ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยต่อการลดจำนวนเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลองและบนผิวเนื้อสุกร

EFFECTS OF GARLIC EXTRACT, GINGER ESSENTIAL OIL AND CINNAMON ESSENTIAL OIL ON REDUCTION OF *ESCHERICHIA COLI* AND *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN VITRO STUDY AND ON PORK SURFACE

อัญจนา ศรีสวรรค์

AUNJANA SRISAWAN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2547

ISBN 974-15-1113-2

ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยต่อการลดจำนวนเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลองและบนผิวเนื้อสุกร

EFFECTS OF GARLIC EXTRACT, GINGER ESSENTIAL OIL AND CINNAMON ESSENTIAL OIL ON REDUCTION OF *ESCHERICHIA COLI* AND *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN VITRO STUDY AND ON PORK SURFACE

อัญจนา ศรีสวรรค์
AUNJANA SRISAWAN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2547
ISBN 974-15-1113-2

EFFECTS OF GARLIC EXTRACT, GINGER ESSENTIAL OIL AND CINNAMON ESSENTIAL OIL ON REDUCTION OF *ESCHERICHIA COLI* AND *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN VITRO STUDY AND ON PORK SURFACE

AUNJANA SRISAWAN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2004

ISBN 974-15-1113-2

COPYRIGHT 2004
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยต่อการลดจำนวนเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลองและบนผิวเนื้อสุกร
นักศึกษา	น.ส.อัญจนา ศรีสวรรค์
รหัสประจำตัว	42066011
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหาร
พ.ศ.	2547
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของการใช้น้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยในการลดจำนวนจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลองอาหาร TSB ที่มีเชื้อเริ่มต้น 10^5 CFU/ml และเติมน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 3, 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันหอมระเหยขิงที่ระดับความเข้มข้น 0.3,0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ และน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 0.3, 0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ พบว่าน้ำสกัดกระเทียมทั้งสามความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ *E. coli* ได้แตกต่างจากหลอดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) คือลดเชื้อได้ 0.49-9.54 log CFU/ml แต่น้ำสกัดกระเทียม 3,5 และ 7 เปอร์เซ็นต์มีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ *E. coli* ได้ไม่แตกต่างกัน และน้ำสกัดกระเทียมที่ 7 เปอร์เซ็นต์มีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด คือลดเชื้อได้ 0.18-5.53 log CFU/ml น้ำมันหอมระเหยขิงทั้งสามความเข้มข้นมีประสิทธิภาพลดเชื้อ *E. coli* ได้ไม่แตกต่างกัน คือลดเชื้อได้ 0.21-3.90 log CFU/ml และน้ำมันหอมระเหยขิงทั้งสามความเข้มข้นมีประสิทธิภาพลดเชื้อ *S. aureus* ได้ไม่แตกต่างกัน คือลดเชื้อได้ 0.08-9.13 log CFU/ml น้ำมันหอมระเหยอบเชยทั้งสามความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ *E. coli* ได้ไม่แตกต่างกันคือลดเชื้อได้ 0.17-10.19 log CFU/ml และน้ำมันหอมระเหยอบเชยทั้งสามความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ *S. aureus* ได้ไม่แตกต่างกันคือลดเชื้อได้ 0.09-9.19 log CFU/ml และในการศึกษาประสิทธิภาพของสารดังกล่าวในการลดเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* บนเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อเริ่มต้น 10^5 CFU/ml โดยเลือกระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารดังกล่าวที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีในหลอดทดลอง และเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน พบว่าน้ำสกัดกระเทียม 3 เปอร์เซ็นต์และน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ

เชื้อ *E. coli* ได้ ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา 5 วัน ส่วนน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ 1.08-1.63 log CFU/g ตลอดระยะเวลาการเก็บ 3 วัน ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* พบว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชยความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์และน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าตัวอย่างควบคุมอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา 5 วัน แต่น้ำสกัดกระเทียมไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เมื่อนำตัวอย่างเนื้อสุกรที่ไม่มีการถ่ายเชื้อใดๆ มาจุ่มน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์และน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์และเก็บที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วันและนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าตัวอย่างเนื้อสดและตัวอย่างเนื้อนึ่งสุกที่ผ่านการจุ่มน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชย มีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสแตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

Thesis Title	Effects of garlic extract,ginger essential oil and cinnamon essential oil on reduction of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in vitro study and on pork surface.
Student	Miss.Aunjana Srisawan
Student ID	42066011
Degree	Master of Science
Programme	Food Science
Year	2004
Thesis Advisor	Assist.Prof.Dr.Prapaporn khopaibool

ABSTRACT

Study of efficacy of garlic extract,ginger essential oil and cinnamon essential oil on reduction of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in vitro study with TSB media which are innoculated with 10^5 CFU/ml of test microorganism,added with garlic extract 3,5 and 7% , ginger essential oil 0.3,0.5 and 0.7% and cinnamon essential oil 0.3,0.5 and 0.7%.Garlic extract 3,5 and 7% reduced counts of *E. coli* difference significantly from control ($P \leq 0.05$) about 0.49-9.54 log CFU/ml .Garlic extract 7% reduced *S. aureus* greater than 3 and 5% about 0.18-5.53 log CFU/ml. Ginger essential oil 0.3, 0.5 and 0.7% reduced counts of *E. coli* no difference from control about 0.21-3.90 log CFU/ml and there reduced counts of *S. aureus* no difference from control about 0.08-9.13 log CFU/ml. Cinnamon essential oil 0.3, 0.5 and 0.7% reduced counts of *E. coli* no difference from control about 0.17-10.19 log CFU/ml and reduced counts of *S. aureus* no difference from control about 0.09-9.19 log CFU/ml. Study of efficacy of these treatments on reducing of *E. coli* and *S. aureus* on pork surface which dip in solution of 10^5 CFU/ml of test microorganism. Use the least concentrate of treatments which inhibited grow of these microorganism, and stored at 4 ± 1 °C for 0, 1, 3 and 5 days. Garlic extract 3% and ginger essential oil 0.3% no inhibited *E. coli* for five days. Cinnamon essential oil 0.3% difference significantly from reference control about 1.08-1.63 log CFU/g for 0, 1 and 3 days. Cinnamon essential oil 0.3% and ginger essential oil 0.3% inhibited *S. aureus* greater than reference control significantly for five days.

Garlic extracts no inhibited *S. aureus*. Sensory evaluation of pork which no innoculated with *E. coli* and *S. aureus* added with garlic extract 7%,ginger essential oil 0.3% and cinnamon essential oil 0.3% stored at 4±1 °C for 0,1,3 and 5 days.The overall acceptability score of fresh pork and cooked pork which dipped in garlic extract 7%, ginger essential oil 0.3% and cinnamon essential oil 0.3% were rated difference significantly from control sample ($P \leq 0.05$) .

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงด้วยดีได้ เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์ที่ได้ให้เกียรติเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ รวมทั้งกรุณาให้ข้อคิดเห็นและเสนอแนวทางที่เป็นประโยชน์แก่ข้าพเจ้าตลอดมา ตลอดจนช่วยตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งและขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ ผศ.อดิศร เสวตวิวัฒน์ และ ดร.พอใจ ถามากร ที่ช่วยเหลือแก้ไขและให้คำแนะนำเพิ่มเติมในงานวิจัยบางส่วนจนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตรที่ให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณคุณทิพรดี คงสุวรรณ คุณเยาวภา สิริวัฒนานุกูล คุณไพลิน ตั้งไพโรจน์ คุณจิตติมา อารักษ์วิชานันท์ คุณนิจวรรณ ผลงาม คุณจุฑารัตน์ เลี่ยนกัตวา และเพื่อนๆ ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา พี่น้องที่ให้การสนับสนุนเป็นอย่างดีในทุกด้านและให้กำลังใจมาโดยตลอด

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ครูบาอาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใด ข้าพเจ้าขอน้อมรับไว้แต่เพียงผู้เดียว

อัญจนา ศรีสวรรค์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ III

กิตติกรรมประกาศ V

สารบัญ VI

สารบัญตาราง IX

สารบัญภาพ XI

บทที่ 1. บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา 2

1.3 ขอบเขตของการวิจัย 2

บทที่ 2. ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ 3

2.2 กระเทียมและกลไกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 5

2.3 ขิงและกลไกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 10

2.4 อบเชยและกลไกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 12

2.5 สารสกัดธรรมชาติที่มีผลในการยังยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 16

2.6 การสกัดน้ำมันหอมระเหย 19

บทที่ 3. อุปกรณ์และวิธีการ 22

3.1 วัตถุดิบ 22

3.2 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ 22

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 23

3.4 สถานที่ทำการทดลอง 23

3.5 วิธีการทดลอง 23

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4. ผลการทดลองและวิจารณ์ 29

4.1 ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่มีต่อเชื้อ *E. coli* ในหลอดทดลอง.....29

4.2 ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่มีต่อเชื้อ *S. aureus* ในหลอดทดลอง.....34

4.3 ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยในการลดเชื้อ *E. coli* บนผิวเนื้อสุกร 42

4.4 ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่มีต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด(Total plate count) บนผิวเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E. coli* 46

4.5 ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยในการลดเชื้อ *S. aureus* บนผิวเนื้อสุกร 49

4.6 ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่มีต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด(Total plate count) บนผิวเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *S. aureus* 53

4.7 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มในน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชย..... 56

บทที่ 5. สรุปผลการทดลอง 60

ข้อเสนอแนะ 63

บรรณานุกรม 64

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก 71
ก. การเตรียมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ สารละลายเคมีและน้ำมันหอมระเหย
เพื่อใช้ในการทดลอง 71
ข. การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ 74
ค. แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส 76

ประวัติผู้เขียน 79

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ปริมาณ *E. coli* ที่พบในอาหารจากประเทศต่างๆ 4

4.1 ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชย ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ต่อจำนวนเชื้อ *E. coli* ในหลอดทดลอง 30

4.2 ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชย ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ต่อจำนวนเชื้อ *S. aureus* ในหลอดทดลอง 36

4.3 แสดงจำนวนเชื้อ *E. coli* ในเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารต่างๆ ภายหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส 43

4.4 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ในเนื้อสุกร ที่ผ่านถ่ายเชื้อ *E. coli* และผ่านการจุ่มสารต่างๆ ภายหลังจากการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส 47

4.5 แสดงจำนวนเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารต่างๆ ภายหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส 50

4.6 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ในเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่าย เชื้อ *S. aureus* และผ่านการจุ่มสารต่างๆภายหลังจากการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส 54

4.7 คะแนนเฉลี่ยของการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านสีของเนื้อสุกรสดในแต่ละกลุ่มการทดลองต่อความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม 56

4.8 คะแนนเฉลี่ยของการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสการยอมรับกลิ่นโดยรวม (Overall odor) ของเนื้อสุกรสดในแต่ละกลุ่มทดลองต่อความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม.....57

4.9 คะแนนเฉลี่ยของการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของกลิ่นรสแปลกปลอม (off-flavor) ของเนื้อสุกรนึ่งสุกในแต่ละกลุ่มทดลองต่อความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม 57

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.10 คะแนนเฉลี่ยของการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของ
การยอมรับโดยรวม(overall acceptability) ของเนื้อสุกรนึ่งสุกใน
แต่ละกลุ่มทดลองต่อความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม 58

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 การเปลี่ยนรูปร่างของสารไธโอซัลฟิเนทหลักๆ ในกระเทียม 9

2.2 แสดงภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบพื้นผิว (Scanning electron microscope) เซลล์ *E. coli* 0157:H7 ที่ผ่านการให้ซินนามิคอัลดีไฮน์และไม่ผ่านการให้ซินนามิคอัลดีไฮน์ 1,000 μg/ml ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง 15

2.3 แสดงภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบพื้นผิว ของเซลล์ *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* ที่ผ่านการให้ซินนามิคอัลดีไฮน์ 0.3 ml/l ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที 15

2.4 ชุดเครื่องกลั่นน้ำมันหอมระเหยแก้วขนาดเล็ก 20

4.1 แสดงการเจริญของเชื้อ *E. coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้นระดับต่างๆ 31

4.2 แสดงการเจริญของเชื้อ *E. coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยขิงความเข้มข้นระดับต่างๆ 32

4.3 แสดงการเจริญของเชื้อ *E. coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยอบเชยความเข้มข้นระดับต่างๆ 33

4.4 แสดงการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้นระดับต่างๆ 35

4.5 แสดงการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยขิงความเข้มข้นระดับต่างๆ 37

4.6 แสดงการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยอบเชยความเข้มข้นระดับต่างๆ 39

4.7 แสดงจำนวนเชื้อ *E. coli* บนผิวเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E. coli* และผ่านการจุ่มในสารละลายชนิดต่างๆ 42

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.8 แสดงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดบนผิวเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E. coli* และผ่านการจุ่มในสารละลายกลุ่มต่างๆ 46

4.9 แสดงจำนวนเชื้อ *S. aureus* บนผิวเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *S. aureus* และผ่านการจุ่มสารละลายชนิดต่างๆ 49

4.10 แสดงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดบนผิวเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *S. aureus* และผ่านการจุ่มในสารละลายกลุ่มต่างๆ 53

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เนื้อสุกรเป็นแหล่งสำคัญของอาหารประเภทโปรตีน ความต้องการเนื้อสุกรภายในประเทศโดยเฉลี่ย 18.34 กิโลกรัมต่อคนต่อปี เนื้อสุกรที่ผ่านกระบวนการชำแหละอย่างถูกสุขลักษณะไม่ควรมีการปนเปื้อนของ Enteric bacteria ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้และเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสุขาภิบาลอาหาร เช่น Coliform, *Escherichia coli* เป็นต้น รวมทั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งมักพบในสิ่งแวดล้อมโรงงาน ในประเทศไทยมักประสบปัญหาเรื่องการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ วันทนาและคณะ (2544) ได้สำรวจการปนเปื้อนของ enteric bacteria และ *S. aureus* ในเนื้อสุกรชำแหละจากโรงงานฆ่าสัตว์ในจังหวัดราชบุรีจำนวน 110 ตัวอย่าง พบว่ามีการปนเปื้อนของ Coliforms , *E. coli* , *S. aureus* และ Salmonellae บนเนื้อสุกรร้อยละ 100, 37.3, 56.4 และ 51.8 ตามลำดับ ซึ่งในประเทศไทยได้กำหนดมาตรฐานการส่งออกเนื้อสัตว์ (กรมปศุสัตว์, 2535) ไว้ดังนี้ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่า 500,000 โคโลนีหรือเซลล์ต่อกรัม Faecal , Streptococci น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1,000 โคโลนีหรือเซลล์ต่อกรัม และในเนื้อสัตว์จะต้องตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* ดังนั้นการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จึงเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องกระทำ

ในปัจจุบันพบว่าการลดจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ส่วนใหญ่สามารถทำได้โดยใช้กรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก (lactic acid),กรดอะซิติก (acetic acid), กรดซิตริก (citric acid),กรดฟูมาริก (fumaric acid) , กรดซอร์บิก (sorbic acid) หรือใช้สารที่มีความเป็นด่างสูง ได้แก่ ไตรโซเดียมฟอสเฟต (trisodium phosphate) ซึ่งล้วนแล้วแต่เป็นสารเคมี ปัจจุบันมีการศึกษาสารจากธรรมชาติเช่น เครื่องเทศที่มีฤทธิ์ในการต่อต้านจุลินทรีย์ ที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งในศึกษานี้ได้ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อให้เกิดโรค ได้แก่ *E. coli* และ *S. aureus*

1.2 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาการใช้น้ำสกัดกระเทียม (garlic) น้ำมันหอมระเหยจากขิง (ginger) และอบเชย (cinnamon) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ในหลอดทดลอง (in *vitro*) เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับเลือกระดับความเข้มข้นของสารสกัดเหล่านี้ในการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ในเนื้อสุกร และศึกษาผลทางประสาทสัมผัสของเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารสกัดเหล่านี้

1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 ศึกษาผลของการใช้น้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิง และน้ำมันหอมระเหยอบเชยในการลดจำนวนเชื้อ *Escherichia coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (in vitro) และบนผิวเนื้อสุกรในระหว่างการเก็บรักษา

1.3.2 ศึกษาผลของการใช้น้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยในการลดจำนวนเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (in vitro) และบนผิวเนื้อสุกรในระหว่างการเก็บรักษา

1.3.3 ศึกษาผลของการใช้น้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชย ต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของเนื้อสุกร

บทที่ 2
ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์

ในกระบวนการตัดแต่งเนื้อสุกร เช่น การลวกในน้ำร้อน การลนไฟเพื่อถอนขน เป็นขั้นตอนที่ลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียบนซาก แต่ในขั้นตอนการถอนขน การขูดขนและการบรรจุมีการปนเปื้อนกลับและเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรีย เช่น Coliforms, *Escherichia coli* (Gill *et al*, 1997; Hilde *et al*,2001) ดังเช่น Gill และคณะ (2000b) ได้ทำการศึกษาสุขลักษณะของซากสุกรแช่เย็น จากโรงงานตัดแต่งเนื้อสัตว์ 8 แห่งโดยสุ่มตรวจในขั้นตอนหลังการขูดขน ขั้นตอนหลังจากล้างหลังสิ้นสุดกระบวนการตัดแต่งและขั้นตอนหลังจากการแช่เย็น พบว่าจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (total aerobic bacteria) จากซากที่ผ่านการขูดขนมีปริมาณเฉลี่ย 1.9-3.8 logCFU/cm^2 พบเชื้อ Coliforms และ *E. coli* จากซากที่แช่เย็น มีการปนเปื้อนของเชื้อระหว่างกระบวนการตัดแต่งในโรงงาน 4 แห่ง และจำนวนเชื้อลดลงภายหลังการแช่เย็น ปริมาณ Total Coliforms และ *E. coli* จากซากที่ผ่านความเย็นมีปริมาณน้อยกว่า 3.1 และน้อยกว่า 2.2 logCFU/cm^2 ตามลำดับ (Gill *et al*,2000b) นอกจากนี้แหล่งปนเปื้อนข้ามที่พบในระหว่างกระบวนการฆ่า ได้แก่เครื่องมือและอุปกรณ์ พนักงานและการสัมผัสจากซากหนึ่งไปสู่อีกซากหนึ่ง (Huffman, 2002) ซึ่งมีผลทำให้อายุการเก็บรักษาเนื้อสั้นลง

แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียและแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในเนื้อแดง ได้แก่ *Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Pseudomonas* spp., *Listeria monocytogenes, Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. (Eisel *et al*, 1997)

2.1.1 การปนเปื้อนของเชื้อ *Escherichia coli*

E. coli เป็นแบคทีเรียรูปร่างเป็นท่อนสั้น ติดสีแกรมลบ เซลล์มักเรียงตัวเดี่ยวๆ หรืออยู่เป็นคู่ มีลักษณะเด่นคือใช้น้ำตาลแลคโตส (lactose) แล้วให้กรดและแก๊ส 2 ชนิดคือ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน (บุษกร,2545) *E.coli* เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนจากอุจจาระ การพบเชื้อ *Enterobacteriaceae* บนซากสัตว์ปีกบ่งชี้ถึงกระบวนการผลิตที่มีสุขลักษณะที่ไม่ดีหรือมีการควบคุมที่ไม่เหมาะสมหรือมีสภาวะการเก็บที่ไม่เหมาะสม ส่วนจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total bacterial count) ใช้เป็นเครื่องมือในการประเมินความปลอดภัยในอาหาร ถ้ามีแบคทีเรียพวก mesophilic ซึ่งเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-37 องศาเซลเซียส จำนวนมากบ่งชี้ถึงสุขลักษณะที่ไม่ดีหรือมีการปนเปื้อนของวัตถุดิบสูง (Whyte *et al*, 2004) จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคที่พบปนเปื้อนในเนื้อวัวระหว่างกระบวนการตัดแต่งซากที่สำคัญ ได้แก่ *E. coli* และ *Salmonella*

(Cassin *et al*, 1998) Maite และคณะ (2002) ทำการศึกษาจำนวนแบคทีเรียบ่งชี้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไก่ในประเทศสเปน พบว่าปริมาณ *E. coli.* ในผลิตภัณฑ์แฮมเบอเกอร์ ไส้กรอกแดง และไส้กรอกขาวมีจำนวน 2.83, 4.00 และ 3.48 log CFU/g ตามลำดับ ส่วนปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์แฮมเบอเกอร์ ไส้กรอกแดงและไส้กรอกขาวมีจำนวน 3.19, 3.15 และ 3.23 log CFU/g ตามลำดับ Dontorou และคณะ (2003) ได้รวบรวมการพบเชื้อ *E. coli* ในอาหารของประเทศต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณ *E. coli* ที่พบในอาหารจากประเทศต่างๆ

country	Cows' milk (%)	Ewes' milk (%)	Goats' milk (%)	Beef meat (%)	Sausages (%)	Hamburgers (%)
Argentina				3.8	4.8;3.3	0.0
Austria	3					
Brazil						0.0
Colombia						8.7
Denmark				0.3		
Egypt	6			6		
France					0.4	
Germany	0.3					
Greece	0.0		1.0	0.0	1.3	0.0
Netherlands	0.0			1.1		
Switzerland				0.0		
UK	0.0	0.0	0.0	1.1	4.1	3.7
USA	0.0					

ที่มา : Dontorou และคณะ (2003)

2.1.2 การปนเปื้อนของเชื้อ *Staphylococcus aureus*

S. aureus เซลล์มีรูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 –1.0 ไมครอน ติดสีแกรมบวก เนื่องจากมีการแบ่งตัวมากกว่าหนึ่งระนาบทำให้พบอยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น เป็นคู่หรือเป็นสายสั้นๆ โคโลนีมีสีเหลืองทอง สีเหลือง ส้มและขาว *S. aureus* ที่สร้างสารพิษที่ขับออกนอกเซลล์ (enterotoxin) ทุกสายพันธุ์ให้ผลบวกกับการทดสอบโคแอกกูเลส (coagulase) เชื้อส่วนใหญ่เติบโตได้ดีในที่มีเกลือแกง 15 เปอร์เซ็นต์ บางสายพันธุ์สามารถทนเกลือได้สูง สามารถย่อยโปรตีนได้แต่ไม่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็น *S. aureus* จัดเป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคจากพิษของแบคทีเรีย (intoxication) กล่าวคือเมื่อเชื้อนี้ปนเปื้อนในอาหารจะสามารถสร้างสารพิษที่ขับ

ออกนอกเซลล์ขึ้นในระหว่างการเจริญ ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารอักเสบ (gastroenteritis) *S. aureus* สามารถผลิตสารพิษได้ 6 ชนิดได้แก่ A,B,C,C_2D และ E ซึ่งให้ความเป็นพิษต่างกัน โดยสารพิษ type A และ D ก่อให้เกิดโรคมากที่สุด เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษปนเปื้อนเข้าไปเป็นเวลาประมาณ 1-6 ชั่วโมง จะมีอาการอาหารเป็นพิษเกิดขึ้น เนื่องจากสารพิษไปออกฤทธิ์ที่เยื่อบุลำไส้ ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องและท้องเดิน อาหารที่พบเชื้อ *S. aureus* ได้บ่อย คือ อาหารที่ทำด้วยแป้ง แฮม สัตว์ปีก เป็นต้น (บุษกร,2545) Shama และคณะ (1994) ได้ศึกษาแบคทีเรียในตัวอย่างไส้กรอกหมูที่ไม่ผ่านการทำให้สุกจำนวน 18 ตัวอย่าง พบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด $1.8x10^8$ – $9.2x10^8$ CFU/g จำนวน *S. aureus* $1.8x10^6$ – $7.4x10^6$ CFU/g จำนวนเชื้อ *E.coli* $2.0x10^5$ – $4.3x10^5$ CFU/g Heidi และคณะ (1992) ตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างส่วนบั้นท้ายของเนื้อสุกรที่ใช้ในการผลิตแฮมรมควัน จำนวน 4,357 ตัวอย่าง คิดเป็น 22.7 เปอร์เซ็นต์ โดยมีจำนวนเชื้ออยู่ระหว่าง 10^1 – 10^3 CFU/cm^2

วันทนาและคณะ (2544) ศึกษาการปนเปื้อนของ Enteric bacteria และ *S. aureus* ในเนื้อสุกรและส่วนลำไส้เล็กจากโรงงานฆ่าสัตว์ในพื้นที่จังหวัดราชบุรี จากตัวอย่างเนื้อจำนวน 110 ตัวอย่างมีการปนเปื้อนของเชื้อ Coliforms, *E.coli*, *S. aureus* และ Salmonellae ร้อยละ 100, 37.3, 56.4 และ 51.8 ตามลำดับและสำหรับลำไส้เล็กจำนวน 110 ตัวอย่าง ตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อ Coliforms, *E.coli*, *S. aureus* และ Salmonellae ร้อยละ 100, 31.8, 30.0 และ 33.6 ตามลำดับ ซึ่งการปนเปื้อนเชื้อดังกล่าวอยู่ในระดับที่ไม่ปลอดภัย

2.2 กระเทียมและกลไกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

2.2.1 กระเทียม

กระเทียม(ภาคกลาง)หรือหอมเทียม (ภาคเหนือ) เทียมหรือหัวเทียม(ภาคใต้) (สุทธินนท์,2542) เป็นพืชในตระกูลอะมารีอิลลิคาซีอี (Amaryilliaceae) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Allium sativum* Linn. (Bailey, 1951) กระเทียมสามารถยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ต่างๆ ที่มีส่วนทำให้เกิดการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์อาหารรวมถึงจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ได้แก่ *E. coli, S. aureus, B. subtilis, Salmonella enteriditis, Listeria monocytogenes ,Proteus mirabilis* และ *Streptococcus* spp. เป็นต้น (Maidment *et al*, 1998)

Al-Delaimy และ Ali (1970) พบว่าน้ำสกัดกระเทียมเข้มข้นร้อยละ 4 มีผลยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ได้แก่ *Salmonella typhimurium* , *Shigella dysentriae* , *S aureus* และ *E. coli* อย่างสมบูรณ์ โดยทดลองในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณเชื้อ 2 ระดับคือ 10^4 และ 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่าเชื้อ *S. aureus* ไวต่อน้ำสกัดกระเทียมน้อยกว่าเชื้อ *E. coli*

Anonymous (1998) พบว่าการใช้กระเทียม กานพลูหรืออบเชยในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก มีผลทำให้ปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 ลดลง

Astal (2004) ทำการศึกษาน้ำสกัดกระเทียมต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค ผลของประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำสกัดกระเทียมที่มีต่อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคพบว่าในช่วงเวลา 4-12 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 μg/ml สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ 41-100 เปอร์เซ็นต์ *S. aureus* ได้ 24-100 เปอร์เซ็นต์ น้ำสกัดกระเทียม 100 μg/ml มีความคงตัวนาน 24 ชั่วโมง บางครั้งอาจนานถึง 48 ชั่วโมง ส่วนน้ำสกัดกระเทียม 500 และ 1,000 μg/ml มีความคงตัวโดยไม่เปลี่ยนแปลงประสิทธิภาพได้นาน 48-72 ชั่วโมง ผลของความเข้มข้นของน้ำสกัดกระเทียมต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดกระเทียมเพิ่มขึ้นประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อเพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้นของน้ำสกัดกระเทียม 50, 100, 250, 500, 750 และ 1,000 μg/ml มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ 51, 70, 83, 96, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และที่น้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 50, 100, 250, 500, 750 และ 1,000 μg/ml มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ 32, 68, 75, 92, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Dababneh และ Al-Delaimy (1984) รายงานว่าน้ำสกัดกระเทียม 1 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้

Delaquis และ Mazza (1995) อธิบายถึงคุณสมบัติการเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ของสารไอโซไธโอไซยาเนต (isothiocyanate) ที่สกัดจากหัวหอมและกระเทียม ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ขึ้นกับการทำลายพันธะไดซัลไฟด์ (disulphide bond)

El-Khateib และ El-Rahman (1987) ศึกษาการใช้น้ำสกัดกระเทียม 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ในไส้กรอกอียิปต์ พบว่าน้ำสกัดกระเทียม 3 เปอร์เซ็นต์มีผลในการลดเชื้อ *Salmonella typhimurium* ได้เพียงเล็กน้อย น้ำสกัดกระเทียม 4 เปอร์เซ็นต์เป็นสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (bacteriostatic) ส่วนน้ำสกัดกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์สามารถลดจำนวน *Salmonella typhimurium* ในไส้กรอกและเบอเกอร์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ลงได้ 1 log cycle ภายในเวลา 4 วัน

Elsom และคณะ (2000) พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำสกัดกระเทียมที่สามารถยับยั้งเชื้อ (Minimum inhibitory concentration ; MIC) *Salmonella typhimurium* , *S. aureus* (penicillin sensitive) , *S. aureus* (methicillin resistant) คือ 1.6 μg total thiosulphinate/ml (ความเข้มข้นของ total thiosulphinate 0.05 μg/ml มีค่าเท่ากับ 25.6 μg/ml ในน้ำสกัดกระเทียม) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* (penicillin

resistant) มีค่าเป็น 2 เท่าของความเข้มข้นในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่น (32 μg total thiosulphinate/ml) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าแบคทีเรีย (minimum bactericidal concentration ; MBC) สำหรับเชื้อ *E. coli, S. aureus* (methicillin resistant) , *S. aureus* (penicillin resistant) คือ 6.4 μg/ml ทั้งสามชนิด ส่วนเชื้อ*Salmonella typhimurium* มีค่า 1.6 μg/ml ในการศึกษานี้ใช้เชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* เป็นจุลินทรีย์ควบคุมเนื่องจากมีความต้านทานต่อสารสกัดกระเทียมและมีค่า MIC มากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น 8 เท่า (มากกว่า 25.6 μg/ml) และมีค่า MBC มากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆถึง 4 เท่า (มากกว่า 25.6 μg/ml)

Kyu และคณะ (1996) รายงานว่าน้ำสกัดกระเทียม 2 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* , *S. aureus*, *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida albicans* น้ำสกัดกระเทียม 10 เปอร์เซ็นต์ทำลาย *E. coli* และ *S. aureus* ได้หมดในเวลา 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ ในการทดลองในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Kumar และ Berwal (1998) ศึกษาถึงประสิทธิภาพของกระเทียมที่มีผลต่อเชื้อต่างๆ พบว่าค่า MIC ต่อเชื้อ *E. coli, Salmonella typhimurium, S. aureus* และ *Listeria monocytogenes* มีค่าเป็น 3.95, 7.0, 5.0 และ 8.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Maidment และคณะ (1998) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำสกัดกระเทียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย พบว่าความเข้มข้นของน้ำสกัดกระเทียม 30, 15, 10 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าขอบเขตการยับยั้งเชื้อ (inhibition zone diameter) เป็น 25, 19, 17 มิลลิเมตร และที่ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

Mantis และคณะ (1978) รายงานว่าน้ำสกัดกระเทียม 2 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้นมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์สามารถทำลายเชื้อ *S. aureus* ได้

Saleem และ Al-Delaimy (1982) ศึกษาการใช้น้ำสกัดกระเทียมที่เตรียมจากอัตราส่วนกระเทียมต่อน้ำเป็น 1:2 (wt/vol) พบว่าน้ำสกัดกระเทียม 3, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus cereus* ได้ 31.3, 58.2 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

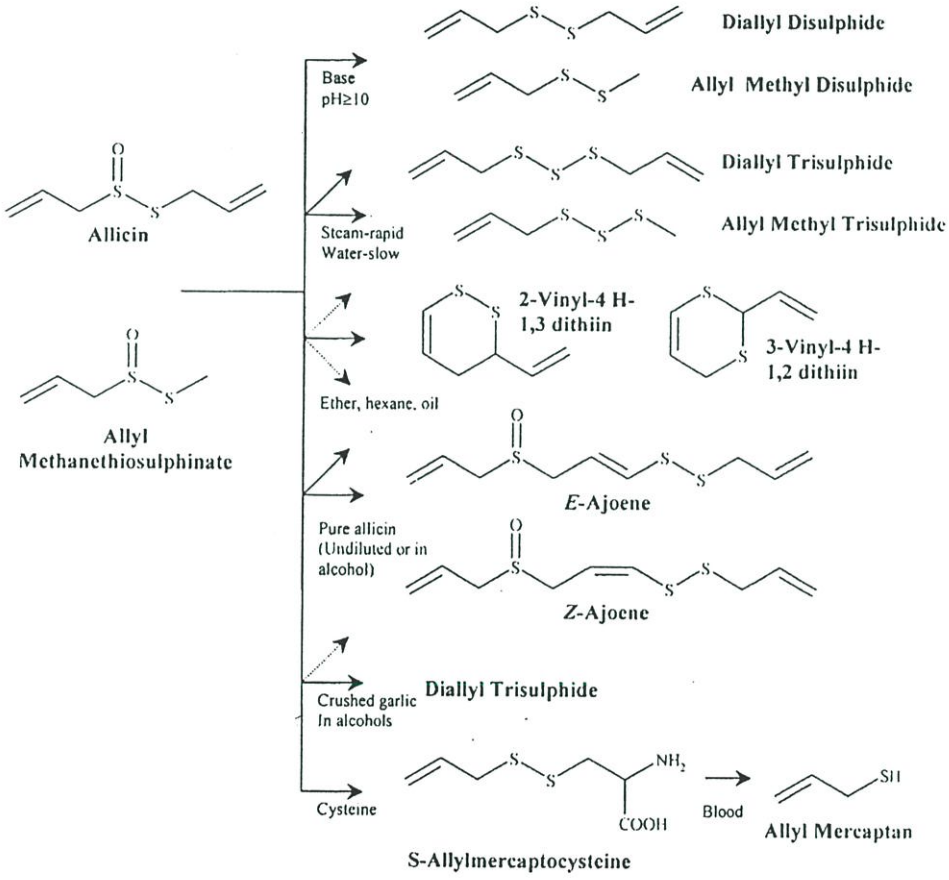
อดิศร (2542) ศึกษาผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติคและเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่พบมากในแหนมในหลอดทดลองพบว่า MRS broth ที่มีความเข้มข้นของน้ำสกัดกระเทียมปริมาณ 1 และ 3 เปอร์เซ็นต์ เชื้อแบคทีเรียแลคติคซึ่งได้แก่ *L. curvatus, L. sake* และ *P. acidilactici* ยังสามารถเพิ่มจำนวนได้ ส่วน MRS broth ที่มีน้ำสกัดกระเทียมเข้มข้นถึง 5 เปอร์เซ็นต์สามารถทนต่อการทำลายของสารอัลลิซินได้นานถึง 2 วัน ผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการยับยั้งเชื้อ *S. anatum* และ *S. aureus* พบว่าอาหารเหลว TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งและทำลายเชื้อโรคอาหารเป็นพิษทั้ง 2 สาย

พันธุ์นี้ได้เร็วกว่าที่ความเข้มข้น 1 และ 3 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ อาหาร TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีเชื้อ *S. anatum* ในปริมาณ 10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ถูกทำลายหมดด้วยเวลาเพียง 24 และ 18 ชั่วโมงตามลำดับ ขณะที่เชื้อ *S. aureus* ปริมาณ 10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ถูกทำลายได้หมดในเวลา 42 และ 36 ชั่วโมงตามลำดับ

2.2.2 กลไกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของกระเทียม

กระเทียมประกอบด้วยสารประกอบซัลเฟอร์อย่างน้อย 33 ชนิด มีเอนไซม์หลายชนิด มีกรดอะมิโน 17 อย่างและมีเกลือแร่ เช่น ซีลีเนียม (selenium) มีสารประกอบซัลเฟอร์มากกว่า *Allium* sp. ชนิดอื่นๆ ในเซลล์กระเทียมจะมีสารอัลลิอิน (Alliin) หรือ เอส-อัลลีน-แอล-ซิสเตอีน-เอส-ออกไซด์ (S-allyl-L-cysteine-S-oxide) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นสารหลัก เมื่อเซลล์ของกระเทียมฉีกขาดหรือแตก เอนไซม์ซีเอสไลเยส (C-S lyase) ที่เรียกว่าอัลลิอิเนส (alliinase) (E.C.4.4.1.4) เปลี่ยนอัลลิอินไปเป็นอัลลิซิน (Allicin) ซึ่งได้แก่ ไดอัลลีน ไดซัลไฟด์ (diallyl disulfide) และ ไดอัลลีน ไตรซัลไฟด์ (diallyl trisulfide) ซึ่งเป็นตัวให้กลิ่นกระเทียมสด (Jan *et al*,1997 ;Saleem and Al-Delaimy, 1982) กรดไพรูวิคและแอมโมเนียม (Stoll and Seeback, 1951; Cutter,2000) อัลลิซินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 167 มีสูตรเป็น $C_6H_{10}OS_2$ อัลลิซินสูญเสียประสิทธิภาพอย่างรวดเร็วเมื่อถูกความร้อน และสามารถคงตัวได้เมื่อให้ความเย็น อัลลิซินสามารถถูกไฮโดรไลซ์ได้เป็นซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (sulfur dioxide) และ อัลลีลไดซัลไฟด์ (allyl disulfide) (Cavillto and Bailey, 1944) กระเทียมมีสารอัลลิซินและสารไธโอซัลฟิเนตอื่นๆ (thiosulphinate) เป็นสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ดี โดยสารดังกล่าวสามารถยับยั้งวิถีการทำงานของเอนไซม์ (enzyme pathway)ต่างๆที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจ เช่น อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส (alkaline phosphate),ยูรีเอส (Urease) ซัคซินิคดีไฮโดรจีเนส (succinic dehydrogenase),โคลีนเอสเทอ-เรส (cholinesterase) ,โคลีนออกซิเดส (choline oxidase),ไกล-ออกซิเลส (glyoxylase) ,ไตรโอส-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (triosephosphate dehydrogenase) และเฮกโซไคเนส (hexokinase) อัลกอฮอล์ดีไฮโดรจิเนส (alcohol dehydrogenase) ไธโอรี-ดอกซินรีดักเตส (thioredoxin reductase) อะเซทธิลโคเอซินธีเตส (acetyl-coAsynthetase) โดยเอนไซม์เหล่านี้เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจหรือเกี่ยวข้องกับการเจริญของเซลล์ เช่น RNA polymerase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง RNA เป็นผลให้จุลินทรีย์ถูกทำลาย (Elsom *et al*,2000 ; Maidment *et al*,1998) สำหรับเอนไซม์ที่ถูกทำลายโดยอัลลิซินส่วนมากจะมีหมู่ SH อยู่ด้วย หมู่ SH นี้จะสามารถรวมกับหมู่ –S-O-S- ในโครงสร้างของอัลลิซินได้อย่างรวดเร็ว จึงเป็นผลให้กิจกรรมที่เกิดโดยเอนไซม์ถูกทำลาย (Willis, 1956) หมู่ SH มีความสำคัญต่อเซลล์เป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นตัวกระตุ้นที่จำเพาะในการเพิ่มจำนวนของเซลล์และยังมีความ

จำเป็นสำหรับการเจริญของเซลล์อีกด้วย อัลลิซินและไธโอซัลฟิเนตตัวอื่นๆ จะสลายตัวผ่านวิถีหลายๆ วิถีขึ้นกับเงื่อนไขของปฏิกิริยา เช่น ความมีขั้วของตัวกลาง อุณหภูมิ pH ไดอัลลีนไดซัลไฟด์และไดอัลลีน ไตรซัลไฟด์เป็นผลิตภัณฑ์เด่นในตัวกลางที่เป็นน้ำ สารสกัดกระเทียมต้องใช้เวลา 6 ชั่วโมงกว่าจะเห็นประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ น่าจะมาจากว่าเอนไซม์อัลลิเนสต้องการเวลา 6 ชั่วโมงกว่าที่จะไปทำปฏิกิริยากับอัลลิอินเพื่อเปลี่ยนไปเป็นอัลลิซิน และการที่ประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียมลดลงหลังจากช่วงเวลาที่เหมาะสม (4-12 ชั่วโมง) เพราะอัลลิซินเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบอื่นๆ ซึ่งมีไดอัลลีนไดซัลไฟด์และไดอัลลีน ไตรซัลไฟด์เป็นสารหลัก (Jan *et al*,1997)



ภาพที่ 2.1 แสดงการเปลี่ยนรูปร่างของสารไธโอซัลฟิเนทหลักๆ ในกระเทียม
ที่มา : Harris และคณะ (2001)

การที่กระเทียมมีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียได้แตกต่างกันยังไม่ทราบแน่นอน แต่อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของส่วนประกอบของผนังเมมเบรนของแบคทีเรียและความสามารถในการผ่านเข้าออกของสารอัลลิซิน

2.2.3 ประโยชน์ของกระเทียม

กระเทียมนอกจากจะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์แล้วยังมีผลทำให้ระบบย่อยอาหารและการขับถ่ายในร่างกายเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ผงกระเทียม (garlic powder) มีความสามารถในการต่อต้านแบคทีเรียได้ดีกว่าน้ำมันกระเทียม (garlic oil) ถึงแม้ว่าคุณสมบัติบางประการของน้ำมันกระเทียมจะมีสรรพคุณทางยามากกว่าผงกระเทียมก็ตาม (Health and Medicine Week editors ,2001) อัลลิซินสามารถรวมตัวกับวิตามินบีหนึ่งและโปรตีนได้ จึงช่วยในการดูดซึมสารอาหารที่ลำไส้และยังช่วยในการลดระดับคลอเรสเตอรอลในเลือดอีกด้วย นอกจากนี้อัลลิซินยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย โดยสารประกอบซัลเฟอร์ที่พบในกระเทียมสดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่ากระเทียมสกัดที่เก็บไว้ระยะเวลาหนึ่งถึง 1,000 เท่า ในกระเทียมยังมีกลูโคไซด์ของกำมะถันอีกชนิดหนึ่งคือสคอร์จินิน(Scorginin) ซึ่งร่างกายจะเปลี่ยนแปลงให้เป็นสารชนิดหนึ่งที่มีหมู่เมอร์แคปแทน (Mercaptan) เชื่อกันว่าเป็นสารที่ช่วยกำจัดโลหะหนักที่เป็นพิษ เช่น ปรอท, ตะกั่ว ออกจากร่างกาย กระเทียมมีผลต่อเลือดและระดับเนื้อเยื่อไขมัน ป้องกันการสะสมไขมันบนผนังหลอดเลือด ป้องกันโรคหัวใจ ป้องกันการเกาะตัวเป็นก้อนของเลือด ป้องกันการตกตะกอนของเกล็ดเลือด ต้านการเกิดเซลล์มะเร็ง

2.3 ขิงและกลไกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

2.3.1 ขิง

ขิงเป็นพืชในตระกูลซิงจิเบอราซีอี (Zingiberaceae) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zingiber officinale* Roscoe (Bailey, 1951) ในแง่งขิงจะพบสารเคมีที่เป็นน้ำมันหอมระเหยและโอลีโอเรซิน (Oleoresin) ในขิงมีน้ำมันหอมระเหยซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและราได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในขิงแก่มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากกว่าขิงอ่อน จึงสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าด้วย บัญญัติ (2518) รายงานว่าขิงแก่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษหลายชนิดได้ดี เช่น *Staphylococcus* spp., *Salmonella* spp.

Martins และคณะ (2001) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากขิง (*Z. officinale* Rosc.) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ รวมไปถึงยีสต์และรา ซึ่งศึกษาโดยวิธี agar diffusion พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขิง 15 µl/disc มีผลในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* , *S. aureus* , *C. albicans* และ *Aspergillus niger* โดยมีขอบเขตการยับยั้ง (Inhibition zone) คือ 15 , 18 , 33 และ 16.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ขิงเป็นพืชที่มีน้ำมันหอมระเหยอยู่ประมาณ 0.25 –3.0 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันหอมระเหยค่อนข้างมีสีเหลือง ละลายได้ดีในอีเทอร์และแอลกอฮอล์แต่ไม่ละลายน้ำ สารเคมีที่สำคัญในน้ำมันหอมระเหยได้แก่ ซิงจิเบอรีน (Zingiberine) มีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{15}H_{24}$ และซิงจิเบอรอล (Zingiberol) มีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{15}H_{26}O$ โดยที่จะพบซิงจิเบอรอลมากถึง 17 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีซิงจิรอล (Zingirol) อยู่ด้วย สารตัวนี้เป็นตัวสำคัญที่ทำให้เกิดรสเผ็ดร้อนของขิงและยังเป็นสารให้กลิ่นฉุนของขิงสด แต่ในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาหรือกระบวนการให้ความร้อนซิงจิรอลจะกลายเป็นสารประกอบชื่อโชกาโอล (shogaols) ซึ่งให้กลิ่นฉุนรุนแรงกว่าซิงจิรอล (Zancan *et al* , 2002) ส่วนสารอื่นๆ ที่พบอีกหลายชนิด ได้แก่ ไดเอธิลซัลไฟด์ (diethyl sulphide) เอธิลไอโซโปรปิลซัลไฟด์ (ethyl isopropyl sulphide) เมธิลอัลลิลซัลไฟด์ (methyl allyl sulphide) อัลฟา-ไปนีน เบตา-ไปนีน ซิตรอล เคอร์คูมีน (curcumene) เบตา-ฟีลแลนครีน (β-phellandrene) ไซนีโอล (cineole) ลินาลูล (linalool) อัลฟา-เทอร์ไปนีอัล

ในจำนวนสารดังกล่าวพบว่า ซิตรอลมีปริมาณมากถึง 15-25 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีสารพวกโอลีโอเรซินอยู่ด้วย ตัวที่สำคัญได้แก่ ซิงเกอโรน (Zingerone) มีประมาณ 25-30 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งตัวนี้ทำให้เกิดกลิ่นฉุนของขิง

2.3.2 กลไกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของขิง

ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของขิงขึ้นอยู่กับลินาลูล เมธิลอัลลีนซัลไฟด์ เอธิลไอโซโปรปิลซัลไฟด์และแอลฟา-เทอร์ไปนีอัล (Parry, 1962) Martins และคณะ (2001) รายงานว่าส่วนประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยขิงที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ ได้แก่ ซิตรอล (citral), 1,8 ไซนีโอล (1,8 cineole), แอลฟา-เทอร์ไปนีอัล (α-terpineol), ลินาลูล (linalool) และเบตา-ไปนีน (β-pinene) โดยพบว่าซิตรอลมีบทบาทในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด

2.3.3 ประโยชน์ของขิง

นอกจากขิงสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้แล้ว ผลิตภัณฑ์จากขิง เช่น น้ำมันหอมระเหยและโอเลโอเรซิน (oleoresin) ใช้ทั่วไปในอาหารและผลิตภัณฑ์ทางยา (Zancan *et al*, 2002) เนื่องจากขิงเป็นยาบำรุงธาตุช่วยเจริญอาหาร แก้ลมวิงเวียน แก้สะอึก แก้ไขและพิษต่างๆ แก้เสลด เสมหะ หอบ ไอและอาเจียน นอกจากนี้ยังเป็นยาขับลมออกจากกระเพาะอาหารและลำไส้ แก้ท้องอืดท้องเฟ้อจากอาหารที่ไม่ย่อย แก้จุกเสียดแน่นหน้าอก

2.4 อบเชยและกลไกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

2.4.1 อบเชย

อบเชยเป็นพืชในตระกูลลอราซีอี (Lauraceae) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cinamomum zeylanicum* Breyn (อบเชยศรีลังกา) หรือ *Cinnamomum cassiai* Blume (อบเชยจีน) อบเชยเป็นเครื่องเทศที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์นั้นขึ้นอยู่กับส่วนที่เป็นน้ำมันหอมระเหย อบเชยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้แก่ *E. coli*, *Salmonella* spp. , *Pseudomonas* spp. , *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus epidermidis* ยีสต์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* รา ได้แก่ *Alternaria* spp. และ *Fusarium* spp. (บัญญัติ, 2518)

Chang และคณะ (2001) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบของต้นอบเชย ซึ่งมีซินนามัลดีไฮด์เป็นส่วนประกอบที่สำคัญ มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย 9 สายพันธุ์ได้แก่ *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus* ที่ต่อต้าน methicillin , *Klebsiella pneumoniae* , *Salmonella* spp. และ *Vibrio parahemolyticus* โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของการยับยั้ง (minimum inhibitory concentrations; MICs) ในแต่ละเชื้อคือ 500, 1000, 250, 250, 250, 250, 1000, 500 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Chao และคณะ (2000) พบว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *B. cereus*, *Micrococcus luteus*, *S. aureus* และ *Enterococcus faecalis* แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *E. coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* รา ได้แก่ *A. niger*, และ *Rhizopus oligosporus*

Helander และคณะ (1998) อ้างถึงการศึกษาของ Smid และคณะ (1996) ถึงการทดสอบใช้ซินนามัลดีไฮด์ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ กับเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่ามีบางส่วนของซินนามัลดีไฮด์ไปทำลายเนื้อเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม (cytoplasmic membrane) ทำให้มีเมตาโบไลท์และเอนไซม์รั่วออกนอกเซลล์และสูญหายไปในที่สุด

Kim และคณะ (2004) ศึกษาถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* 0157:H7 โดยใช้สารซินนามิคอัลดีไฮด์ที่สกัดจากรากอบเชย พบว่าจุลินทรีย์เริ่มต้น 4.7 x 10^9 CFU/ml เมื่อใช้สารซินนามิคอัลดีไฮด์ความเข้มข้น 250 μg/ml ไม่พบการเปลี่ยนแปลง แต่เมื่อใช้สารซินนามิคอัลดีไฮด์ความเข้มข้น 500 μg/ml พบว่าจำนวนเชื้อลดลงเหลือ 1.0 x 10^2 CFU/ml หลังจาก 12 ชั่วโมง ในขณะที่เมื่อใช้สารซินนามิคอัลดีไฮด์ความเข้มข้น 1,000 μg/ml

เซลล์ถูกทำลายหมดภายในเวลา 2 ชั่วโมง ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าซินนามิคอัลดีไฮด์เป็นสารทำลายจุลินทรีย์ได้

Kwon และคณะ (2003) ศึกษาผลของสารซินนามิคอัลดีไฮด์ต่อการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารคือ *B. cereus, S. aureus, E. coli* และ *Salmonella enteritidis* พบว่า *B. cereus* มีความไวต่อซินนามิคอัลดีไฮด์มากที่สุด โดยพบว่าซินนามิคอัลดีไฮด์ 0.4 ml/l สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus, S. aureus, E. coli* และ *Salmonella enteritidis* ได้ 97,70,52 และ 87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Mau และคณะ (2001) ศึกษาถึงการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดและส่วนผสมของสารสกัดจากพืช 3 ชนิดคือ ต้นหอมจีน (chinese chive) อบเชยและ ผลคอร์นิ (corni fructus) พบว่าสารสกัดจากต้นหอมจีน (CC) สารสกัดจากอบเชย (CI) สารสกัดจากผลคอร์นิ (CF) ส่วนผสมของสารสกัดต้นหอมจีนและอบเชย 1:1 (ปริมาตร/ปริมาตร) (M1) ส่วนผสมของสารสกัดต้นหอมจีนและผลคอร์นิ 1:1 (ปริมาตร/ปริมาตร) (M2) ส่วนผสมของสารสกัดอบเชยและผลคอร์นิ 1:1 (ปริมาตร/ปริมาตร) (M3) และส่วนผสมของสารสกัดต้นหอมจีน อบเชยและผลคอร์นิ 1:1:1 (ปริมาตร/ปริมาตร/ปริมาตร) (M4) มีค่าขอบเขตการยับยั้ง (inhibition zone diameter ; mm) ของเชื้อ *E. coli* เป็น 15, 18, 18, ไม่มีรายงาน, 19, 22 และ 19 มิลลิเมตรตามลำดับ *S. aureus* มีค่าเป็น ไม่มีรายงาน, ไม่มีรายงาน, 18, 8, 9, ไม่มีรายงาน และ 9 มิลลิเมตรตามลำดับ โดยค่าขอบเขตการยับยั้งมีค่า 6 มิลลิเมตรถือว่าสามารถยับยั้งได้ดีและค่าขอบเขตการยับยั้งมีค่า 12 มิลลิเมตรถือว่าสามารถยับยั้งได้ดีมาก และเมื่อศึกษาถึงผลของความเข้มข้นของส่วนผสมสารสกัดเปรียบเทียบกับสารกันเสียโปแตสเซียมซอร์เบท (potassium sorbate) ที่มีต่อเชื้อ *E. coli* พบว่าส่วนผสมของสารสกัดที่ 2 mg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้มากกว่าโปแตส-เซียมซอร์เบท และส่วนผสมของสารสกัดที่ 5 mg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้อย่างสมบูรณ์ในขณะที่โปแตสเซียมซอร์เบท ต้องใช้ที่ความเข้มข้น 10 mg/ml และเมื่อทดลองใช้ส่วนผสมของสารสกัดผสมในน้ำส้มพบว่าที่ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ไม่มีการเจริญของจุลินทรีย์จนถึง 24 ชั่วโมง น้ำส้มที่ไม่มีการใส่ส่วนผสมสารสกัด (control) เกิดการเน่าเสียเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง ส่วนที่ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ขณะที่น้ำส้มที่มีส่วนผสมของสารสกัด 0.2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) เก็บได้นาน 4 วันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และมีการเจริญของจุลินทรีย์ต่ำมาก (ประมาณ 10 CFU/ml) ส่วนเมื่อทดลองในเนื้อสุกรพบว่าส่วนผสมสารสกัดที่ 0.2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อมากกว่าสารโปแตสเซียมซอร์เบท 0.2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร)

Moleyar และ Narasimham (1992) ศึกษาสารต่างๆ ในการยับยั้งแบคทีเรียพบว่าสารซิโทรเนลอัล (citronellal) ยูคัลลิปตอล (eucalyptol) ดี-ลิโมนีน (D- limonene) และลินาลูล (linalool) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียเพียงเล็กน้อย โดยที่ความเข้มข้น 1,000 μg/ml ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้นาน 1-4 วัน ส่วนซิทรอล (citral) ยูจีนอลและจีรานิโอล (geraniol) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ปานกลางโดยที่ความเข้มข้น 750-1,000 μg/ml สามารถยับยั้งได้นานมากกว่า 30 วัน ส่วนซินนามิคอัลดีไฮด์เป็นสารประกอบที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการศึกษานี้คือเมื่อใช้ความเข้มข้น 500 μg/ml สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้นานมากกว่า 30 วัน

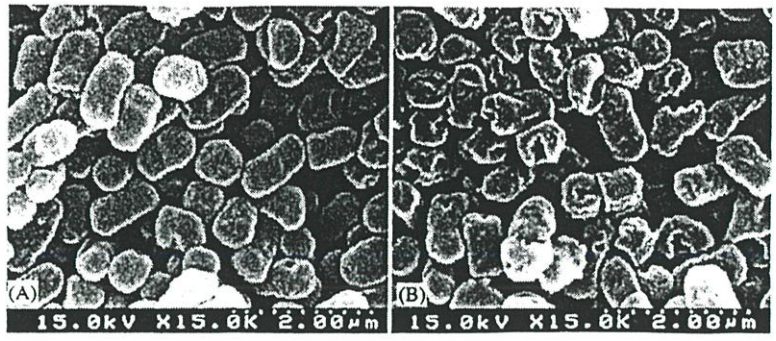
เมื่อใช้ซินนามิคอัลดีไฮด์ความเข้มข้น 1.5 mg/disc สามารถยับยั้งเชื้อ *Clostridium perfringenes, Bacteroides fragilus* และ *Bifidobacterium bifidus* (Lee and Ahn,1998) และยังสามารถเป็นสารฆ่าแมลง (insecticidal) และสารฆ่าเชื้อ (Park *et al* ,2000)

Patkar และคณะ (1993) พบว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ปริมาณ 0.5 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรในอาหารเลี้ยงเชื้อ ยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินบีหนึ่งของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยรายงานว่าส่วนประกอบของน้ำมันอบเชยที่มีผลต่อการยับยั้งสารดังกล่าวคือ ซินนามาลดีไฮด์ (cinnamaldehyde)

2.4.2 กลไกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของอบเชย

สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญจะมีอยู่ในน้ำมันหอมระเหย โดยทั่วไปอบเชยจะมีน้ำมันหอมระเหยอยู่ประมาณ 0.7-1.8 เปอร์เซ็นต์ สารเคมีต่างๆที่พบในอบเชย เช่นอัลฟา-ไปนีน แอลฟา-ฟีลเลนดรีน (α-phyllanedrene) ลินาลูล เจอรานิออล (geraniol) ซินนามิคอัลดีไฮด์ (cinnamicaldehyde) ยูจีนอล (eugenol) อะซีตียูจีนอล (aceteugenol) ซินนามีลอัลกอฮอล์ (cinnamylalcohol)

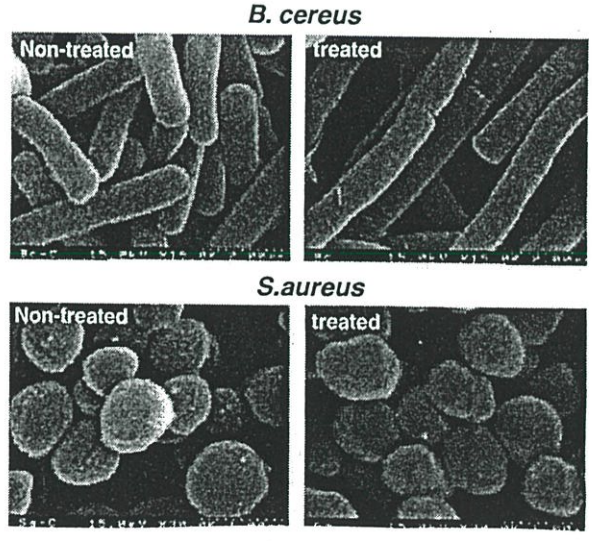
จากสารดังกล่าวพบว่าซินนามิคอัลดีไฮด์พบมากที่สุด 65-70 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ ยูจีนอล 10-12 เปอร์เซ็นต์ ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของอบเชยขึ้นอยู่กับซินนามิคอัลดีไฮด์และยูจีนอลเป็นสำคัญ ซินนามิคอัลดีไฮด์ทำให้เนื้อเยื่อชั้นนอกแตกสลายหรือมีการใช้ ATP ภายในเซลล์จนหมด ซินนามิคอัลดีไฮด์จะเข้าใกล้เยื่อหุ้มเซลล์ (periplasm) และเข้าไปเป็นส่วนหนึ่งของเซลล์ โดยยูจีนอลจะทำลายโปรตีนในเซลล์และทำให้เกิดการบาดเจ็บที่เซลล์เมมเบรน เป็นผลทำให้สารต่างๆ ภายในเซลล์ไหลออกสู่นอกเซลล์ เซลล์จึงถูกทำลายได้ ส่วนเฟอร์ฟูรัล ลินาลูล ฟีลเลนดรีนก็มีประสิทธิภาพต่อจุลินทรีย์เช่นกัน ซินนามิคอัลดีไฮด์ได้รับ GRAS อนุญาตให้ใช้ในอาหารได้มากถึง 700 ppm (MAFF, 1976)



ภาพที่ 2.2 แสดงภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบพื้นผิว (Scanning electron microscope) ของเซลล์ *E. coli* 0157:H7 ที่ผ่านการให้สารซินนามิคอัลดีไฮด์ 1,000 µg/ml ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง (A) เซลล์ที่ไม่ผ่านการให้สารซินนามิคอัลดีไฮด์ (B) เซลล์ที่ผ่านการให้สารซินนามิคอัลดีไฮด์

ที่มา : Helander *et al*, 1998

จากภาพที่ 2.2 จะเห็นได้ว่าเซลล์ที่ไม่ผ่านการให้สารซินนามิคอัลดีไฮด์ (A) จะมีพื้นผิวที่เรียบ แต่เซลล์ที่ผ่านการให้สารซินนามิคอัลดีไฮด์ (B) จะมีลักษณะโครงสร้างที่พื้นผิวถูกทำลายอย่างรุนแรง



ภาพที่ 2.3 แสดงภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบพื้นผิวของเซลล์ *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* ที่ผ่านการให้สารซินนามิคอัลดีไฮด์ 0.3 ml/l ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที

ที่มา : Kwon และคณะ (2003)

ผลของสารซินนามิคอัลดีไฮด์ต่อสัณฐานวิทยาของเซลล์แบคทีเรีย พบว่าเซลล์ *B. cereus* ที่ไม่ผ่านการให้ซินนามิคอัลดีไฮด์มีลักษณะเป็นทรงแท่ง กระจายตัวดี ขณะที่เซลล์ที่ถูกให้ซินนามิคอัลดีไฮด์มีลักษณะรูปร่างเป็นเส้นสาย (filamentous) ยืดยาวออกไปไม่มีการกระจายตัวออกจากเซลล์อื่นๆ มีผนังกั้นระหว่างเซลล์สองเซลล์ แต่เซลล์ของ *S. aureus* ไม่มีความแตกต่างอย่างชัดเจนระหว่างเซลล์ที่ให้กับเซลล์ที่ไม่ผ่านการให้ซินนามิคอัลดีไฮด์ ดังแสดงในภาพที่ 2.3 (Kwon *et al*, 2003)

การรั่วของสารภายในเซลล์ (intracellular material) เช่น โปรตีนและดีเอ็นเอ (DNA) จากเซลล์ที่ผ่านการให้ความร้อนและคลื่นไมโครเวฟ (Woo *et al*, 2000) สารซินนามิคอัลดีไฮด์ยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์เอนไซม์ เช่น เบต้า-1-3 กลูแคนซินเธส (β-1,3-glucan synthase) และไคตินซินเธส (chitin synthase) ของการทดลองในเซลล์ยีสต์ (Bank *et al*, 2000)

กลไกการเป็นสารต้านทานจุลินทรีย์ของสารซินนามิคอัลดีไฮด์อาจเนื่องมาจากส่วนเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอกถูกทำลายและความสามารถในการผ่านเข้าออกของ ATP ผ่านเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมเพิ่มมากขึ้น ATP ภายในเซลล์ลดลง ATP ภายนอกเซลล์เพิ่มขึ้น (Helander *et al*, 1998)

2.4.3 ประโยชน์ของอบเชย

นอกจากอบเชยจะมีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์แล้ว อบเชยยังมีสรรพคุณแก้ท้องอืด ป้องกันการตายของเนื้อเยื่อปอด แก้ตะคริว แก้ลมวิงเวียน เป็นยากระตุ้น ยาสมานแผล ในด้านการปรุงแต่งกลิ่นรสได้นำอบเชยไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่างๆ อบเชยบดละเอียดใช้ใส่ในขนมอบ ประเภทคุกกี้ ขนมปัง เค้ก บิสกิต โดนัท ในอุตสาหกรรมลูกกวาด อุตสาหกรรมเครื่องดื่ม เช่น เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ไวน์ พันช์ ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตช็อกโกเลต น้ำเชื่อมสำหรับราดผลไม้ ใช้ผสมในผลไม้กวน เครื่องแกง ใช้ผสมในจานอบขนม จานข้าว ผสมในชา และใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอม (Indian Institute of spices Research,2003a)

2.5 สารสกัดธรรมชาติที่มีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ในบรรดาส่วนประกอบที่พบในน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ ไทม์ (thyme) ยูจีนอล (eugenol) เมนทอล (menthol) และ อะนีโธล (anethole) พบว่ายูจีนอลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในอาหารได้ดีที่สุด (Karapinar and Aktug, 1987) เมื่อศึกษาถึงผลของสารประกอบ 4 ชนิด คือ คาร์วาโครล (carvacrol) คาร์โวน ((+) –carvone) ทรานส์ซินนามิคอัลดีไฮด์ (*trans* – cinnamicaldehyde) และไธมอล (thymol) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ (MIC) ของเชื้อ *E. coli* มีค่าเป็น 3,10,3 และ 3 มิลลิโมลาร์ (mM) ตามลำดับ (Helander *et at* ,1998)

Hammer และคณะ (1999) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยและเรซิน (resin) ที่สกัดได้จากส่วนต่างๆของพืช 52 ชนิด พบว่าต่อต้านเชื้อ *Acinetobacter baumanii*, *Aeromonas veronii*, biogroup *sobia*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype *typhimurium*, *Serratia marcescens* และ *Staphylococcus aureus* เมื่อใช้วิธี agar dilution พบว่าตะไคร้ ออริกาโน (oregano) เบย์ (bay) สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 2.0 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) แอบ-ปริคอท เคอเนล (kernel) อิฟนิงพริมโรส (evening primrose) แมคคาดาเมีย (macadamia) ฟักทอง เซจและอัลมอนด์ ไม่สามารถยับยั้งจุลิทรีย์ใดๆ ได้แม้ว่าจะใช้ความเข้มข้นสูงสุดคือ 2.0 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) น้ำมันหอมระเหยขิงความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้คือความเข้มข้นน้อยกว่า 2.0 เปอร์เซ็นต์(ปริมาตร/ปริมาตร) และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) ตามลำดับ และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันจากพืช 20 ชนิดโดยใช้วิธี broth dilution method พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *E. coli* ของน้ำมันไทม์ (thyme) คือ 0.03 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) และน้ำมันวีทิเวอร์ (vetiver) ความเข้มข้น 0.008 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ และจากวิธีนี้น้ำมันหอมระเหยขิงมีค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้คือความเข้มข้นมากกว่า 4.0 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร)และ ความเข้มข้นมากกว่า 4.0 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) ตามลำดับ

Moleyar และ Narasimham (1992) ศึกษาการใช้สารประกอบในน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ ทดสอบความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์แกรมบวกและแกรมลบ พบว่าอะนิซัลดีไฮด์ (anisaldehyde) อะนิโซล (anisole) แอลฟาและแกมมาเทอปีนีน (α-and γ-terpinene) ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบได้แม้ว่าจะใช้ความเข้มข้น 1,000 μg/ml

Muftah และ Lloyd (1982) พบว่ากานพลู เป็นเครื่องเทศที่เป็นสารต้านเชื้อรา (antifungal) ที่มีผลในการยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุดในบรรดาเครื่องเทศ 8 ชนิด รองลงมาได้แก่ อบเชย มัสตาด กระเทียม ออลสไปซ์ (allspice) ออริกาโน (oregano) พริกไทยขาว พริกไทยดำ ตามลำดับ และกานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 7 สายพันธุ์ได้นานมากกว่า 20 วัน ส่วนโรสแมรี (rosemary) ไทม์ (thyme) ขมิ้นชัน (tumeric) ยี่หร่า (anise) และหัวหอมมีผลต่อการเจริญของ *Aspergillus* sp.และ *Penicilium* sp. น้อยกว่า ส่วนพืชเซจ (sage) พริกไทยแดง พริกปาปริกา (paprika) ไม่มีผลต่อเชื้อทั้งสองชนิดนี้

Palmer และคณะ (1998) ศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหาร 5 ชนิด ได้แก่ *Campylobacter jejuni, Salmonella enteritidis, Escherichia coli, Staphylococcus aureus* และ *Listeria monocytogenes* จากพืช 21 ชนิด พบว่าน้ำมันหอมระเหยของเบย์ อบเชย กานพลูและไทม์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่าพืชชนิดอื่น ความเข้มข้นน้อยสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli, S. aureus, L. monocytogenes, Salmonella* enteritidis และ *C. jejuni* ของน้ำมันหอมระเหยอบเชยมีค่าเป็น 0.05, 0.04, 0.03, 0.05 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ น้ำมันกระเทียมมีค่าเป็น มากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์, มากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์, มากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์, มากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ และ มากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และน้ำมันหอมระเหยขิงมีค่าเป็น มากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์, มากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์, มากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์, มากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ และ มากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และโดยทั่วไปพบว่าน้ำมันหอมระเหยมีค่าความเข้มข้นน้อยสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกน้อยกว่าแบคทีเรียแกรมลบ

Stecchini และคณะ (1993) ศึกษาถึงผลของน้ำมันหอมระเหยต่อเนื้อสุกรพร้อมปรุงสุกในถุงสำเร็จรูป พบว่าน้ำมันหอมระเหยกานพลูความเข้มข้น 500 $\mu g/cm^2$ มีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* มากกว่าน้ำมันหอมระเหยผักชีความเข้มข้น 1,250 $\mu g/cm^2$ อย่างมีนัยสำคัญ ($P< 0.05$) ตลอดระยะเวลาเก็บ 3 วัน ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส โดยสามารถลดเชื้อลงได้ 1 log reduction

คุณสมบัติในการเป็นสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของส่วนประกอบในน้ำมันหอมระเหย เช่น ไธมอล คาร์วาโครล เกี่ยวกับลักษณะความชอบไขมัน (lipophilic) ซึ่งนำไปสู่การสะสมในเนื้อเยื่อ (membrane) และเกิดเหตุการณ์ที่เกี่ยวข้องกับเนื้อเยื่อตามมา เช่น มีการใช้พลังงานในเนื้อเยื่อจนหมด

โดยทั่วไปสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยจะยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Moleyar and Narasimham ,1992) เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบทุกชนิดมีเนื้อเยื่อชั้นนอก (outer membrane ;OM) ซึ่งทำให้มีพื้นผิวที่ชอบน้ำ (hydrophilic) เนื่องจากมีโมเลกุลของลิโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysac charide ; LPS) อยู่ สารละลายที่ชอบน้ำสามารถผ่านเนื้อเยื่อชั้นนอกทางโปรตีนพอริน (porin protein) ซึ่งโปรตีนพอรินนี้เป็นส่วนที่ช่วยให้สารละลายผ่านเข้าออกเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกได้ ในขณะเดียวกันเนื้อเยื่อชั้นนอกก็ขัดขวางการผ่านเข้าออกของสารโมเลกุลใหญ่ (macromolecule) ตลอดจนสารประกอบที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic compound) ด้วยเหตุนี้แบคทีเรียแกรมลบจึงต่อต้านสารยับยั้งจุลินทรีย์ (antibiotic) ที่ไม่ชอบน้ำและสารที่เป็นพิษต่อเซลล์ แต่โมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำก็สามารถผ่านโปรตีนพอรินได้แต่จะผ่านได้อย่างช้าๆ (Helander *et al*, 1998)

2.6 การสกัดน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหย (volatile oils) หรืออาจเรียกว่า essential oil หรือ ethereal oil น้ำมันหอมระเหยอยู่ในถุงเล็กๆ ภายในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ดอก ใบ ผล กลีบเลี้ยง เปลือก หัว ราก เป็นต้น (สุรัตน์, 2546)

วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืช ทำได้ 5 วิธีใหญ่ ๆ คือ

2.6.1 โดยการกลั่น (Distillation) (วันดี, 2536)

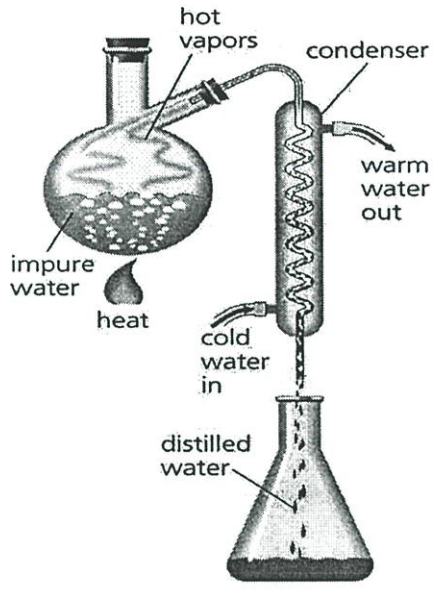
หลักในการสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยการกลั่นคือใช้น้ำเพื่อผลิตไอ ซึ่งจะเป็นตัวดึงและพาสารอินทรีย์ที่ระเหยได้คือ น้ำมันหอมระเหยออกมาจากพืชพร้อมกัน จากนั้นไอที่ผ่านออกมาจะถูกทำให้เย็นในเครื่องควบแน่น ได้เป็นของเหลวที่มีน้ำและน้ำมันหอมระเหยปะปนอยู่ โดยปกติน้ำมันหอมระเหยจะลอยอยู่เหนือน้ำ แต่ก็มีน้ำมันหอมระเหยบางชนิดที่หนักกว่าน้ำจะจมลงสู่ด้านล่างของน้ำ ของเหลวที่มีน้ำและน้ำมันหอมระเหยปะปนอยู่เมื่อตั้งทิ้งไว้ก็จะแยกตัวออกจากกัน สามารถแยกเอาน้ำมันหอมระเหยออกมาใช้ประโยชน์ได้

วิธีการกลั่น แบ่งออกได้ดังนี้ คือ

2.6.1.1 กลั่นด้วยน้ำ (water distillation) วิธีนี้มักใช้กับพืชแห้งและสารในพืชไม่สลายเมื่อถูกความร้อน เช่น การกลั่นน้ำมันสน

2.6.1.2 กลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (water and steam distillation) ใช้กับพืชสด หรือพืชแห้งซึ่งอาจถูกทำลายด้วยความร้อน เช่น การกลั่นน้ำมันอบเชย กานพลู โดยการหมักพืชในน้ำแล้วผ่านไอน้ำเข้าไป น้ำและน้ำมันจะถูกกลั่นออกมาด้วยกัน

2.6.1.3 กลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) ใช้กับพืชสด เช่น การกลั่นน้ำมันมิ้นต์ ในระหว่างการกลั่นน้ำมันหอมระเหยที่อุณหภูมิสูงๆ องค์ประกอบบางชนิดในน้ำมันหอมระเหยจะถูกย่อย (hydrolyse) ให้เกิดการสลายตัวได้ การกลั่นที่ดีควรให้ไอน้ำกระจายตัวแทรกเข้าไปในพืชมากที่สุด แต่ทำให้เกิดการสลายตัวของสารต่างๆ น้อยที่สุด



ภาพที่ 2.4 ชุดเครื่องกลั่นน้ำมันหอมระเหยแก้วขนาดเล็ก
ที่มา : Katherine,M.P. (2004)

2.6.2 **โดยการบีบ** (Expression)

น้ำมันหอมระเหยบางชนิด เช่น น้ำมันจากผิวส้ม น้ำมันจากผิวมะนาว จะสลายตัวได้เมื่อถูกความร้อน จึงใช้การบีบน้ำมันแทนการกลั่น

2.6.3 **โดยวิธี** Enfleurage

วิธีนี้เคยใช้มากในอุตสาหกรรมการทำน้ำหอม เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยในกลีบดอกไม้มักมีปริมาณน้อยจึงใช้การบีบไม่ได้ผล วิธีนี้ทำได้โดยใช้น้ำมันไม่ระเหยหรือไขมันชนิดที่ไม่มีกลิ่น นำมาแผ่เป็นฟิล์มบางๆ บนกระจก นำกลีบดอกไม้มาโปรยบนฟิล์มนี้ ตั้งทิ้งไว้ 2-3 ชั่วโมง แล้วเก็บกลับดอกไม้ออก โปรยกลีบดอกไม้ชุดใหม่ลงไปแทน เพื่อให้ไขมันดูดซับน้ำมันหอมระเหยจากกลีบดอกไม้ไว้ จากนั้นนำไขมันที่ได้มาสกัดด้วยอัลกอฮอล์เพื่อแยกน้ำมันหอมระเหยออกมา

2.6.4 **โดยวิธีการสกัด** (Extraction)

ปัจจุบันในอุตสาหกรรมน้ำหอมจะใช้วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชโดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม เช่น เบนซีนหรือปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยวิธีนี้น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จะมี

กลิ่นคงเดิม เพราะไม่เกิดการสลายตัวเนื่องจากใช้อุณหภูมิต่ำ ข้อเสียของวิธีการสกัดคือ ราคาแพง

2.6.5 **การทำลายโครงสร้าง** (Destructive distillation)

ใช้กับการกลั่นน้ำมันจากต้นไม้ในวงศ์ Pinaceae และ Cupressaceae โดยนำมาเผาในที่ที่อากาศไม่เพียงพอ จะเกิดการสลายตัวได้สารระเหยออกมา ซึ่งแยกได้เป็น 2 ชั้นคือ ชั้นน้ำซึ่งประกอบด้วยเมทิธอัลกอฮอล์และกรดอะซีติก (crude acetic acid) กับชั้นของน้ำมันดิน (tarry liquid) เช่น pine jar หรือ juniper tar ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของไม้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ชิ้นเนื้อสุกร

ใช้เนื้อสุกรสดส่วนสันนอก จากบริษัทเฟรสมีทจำกัด นำมาบรรจุกล่องพลาสติกเก็บในตู้แช่แข็ง (deep freeze) อุณหภูมิประมาณ –18 องศาเซลเซียส

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์

1. *Escherichia coli*
2. *Staphylococcus aureus*

3.1.3 กระเทียม ขิงและอบเชย

กระเทียมไทย ขิงแก่อายุ 5-6 เดือนและเปลือกอบเชย ซื้อจากตลาดสดหัวตะเข้ เขตลาดกระบัง จ.กรุงเทพฯ เพื่อใช้ในการผลิตน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชย

3.2 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์

3.2.1 เครื่องกรองแบคทีเรีย			
3.2.2 เครื่องชั่งชนิดหยาบ และเครื่องชั่งชนิดละเอียด		Mettler toledo	สวิสเซอร์แลนด์
3.2.3 เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)	T-42K	Konton Instrument	อิตาลี
3.2.4 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)		Memmert	เยอรมัน
3.2.5 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave)		Tomy SS-320	ญี่ปุ่น
3.2.6 ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar flow)			
3.2.7 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)		Memmert	เยอรมัน
3.2.8 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (waterbath)		Memmert	เยอรมัน
3.2.9 เครื่องตีป่นอาหาร (stomacher)			
3.210 ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ		Sanyo	ไทย
3.2.11 ตู้แช่แข็ง			
3.2.12 เครื่องปิดผนึกสุญญากาศ		Multivac	ไทย
3.2.13 Hot plate		Velp scientifica	อิตาลี

3.2.14 เครื่องปั่น (blender)	Maulinex	ฝรั่งเศส
3.2.15 ตู้ทำความเย็น (Cooling)		ไทย
3.2.16 กรวยแยก (separating funnel)		
3.2.17 เครื่องแก้ว		
3.2.18 ถุงพลาสติก		

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1 Trypticase soy agar (TSA)	Merck
3.3.2 Trypticase soy broth (TSB)	Merck
3.3.3 สารละลายกลีเซอรีน (glycerine)	Merck
3.3.4 สารละลายเปปโตนเข้มข้นร้อยละ 0.1	Merck
3.3.5 Standard Plate Count Agar (PCA)	Merck
3.3.6 Lauryl sulfate tryptose broth (LSTB)	Merck
3.3.7 EC broth	Merck
3.3.8 Eosin methylene blue agar (Levine) (EMB)	Merck
3.3.9 manitol salt agar (MS)	Merck
3.3.10 Egg yolk tellulite	Merck

3.4 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร (โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การเตรียมน้ำสกัดกระเทียมน้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชย

3.5.1.1 การเตรียมน้ำสกัดกระเทียม (ดัดแปลงจากอดิศร,2542) ดังภาคผนวก ก

3.5.1.2 การเตรียมน้ำมันหอมระเหยขิง (ดัดแปลงจาก Pearson,1973) ดังแสดงในภาคผนวก ก

3.5.1.3 การเตรียมน้ำมันหอมระเหยอบเชย (ดัดแปลงจาก Pearson,1973) ดังแสดงในภาคผนวก ก

3.5.2 การเตรียมสารละลายเชื้อเข้มข้น (Stock culture)

3.5.2.1 การเตรียมสารละลายเชื้อ *Escherichia coli* ความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^6 CFU/ml แสดงในภาคผนวก ก

3.5.2.2 การเตรียมสารละลายเชื้อ *Staphylococcus aureus* ความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^6 CFU/ml แสดงในภาคผนวก ก

3.5.3 ศึกษาผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการลดเชื้อ *Escherichia coli* ในหลอดทดลอง

3.5.3.1 ศึกษาผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการลดเชื้อ *E. coli*

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design ;CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยทำการศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำสกัดกระเทียมในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 3, 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ในการลดเชื้อ *E. coli*

โดยนำสารละลายเชื้อ *E. coli* ความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^6 CFU/ml มาเติมลงในหลอดทดลองดังนี้

หลอดที่ 1 เป็นหลอดควบคุมที่มีอาหาร TSB

หลอดที่ 2 เป็นหลอดอาหาร TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์

หลอดที่ 3 เป็นหลอดอาหาร TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์

หลอดที่ 4 เป็นหลอดอาหาร TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์

นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างเพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ *E. coli* ในหลอดทดลองทั้ง 4 หลอดทุก 6 ชั่วโมงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยวิธี spread plate บนอาหารแข็ง TSA บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง (FDA,1992)

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) version 9 โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.5.3.2 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยขิงต่อการลดเชื้อ *E. coli*

ทำการศึกษาเช่นเดียวกันกับข้อ 3.5.3.1 โดยให้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยขิงในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 0.3, 0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์

3.5.3.3 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยอบเชยต่อการลดเชื้อ *E. coli*

ทำการศึกษาเช่นเดียวกันกับข้อ 3.5.3.1 โดยให้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยอบเชยในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 0.3, 0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์

3.5.4 ศึกษาผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยต่อการลดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง

ทำการศึกษาเช่นเดียวกันกับข้อ 3.5.3 แต่เปลี่ยนจากการใช้เชื้อ *E. coli* เป็นเชื้อ *S. aureus*

3.5.4.1 ศึกษาผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการลดเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ทำการศึกษาเช่นเดียวกับข้อ 3.5.3.1 แต่เปลี่ยนจากการใช้เชื้อ *E. coli* เป็นเชื้อ *S. aureus*

3.5.4.2 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยขิงต่อการลดเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ทำการศึกษาเช่นเดียวกันกับข้อ 3.5.3.2 แต่เปลี่ยนจากการใช้เชื้อ *E. coli* เป็นเชื้อ *S. aureus*

3.5.4.3 ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยอบเชยต่อการลดเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ทำการศึกษาเช่นเดียวกันกับข้อ 3.5.3.3 แต่เปลี่ยนจากการใช้เชื้อ *E. coli* เป็นเชื้อ *S. aureus*

3.5.5 การเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อสุกร

นำเนื้อสันนอกสุกรมาตัดแต่งให้มีขนาด 7x6x1 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยใช้เครื่องมือปลอดเชื้อ (ดัดแปลงจาก Podolak *et al*, 1996) จากนั้นบรรจุลงในถุงพลาสติก PP ขนาด 10x15 นิ้ว นำไปแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ –10 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลอง

3.5.6 การเตรียมตัวอย่างเนื้อสุกรที่ถ่ายเชื้อ *Escherichia coli*

นำสารละลายเชื้อ *E. coli* จากข้อ 3.5.2.1 มาเจือจางด้วยสารละลาย 0.1 % peptone water ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วให้ได้ปริมาณเชื้อ 10^5 CFU/มิลลิลิตร แล้วจึงนำตัวอย่างเนื้อสุกรจากข้อ 3.5.5 และผ่านการละลายที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงมาผ่านแสงยูวีเป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยทำการกลับชิ้นเนื้อทุก 30 นาที นำตัวอย่างชิ้นเนื้อมาจุ่มแช่

ในสารละลายเชื้อที่เตรียมไว้เป็นเวลา 5 นาที (Podolak *et al*, 1996) ทิ้งให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 10 นาทีบนตะแกรงที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

3.5.7 การใช้น้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยในการลดปริมาณเชื้อ *Echerichia coli* บนผิวเนื้อสุกร

แบ่งตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E. coli* จากข้อ 3.5.6 มาแบ่งออกเป็นกลุ่มทดลองเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 จุ่มในสารละลายน้ำสกัดกระเทียมเลือกระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดจากผลการทดลองข้อ 3.5.3.1

กลุ่มที่ 2 จุ่มในสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิงเลือกระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดจากผลการทดลองข้อ 3.5.3.2

กลุ่มที่ 3 จุ่มในสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชยเลือกระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดจากผลการทดลองข้อ 3.5.3.3

กลุ่มที่ 4 จุ่มในสารละลาย 5% กลีเซอริน เป็นกลุ่มควบคุม

กลุ่มที่ 5 ไม่ได้ใช้สารใดๆ เป็นกลุ่มควบคุมอ้างอิง

ตัวอย่างของกลุ่มที่ 1, 2, 3 และ 4 จุ่มในสารของแต่ละกลุ่มการทดลองเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งให้สะเด็ดน้ำบนตะแกรงที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเป็นเวลา 15 นาที และกลุ่มที่ 5 ซึ่งไม่ผ่านการจุ่มในสารละลายใดๆ จากนั้นนำตัวอย่างเนื้อสุกรแต่ละชิ้นบรรจุใส่ถุงพลาสติก PP ขนาด 4.5 x 7 นิ้วด้วยวิธีการบรรจุแบบสุญญากาศ นำตัวอย่างทั้ง 5 กลุ่มมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส และสุ่มตัวอย่างเนื้อสุกรมาทำการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยา ในวันที่ 0, 1, 3 , 5 วันของการเก็บรักษา

3.5.8 การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยา

นำตัวอย่างเนื้อสุกรจากข้อ 3.5.7 มาทำการตรวจสอบทางจุลชีววิทยาดังนี้

3.5.9.1 ตรวจหาปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* โดยวิธี MPN (FDA , 1992)

3.5.9.2 ตรวจหาปริมาณเชื้อ Aerobic Plate Count โดยวิธี Spread plate (FDA, 1992)

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) version 9.0 โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.5.9 การเตรียมตัวอย่างเนื้อสุกรที่ถ่ายเชื้อ *Staphylococcus aureus*

นำสารละลายเชื้อ *S. aureus* จากข้อ 3.5.2.2 ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.5.6 แต่เปลี่ยนจากเชื้อ *E. coli* เป็นเชื้อ *S. aureus*

3.5.10 การใช้น้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยในการลดปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนผิวเนื้อสุกร

แบ่งตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *S. aureus* จากข้อ 3.5.10 มาแบ่งออกเป็นกลุ่มทดลองเป็น 5 กลุ่ม ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.5.7

3.5.11 การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยา

นำตัวอย่างเนื้อสุกรจากข้อ 3.5.10 มาทำการตรวจสอบทางจุลชีววิทยาดังนี้

3.5.12.1 ตรวจหาปริมาณเชื้อ *S. aureus* โดยวิธี MPN (FDA, 1992)

3.5.12.2 ตรวจหาปริมาณเชื้อ Aerobic Plate Count โดยวิธี Pour plate (FDA, 1992)

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) version 9.0 โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.5.12 ศึกษาผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่เหมาะสมต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างเนื้อสุกร

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบลอคสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยนำเนื้อสุกรจากข้อ 3.5.5 มาแบ่งเป็น 5 กลุ่มการทดลองดังนี้

กลุ่มที่ 1 จุ่มในสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 2 จุ่มในสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 3 จุ่มในสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 4 จุ่มในสารละลายกลีเซอริน 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นกลุ่มควบคุม

กลุ่มที่ 5 ไม่ใช้สารละลายใดๆ เป็นกลุ่มควบคุมอ้างอิง

โดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยระดับเดียวกับผลการศึกษาจากข้อ 3.5.3.1, 3.5.3.2 และ 3.5.3.3 ทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของเนื้อสุกรดิบซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0,1,3 และ

5 วัน ทำการทดสอบทางด้านสี (color) การยอมรับกลิ่นโดยรวม (overall odor) และทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของเนื้อสุกรนึ่งสุกทำการทดสอบด้านกลิ่นรสแปลกปลอม (off-flavor) การยอมรับโดยรวม (overall acceptability) ของตัวอย่างทั้ง 5 กลุ่มการทดลอง ในการทดสอบรสชาติโดยการนำชิ้นเนื้อมาผ่านการนึ่งสุกที่อุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส จนกระทั่งอุณหภูมิภายในชิ้นเนื้อมีค่าประมาณ 70 องศาเซลเซียส ชิ้นเนื้อที่ผ่านการนึ่งต้องอุ่นให้มีอุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการทดสอบชิมและต้องทดสอบภายใน 1 ชั่วโมงภายหลังการทำให้สุก โดยใช้ผู้ทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส 20 คน

ใช้การทดสอบแบบ Different from Control Test นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) version 9.0 โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการลดเชื้อ *E. coli* ในหลอดทดลอง

4.1.1 ผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการลดเชื้อ *E. coli* ในหลอดทดลอง

ผลการศึกษาน้ำสกัดกระเทียมที่ระดับความเข้มข้น 3, 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร / ปริมาตร) ต่อการลดเชื้อ *E. coli* ซึ่งมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 5 log CFU/ml ในอาหารเหลวเพาะเลี้ยงเชื้อ TSB ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าน้ำสกัดกระเทียมทั้งสามระดับความเข้มข้น มีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ *E. coli* ได้ไม่แตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1 โดยในชั่วโมงที่ 6 จำนวนเชื้อ *E. coli* ในหลอดทดลองที่มีน้ำสกัดกระเทียมทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นแตกต่างจากหลอดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และในชั่วโมงที่ 18 ของการทดลอง ตรวจไม่พบเชื้อ *E. coli* ในหลอดทดลองที่มีน้ำสกัดกระเทียมทั้ง 3 ระดับในขณะที่ในหลอดควบคุมมีจำนวนเชื้อ *E. coli* 9.11 logCFU/ml สอดคล้องกับการศึกษาของ Astal (2004) ซึ่งพบว่าน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 μg/ml สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ 41-100 เปอร์เซ็นต์ และน้ำสกัดกระเทียม 100 μg/ml มีประสิทธิภาพคงตัวได้นาน 24-48 ชั่วโมง ส่วนน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 500 และ 1,000 μg/ml มีประสิทธิภาพคงตัวได้นาน 48-72 ชั่วโมง

จากตารางที่ 4.1 พบว่าจำนวนเชื้อ *E.coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีการเติมน้ำสกัดกระเทียม 3, 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์มีความแตกต่างจากหลอดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียม 3, 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์สามารถลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ลงได้ 0.49-9.54, 0.59-9.54 และ 0.59-9.54 logCFU/ml ตามลำดับ และสามารถทำลายเชื้อ *E. coli* ได้หมดภายในเวลา 18 ชั่วโมง โดยความเข้มข้นของน้ำสกัดกระเทียมทั้ง 3 ระดับสามารถลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ จึงเลือกน้ำสกัดกระเทียมที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ไปใช้ในการทดลองในเนื้อสุกรขั้นต่อไป

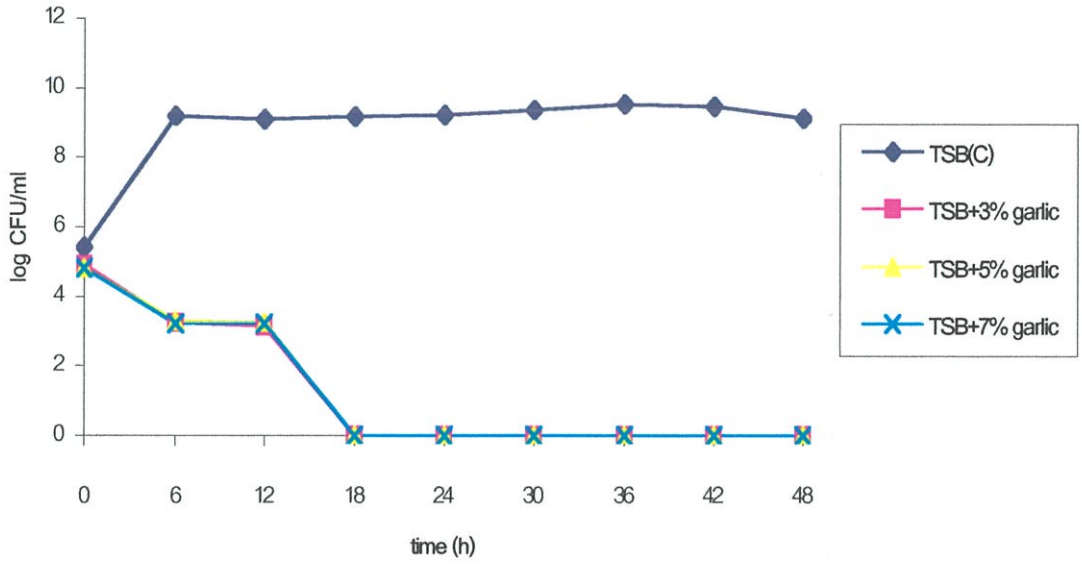
ตารางที่ 4.1 ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ต่อจำนวนเชื้อ *E. coli* ในหลอดทดลอง

เวลา (ชม.)	จำนวนเชื้อ *E. coli* (log CFU/ml) ในหลอดทดลองที่เติมสารละลายความเข้มข้นต่าง ๆ											
	น้ำสกัดกระเทียม (%)				น้ำมันหอมระเหยขิง (%)				น้ำมันหอมระเหยอบเชย (%)			
	0	3	5	7	0	0.3	0.5	0.7	0	0.3	0.5	0.7
0	$5.41\pm0.05^{f}_{w}$	$4.92\pm0.24^{bcd}_{z}$	$4.82\pm0.34^{bcd}_{z}$	$4.82\pm0.33^{bcd}_{z}$	$5.32\pm0.40^{ef}_{x}$	$5.11\pm0.12^{def}_{v}$	$5.03\pm0.14^{cde}_{v}$	$4.70\pm0.13^{bc}_{x}$	$5.18\pm0.02^{def}_{x}$	5.01 ± 0.05^{cde}	4.56 ± 0.12^{b}	ND^{a}
6	$9.22\pm0.14^{f}_{xy}$	$3.25\pm0.09^{b}_{y}$	$3.28\pm0.48^{b}_{y}$	$3.22\pm0.26^{b}_{y}$	$9.10\pm0.87^{f}_{y}$	$7.22\pm0.05^{a}_{w}$	$6.34\pm0.17^{d}_{w}$	$5.20\pm0.19^{c}_{x}$	$9.21\pm0.02^{f}_{y}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND
12	$9.10\pm0.22^{e}_{x}$	$3.15\pm0.58^{b}_{y}$	$3.25\pm0.09^{b}_{y}$	$3.21\pm0.25^{b}_{y}$	$9.22\pm0.30^{e}_{y}$	$8.95\pm0.14^{e}_{z}$	$8.17\pm0.19^{d}_{xyz}$	$7.63\pm0.28^{c}_{y}$	$9.24\pm0.04^{e}_{y}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND
18	$9.18\pm0.09^{e}_{x}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	$9.32\pm0.02^{e}_{y}$	$8.48\pm0.17^{b}_{yz}$	$8.49\pm0.34^{b}_{z}$	$8.43\pm0.04^{b}_{z}$	$9.25\pm0.04^{e}_{y}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND
24	$9.22\pm0.06^{e}_{xy}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	$8.86\pm0.86^{e}_{y}$	$8.06\pm0.10^{b}_{xy}$	$7.92\pm0.51^{b}_{xyz}$	$8.31\pm0.29^{b}_{z}$	$10.27\pm0.02^{d}_{z}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND
30	$9.36\pm0.21^{e}_{xyz}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	$9.57\pm0.36^{cd}_{y}$	$8.05\pm0.30^{b}_{xy}$	$7.76\pm0.62^{b}_{xy}$	$8.07\pm0.46^{b}_{yz}$	$9.93\pm0.60^{d}_{z}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND
36	$9.54\pm0.18^{e}_{z}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	9.08 ± 0.62^{cy}	$8.05\pm0.22^{b}_{xy}$	$8.29\pm0.18^{b}_{yz}$	$7.90\pm0.66^{b}_{yz}$	$9.32\pm0.06^{e}_{y}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND
42	$9.47\pm0.13^{e}_{yz}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	$9.68\pm0.10^{e}_{y}$	$7.65\pm0.61^{b}_{wx}$	$7.63\pm0.33^{b}_{x}$	$7.58\pm0.31^{b}_{y}$	$10.19\pm0.04^{d}_{z}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND
48	$9.11\pm0.08^{f}_{x}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	$9.37\pm0.31^{f}_{y}$	$7.46\pm0.43^{b}_{w}$	$8.22\pm0.25^{d}_{xyz}$	$7.86\pm0.29^{c}_{yz}$	$8.58\pm0.12^{e}_{x}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND

ND = not detected

* อักษร a b c d e และ f ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) เป็นการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อที่ระยะเวลาเดียวกันแต่ระดับสารละลายและชนิดแตกต่างกัน

* อักษร v w x y และ z ที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) เป็นการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อที่สารละลายชนิดเดียวกันแต่เวลาแตกต่างกัน



ภาพที่ 4.1 แสดงจำนวนเชื้อ *E. coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 3,5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ภายหลังจากการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

TSB (C) = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่ไม่มีการเติมน้ำสกัดกระเทียม

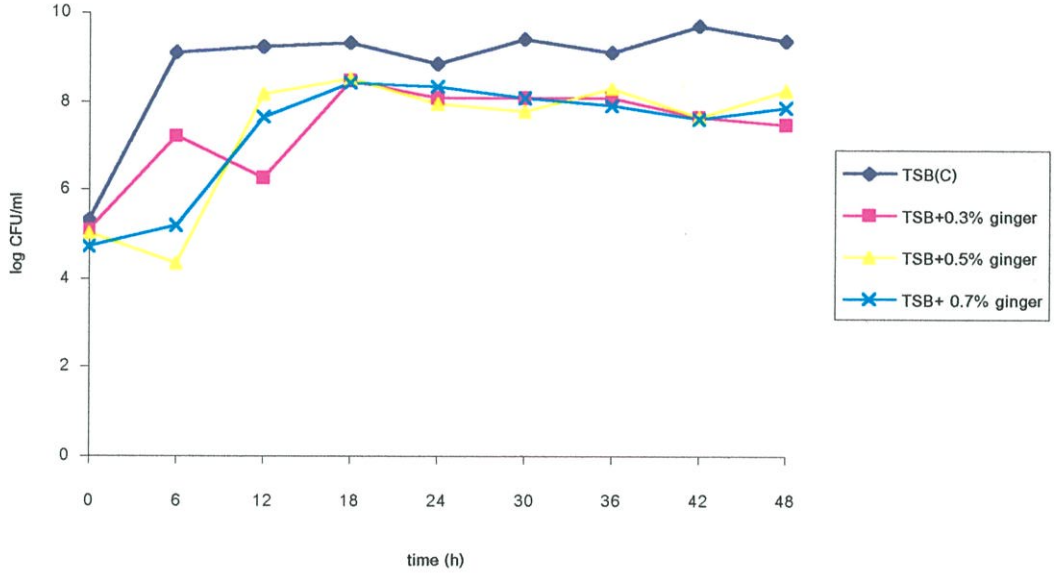
TSB+3% garlic = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์

TSB+5% garlic = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์

TSB+7% garlic = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์

4.1.2 ผลของน้ำมันหอมระเหยขิงต่อการลดเชื้อ *E. coli* ในหลอดทดลอง

ผลการศึกษาน้ำมันหอมระเหยขิงที่ระดับความเข้มข้น 0.3, 0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) ต่อการลดเชื้อ *E. coli* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 5 log CFU/ml พบว่าน้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* แต่ไม่สามารถทำลายเชื้อ *E. coli* ได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 แสดงจำนวนเชื้อ *E. coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยขิงที่ระดับความเข้มข้น 0.3, 0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

TSB (C) = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่ไม่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยขิง

TSB+0.3% ginger = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยขิงที่ระดับความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์

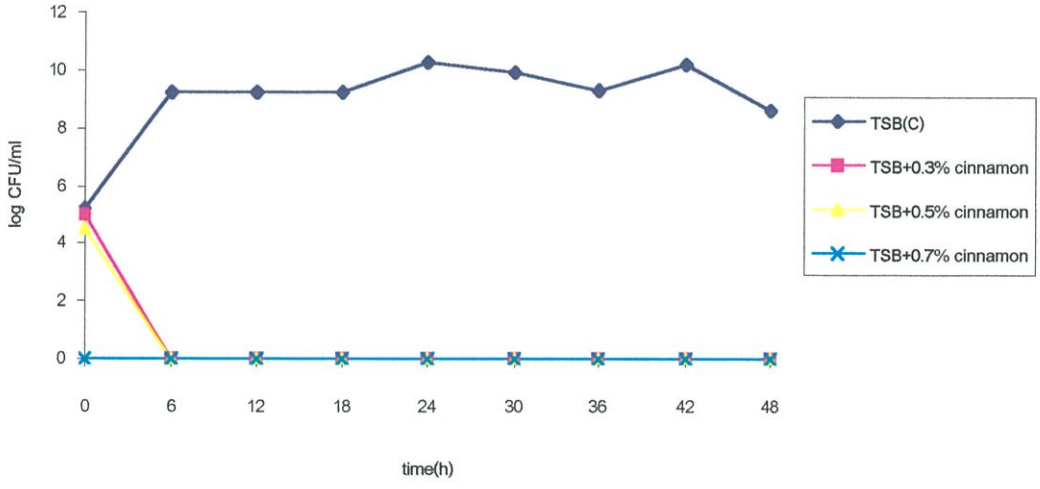
TSB+0.5% ginger = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยขิงที่ระดับความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์

TSB+0.7% ginger = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยขิงที่ระดับความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซ็นต์

จากตารางที่ 4.1 พบว่าจำนวนเชื้อ *E. coli* ในอาหารเหลวเพาะเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3, 0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างจากหลอดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) พบว่าน้ำมันหอมระเหยขิงทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ไม่แตกต่างกัน ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 18 ไปจนถึงชั่วโมงที่ 48 ของการทดลอง จึงเลือกน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ไปใช้ในการทดลองในเนื้อสุกรขั้นตอนต่อไป น้ำมันหอมระเหยขิงประกอบด้วยสารประกอบหลักที่สำคัญได้แก่ ลินาลูล (Parry, 1962) ซิตรอล (Martins *et al*, 2001) เป็นสารสำคัญในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ สอดคล้องกับการรายงานของ Martins และคณะ (2001) ที่พบว่าน้ำมันหอมระเหยขิงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *E. coli* ได้

4.1.3 ผลของน้ำมันหอมระเหยอบเชยต่อการลดเชื้อ *E. coli* ในหลอดทดลอง

จากการศึกษาน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 0.3, 0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) ในหลอดทดลองที่มีเชื้อ *E. coli* ประมาณ 10^5 CFU/ml ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ต่อการลดเชื้อ *E. coli* พบว่าในหลอดทดลองที่มีน้ำมันหอมระเหยอบเชยทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น สามารถทำลายเชื้อ *E. coli* ได้ที่เวลา 6 ชั่วโมงจนถึง 48 ชั่วโมง ขณะที่ในหลอดควบคุมมีจำนวนเชื้อ *E. coli* ในเวลา 48 ชั่วโมง คือ 8.58 log CFU/ml ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 แสดงจำนวนเชื้อ *E. coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยอบเชยระดับความเข้มข้น 0.3,0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

TSB (C) = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่ไม่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยอบเชย

TSB+3% cinnamon = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์

TSB+5% cinnamon = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์

TSB+7% cinnamon = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซ็นต์

จากตารางที่ 4.1 พบว่าจำนวนเชื้อ *E. coli* ในอาหารเหลวเพาะเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3, 0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างจากหลอดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยอาหารเหลวเพาะเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้ 0.17–10.27 และ 0.62–10.27 log CFU/ml อาหารเหลวเพาะเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.7 เปอร์เซ็นต์ สามารถ

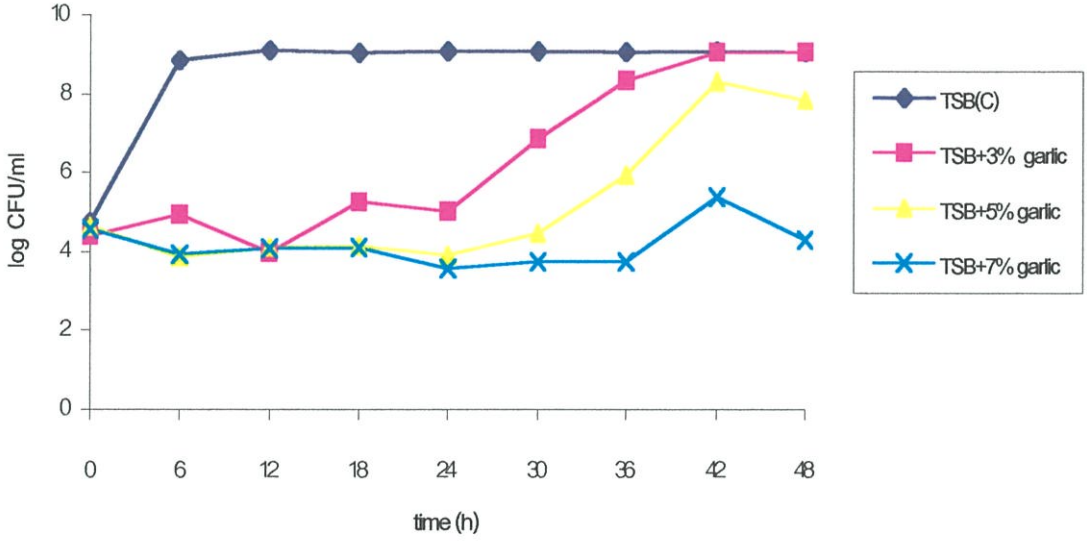
ทำลายเชื้อ *E. coli* ได้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และพบว่าในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำมันหอมระเหยอบเชยทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น สามารถลดจำนวน *E. coli* ได้ ไม่แตกต่างกัน จึงเลือกน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ในการทดลองในเนื้อสุกรขั้นต่อไป ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Chang และคณะ (2001) ที่พบว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของการยับยั้ง (MIC) 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับการทดลองของ Kim และคณะ (2004) ที่ว่าสารซินนามิคอัลดีไฮด์ที่สกัดได้จากรากอบเชยความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* 0157:H7 ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น $4.7x10^9$ CFU/ml ลดลงเหลือ $1.0x10^2$ CFU/ml หลังจากเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมงและสารซินนามิคอัลดีไฮด์ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้หมดภายในเวลา 2 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าสารซินนามิคอัลดีไฮด์ในน้ำมันหอมระเหยอบเชยสามารถเป็นสารในการยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ได้

4.2 ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆต่อการลดเชื้อ *S. aureus* ในหลอดทดลอง

4.2.1 ผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการลดจำนวนเชื้อ *S. aureus* ในหลอดทดลอง

จากการศึกษาผลของน้ำสกัดกระเทียมที่ระดับความเข้มข้น 3, 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) ต่อการลดจำนวนเชื้อ *S. aureus* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 5 log CFU/ ml ในอาหารเหลวเพาะเลี้ยงเชื้อ TSB ภายหลังจากการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าน้ำสกัดกระเทียมที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ที่เวลา 0 ถึง 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นปริมาณจะเพิ่มจำนวนสูงขึ้นตามระยะเวลาของการบ่ม และที่เวลา 48 ชั่วโมงจำนวนเชื้อเท่ากับ 9.05 log CFU/ml ส่วนหลอดทดลองที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งสามารถการเจริญเติบโตของเชื้อได้ที่เวลา 0 ถึง 24 ชั่วโมง โดยมีปริมาณเชื้อจำนวน 3.92 log CFU/ml ในขณะที่น้ำสกัดกระเทียมที่มีความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ที่เวลา 0 ถึง 36 ชั่วโมง น้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้มากกว่าน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์และความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของอดิศร (2542) ซึ่งพบว่าในอาหารเหลว TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้เร็วกว่าที่ความเข้มข้น 1 และ 3 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับผลการศึกษาของธีรพร (2538) ที่ใช้กระเทียมผง 12 เปอร์เซ็นต์ ลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* 10^3และ 10^5 CFU/ml ลงได้ 58.19 และ 57.58 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และ Astal (2004) ซึ่งพบว่า

น้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 100,500 และ 1,000 μg/ml สามารถยับยั้งปริมาณเชื้อ *S. aureus* ได้ 24-100 เปอร์เซ็นต์และน้ำสกัดกระเทียม 100 μg/ml มีประสิทธิภาพคงตัวได้นาน 24 - 48 ชั่วโมง ส่วนน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 500 และ 1,000 μg/ml มีประสิทธิภาพคงตัวได้นาน 48-72 ชั่วโมง เนื่องจากน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 3, 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) จึงเลือกน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์มาใช้ในเนื้อสุกรในขั้นตอนต่อไป ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 แสดงจำนวนเชื้อ *S. aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 3,5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ภายหลังจากการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

TSB (C) = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่ไม่มีการเติมน้ำสกัดกระเทียม

TSB+3% garlic = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์

TSB+5% garlic = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์

TSB+7% garlic = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.2 ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ต่อจำนวนเชื้อ *S. aureus* ในหลอดทดลอง

เวลา (ชม.)	จำนวนเชื้อ *S. aureus* (log CFU/ml) ในหลอดทดลองที่เติมสารละลายความเข้มข้นต่าง ๆ											
	น้ำสกัดกระเทียม (%)				น้ำมันหอมระเหยขิง (%)				น้ำมันหอมระเหยอบเชย (%)			
	0	3	5	7	0	0.3	0.5	0.7	0	0.3	0.5	0.7
0	$4.75\pm0.11^{a}_{x}$	$4.40\pm0.20^{cd}_{u}$	$4.64\pm0.10^{a}_{x}$	$4.57\pm0.10^{de}_{y}$	$4.77\pm0.12^{a}_{x}$	$4.69\pm0.02^{a}_{y}$	$4.66\pm0.06^{a}_{y}$	$4.56\pm0.03^{de}_{y}$	$4.31\pm0.07^{c}_{u}$	$4.03\pm0.10^{b}_{y}$	$4.22\pm0.03^{bc}_{y}$	$3.39\pm0.21^{a}_{y}$
6	$8.85\pm0.11^{a}_{y}$	$4.94\pm0.18^{c}_{v}$	$3.87\pm0.06^{b}_{x}$	$3.94\pm0.04^{b}_{vw}$	$8.23\pm0.26^{d}_{y}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	$8.90\pm0.12^{a}_{v}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}
12	$9.10\pm0.10^{d}_{z}$	$3.97\pm0.10^{b}_{t}$	$4.10\pm0.09^{c}_{x}$	$4.08\pm0.02^{c}_{wx}$	$9.10\pm0.06^{d}_{z}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	$9.08\pm0.0^{d}_{xy}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}
18	$9.03\pm0.07^{d}_{z}$	$5.26\pm0.03^{c}_{w}$	$4.14\pm0.04^{b}_{x}$	$4.11\pm0.09^{b}_{wx}$	$9.01\pm0.03^{d}_{z}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	$8.98\pm0.03^{d}_{vw}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}
24	$9.09\pm0.08^{a}_{z}$	$5.03\pm0.07^{d}_{v}$	$3.92\pm0.06^{c}_{x}$	$3.56\pm0.05^{b}_{u}$	$9.07\pm0.01^{a}_{z}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	$9.05\pm0.03^{a}_{wx}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}
30	$9.09\pm0.09^{a}_{z}$	$6.85\pm0.13^{d}_{x}$	$4.47\pm0.03^{c}_{x}$	$3.75\pm0.12^{b}_{uv}$	$9.15\pm0.06^{a}_{z}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	$9.17\pm0.01^{a}_{yz}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}
36	$9.05\pm0.14^{a}_{z}$	$8.34\pm0.06^{d}_{y}$	$5.93\pm0.08^{c}_{y}$	$3.75\pm0.25^{b}_{uv}$	$9.13\pm0.02^{a}_{z}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	$9.17\pm0.01^{a}_{yz}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}
42	$9.08\pm0.08^{d}_{z}$	$9.06\pm0.06^{a}_{z}$	$8.31\pm0.17^{c}_{z}$	$5.39\pm0.16^{b}_{z}$	$9.11\pm0.04^{a}_{z}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	$9.15\pm0.04^{a}_{yz}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}
48	$9.05\pm0.06^{d}_{z}$	$9.05\pm0.06^{d}_{z}$	$7.84\pm0.22^{c}_{z}$	$4.29\pm0.18^{b}_{x}$	$9.09\pm0.04^{d}_{z}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	$9.19\pm0.01^{d}_{z}$	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}	ND^{a}_{x}

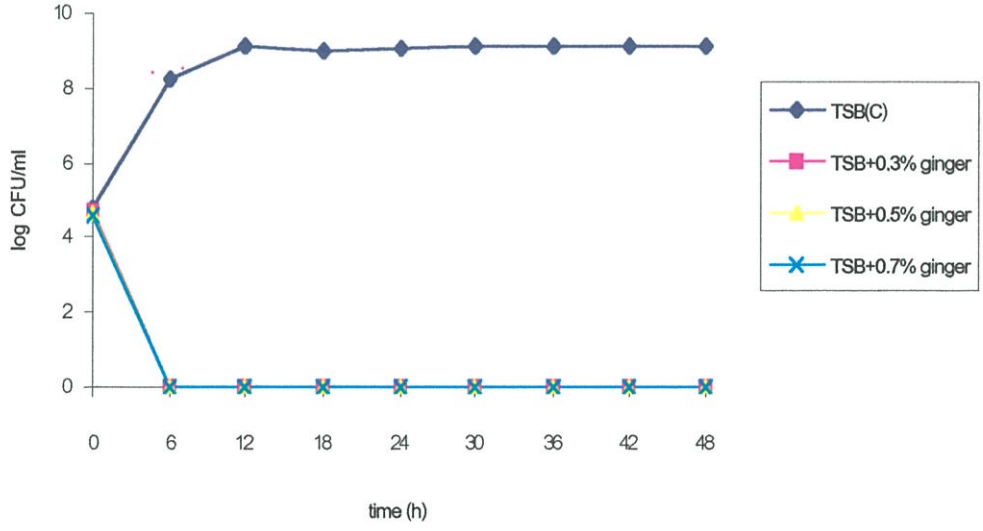
ND = not detected

* อักษร a b c d และ e ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) เป็นการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อที่ระยะเวลาเดียวกันแต่ระดับสารละลายและชนิดแตกต่างกัน

* อักษร t u v w x y และ z ที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) เป็นการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อที่สารละลายชนิดเดียวกันแต่เวลาแตกต่างกัน

4.2.2 ผลของน้ำมันหอมระเหยขิงต่อการลดเชื้อ *S. aureus* ในหลอดทดลอง

จากการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยขิงที่ระดับความเข้มข้น 0.3 , 0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์(ปริมาตร/ปริมาตร) ต่อการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 5 log CFU/ml ในอาหารเหลวเพาะเลี้ยงเชื้อ TSB ภายหลังจากการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าหลอดทดลองที่มีน้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นสามารถทำลายเชื้อ *S. aureus* ลงได้ภายในเวลาชั่วโมงที่ 6 ไปจนถึงชั่วโมงที่ 48 ในขณะที่ในหลอดควบคุมมีจำนวนเชื้อ *S. aureus* คือ 8.23 log CFU/ml ดังแสดงในภาพที่ 4.5



ภาพที่ 4.5 แสดงจำนวนเชื้อ *S. aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยขิงที่ระดับความเข้มข้น 0.3,0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

TSB (C) = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่ไม่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยขิง

TSB+3% ginger = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยขิงที่ระดับความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์

TSB+5% ginger = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยขิงที่ระดับความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์

TSB+7% ginger = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยขิงที่ระดับความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซ็นต์

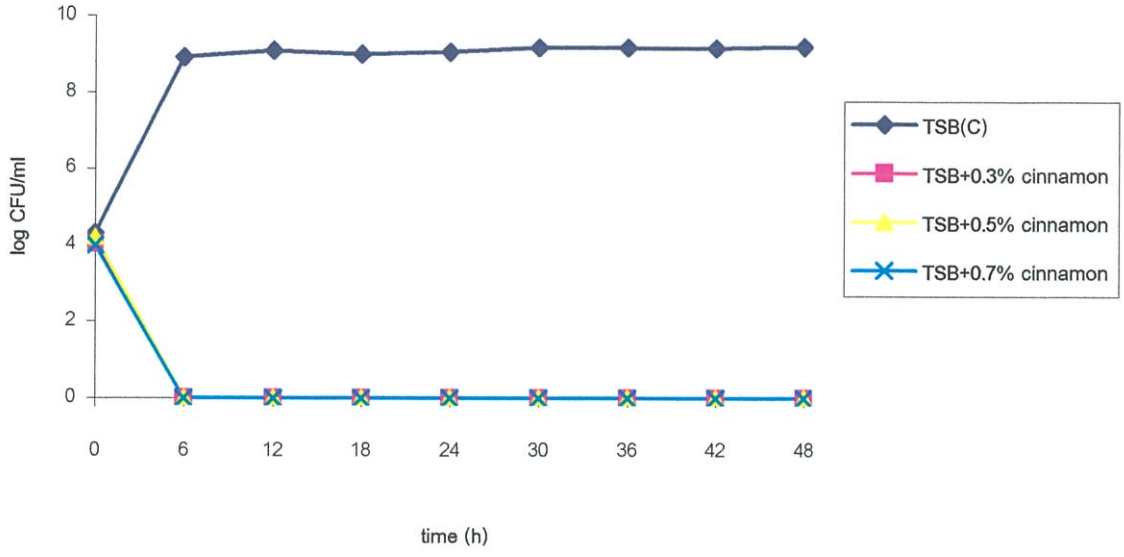
จากตารางที่ 4.2 จำนวนเชื้อ *S. aureus* ในอาหารเหลวเพาะเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3,0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างจากหลอดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยอาหารเหลวเพาะเลี้ยงเชื้อ TSB ที่เติมน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3, 0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* เมื่อเทียบกับหลอดควบคุมได้

0.08-9.15, 0.11-9.15 และ 0.21-9.15 log CFU/ml ตามลำดับ พบว่าน้ำมันหอมระเหยขิงทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นสามารถลดเชื้อ *S. aureus* ได้ไม่แตกต่างกัน จึงเลือกน้ำมันหอมระเหยขิงความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์มาใช้ในเนื้อสุกรขั้นตอนต่อไป ในน้ำมันหอมระเหยขิงประกอบไปด้วยสารประกอบหลักที่สำคัญได้แก่ลินาลูล (linalool) (Parry,1962) ซิตรอล (citrol) (Martins *et al*, 2001) ซึ่งเป็นสารสำคัญในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ สอดคล้องกับรายงานของ Martins และคณะ (2001) ที่ว่าน้ำมันหอมระเหยขิงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบรวมถึงยีสต์และรา และจากการศึกษาด้วยวิธี agar diffusion พบว่าน้ำมันหอมระเหยขิงยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าเชื้อ *E. coli*

4.2.3 ผลของน้ำมันหอมระเหยอบเชยต่อการลดเชื้อ *S. aureus* ในหลอดทดลอง

จากการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 0.3,0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์(ปริมาตร/ปริมาตร) ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ต่อการลดเชื้อ *S. aureus* ซึ่งมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 5 log CFU/ml พบว่าในหลอดทดลองที่มีน้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นสามารถทำลายเชื้อ *S. aureus* ได้ในชั่วโมงที่ 6 ไปจนถึงชั่วโมงที่48 ขณะที่ในหลอดควบคุมมีจำนวนเชื้อ *S. aureus* ในเวลาชั่วโมงที่ 48 สูงถึง 9.19 log CFU/ml ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.6

จากตารางที่ 4.2 จำนวนเชื้อ *S. aureus* ในอาหารเหลวเพาะเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3, 0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างจากหลอดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยอาหารเหลวเพาะเลี้ยงเชื้อ TSB ที่เติมน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3, 0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* เมื่อเทียบกับหลอดควบคุมได้ 0.28-9.19, 0.09-9.19 และ 0.92-9.19 log CFU/ml ตามลำดับ พบว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชยทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นสามารถลดเชื้อ *S. aureus* ได้ไม่แตกต่างกัน จึงเลือกน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์มาใช้ในเนื้อสุกรในการทดลองขั้นต่อไป น้ำมันหอมระเหยอบเชยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ เช่นเดียวกับการทดลองของ Chao และคณะ (2000) และสอดคล้องกับการศึกษาของ Chang และคณะ (2000) ซึ่งพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากต้นอบเชยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของการยับยั้ง (MIC) ของเชื้อ *S. aureus* เป็น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 4.6 แสดงจำนวนเชื้อ *S. aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยอบเชยระดับความเข้มข้น 0.3,0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

TSB (C) = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่ไม่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยอบเชย

TSB+0.3% cinnamon = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์

TSB+0.5% cinnamon = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์

TSB+0.7% cinnamon = อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซ็นต์

จากผลการทดลองข้อ 4.1.1 และ 4.2.1 พบว่าน้ำสกัดกระเทียมมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ การที่น้ำสกัดกระเทียมสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้เนื่องจากในกระเทียมมีสารอัลลิอิน (alliin) เมื่อกระเทียมถูกทำให้เซลล์แตกเอนไซม์อัลลิอิเนส (alliinase) (E.C. 4.4.1.4) จะเปลี่ยนอัลลิอินไปเป็นอัลลิซิน (allicin) (Willis, 1956 ; Jan *et al*, 1997) ซึ่งอัลลิซินจะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจ เช่น อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ฟอสเฟตดีไฮโดรจิเนส อะเซทธิลโคเอซินธีเตส ซัคซินิคดีไฮโดรจิเนส และเฮกโซไคเนส เป็นต้น หรือไปยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของเซลล์ เช่น อาร์เอ็นเอโพลี-เมอเรส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง RNA เป็นผลทำให้จุลินทรีย์ถูกทำลาย (Elsom *et al* , 2000 ; Maidment *et al*, 1998)

น้ำสกัดกระเทียมต้องใช้เวลา 6 ชั่วโมงจึงจะสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ดังแสดงในภาพที่ 4.1 และ 4.4 ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์อัลลิอิเนสต้องการเวลา 6 ชั่วโมงกว่าที่จะไปทำปฏิกิริยากับอัลลิอินเพื่อเปลี่ยนไปเป็นอัลลิซิน (Jan *et al*, 1997) จากตารางที่ 4.1 จะพบว่าน้ำสกัดกระเทียมสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ดีกว่า *S. aureus* ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Won และคณะ (1997) ที่ว่าน้ำสกัดกระเทียมสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งน่าจะมาจากว่าแบคทีเรียแกรมลบทุกชนิดมีเนื้อเยื่อชั้นนอก (outer membrane) ซึ่งทำให้มีพื้นผิวที่ชอบน้ำ (hydrophilic) แบคทีเรียแกรมลบมีโมเลกุลของลิโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysac charide ; LPS) อยู่ ทำให้สารละลายที่ชอบน้ำสามารถผ่านเนื้อเยื่อชั้นนอกทางโปรตีนพอริน (porin protein) ซึ่งโปรตีนพอรินนี้เป็นส่วนที่ช่วยให้สารละลายผ่านเข้าออกเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกได้ (Helander *et al*, 1998)

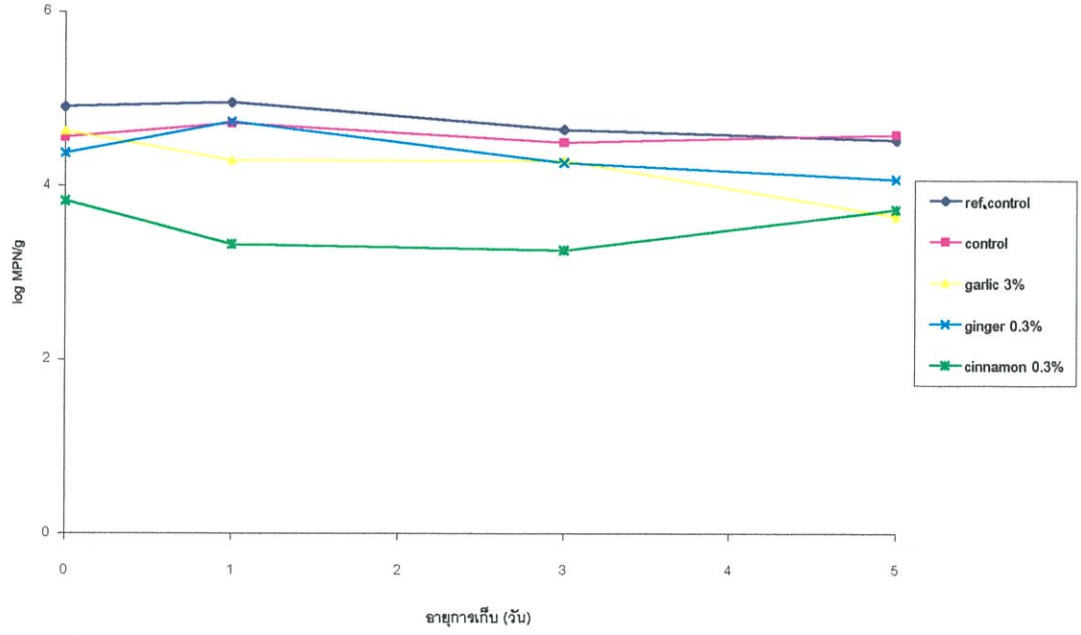
จากผลการทดลองในข้อ 4.1.2 และ 4.2.2 พบว่าน้ำมันหอมระเหยขิงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ภายหลังจากการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลานาน 6 ชั่วโมง สอดคล้องกับการทดลองของ Martins และคณะ (2001) ซึ่งรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากขิงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ เมื่อศึกษาโดยวิธี agar diffusion พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขิง 15 μl/disc มีผลในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* โดยมีขอบเขตการยับยั้ง (Inhibition zone) คือ 15 และ 18 มิลลิเมตร ตามลำดับ จากตารางที่ 4.1 จะพบว่าน้ำมันหอมระเหยขิงยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้มากกว่าเชื้อ *E. coli* เช่นเดียวกับการศึกษาของ Palmer และคณะ (1998) ที่พบว่าโดยทั่วไปน้ำมันหอมระเหยมีค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกน้อยกว่าแบคทีเรียแกรมลบ การที่น้ำมันหอมระเหยขิงสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้เนื่องจากในน้ำมันหอมระเหยขิงมีลินาลูล เมธิลอัลลีนซัลไฟด์ เอธิลไอโซโปรปีลซัลไฟด์และแอลฟา-เทอร์ไปนีอัล ซิตรอล (citral), 1,8 ไซนีโอล (1,8 cineole), แอลฟา-เทอร์ไปนีอัล (α-terpineol), ลินาลูล (linalool) และเบตา-ไปนีน (β-pinene) โดยพบว่าซิตรอลมีบทบาทในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด (Parry, 1962 ; Martins *et al* ,2001)

จากผลการทดลองในข้อ 4.1.3 และ 4.2.3 จะเห็นได้ว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ภายหลังจากการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลานาน 0 และ 6 ชั่วโมงตามลำดับ และสามารถทำลายเชื้อทั้งสองนี้ได้หลังระยะเวลา 6 ชั่วโมงเป็นต้นไป การที่น้ำมันหอมระเหยอบเชยสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้เนื่องจากสารซินนามิคอัลดีไฮด์ที่พบปริมาณมากที่สุด 65-70 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ยูจีนอล 10 –12 เปอร์เซ็นต์ สารซินนามิคอัลดีไฮด์จะเข้าใกล้เยื่อหุ้มเซลล์และเข้าไปเป็นส่วนหนึ่งของเซลล์ทำให้เยื้อหุ้มเซลล์แตกสลาย ดังแสดงในภาพที่ 2.2 เซลล์ *E. coli* 0157:H7 ที่ผ่านการให้สารซินนา-

มิคอัลดีไฮด์ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง ลักษณะโครงสร้างของพื้นที่ผิวถูกทำลาย (B) เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่ไม่ผ่านการให้สารซินนามิคอัลดีไฮด์เซลล์จะมีพื้นที่ผิวเรียบ (A) และเช่นเดียวกับเซลล์ *S. aureus* ที่แสดงในภาพที่ 2.3 ความสามารถในการผ่านเข้าออก ของ ATP ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์มากขึ้น ATP ภายในเซลล์ลดลง ATP ภายนอกเซลล์เพิ่มมากขึ้น มีการใช้ ATP ภายในเซลล์จนหมด (Helander *et al*, 1998) ส่วนยูจีนอลจะทำลายโปรตีนภายในเซลล์และทำให้เกิดการบาดเจ็บที่เยื่อหุ้มเซลล์ ส่วนประกอบภายในเซลล์ไหลออกนอกเซลล์ (John *et al*, 1989)

4.3 ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่มีต่อเชื้อ *E. coli* บนผิวเนื้อสุกร

ผลการตรวจหาเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างเนื้อสุกรซึ่งมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^5 CFU/ml ที่ผ่านการจุ่มในสารละลายกลีเซอริน 5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) น้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) น้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) และน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 1, 3 และ 5 วัน จำนวนเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายต่างๆ แสดงดังตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.7



ภาพที่ 4.7 แสดงจำนวนเชื้อ *E. coli* ในเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E. coli* และผ่านการจุ่มสารละลายต่างๆ ภายหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส

ref. control = ชิ้นเนื้อที่ไม่ผ่านการจุ่มสารละลายใดๆ
control = ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มสารละลายกลีเซอริน 5เปอร์เซ็นต์
garlic 3% = ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 3 เปอร์เซ็นต์
ginger 0.3% = ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์
cinnamon 0.3% = ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.3 แสดงจำนวนเชื้อ *E. coli* ในเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารต่างๆ ภายหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน

ระยะเวลาการเก็บ	จำนวนเชื้อ *E. coli* (log MPN/g)				
(วัน)	ref control	control	Garlic 3%	Ginger 0.3%	Cinnamon 0.3%
0	$4.91\pm0.22_{x}^{c}$	$4.56\pm0.15_{x}^{bc}$	$4.63\pm0.36_{y}^{bc}$	$4.38\pm0.00_{xy}^{b}$	$3.83\pm0.30_{x}^{a}$
1	$4.96\pm0.08_{x}^{c}$	$4.72\pm0.29_{x}^{bc}$	$4.29\pm0.23_{xy}^{b}$	$4.74\pm0.26_{y}^{c}$	$3.33\pm0.25_{x}^{a}$
3	$4.65\pm0.35_{x}^{b}$	$4.50\pm0.54_{x}^{b}$	$4.29\pm0.23_{xy}^{b}$	$4.27\pm0.19_{xy}^{b}$	$3.26\pm0.69_{x}^{a}$
5	$4.53\pm1.42_{x}^{a}$	$4.59\pm1.29_{x}^{a}$	$3.65\pm0.51_{x}^{a}$	$4.08\pm0.44_{x}^{a}$	$3.73\pm0.59_{x}^{a}$

ตัวอักษร a, b และ c ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบผลของการลดเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างที่อายุการเก็บเดียวกัน

ตัวอักษร x และ y ที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเชื้อ *E. coli* ในกลุ่มสารละลายเดียวกันเมื่อระยะเวลาเก็บนานขึ้น

พบว่าสารละลายกลีเซอริน 5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) ไม่มีผลในการลดเชื้อ *E. coli* ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 5 วัน โดยมีปริมาณเชื้อ *E. coli* ไม่แตกต่างจากเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง เช่นเดียวกับการศึกษาของ Gomes และคณะ (2002) ซึ่งพบว่ากลีเซอรินไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis* และ *Candida albicans* ได้

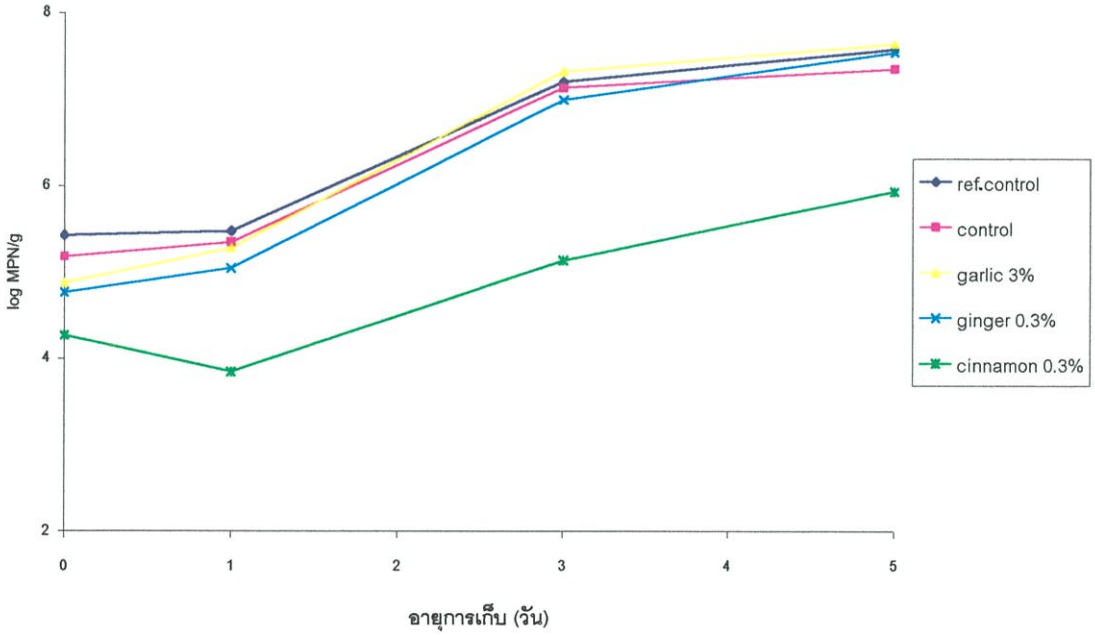
สารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์มีประสิทธิภาพในการลดเชื้อได้ดีที่สุด โดยมีปริมาณเชื้อน้อยกว่าเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิงและกลุ่มควบคุม 0.80–0.63 และ 0.73-1.39 log CFU/g โดยในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มในสารละลายน้ำมันอบเชยและสารละลายน้ำมันขิงมีปริมาณเชื้อ *E. coli* น้อยกว่าเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง 1.08 และ 0.53 log CFU/g ตามลำดับ เนื้อสุกรกลุ่มควบคุมและเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 3 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อ *E. coli* ไม่แตกต่างจากเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในวันที่ 1 ของการเก็บรักษาเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มในสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์และสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 3 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณเชื้อ *E. coli* น้อยกว่าเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ซึ่งมีปริมาณเชื้อน้อยกว่าเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง 1.03 และ 0.67 log CFU/g ตามลำดับ ส่วนเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มในสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณเชื้อ *E. coli* ไม่แตกต่างจากเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิงและเนื้อสุกรกลุ่มควบคุม ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณเชื้อ *E. coli* แตกต่างจากเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง เนื้อสุกรกลุ่มควบคุม เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 3 เปอร์เซ็นต์และเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และในวันที่ 5 ของการเก็บรักษาเนื้อสุกรทั้ง 5 กลุ่มทดลองมีปริมาณเชื้อ *E. coli* ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เช่นเดียวกับการทดลองของ Moleyar และ Narasimham (1992) ซึ่งพบว่าสารซินนามิคอัลดีไฮด์ซึ่งเป็นสารประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยอบเชยเป็นสารประกอบที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อใช้ความเข้มข้น 500 μg/ml สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้นานมากกว่า 30 วัน และสอดคล้องกับการผลการทดลองของ Mau และคณะ (2001) ที่ทดสอบประสิทธิภาพของสารสารสกัดและส่วนผสมของสารสกัดจากพืช 3 ได้แก่ ต้นหอมจีน (CC) สารสกัดจากอบเชย (CI) สารสกัดจากผลคอร์นิ (CF) ส่วนผสมของสารสกัดต้นหอมจีนและอบเชย 1:1 (ปริมาตร/ปริมาตร) (M1) ส่วนผสมของสารสกัดต้นหอมจีนและผลคอร์นิ 1:1 (ปริมาตร/ปริมาตร) (M2) ส่วนผสมของสารสกัดอบเชยและผลคอร์นิ 1:1 (ปริมาตร/ปริมาตร) (M3) และส่วนผสมของสารสกัดต้นหอมจีน อบเชยและผลคอร์นิ 1:1:1(ปริมาตร/ปริมาตร/ปริมาตร) (M4) ในเนื้อสุกรพบว่าส่วนผสมสารสกัดต้นหอมจีน อบเชยและผลคอร์นิ อัตราส่วน 1:1:1ที่ 0.2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/

ปริมาตร) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อมากกว่าสารโปแตสเซียมซอร์เบท 0.2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร)

ผลของระยะเวลาการเก็บต่อเชื้อ *E. coli* ดังแสดงในตารางที่ 4.3 พบว่าตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 5 วัน ปริมาณของเชื้อ *E. coli* ของเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง เนื้อสุกรกลุ่มควบคุมเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มในสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ส่วนเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มน้ำสกัดกระเทียม 3 เปอร์เซ็นต์และสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเชื้อมีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากน้ำสกัดกระเทียมและน้ำมันหอมระเหยขิงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้น้อยกว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชย

4.4 ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่มีต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) บนผิวเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *Escherichia coli*

จากการตรวจหาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อสุกรที่ไม่ผ่านการจุ่มสารละลายใดๆ เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายกลีเซอริน 5 เปอร์เซ็นต์ สารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์และสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 3 และ 5 วัน จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดแสดงดังตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.8



ภาพที่ 4.8 แสดงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E. coli* และผ่านการจุ่มในสารละลายชนิดต่างๆ ภายหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส

ref. control = ชิ้นเนื้อที่ไม่ผ่านการจุ่มสารละลายใดๆ
control = ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มสารละลายกลีเซอริน 5เปอร์เซ็นต์
garlic 3% = ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 3 เปอร์เซ็นต์
ginger 0.3 = ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์
cinnamon 0.3% = ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.4 แสดงจำนวน Total plate count ในเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E. coli* และผ่านการจุ่มสารต่างๆ ภายหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน

ระยะเวลาการเก็บ	จำนวน Total plate count (log CFU/g)				
(วัน)	ref control	control	Garlic 3%	Ginger 0.3%	Cinnamon 0.3%
0	$5.43\pm0.54_{x}^{c}$	$5.18\pm0.18_{x}^{bc}$	$4.88\pm1.55_{x}^{abc}$	$4.77\pm0.25_{x}^{ab}$	$4.27\pm0.40_{x}^{a}$
1	$5.48\pm0.05_{x}^{c}$	$5.35\pm0.11_{x}^{c}$	$5.28\pm0.20_{x}^{c}$	$5.05\pm0.02_{x}^{b}$	$3.85\pm0.06_{w}^{a}$
3	$7.21\pm0.36_{y}^{b}$	$7.14\pm0.25_{y}^{b}$	$7.33\pm0.43_{y}^{b}$	$7.00\pm0.29_{y}^{b}$	$5.14\pm0.17_{y}^{a}$
5	$7.59\pm0.13_{y}^{b}$	$7.36\pm0.43_{y}^{b}$	$7.65\pm0.31_{y}^{b}$	$7.55\pm0.24_{z}^{b}$	$5.94\pm0.05_{z}^{a}$

ตัวอักษร a,b และ c ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบผลของการลดจำนวนเชื้อ Total plate count ในตัวอย่างที่อายุการเก็บเดียวกัน

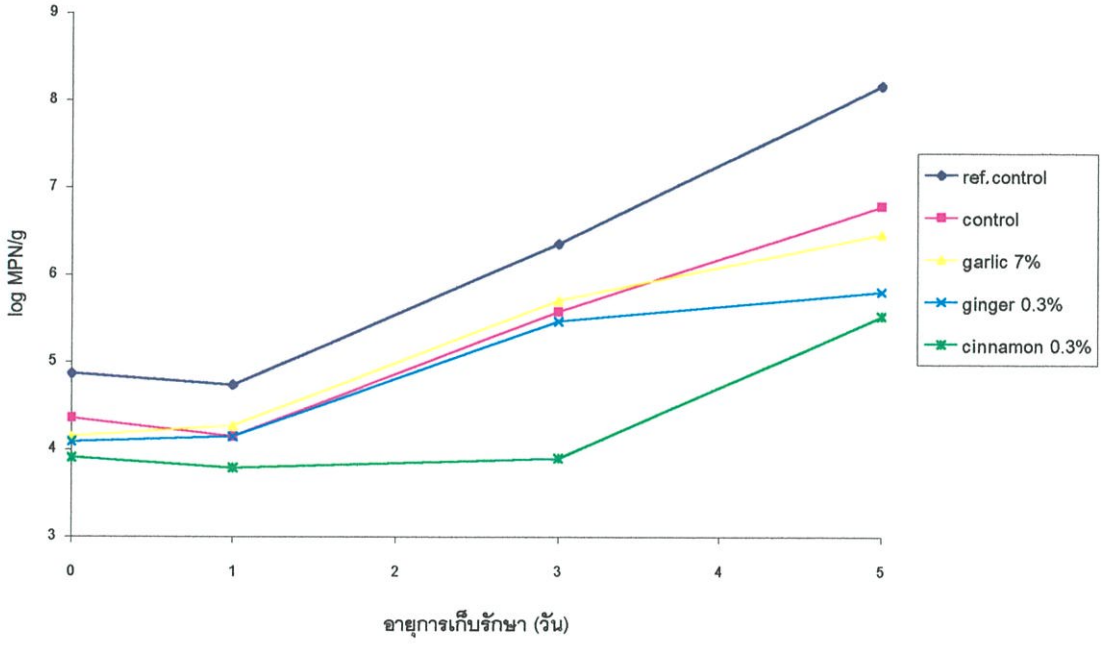
ตัวอักษร w,x,y และ z ที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบจำนวน Total plate count ในกลุ่มสารละลายเดียวกันเมื่อระยะเวลาเก็บนานขึ้น

พบว่าสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ดีที่สุด โดยมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดแตกต่างจากเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) คือ 1.16-2.07 log CFU/g ส่วนเนื้อสุกรกลุ่มควบคุม เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 3 เปอร์เซ็นต์และเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการเก็บ 5 วัน โดยมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดแตกต่างจากเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิงคือ 0.07-0.25, 0.06-0.55 และ 0.04-0.66 log CFU/g ตามลำดับ

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดตลอดระยะเวลาการเก็บ 5 วัน เพิ่มจำนวนมากขึ้นตามระยะเวลาการเก็บ เมื่อระยะเวลานานขึ้นประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารลดลง การที่น้ำมันหอมระเหยอบเชยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้น้อยลง อาจเนื่องมาจากยูจีนอลซึ่งเป็นสารที่พบในน้ำมันหอมระเหยอบเชยสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับอะตอมออกซิเจนในพันธะเปปไทด์ (John *et al*,1989) ดังนั้นเมื่อใช้ความเข้มข้นเดียวกับในหลอดทดลอง ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ลดลง

4.5 ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่มีต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนผิวเนื้อสุกร

จากการตรวจหาปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อสุกรที่ไม่ผ่านการจุ่มในสารละลายใดๆ เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายกลีเซอริน 5 เปอร์เซ็นต์ สารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์ สารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 3 และ 5 วัน จำนวนเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายชนิดต่างๆ แสดงดังตารางที่ 4.5 และ ภาพที่ 4.9



ภาพที่ 4.9 แสดงจำนวนเชื้อ *S. aureus* บนผิวเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *S. aureus* และผ่านการจุ่มสารละลายชนิดต่างๆ

ref. control = ชิ้นเนื้อที่ไม่ผ่านการจุ่มสารละลายใดๆ
control = ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มสารละลายกลีเซอริน 5เปอร์เซ็นต์
garlic 7% = ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์
ginger 0.3 = ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์
cinnamon 0.3% = ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.5 แสดงจำนวนเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารต่างๆ ภายหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน

ระยะเวลาการเก็บ	จำนวนเชื้อ *S. aureus* (log MPN/g)				
(วัน)	ref control	Control	Garlic 7%	Ginger 0.3%	Cinnamon 0.3%
0	$4.87\pm0.24_{x}^{c}$	$4.36\pm0.31_{x}^{b}$	$4.15\pm0.20_{x}^{ab}$	$4.09\pm0.08_{x}^{ab}$	$3.91\pm0.22_{x}^{a}$
1	$4.74\pm0.26_{x}^{c}$	$4.15\pm0.20_{x}^{ab}$	$4.27\pm0.2_{x}^{b}$	$4.15\pm0.19_{x}^{ab}$	$3.79\pm0.22_{x}^{a}$
3	$6.36\pm0.55_{y}^{b}$	$5.58\pm0.94_{y}^{b}$	$5.71\pm0.58_{y}^{b}$	$5.47\pm0.51_{y}^{b}$	$3.90\pm1.21_{x}^{a}$
5	$8.17\pm0.34_{z}^{d}$	$6.79\pm0.22_{z}^{c}$	$6.47\pm0.16_{z}^{bc}$	$5.81\pm0.74_{y}^{ab}$	$5.53\pm0.50_{y}^{a}$

ตัวอักษร a,b,c และ d ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบผลของการลดเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างที่อายุการเก็บเดียวกัน

ตัวอักษร x และ y แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเชื้อ *S. aureus* ในกลุ่มสารละลายเดียวกันเมื่อระยะเวลาเก็บนานขึ้น

พบว่าสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์มีจำนวนเชื้อ *S. aureus* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บ 5 วัน โดยมีจำนวนเชื้อ *S. aureus* น้อยกว่าเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง 0.95-2.64 log MPN/g ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อสุกรกลุ่มควบคุม เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์ สารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ และ สารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเชื้อแตกต่างจากเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยมีจำนวนเชื้อ *S. aureus* น้อยกว่าเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง 0.51, 0.72, 0.78 และ 0.96 log MPN/g ตามลำดับ เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายทั้ง 4 กลุ่มนี้มีปริมาณเชื้อ *S. aureus* ไม่แตกต่างกัน

ในวันที่ 1 ของการเก็บรักษา ปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อสุกรกลุ่มควบคุม เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์ สารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ และ สารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเชื้อน้อยกว่าเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยมีจำนวนเชื้อน้อยกว่าเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง 0.59, 0.47, 0.59 และ 0.95 log MPN/g ตามลำดับ เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายทั้ง 4 กลุ่มนี้มีปริมาณเชื้อ *S. aureus* ไม่แตกต่างกัน

ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา ปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง เนื้อสุกรกลุ่มควบคุม เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์และสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ส่วนเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเชื้อน้อยกว่าเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง เนื้อสุกรกลุ่มควบคุม เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์และสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P \leq 0.05$) โดยมีจำนวนเชื้อน้อยกว่าเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง 2.46 log MPN/g

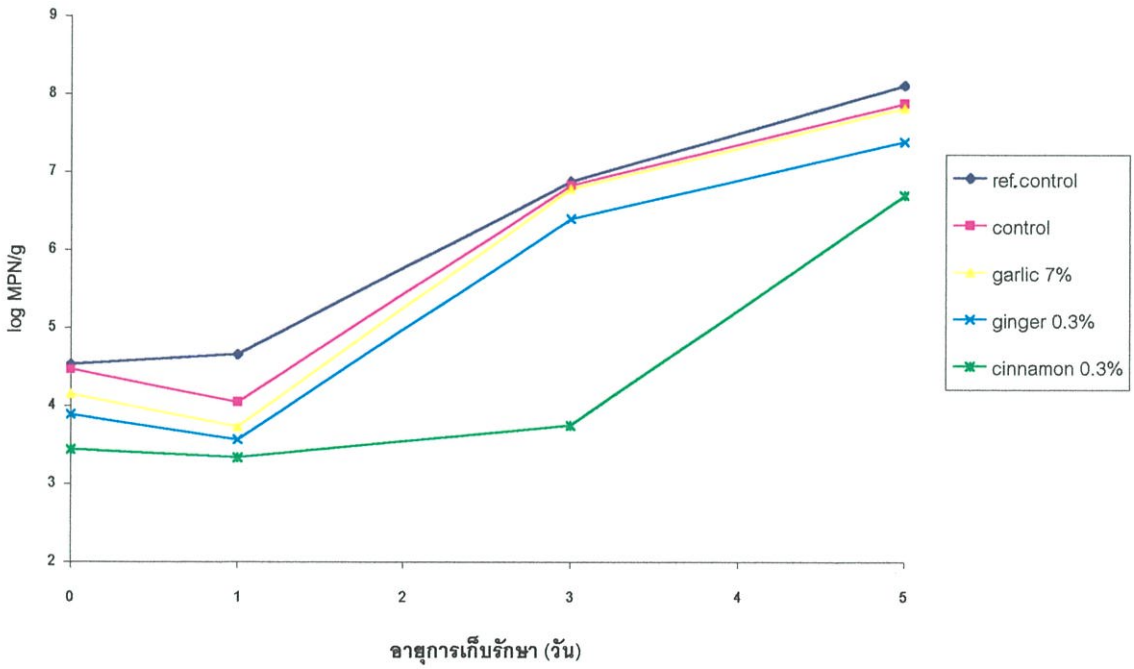
ในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา ปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์และเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อ *S. aureus* ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มในสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์และเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ *S. aureus* ($P \leq 0.05$) เนื้อสุกรกลุ่มควบคุม เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์ เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มในสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์และเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอม

ระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อน้อยกว่าเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง 1.38, 1.70, 2.36 และ 2.64 log MPN/g ตามลำดับ

ระยะเวลาวันที่ 0 และวันที่ 1 ของการเก็บรักษา เนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์และสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อ *S. aureus* ไม่แตกต่างกัน ระยะเวลาการเก็บรักษาวันที่ 3 เนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง เนื้อสุกรกลุ่มควบคุม และเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณเชื้อ *S. aureus* น้อยกว่าเนื้อสุกรที่ระยะเวลาการเก็บรักษาวันที่ 5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละสายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 3 และ วันที่ 5 ของการเก็บรักษา มีปริมาณเชื้อ *S. aureus* ไม่แตกต่างกัน เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มในสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 0, 1 และ 3 ของการเก็บรักษามีปริมาณเชื้อ *S. aureus* ไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากวันที่ 5 ของการเก็บรักษา จากผลการทดลองแสดงถึงน้ำมันหอมระเหยอบเชยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าสารกลุ่มอื่นๆ สอดคล้องกับการทดลองของ Moleyar และ Narasimham (1992) ที่ว่าสารซินนามิคอัลดี-ไฮด์ที่พบในน้ำมันหอมระเหยอบเชย เมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 500 μg/ml สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้นานมากกว่า 30 วัน ในขณะที่ลินาลูลซึ่งพบในน้ำมันหอมระเหยขิงเมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 1,000 μg/ml สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้นาน 1-4 วัน และจากตารางที่ 4.3 และ ตารางที่ 4.5 จะพบว่าน้ำสกัดกระเทียมสามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ได้ดีกว่าเชื้อ *S. aureus* นั่นคือน้ำสกัดกระเทียมสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Won *et al*, 1997) น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ดีกว่าเชื้อ *S. aureus* ในวันท้ายๆ ของการทดลอง นั่นคือน้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Palmer *et al*, 1998)

4.6 ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่มีต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) บนผิวเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *Staphylococcus aureus*

จากการตรวจหาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในกลุ่มตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *S. aureus* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^5 CFU/ml แล้วไม่ผ่านการจุ่มสารละลายใดๆ เนื้อสุกรผ่านการจุ่มในสารละลายกลีเซอริน 5 เปอร์เซ็นต์ สารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์ สารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 3 และ 5 วัน จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อสุกรกลุ่มต่างๆ แสดงดังภาพที่ 4.10 และ ตารางที่ 4.6



ภาพที่ 4.10 แสดงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดบนผิวเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *S. aureus* และผ่านการจุ่มในสารละลายกลุ่มต่างๆ

ref. control = ชิ้นเนื้อที่ไม่ผ่านการจุ่มสารละลายใดๆ
control = ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มสารละลายกลีเซอริน 5เปอร์เซ็นต์
garlic 7% = ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์
ginger 0.3 = ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์
cinnamon 0.3% = ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.6 แสดงจำนวน Total plate count ในเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *S. aureus* และผ่านการจุ่มสารต่างๆ ภายหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	จำนวน Total plate count (log CFU/g)				
	Ref control	Control	Garlic 7%	Ginger 0.3%	Cinnamon 0.3%
0	$5.43\pm0.54_{x}^{c}$	$5.18\pm0.18_{x}^{bc}$	$4.88\pm1.55_{x}^{abc}$	$4.77\pm0.25_{x}^{ab}$	$4.27\pm0.40_{x}^{a}$
1	$5.48\pm0.05_{x}^{c}$	$5.35\pm0.11_{x}^{c}$	$5.28\pm0.20_{x}^{c}$	$5.05\pm0.02_{x}^{b}$	$3.85\pm0.06_{w}^{a}$
3	$7.21\pm0.36_{y}^{b}$	$7.14\pm0.25_{y}^{b}$	$7.33\pm0.43_{y}^{b}$	$7.00\pm0.29_{y}^{b}$	$5.14\pm0.17_{y}^{a}$
5	$7.59\pm0.13_{y}^{b}$	$7.36\pm0.43_{y}^{b}$	$7.65\pm0.31_{y}^{b}$	$7.55\pm0.24_{z}^{b}$	$5.94\pm0.05_{z}^{a}$

ตัวอักษร a,b และ c ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบผลของการลดจำนวนเชื้อ Total plate count ในตัวอย่างที่อายุการเก็บเดียวกัน

ตัวอักษร w,x,y และ z ที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบจำนวน Total plate count ในกลุ่มสารละลายเดียวกันเมื่อระยะเวลาเก็บนานขึ้น

พบว่าสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ดีที่สุด โดยเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดแตกต่างจากเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง 1.09-3.13 log MPN/g เนื้อสุกรกลุ่มควบคุมมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างจากเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิงตลอดระยะเวลาการเก็บ 5 วัน โดยในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อที่ผ่านการจุ่มน้ำสกัดกระเทียม7 เปอร์เซ็นต์และน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง 0.38 และ 0.64 log MPN/g ตามลำดับ

ในวันที่ 1 ของการเก็บรักษา เนื้อสุกรกลุ่มควบคุม เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์ สารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์และสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณจุลิทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างกัน แต่มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่าเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง 0.61, 0.93, 1.09 และ 1.32 log MPN/g ตามลำดับ

ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อต่างจาก เนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง เนื้อสุกรกลุ่มควบคุม เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์ และเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ในวันที่ 5 ของการเก็บรักษาเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์และสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่าเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง 0.72 และ 1.41 log MPN/g ตามลำดับ

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า น้ำมันหอมระเหยอบเชยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารละลายอื่นเนื่องจากในน้ำมันหอมระเหยอบเชยมีสารซินนามิคอัลดีไฮด์ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ กลไกการเป็นสารต้านทานจุลินทรีย์ของสารซินนามิคอัลดีไฮด์อาจเนื่องมาจากส่วนเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอกถูกทำลายและความสามารถในการผ่านเข้าออกของ ATP ผ่านเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมเพิ่มมากขึ้น ATP ภายในเซลล์ลดลง ATP ภายนอกเซลล์เพิ่มขึ้น (Helander *et al*, 1998)

4.7 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มในน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชย

จากการศึกษาผลของสารละลายต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อสุกรที่ไม่ผ่านการจุ่มในสารละลายใดๆ (กลุ่มควบคุมอ้างอิง) เนื้อสุกรภายหลังการจุ่มในสารละลายกลีเซอริน 5 เปอร์เซ็นต์ (กลุ่มควบคุม) สารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์ (กระเทียม 7%) สารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ขิง 0.3%) และสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ (อบเชย 0.3%) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน โดยทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคจำนวน 20 คน โดยการสังเกตสีและการยอมรับกลิ่นโดยรวมของเนื้อสุกรสด และโดยการทดสอบรสชาติของเนื้อสุกรนึ่งสุก ใช้การทดสอบชนิด Different from control (แสดงดังภาคผนวก ค.) โดยทดสอบความแตกต่างจากเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ผ่านการจุ่มสารละลายใดๆ ได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.7, 4.8, 4.9 และ 4.10

ตารางที่ 4.7 คะแนนเฉลี่ยของการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านสีของเนื้อสุกรสดในแต่ละกลุ่มการทดลองต่อความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม

วันที่	กลุ่มทดลอง				
	กลุ่มควบคุมอ้างอิง	กลุ่มควบคุม	กระเทียม 7%	ขิง 0.3%	อบเชย 0.3%
0	0.00^{a}_{y}	-0.23^{b}_{y}	-0.23^{b}_{y}	-0.20^{b}_{y}	-0.18^{a}_{y}
1	0.00^{a}_{xy}	-0.18^{b}_{xy}	-0.18^{b}_{xy}	-0.18^{b}_{xy}	-0.23^{a}_{xy}
3	0.00^{a}_{x}	-0.18^{b}_{x}	-0.20^{b}_{x}	-0.18^{b}_{x}	0.18^{a}_{x}
5	0.00^{a}_{x}	-0.20^{b}_{x}	-0.20^{b}_{x}	-0.15^{b}_{x}	0.13^{a}_{x}

หมายเหตุ : ตัวอักษร a,b ในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)
ตัวอักษร x,y ในแนวตั้งเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.8 คะแนนเฉลี่ยของการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสการยอมรับกลิ่นโดยรวม (Overall odor) ของเนื้อสุกรสดในแต่ละกลุ่มทดลองต่อความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม

วันที่	กลุ่มทดลอง				
	กลุ่มควบคุมอ้างอิง	กลุ่มควบคุม	กระเทียม 7%	ขิง 0.3%	อบเชย 0.3%
0	0.00_{xy}^{a}	0.00_{xy}^{a}	-0.15_{xy}^{bc}	-1.10_{xy}^{c}	-0.65_{xy}^{b}
1	0.00_{x}^{a}	0.00_{x}^{a}	-0.15_{x}^{bc}	-0.80_{x}^{c}	-0.35_{x}^{b}
3	0.00_{yz}^{a}	0.00_{yz}^{a}	-2.00_{yz}^{bc}	-1.10_{yz}^{c}	-0.90_{yz}^{b}
5	0.00_{z}^{a}	0.00_{z}^{a}	-2.50_{z}^{bc}	-1.45_{z}^{c}	-0.65_{z}^{b}

หมายเหตุ : ตัวอักษร a,b และ c ในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตัวอักษร x ,y และ z ในแนวตั้งเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.9 คะแนนเฉลี่ยของการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของกลิ่นรสแปลกปลอม (off-flavor) ของเนื้อสุกรนึ่งสุกในแต่ละกลุ่มทดลองต่อความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม

วันที่	กลุ่มทดลอง				
	กลุ่มควบคุมอ้างอิง	กลุ่มควบคุม	กระเทียม 7%	ขิง 0.3%	อบเชย 0.3%
0	0.00_{x}^{a}	0.00_{x}^{a}	1.40_{x}^{c}	1.30_{x}^{c}	0.95_{x}^{b}
1	0.00_{xy}^{a}	0.00_{xy}^{a}	1.75_{xy}^{c}	1.45_{xy}^{c}	1.05_{xy}^{b}
3	0.00_{y}^{a}	0.00_{y}^{a}	1.95_{y}^{c}	1.85_{y}^{c}	1.15_{y}^{b}
5	0.00_{z}^{a}	0.00_{z}^{a}	2.80_{z}^{c}	2.45_{z}^{c}	1.65_{z}^{b}

หมายเหตุ : ตัวอักษร a,b และ c ในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตัวอักษร x ,y และ Z ในแนวตั้งเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.10 คะแนนเฉลี่ยของการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของการยอมรับโดยรวม(overall acceptability) ของเนื้อสุกรนึ่งสุกในแต่ละกลุ่มทดลองต่อความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม

วันที่	กลุ่มทดลอง				
	กลุ่มควบคุมอ้างอิง	กลุ่มควบคุม	กระเทียม 7%	ขิง 0.3%	อบเชย 0.3%
0	0.00_x^a	0.00_x^a	-1.15_x^c	-1.15_x^c	-0.85_x^b
1	0.00_{xy}^a	0.00_{xy}^a	-1.50_{xy}^c	-1.40_{xy}^c	-0.95_{xy}^b
3	0.00_y^a	0.00_y^a	-1.90_y^c	-1.70_y^c	-1.10_y^b
5	0.00_z^a	0.00_z^a	-2.70_z^c	-2.35_z^c	-1.50_z^b

หมายเหตุ : ตัวอักษร a,b และ c ในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตัวอักษร x ,y และ Z ในแนวตั้งเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.7 พบว่าสีของชิ้นเนื้อสุกรสดกลุ่มควบคุม เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์ และเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างจากสีของเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มในสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ไม่มีความแตกต่างจากชิ้นเนื้อกลุ่มควบคุมอ้างอิง โดยในวันที่ 3 และ 5 ของการเก็บรักษาชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มในสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์มีสีแดงกว่า จากตารางที่ 4.8 ผู้บริโภคไม่สามารถแยกความแตกต่างการยอมรับกลิ่นโดยรวมของชิ้นเนื้อสุกรสดกลุ่มควบคุมและชิ้นเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิงได้ ชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มในสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์ สารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์และสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์มีการยอมรับกลิ่นโดยรวมน้อยกว่าชิ้นเนื้อกลุ่มควบคุมอ้างอิง จากตารางที่ 4.9 พบว่าเนื้อสุกรนึ่งสุกกลุ่มควบคุมมีค่ากลิ่นรสแปลกปลอมไม่แตกต่างจากชิ้นเนื้อกลุ่มควบคุมอ้างอิง ผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสให้คะแนนกลิ่นรสแปลกปลอมของชิ้นเนื้อสุกรนึ่งสุกที่ผ่านการจุ่มในสารละลายอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าน้อยกว่าน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์และสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ เนื้อสุกรนึ่งสุกที่ผ่านการจุ่มสารกลุ่มต่างๆทุกกลุ่มตัวอย่างมีคะแนนกลิ่นรสแปลกปลอมความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอ้างอิง

จากตารางที่ 4.10 พบว่าเนื้อสุกรนึ่งสุกกลุ่มควบคุมมีคะแนนการยอมรับโดยรวมไม่แตกต่างจากชิ้นเนื้อสุกรนึ่งสุกกลุ่มควบคุมอ้างอิง ชิ้นเนื้อสุกรนึ่งสุกที่ผ่านการจุ่มในสารละลายอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีคะแนนการยอมรับโดยรวมดีกว่าชิ้นเนื้อสุกรนึ่งสุกที่ผ่านการจุ่มในน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์และชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มในสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ การที่ผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสยอมรับชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มในน้ำมันหอมระเหยอบเชยมากกว่าน้ำสกัดกระเทียมและน้ำมันหอมระเหยขิงเนื่องจากน้ำมันหอมระเหยอบเชยจะมีกลิ่นคล้ายเนื้อสุกรสดมากกว่าน้ำสกัดกระเทียมซึ่งให้กลิ่นเหมือนเนื้อหมัก ผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสไม่ชินกับการใช้กลิ่นขิงในเนื้อสุกรมากนัก

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยต่อการลดจำนวนเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ในหลอดทดลอง โดยศึกษาความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับเลือกระดับความเข้มข้นของสารเหล่านี้ในการทดลองในเนื้อสุกรขั้นต่อไป พบว่า

1. ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่มีต่อการยับยั้งเชื้อ *E. coli* พบว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชยมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุด โดยน้ำมันหอมระเหยอบเชยความเข้มข้น 0.3, 0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) มีประสิทธิภาพในการลดเชื้อได้แตกต่างจากหลอดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ซึ่งน้ำมันหอมระเหยอบเชยสามารถทำลายเชื้อได้ภายในเวลา 6 ชั่วโมง รองลงมาได้แก่น้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 3,5 และ 7 เปอร์เซ็นต์(ปริมาตร/ปริมาตร) สามารถทำลายเชื้อได้ภายในเวลา 18 ชั่วโมง และน้ำมันหอมระเหยขิงความเข้มข้น 0.3,0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ต่ำที่สุด

2. ผลของน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่มีต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* พบว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชยความเข้มข้น 0.3, 0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ *S. aureus* ได้ดีพอกับน้ำมันหอมระเหยขิงความเข้มข้น 0.3, 0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) ซึ่งน้ำมันหอมระเหยอบเชยและน้ำมันหอมระเหยขิงความเข้มข้น 0.3, 0.5 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) มีประสิทธิภาพในการลดเชื้อได้แตกต่างจากหลอดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ซึ่งน้ำมันหอมระเหยอบเชยและน้ำมันหอมระเหยขิงสามารถทำลายเชื้อได้ภายในเวลา 6 ชั่วโมง รองลงมาได้แก่น้ำสกัดกระเทียมซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแต่ไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ *S. aureus* โดยที่น้ำสกัดกระเทียมที่มีความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อดีกว่าความเข้มข้น 5 และ3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร)ตามลำดับ

จากการศึกษาผลของน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) น้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) และน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) ที่เลือกจากผลการศึกษาในขั้นหลอดทดลองต่อการลดจำนวนเชื้อ *E. coli* และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารเหล่านี้ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0,1,3 และ 5 วัน พบว่า

3. เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชยความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และจุลินทรีย์ทั้งหมดดีกว่าสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร)และสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) โดยเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชยความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) มีปริมาณเชื้อ *E. coli* และจุลินทรีย์ทั้งหมดแตกต่างจากเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 5 วัน

จากการศึกษาผลของน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) น้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) และน้ำมันหอมระเหยอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) ที่เลือกจากผลการศึกษาในขั้นหลอดทดลองต่อการลดจำนวนเชื้อ *S. aureus* และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารเหล่านี้ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0,1,3 และ 5 วัน พบว่า

4. เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชยความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมดดีกว่าสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร)และสารละลายน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) โดยเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชยความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) มีปริมาณเชื้อ *S. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมดแตกต่างจากเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 5 วัน

จากการศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของชิ้นเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มในสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) น้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) และน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) พบว่า

5. เนื้อสุกรสดที่ผ่านการจุ่มในสารละลายชนิดต่างๆ มีสีซีดแตกต่างจากเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิงเล็กน้อย ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา แต่เนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มในสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) มีสีเข้มกว่าเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมเล็กน้อยในวันที่ 3 และ 5 ของการเก็บรักษา ผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสยอมรับกลิ่นของเนื้อสุกรสดกลุ่มควบคุมอ้างอิงมากที่สุด เนื้อสุกรนึ่งสุกที่ผ่านการจุ่มในสารละลายน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) น้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) และน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) มีกลิ่นรสแปลกปลอมต่างจากเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมนึ่งสุกตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา เนื้อสุกรนึ่งสุกที่ผ่านการจุ่มในน้ำมันหอมระเหยขิง 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) และน้ำสกัดกระเทียม 7 เปอร์เซ็นต์(ปริมาตร/ปริมาตร) มีการยอม

รับโดยรวมแตกต่างจากเนื้อสุกรนึ่งสุกกลุ่มควบคุมอ้างอิง เนื้อสุกรนึ่งสุกที่ผ่านการจุ่มในสารละลายน้ำมันหอมระเหยอบเชย 0.3 เปอร์เซ็นต์(ปริมาตร/ปริมาตร) มีการยอมรับโดยรวมไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

6. ผลของการใช้น้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชยในการลดปริมาณเชื้อ *E.coli* และ *S. aureus* ในหลอดทดลองและบนผิวเนื้อสุกร พบว่าน้ำมันหอมระเหยอบเชยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทั้งสองนี้ได้ดีกว่าสารกลุ่มอื่นๆ ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ ทั้งในหลอดทดลองและบนผิวเนื้อสุกร ตลอดจนให้การยอมรับด้านสี และการยอมรับโดยรวมไม่แตกต่างเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมอ้างอิง

ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาครั้งต่อไปถึงประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยอบเชย ควรลดปริมาณความเข้มข้นลง เพื่อการยอมรับของผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ดีขึ้นโดยยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีอยู่

ศึกษาถึงการใช้น้ำมันหอมระเหยตัวอื่นๆ ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยเพื่อลดปริมาณความเข้มข้นลง

ศึกษาการใช้น้ำมันหอมระเหยอบเชยหรือน้ำมันหอมระเหยอื่นๆ ในเนื้อสัตว์ชนิดอื่นๆ เช่น เนื้อวัว เนื้อไก่ เนื้อปลาเป็นต้น เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยอบเชยหรือน้ำมันหอมระเหยอื่นๆ อาจเหมาะสำหรับการใช้ในเนื้อสัตว์อื่นๆ ด้วย

บรรณานุกรม

กรมปศุสัตว์. 2535.**มาตรฐานการตรวจเนื้อ**.กองสัตวแพทย์สาธารณสุข.กรุงเทพฯ : 91-92.

ธีรพร คงบังเกิด. 2538. "ประสิทธิภาพของกระเทียมและกานพลูในการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella typhimurium* และ *Staphylococcus aureus* ในไก่แช่แข็ง." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บัญญัติ สุขศรีงาม.2518. "ประสิทธิภาพของเครื่องเทศบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุษกร อุตรภิชาติ. 2545. **จุลชีววิทยาทางอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สงขลา : การผลิตเอกสารและตำรามหาวิทยาลัยทักษิณ.

วันดี กฤษณพันธ์. 2536. **เภสัชวินิจฉัย:ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่ม 1**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ . ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

วันทนา อ่อนภิรมย์,เพิ่มพล สัตยพันธ์,นิพนธ์ อินทร์วัฒนา และ กรชนก ขยันคิด. 2544. "การสำรวจการปนเปื้อนของ Enteric bacteria และ *Staphylococcus aureus* ในสุกรจากโรงฆ่าสัตว์ของจังหวัดราชบุรี." **ว.กรมวิทย พ**. (3): 206-210.

สุทธินนท์ นวนจันทร์. 2542."การศึกษาและรวบรวมพันธุ์ขิงที่ใช้เป็นพืชสมุนไพรจำนวน 20 ชนิด." ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร,สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สุรัตน์ จิวะจินดา.2546."น้ำมันหอมระเหย." **ว.เกษตรกรรมธรรมชาติ**. 7-9.

อดิศร เสวตวิวัฒน์.2542."ผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติคสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อและเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่พบมากในแหนม (ในหลอดทดลอง)." **อาหาร**. (2):107-115.

Al-Delaimy,K.S. and Ali,S.H. 1970. "Antibacterial action of vegetable extracts on the growth of pathogenic bacteria." **J. Sci.Food.Agri.** 21:110-112.

Anonymous. 1998. "Natural antimicrobials." **Meat Poultry**. 44:54-55.

Astal,Z.E. 2004. "The inhibitory action of aqueous garlic extract on the growth of certain pathogenic bacteria." **Eur. Food Res. Technol**. 218:460-464.

Bailey,L.H. 1951. **Manual of cultivated plants.** New York: The Macmillan Company. p 1116.

Bank,K.H., Lee,D.W., Park,H.M. and Rhee,Y.H. 2000. "Inhibition of fungal cell wall synthesizing enzymes by *trans*-cinnamicaldehyde." **BioSci. Biotech. Biochem.** 64:1061-1063.

Cassin,M.H., Lammerding,A.M., Todd,E.C.D., Ross,W. and Mccoll,R.S. 1998. "Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* 0157:H7 in ground beef hambergers." **Int J. Food Microbiol.**41:21-44.

Cavallito,C.J.,Bailey,J.H. 1944. "Allicin,the antibacterial principle of *Allium sativum.* I.Isolation,physical properties and antibacterial action." **J. Am. Chem. Soc.** 66:1950-1951.

Chang,S., Chen,P., Chang,S.C., Chang,S.T., Chen, P.F. and Chang,S.C. 2001. "Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum.*" **J. Ethnopharmarcol.** 77(1):123-127.

Chao,S.C., Young,D.G. and Obery,C.J. 2000. "Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses." **J. Essent. Oil. Res.** 12(5):639-649.

Cutter,C.N. 2000. "Antimicrobial effect of herb extracts against *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium* associated with beef." **J.Food Prot.** 63:601-607.

Dababneh,B.F.A. and Al-Delaimy,K.S. 1984. "Inhibition of *Staphylococcus aureus* by garlic extract." **Lebensm.Wiss.Technol.** 17:29-31.

Delaquis,P.J. and Mazza,G. 1995. "Antimicrobial properties of isothiocyanate in food preservation." **Food Technol.** 49:73-84.

Dontorou,C., Papadoporlou,C., Filioussis,G., Economou,V., Apostolou,I., Zakkas,G., Salamoura,A., Kansouzidou,A. and Levidiotou,S. 2003. "Isolation of *Escherichia coli* 0157:H7 from foods in Greece." **Int. J. of Food Microbiol.** 82:273-279.

Eisel,W.G., Lintion,R.H. and Muriana.P.M. 1997. " A survey of microbial levels for incoming raw beef,environmental sources,and ground beef in a red meat processing plant." **Food Microbiol.** 14:273-282.

El-Khateib,T. and El-Rahman,H.A. 1987. "Effect of garlic and *Lactobacillus plantarum* on growth of *Salmonella typhimurium* in Egytian fresh sausage and beefburger." **J. Food Protect.** 50(4):310-311.

FDA. 1992.Bacteriological Analytical Manual, 7th edition. AOAC International .Arlington.VA.

Elsom,G.K., Denis,H. and David,M.S. 2000. "An antibacterial assay of aqueous extract of garlic against anaerobic/microaerophilic and aerobic bacteria." **Microbiol Ecology in Health and Disease.** 12:81-84.

Gill,C.O.,Bedard,D. and Jones,T. 1997. The decontaminating performance of a commercial apparatus, for pasteurizing polished pig carcasses." **Food Microbiol.** 14:71-79.

Gill,C.O., Dussault,F., Holley,R.A., Houde,A., Jones,T., Rheault,N., Rosales,A. and Quessy ,S.. 2000a. "Evaluation of the hygienic performances of the processes for cleaning, dressing and cooling pig carcasses at eight packing plants." **Int. J. Food Microbiol.**58:65-72.

Gill,C.O. and Mcginnis,J.C. 2000b. "Contamination of beef trimmings with *Escherichia coli* during a carcass breaking process." **Food Res Int.** 33:125-130.

Gomes, B.P.F., Ferraz,C.C.R., Vianna,M.E., Zaia,A.A., Teixeira,F.B. and Souza-Filho,F.J. 2002. "*In Vitro* antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes and their vehicles against selected microorganisms." **Braz Dent J.** 13(3) : 155-161.

Hammer,K.A., Carson,C.F. and Riley,T.V. 1999. "Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts." **J. App. Microbiol.** 86 : 985-990.

Harris,J.C., Cottrell,S.L., Plummer,S. and Lloyd,D. 2001. "Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic)." **App. Microbiol Biotechnol.** 57:282-286.

Health and Medicine Week editors. 2001, 29 Jan. "Garlic powder more effective than oil against bacteria." **Health and Medicine Week.** p 3 .

Heidi,S., Norbert,K and Friesrioh,U. 1992. "Contamination of pig hindquarters with *Staphylococcus aureus*." **Int. J. Food Microbiol.** 15:191-194.

Helander,I.M., Alakomi,H.L., Kala,K.L., Sandholm,T.M., Pol,I., Smid, E.J., Gorris, L.G.M. and Wright,A.V. 1998. "Characterization of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria." **J. Agric Food Chem.** 46:3590-3595.

Hilde,N., Tove,M. and Per,L. 2001. "Survival and growth of *Escherichia coli* 0157:H7, *Yersinia enterocolitica* and *Salmonella enteritidis* on decontaminated and untreated meat." **Meat Science**. 57:291-298.

Huffman,R.D. 2002. "Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat." **Meat Science**. 62:285-294.

Indian Institute of Spices Research. 2003a .**Cinnamon.**[online].Available: http// www.iisr.org /spices/cinnamon.htm.

Indian Institute of Spices Research. 2003b.**Ginger.** [online]. Available: http//www.iisr.org /spices/ginger.htm.

Jan,V., Roman,K. and JiČi,D. 1997. "Chemical composition and classification of culinary and pharmaceutical garlic-based products." **Z. Lebensm Unters Forsch A.** 204:161-164.

John,T., Greg,B. and Costas,B. 1989. "Eugenol induced inhibition of extracellular enzyme production by *Bacillus subtilis* ." **J. Food Prot.** 52(6) : 399-403.

Karapinar,M. and Aktug,S.E. 1987. "Inhibition of food-borne pathogens by thymol, eugenol, menthol and anethole." **Int. J. Food Microbiol.** 44 : 564-567.

Katherine,M.P. 2004.**The international space station : where is the next glass of water coming from?** [online]. Available: http ://www.uh.edu/hti/ curriculum_units /2002/ v01 /07_files / image005.jpg

Kim,H.O., Park,S.W. and Park,H.D. 2004. "International of *Escherichia coli* 0157:H7 by cinnamic aldehyde purified from *Cinnamomum cassia* shoot." **Food Microbiol.** 24:105-110.

Kumar,M. and Berwal,J.S.1998."Sensitivity of food pathogens to garlic (*Allium sativum*)" **J. App. Microbiol.** 84:213-215.

Kwon,J.A., Yu,C.B. and Park,H.D. 2003. "Bacteriocidal effects and inhibition of cell separation of cinnamic aldehyde on *Bacillus cereus*." **Lett. in App. Microbiol.** 37:61-65.

Kyu,H.K., Kyung,S.P. and Youn,S.K. 1996. "Isolation and characterization of bacteria resistant to the antimicrobial activity of garlic." **J. Food. Sci.** 61(1):226-229.

Lee,H.S. and Ahn,Y.J. 1998. "Growth-inhibiting effects of *Cinnamomum cassia* bark-derived materials on human intestinal bacteria." **J. Agric. Food Chem.**46:8-12.

MAFF. **Food additives and contaminants committee.** 1976.Report on the review of flavorurings in food. London : HMSO.

Maidment,C., Dembny,Z. and King,P. 1998. "Investigations into the anti-bacterial properties of garlic using the disc assay method."**J. Biological Education.** 1998. 32(2):162-165.

Maite,A.A.,Rosa,C.,Carlos,A.C.,Benito,M.Maria,C. and Garcia,F.2002. "Microbiological quality of retail chicken by-products in Spain." **Meat Science.** 62:45-50.

Mantis ,A.J., Karaioannoglou,P.G., Spanos,G.P. and Panetsos, A.G. 1978. "The effect of garlic extract on food poisoning bacteria in culture media.I. *Staphylococcus aureus.*" **Lebensm.Wiss.Technol.** 11:26-28.

Martins,A.P., Salgueiro,L., Goncalves,M., Proenea da C.,A., Vila,R., Canigueral,S., Mazzoni,V., Tomi,F. and Casanova,J. 2001. "Essential oil composition and antimicrobial activity of three Zingiberaceae from S. Tome principle."**Planta Med.** 67:580-584.

Mau,J.L., Chen,C.P. and Hsieh,P.C. 2001. "Antimicrobial effect of extracts from chinese chive,cinnamon,and corni fructus." **J. Agric. Food Chem.** 49:183-188.

Moleyar,V. and Narasimham,P. 1992. "Antibacterial activity of essential oil components." **Int. J. of Food Microbiol.** 16:337-342.

Muftah,A.A. and Lloyd,B.B. 1982. "Comparative antimycotic effects of selected herbs, spices,plant components and commercial antifungal agents." **J. Food Protect.**45:1298-1301.

Palmer,A.S., Stewart,J. and Fyfe,L. 1998. "Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens." 26 : 118-122.

Park,I.K., Lee,H.S.,Lee,S.G.,Park,J.D. and Ahn,Y.J. 2000. "Insecticidal and fumigant activities of *Cinnamomum cassia* bark-derived materials against *Mechoris ursulus* (Coleoptera:Ahelabidae)." **J. Agric. Food Chem.** 48:2528-2531.

Parry,J.W. 1962. **Spice.** New York: Chemical Publishing Co., p 226 .

Patkar,K.L., Usha,C.M., Shetty,H.S., Paster,N. and Lacey,J. 1993. "Effect of spice essential oils on growth and aflatoxin B_1 production by *Aspergillus flavus.*" **Let. Appl.Microbiol.** 17:49-51.

Pearson,D. 1973.**Laboratory Techniques in Food Analysis.** Butterworth&Co. (Publishers) Ltd., p. 315.

Podolak,R.K., Zayas,J.K., Kastner,C.L. and Fung,D.YC. 1996. "Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 on beef by application of organic acids." **J. Food Sci.** 59(4):370-373.

Saleem,Z.M. and Al-Delaimy,K.S. 1982."Inhibition of *Bacillus cereus* by garlic extracts." **J. Food Protect.** 45:1007-1009.

Smid,E.J., Koeken,J.P.G. and Gorris,L.G.M. 1996. Fungicidal and fungistatic action of the secondary plant metabolites cinnamaldehyde and carvone. in **Modern fungicides and antimicrobial compounds.**Adover, U.K. : Lyr,H., Russell,P.E., Sisler,H.D., Eds.;Intercept. pp 173-180.

Stecchini,M.L., Sarais,I. and Giavedoni,P. 1993. "Effect of essential oils on *Aeromonas hydrophila* in a culture medium and in cooked pork." **J. of Food Protect.** 56(5) : 406-409.

Stoll, A. and Seeback,E. 1951. Chemical investigations of alliin, the specific principle of garlic in **Advances in Enzymology Vol XI.** New York: Interscience Publishers. p 471.

Whyte,P.,Mcgill,K.,Monahan,C. and Collins,J.D. 2004. "The effect of sampling time on the levels of micro-organisms recovered from brolier carcass in a commercial slaughter plant." **Food Microbiol.** 21:59-65.

Willis,E.D. 1956. "Enzyme inhibition by alliin,the active principle of garlic." **Biochemical Journal.** 63:514-519.

Won,D.T., Min,S.J., Hyun,C.C., Suk,J.L. and Yung,G.G. 1997. " Antimicrobial activity and distilled components of garlic (*Allium sativum* L.) and ginger (*Zingiber officinale* Roscoe)." **Agric. Chem. Biotech.** 40(6) : 514-518.

Woo,I.S., Rhee,I.K. and Park,H.D. 2000. "Differential damage in bacterial cells by microwave radiation on the basis of cell wall structure." **App. Env. Microbiol.** 66:2243-2247.

Zancan,K.C., Marques,M.O.M., Petenate,A.J., Angela,M. and Meireles,A. 2002. "Extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) oleoresin with CO_2 and co – solvents : a study of the antioxidant action of the extracts." **J. Supercritical Fluids.** 24 : 57-76.

ภาคผนวก ก.
การเตรียมน้ำสกัดกระเทียมน้ำมันหอมระเหย และสารละลายเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลอง

1. การเตรียมน้ำสกัดกระเทียม น้ำมันหอมระเหยขิงและน้ำมันหอมระเหยอบเชย

1.1 การเตรียมน้ำสกัดกระเทียม (ดัดแปลงจากอดิศร,2542)

กระเทียมแห้งปอกเปลือก 50 กรัม นำมาตีปั่นกับน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 100 มิลลิลิตรในเครื่องบดอาหารนาน 3 นาทีที่ความเร็วปานกลาง

↓

กรองสิ่งตีปั่นด้วยเครื่องกรอง Bucher funnel ใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 2 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

↓

นำของเหลวที่ผ่านการกรองไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 20 นาที

↓

นำส่วนใสหลังการปั่นเหวี่ยงทำให้ปลอดเชื้อโดยกรองผ่านกระดาษกรองเชื้อจุลินทรีย์ (มีรูขนาด 0.45 ไมครอน)

↓

น้ำกระเทียมสกัด (เก็บที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียสและใช้ภายในเวลา 8 ชั่วโมงหลังจากการกรอง)

1.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหยขิง

1.2.1 การเตรียมตัวอย่างขิง โดยนำตัวอย่างขิงมาปอกเปลือก นำไปปั่นให้ละเอียดในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยใช้อัตราส่วนขิง 1 (กรัม) :น้ำกลั่น 2 (มิลลิลิตร)

1.2.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากขิง (ดัดแปลงจาก Pearson,1973)

นำตัวอย่างขิงที่เตรียมจากข้อ 1.2.1 ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร

↓

ต่อเข้ากับเครื่องกลั่นน้ำมันหอมระเหยโดยต้มให้เดือดเป็นเวลา ประมาณ 3 ชั่วโมง โดยรองส่วนที่กลั่นได้ด้วยกรวยแยก

↓

ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

↓

ไขส่วนที่เป็นน้ำมันออกมา (น้ำมันขิงจะแยกอยู่ชั้นบนของกรวยแยก)

↓

เก็บใส่ขวดแก้วสีชา

↓

เก็บในตู้เย็น

1.2.3 การสกัดน้ำมันหอมระเหยอบเชย

1.2.3.1 การเตรียมตัวอย่างอบเชย โดยนำตัวอย่างอบเชยไปบดให้ละเอียด นำไปใส่ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วโดยใช้อัตราส่วนอบเชย 1 (กรัม) : น้ำกลั่น 10 (มิลลิลิตร)

1.2.3.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากอบเชย

(ดัดแปลงจาก Pearson,1973)

ทำการสกัดเช่นเดียวกับการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากขิง ตามข้อ 1.2.2 โดยน้ำมันอบเชยจะแยกอยู่ด้านล่างของกรวยแยก

2. การเตรียมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์

2.1 การเตรียมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ของ *Escherichia coli*

เชื้อ *Escherichia coi* เพาะเลี้ยงบน TSA บ่มที่ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงเก็บเชื้อที่อุณหภูมิ 2-5 องศาเซลเซียส โดยทำการถ่ายเพาะเลี้ยงเชื้อเดือนละ 1 ครั้ง

เตรียมสารละลายเชื้อเข้มข้น (stock culture) โดยการถ่ายเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อวุ้นเอียง (slant) TSA 1 ลูปลงในหลอดที่บรรจุ TSB 10 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงดูดเชื้อจาก TSB 1 มิลลิลิตรลงในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุ TSB ไว้ 100 มิลลิลิตร บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิทำการบ่มเชื้อที่ 35 องศา

เซลเซียสเป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง ดูดเชื้อจาก TSB 20 มิลลิลิตร ลงในหลอดหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปแยกเซลล์โดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วรอบ 1690xg อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จึงล้างด้วยบัฟเฟอร์เปปโตนวอเตอร์ (buffered peptone water) 20 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเชื้อเข้มข้น 10^9 CFU/ml

2.2 **การเตรียมสารละลายเชื้อเข้มข้นของ *Staphylococcus aureus***

เตรียมสารละลายเชื้อเข้มข้น *S.aureus* วิธีเดียวกับข้อ 2.1 เปลี่ยนจากใช้ *E. coli* เป็น *S.aureus*

ภาคผนวก ข.
การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์

1. การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* ในตัวอย่างเนื้อสุกร

(FDA , 1992)

ตัดตัวอย่างเนื้อสุกรให้เป็นชิ้นเล็กๆ ตัวอย่างละ 25 กรัม ใส่ในถุงสำหรับตีป่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติมสารละลายเปปโตนวอเตอร์จำนวน 225 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องตีป่นเป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างที่ระดับการเจือจาง 1:10 นำมาเจือจางตามลำดับ ลำดับละ 10 เท่า โดยนำมา 1 มิลลิลิตรต่อสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตนวอเตอร์ ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางลงใน LSTB (lauryl sulfate tryptose broth) ที่มีหลอด durham คว่ำอยู่ ซึ่ง LSTB แต่ละหลอดบรรจุอาหาร 9 มิลลิลิตร หลอดละ 1 มิลลิลิตร ระดับความเจือจางละ 3 หลอด บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อจาก LSTB ที่มีแก๊สเกิดขึ้นในหลอด durham หลอดละ 1 มิลลิลิตร ลงใน EC broth ที่บรรจุอาหาร 9 มิลลิลิตร ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 45.5 $\pm$0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำแต่ละหลอดที่มีแก๊สมาเขี่ยเพาะเชื้อบน Levine's eosin methylene blue agar (EMB) บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง สังเกตว่ามีลักษณะโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ *E. coli* หรือไม่ ซึ่งโคโลนีดังกล่าวจะมีลักษณะสีดำตรงกลางและจะมีหรือไม่มีสี metallic sheen นับจำนวนหลอดในแต่ละระดับความเจือจางที่ตรวจพบเชื้อไปหาค่า MPN ต่อกรัม จากตาราง MPN

2. การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างเนื้อสุกร

(FDA , 1992)

ตัดตัวอย่างเนื้อสุกรให้เป็นชิ้นเล็กๆ ตัวอย่างละ 25 กรัม ใส่ในถุงตีป่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติมสารละลายเปปโตนวอเตอร์ จำนวน 225 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องตีป่นเป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างที่ระดับการเจือจาง 1:10 นำมาเจือจางตามลำดับๆ ละ 10 เท่า โดยนำมา 1 มิลลิลิตรต่อสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางลงใน TSB ซึ่งเติมโซเดียมคลอไรด์ 10 เปอร์เซ็นต์ซึ่งแต่ละหลอดบรรจุอาหาร 9 มิลลิลิตร หลอดละ 1 มิลลิลิตร ระดับความเจือจางละ 3 หลอด บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเชื้อจาก TSB แต่ละ

หลอดมาเขี่ยเพาะเลี้ยง บน Manitol salt agar (MS) ที่เติม egg yolk tellulite ปราศจากเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตลักษณะโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ *S. aureus* หรือไม่ ซึ่งโคโลนีดังกล่าวจะมีลักษณะกลมสีขาวครีม มีตะกอนขาวขุ่นรอบๆโคโลนี นับจำนวนหลอดในแต่ละระดับความเจือจางที่ตรวจพบเชื้อไปหาค่า MPN ต่อกรัม จากตาราง MPN

3. การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อทั้งหมดในตัวอย่างเนื้อสุกร

(FDA , 1992)

ตัดตัวอย่างเนื้อสุกรให้เป็นชิ้นเล็กๆ ตัวอย่างละ 25 กรัม ใส่ในถุงตีป่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติมสารละลายเปปโตนวอเตอร์ จำนวน 225 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องตีป่นเป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างที่ระดับการเจือจาง 1:10 นำมาเจือจางตามลำดับๆ ละ 10 เท่า โดยนำมา 1 มิลลิลิตรต่อสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจาง 0.1 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อที่มี plate count agar ปริมาณ 18 – 20 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วงอจุ่มแอลกอฮอล์ ลนไฟ แกว่งเบาๆให้เย็น spread ให้ตัวอย่างอาหารกระจายทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

ภาคผนวก ค.

แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

แบบประเมินผลทางประสาทสัมผัส
เนื้อสุกรสด

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. ..... ชื่อผู้ทดสอบ .....

กรุณาพิจารณาคุณลักษณะและทดสอบเนื้อสุกรสดต่อไปนี้ โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างเนื้อสุกรควบคุม (Control ;C) ก่อน แล้วทดสอบตัวอย่างที่มีเลขรหัส 3 ตัว แล้วระบุขนาดของความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง C ขีดคะแนนลงในสเกลตามความเห็นของท่านพร้อมทั้งเขียนหมายเลขตัวอย่างกำกับตรงคะแนนที่ขีด

ลักษณะสีของเนื้อสุกรสด (color)

-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5
สีขาวซีด					ไม่แตกต่าง (สีแดง)					สีแดงเข้มมาก

การยอมรับกลิ่นโดยรวมของเนื้อสุกรสด (overall odor)

-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5
ไม่ยอมรับ					ไม่แตกต่าง					ยอมรับมากกว่า

ข้อเสนอแนะ :

แบบประเมินผลทางประสาทสัมผัส
เนื้อสุกรนึ่งสุก

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. ..... ชื่อผู้ทดสอบ .....

กรุณาพิจารณาคุณลักษณะและทดสอบเนื้อสุกรนึ่งสุกต่อไปนี้ โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างเนื้อสุกรควบคุม (Control ;C) ก่อน แล้วทดสอบตัวอย่างที่มีเลขรหัส 3 ตัว แล้วระบุขนาดของความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง C ขีดคะแนนลงในสเกลตามความเห็นของท่านพร้อมทั้งเขียนหมายเลขตัวอย่างกำกับตรงคะแนนที่ขีด

กลิ่นรสแปลกปลอม (off-flavor)

-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5
ไม่มีกลิ่น					ไม่แตกต่าง					กลิ่นรุนแรง

การยอมรับโดยรวม (overall acceptability)

-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5
ยอมรับน้อยกว่า					ไม่แตกต่าง					ยอมรับมากกว่า

ข้อเสนอแนะ :

ประวัติผู้เขียน

นางสาวอัญจนา ศรีสวรรค์ เกิดวันที่ 31 ตุลาคม พ.ศ.2517 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2540 และศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารในปี พ.ศ. 2542 และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2547