT
น้ำพริกนรก 4	HE_4	J_{16}	-	NT
	HE_4	J_{17}	-	NT
	HE_4	J_{18}	-	NT
	HE_4	J_{49}	-	NT
	HE_4	J_{20}	-	NT
น้ำพริกนรก 5	HE_5	J_{21}	-	NT
	HE_5	J_{22}	-	NT
	HE_5	J_{23}	-	NT
	HE_5	J_{24}	-	NT
	HE_5	J_{25}	-	NT

หมายเหตุ + คือ เกิดฟองขึ้น (positive), - คือ ไม่เกิดฟอง (negative), NT คือ ไม่มีการทดสอบ

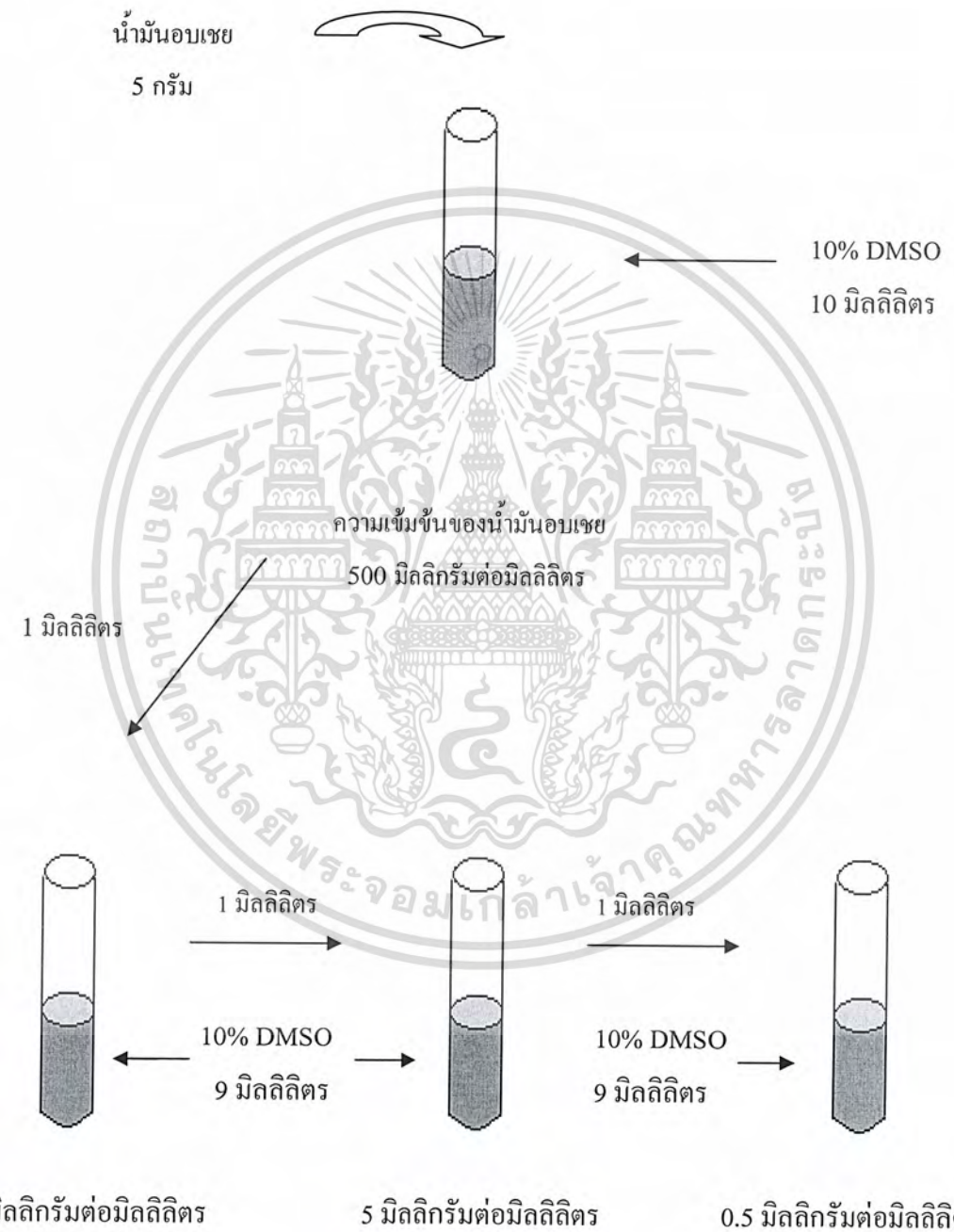
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การเตรียมน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. วิธีการเตรียมน้ำมันอบเชยสำหรับการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum inhibitory concentration, MIC) โดยวิธี Agar dilution

1.1 เตรียม stock solution ของน้ำมันอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่างๆดังต่อไปนี้



นำ stock solution ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆมาผสมกับน้ำกลั่นและอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบดังตารางที่ ค.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.1 การเตรียมน้ำมันอบเชยที่ความเข้มข้นต่างๆกันเพื่อใช้ในการทดสอบหาค่า minimum inhibitory concentration

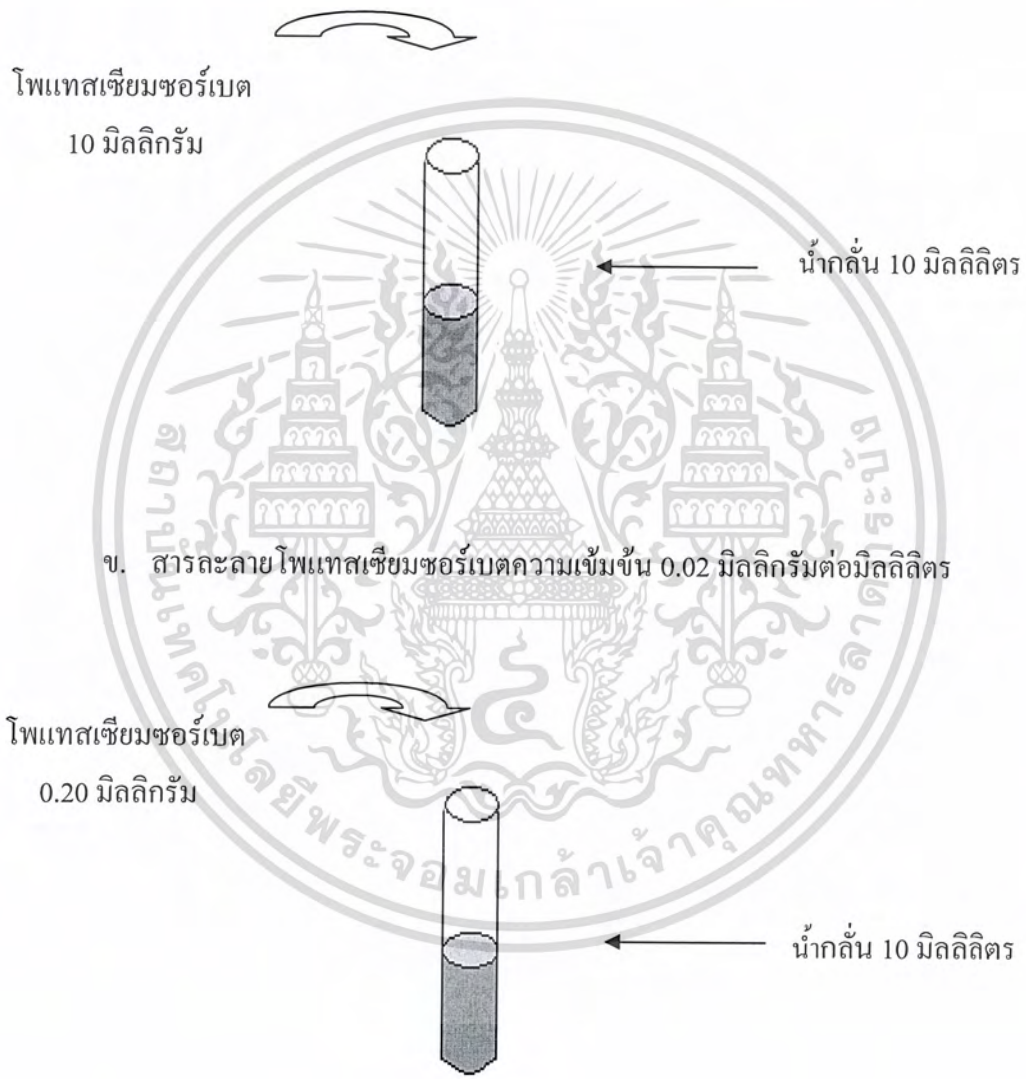
Stock ของน้ำมันอบเชย (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำมันอบเชย (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	อาหารเลี้ยงเชื้อ (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้าย (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้าย (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
500	0.32	0.68	19	8	8000
	0.24	0.76	19	6	6000
	0.16	0.3684	19	4	4000
50	0.8	0.2	19	2	2000
	0.4	0.6	19	1	1000
	0.2	0.8	19	0.5	500
5	1	0	19	0.25	250
	0.5	0.5	19	0.125	125
	0.252	0.748	19	0.063	63
	0.124	0.876	19	0.031	31
0.5	0.6	0.4	19	0.015	15
	0.512	0.688	19	0.0078	7.8
	0.2	0.8	19	0.005	5
	0.1	0.9	19	0.0025	2.5
	0.05	0.95	19	0.00125	1.25
	0.025	0.975	19	0.000625	0.625
	0.0125	0.9875	19	0.0003125	0.3125

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วิธีการเตรียมโพแทสเซียมซอร์เบตสำหรับการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum inhibitory concentration, MIC) โดยวิธี Agar dilution

2.1 เตรียม stock solution ของโพแทสเซียมซอร์เบตที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ก. สารละลายโพแทสเซียมซอร์เบตความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ข. สารละลายโพแทสเซียมซอร์เบตความเข้มข้น 0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

นำ stock solution ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆมาผสมกับน้ำกลั่นและอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบดังตารางที่ ค.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.2 การเตรียมโพแทสเซียมซอร์เบตที่ความเข้มข้นต่างๆกันเพื่อใช้ในการทดสอบหาค่า minimum inhibitory concentration

Stock ของโพแทสเซียมซอร์เบต (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	โพแทสเซียมซอร์เบต (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	ปริมาตรอาหาร (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้าย (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้าย (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
1	0.8	0.2	19	0.04	40
	0.6	0.4	19	0.03	30
	0.4	0.6	19	0.02	20
	0.2	0.8	19	0.01	10
	0.1	0.9	19	0.005	5
	0.05	0.95	19	0.0025	2.5
	0.01	0.99	19	0.0005	0.5
	0.005	0.995	19	0.00025	0.25
	0.0025	0.9975	19	0.000125	0.125
	0.00125	0.99875	19	0.0000625	0.0625
0.02	0.05	0.95	19	0.00005	0.05
	0.04	0.96	19	0.00004	0.04
	0.03	0.97	19	0.00003	0.03
	0.02	0.98	19	0.00002	0.02
	0.01	0.99	19	0.00001	0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การหาค่า fractional inhibitory concentration (FIC)

และการคำนวณค่า FIC index

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการทดสอบหาค่า FIC index ของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบต ด้วยวิธี agar dilution ซึ่งวิธีนี้จะทดสอบบนอาหารแข็งโดยมีปริมาตรรวมทั้งหมด 20 มิลลิลิตร มีส่วนของน้ำมันอบเชยปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรและโพแทสเซียมซอร์เบตปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร รวมปริมาตรทั้งหมดเท่ากับ 1 มิลลิลิตร นำมาผสมกับอาหารที่ใช้ทดสอบ 19 มิลลิลิตร โดยความเข้มข้นของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบต เมื่อผสมกับอาหาร 19 มิลลิลิตรแล้วจะมีค่าเท่ากับ 1/2, 1/4, 1/8 และ 1/16 ของค่า minimum inhibitory concentration (MIC) ของสารทั้ง 2 ชนิด

ตัวอย่างการหาค่า FIC ของสารผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบตในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ในอาหาร Fish model agar (FMA) ที่พีเอช 5.0

ตารางที่ ง.1 รูปแบบการผสมของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบต

รูปแบบ	น้ำมันอบเชย		โพแทสเซียมซอร์เบต	
	จำนวนเท่าของ MIC	ความเข้มข้นสุดท้าย (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	จำนวนเท่าของ MIC	ความเข้มข้นสุดท้าย (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
1	1/2	62.5	1/2	0.0312
2	1/2	62.5	1/4	0.0156
3	1/2	62.5	1/8	0.0078
4	1/2	62.5	1/16	0.0039
5	1/4	31.25	1/2	0.0312
6	1/4	31.25	1/4	0.0156
7	1/4	31.25	1/8	0.0078
8	1/4	31.25	1/16	0.0039
9	1/8	15.625	1/2	0.0312
10	1/8	15.625	1/4	0.0156
11	1/8	15.625	1/8	0.0078
12	1/8	15.625	1/16	0.0039
13	1/16	7.8125	1/2	0.0312
14	1/16	7.8125	1/4	0.0156
15	1/16	7.8125	1/8	0.0078
16	1/16	7.8125	1/16	0.0039

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองพบว่าค่า MIC ของน้ำมันอบเชยในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* เท่ากับ 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าการยับยั้งของโพแทสเซียมซอร์เบตเท่ากับ 0.0625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยคู่ของระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบของสารผสมทั้ง 2 แสดงดังตารางที่ ง.1

ก) การคำนวณหาความเข้มข้นของ stock solution ของน้ำมันอบเชยรูปแบบที่ 1

เมื่อความเข้มข้นของน้ำมันอบเชยเท่ากับ 1/2 เท่าของค่า MIC เท่ากับ 1/2 × 125 ได้ 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นของโพแทสเซียมซอร์เบตเท่ากับ 1/2 เท่าของค่า MIC เท่ากับ 1/2 × 0.0625 ได้ 0.0312 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร การคำนวณหาความเข้มข้นของ stock solution ที่ต้องการเตรียมโดย V_1 คือ ปริมาณของสารที่จะเติมลงไปในการทดสอบซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตร C_1 คือ ความเข้มข้นสุดท้ายที่ใช้ในการทดสอบซึ่งในที่นี้ น้ำมันอบเชย คือ 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และโพแทสเซียมซอร์เบต คือ 0.0312 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ V_2 คือ ปริมาตรรวมสุดท้ายในการทดสอบ ซึ่งเท่ากับ 20 มิลลิลิตร (อาหารที่ใช้ทดสอบ 19 มิลลิลิตร น้ำมันอบเชย 0.5 มิลลิลิตรและโพแทสเซียมซอร์เบต 0.5 มิลลิลิตร)

ดังนั้นจากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

ความเข้มข้นของ stock solution ของน้ำมันอบเชย คือ

$$C_1 = C_2V_2 / V_1$$

$$C_1 = 62.5 \times 20 / 0.5 = 2500 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร}$$

เตรียมได้โดยชั่งน้ำมันอบเชย 2.5 มิลลิกรัม ละลายในสารละลาย DMSO ร้อยละ 10 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะได้ stock solution ของน้ำมันอบเชยความเข้มข้น 2500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ stock solution ของโพแทสเซียมซอร์เบต คือ

$$C_1 = C_2V_2 / V_1$$

$$C_1 = 0.0312 \times 20 / 0.5 = 1.248 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร}$$

เตรียมได้โดยชั่งโพแทสเซียมซอร์เบต 0.12 มิลลิกรัม ละลายในสารละลาย DMSO ร้อยละ 10 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้ stock solution ของโพแทสเซียมซอร์เบตความเข้มข้น 1.248 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อเตรียม stock solution จากนั้นปิเปต stock solution ของน้ำมันอบเชยที่ความเข้มข้น 2500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ stock solution ของโพแทสเซียมซอร์เบตที่ความเข้มข้น 1.248

เอกสารนี้ใช้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ชนิดละ 0.5 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อ และเทอาหารที่ใช้ทดสอบ (FMA และ CMA) ปริมาตร 19 มิลลิลิตรลงไปผสมให้เข้ากันแล้วจะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของน้ำมันอบเชยในจานเพาะเชื้อ 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และได้ความเข้มข้นสุดท้ายของโพแทสเซียมซอร์เบตในจานเพาะเชื้อเท่ากับ 0.0312 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รอจนอาหารแข็งตัว เมื่ออาหารแข็งตัวแล้วปิเปตสารละลายแขวนลอยเซลล์ของเชื้อที่จะทดสอบลงไป (*Staphylococcus aureus, S. epidermidis* และ *S. lugdunensis*) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อครบระยะเวลาในการบ่ม (24 ชั่วโมง) ให้นำจานเพาะเชื้อมาตรวจสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่เพาะลงไป ซึ่งจะนำค่าความเข้มข้นของสารผสมที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญได้หรือไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ในการวิเคราะห์หาค่า FIC และ FIC index (FICI)

สำหรับการเตรียม stock solution ในรูปแบบอื่นสามารถทำได้โดยการเจือจาง 2 เท่า (two-fold dilution) จาก stock solution ของสารผสมทั้ง 2 ชนิดที่เตรียมไว้แล้วข้างต้น จะได้ stock solution ที่เจือจางอีก 3 ระดับคือ น้ำมันอบเชย 2500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเมื่อเจือจางแล้วจะได้น้ำมันอบเชยที่มีความเข้มข้น 1250, 625 และ 312.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1/4, 1/8 และ 1/16 ของค่า MIC ตามลำดับ ส่วนโพแทสเซียมซอร์เบต 1.248 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเจือจางแล้วจะได้โพแทสเซียมซอร์เบตที่มีความเข้มข้น 0.642, 0.312 และ 0.156 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาผสมกันอีก 15 รูปแบบดังตารางที่ ง.1 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1/4, 1/8 และ 1/16 ของค่า MIC ตามลำดับ (ได้ความเข้มข้นของ stock solution ทุกรูปแบบการผสมตามตารางที่ ง.2) แล้วทำการทดสอบตามวิธีการเช่นเดียวกับรูปแบบที่ 1 ที่ได้อธิบายไว้ข้างต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.2 ความเข้มข้นของ stock solution และความเข้มข้นสุดท้ายของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบต

รูปแบบ	น้ำมันอบเชย			โพแทสเซียมซอร์เบต		
	Stock solution (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้าย (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	จำนวนเท่าของ MIC	Stock solution (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้าย (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	จำนวนเท่าของ MIC
1	2500	62.5	1/2	1.248	0.0312	1/2
2	2500	62.5	1/2	0.624	0.0156	1/4
3	2500	62.5	1/2	0.312	0.0078	1/8
4	2500	62.5	1/2	0.156	0.0039	1/16
5	1250	31.25	1/4	1.248	0.0312	1/2
6	1250	31.25	1/4	0.624	0.0156	1/4
7	1250	31.25	1/4	0.312	0.0078	1/8
8	1250	31.25	1/4	0.156	0.0039	1/16
9	625	15.625	1/8	1.248	0.0312	1/2
10	625	15.625	1/8	0.624	0.0156	1/4
11	625	15.625	1/8	0.312	0.0078	1/8
12	625	15.625	1/8	0.156	0.0039	1/16
13	312.5	7.8125	1/16	1.248	0.0312	1/2
14	312.5	7.8125	1/16	0.624	0.0156	1/4
15	312.5	7.8125	1/16	0.312	0.0078	1/8
16	312.5	7.8125	1/16	0.156	0.0039	1/16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข) การคำนวณค่า fractional inhibitory concentration (FIC) และ fractional inhibitory concentration index (FICI)

เมื่อถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปในจานอาหาร FMA และ CMA แต่ละจานที่ผสมสารผสมแต่ละรูปแบบการผสม แล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ตรวจผลโดยดูว่าเชื้อเจริญหรือไม่ ตัวอย่างยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* โดยน้ำมันอบเชยผสมกับโพแทสเซียมซอร์เบตพบว่า รูปแบบที่ 1 (ตารางที่ ง.3) สามารถยับยั้งการเจริญได้ และในการคำนวณจะนำค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารผสมที่สามารถยับยั้งการเจริญได้ มาใช้ในการคำนวณหาค่า FIC

ตารางที่ ง. 3 การยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* โดยน้ำมันอบเชยร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบต

รูปแบบ	น้ำมันอบเชย		โพแทสเซียมซอร์เบต		ผลการยับยั้ง
	จำนวนเท่าของ MIC	ความเข้มข้นสุดท้าย (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	จำนวนเท่าของ MIC	ความเข้มข้นสุดท้าย (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
1	1/2	62.5	1/2	0.0312	+
2	1/2	62.5	1/4	0.0156	-
3	1/2	62.5	1/8	0.0078	-
4	1/2	62.5	1/16	0.0039	-
5	1/4	31.25	1/2	0.0312	-
6	1/4	31.25	1/4	0.0156	-
7	1/4	31.25	1/8	0.0078	-
8	1/4	31.25	1/16	0.0039	-
9	1/8	15.625	1/2	0.0312	-
10	1/8	15.625	1/4	0.0156	-
11	1/8	15.625	1/8	0.0078	-
12	1/8	15.625	1/16	0.0039	-
13	1/16	7.8125	1/2	0.0312	-
14	1/16	7.8125	1/4	0.0156	-
15	1/16	7.8125	1/8	0.0078	-
16	1/16	7.8125	1/16	0.0039	-

+ คือ สามารถยับยั้งการเจริญได้

- คือ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการคำนวณหาค่า FIC (fractional inhibitory concentration) และค่า FICI (fractional inhibitory concentration index) ทำได้โดยใช้สูตรดังนี้

จากสูตร FIC index = $FIC_A + FIC_B$

เมื่อ FIC_A = ค่า MIC ของสารชนิด A (MIC_A combination) เมื่ออยู่ในรูปแบบของสารผสม / ค่า MIC ของสารชนิด A เพียงชนิดเดียว (MIC_A alone)

FIC_B = ค่า MIC ของสารชนิด B (MIC_B combination) เมื่ออยู่ในรูปแบบของสารผสม / ค่า MIC ของสารชนิด B เพียงชนิดเดียว (MIC_B alone)

จากผลการทดลองในตารางที่ ง.3 รูปแบบการผสมน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบตที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญได้คือ รูปแบบที่ 1 (น้ำมันอบเชย 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรผสมกับโพแทสเซียมซอร์เบต 0.0312 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ดังนั้น MIC_A combination (A = น้ำมันอบเชย) มีค่าเท่ากับ 62.5 และ MIC_B combination (B = โพแทสเซียมซอร์เบต) มีค่าเท่ากับ 0.0312 เมื่อค่า MIC ของน้ำมันอบเชย (เพียงอย่างเดียว) และโพแทสเซียมซอร์เบต (เพียงอย่างเดียว) ต่อเชื้อ *S. aureus* คือ 125 และ 0.0625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำค่าทั้งหมดมาแทนค่า ตามสูตรได้ดังนี้

ในกรณี ค่า FIC_A (อบเชย) มีค่าเท่ากับ 62.5 / 125 = 0.5

และ ค่า FIC_B (โพแทสเซียมซอร์เบต) มีค่าเท่ากับ 0.0312 / 0.0625 = 0.5

เพราะฉะนั้น ค่า FICI = 0.5 + 0.5 = 1

ซึ่งถ้าค่า $FICI \leq 0.5$ ถือว่ามีฤทธิ์เสริมกัน (synergistic effect)

$0.5 < FICI < 1$ ถือว่า additive หรือ ไม่มีความแตกต่าง (indifferent effect)

$FICI \geq 1$ ถือว่าเป็นปฏิปักษ์กัน (antagonistic effect)

จากผลการคำนวณค่า FICI ของน้ำมันอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และโพแทสเซียมซอร์เบตที่ระดับความเข้มข้น 0.0312 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อเชื้อ *S. aureus* ค่าที่ได้มีค่าเท่ากับ 1 จึงเป็นการบอกว่าการผสมน้ำมันอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และโพแทสเซียมซอร์เบตที่ระดับความเข้มข้น 0.0312 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ให้ผลเป็นปฏิปักษ์กัน โดยเมื่อเทียบกับการใช้น้ำมันอบเชยหรือโพแทสเซียมซอร์เบตเพียงชนิดเดียว

สำหรับการคำนวณหาความเข้มข้นของ stock solution ของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบต หรือสารผสมคู่อื่น เพื่อหาค่า FIC สำหรับแบคทีเรียชนิดอื่นสรุปได้ดังตารางที่ ง.4 และตารางที่ ง.5 นำมาผสมกัน ทดสอบและคำนวณหาค่า FIC เช่นเดียวกับตัวอย่างการหา FIC ของน้ำมันอบเชยและโพแทสเซียมซอร์เบตสำหรับการยับยั้งการเจริญของ *S.aureus*

ตารางที่ ง.4 Stock solution ของโพแทสเซียมซอร์เบตที่เตรียมได้จากค่า MIC และค่าความเข้มข้นสุดท้ายที่ใช้ในการทดสอบ

ค่า MIC (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	Stock solution ของโพแทสเซียมซอร์เบต (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้าย (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
0.0625	1.248	0.0312
	0.624	0.0156
	0.312	0.0078
	0.156	0.0039
0.5	10	0.25
	5	0.125
	2.5	0.0625
	1.25	0.0312
2.5	50	1.25
	25	0.625
	12.5	0.3125
	6.25	0.1562
5	100	2.5
	50	1.25
	25	0.625
	12.5	0.3125

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.5 Stock solution ของน้ำมันอบเชยที่เตรียมได้จากค่า MIC และค่าความเข้มข้นสุดท้ายที่ใช้ในการทดสอบ

ค่า MIC (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	Stock solution ของน้ำมันอบเชย (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้าย (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
7.8	156	3.9
	78	1.95
	39	0.975
	19.5	0.4875
125	2500	62.5
	1250	31.25
	625	15.625
	312.5	7.8125
500	10000	250
	5000	125
	2500	62.5
	1250	31.25
1000	20000	500
	10000	250
	5000	125
	2500	62.5
4000	80000	2000
	40000	1000
	20000	500
	10000	250
6000	120000	3000
	60000	1500
	30000	750
	15000	375

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้