สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

# รายงานผลการวิจัย

**เรื่อง การศึกษาคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคที่มาจากอาหารและแอนติออกซิแดน ของสมุนไพรและเครื่องเทศของไทย**

**Study of Anti-foodborne Bacteria and Antioxidant Activities of Thai Herbs and Spices**

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2558
จำนวน 266,000 บาท

หัวหน้าโครงการ นางสาวนลิน วงศ์ขัตติยะ
ผู้ร่วมโครงการ นางสาวศรีกาญจนา คล้ายเรือง
นางสาวรุ่งทิพย์ กาวารี
นายเกรียงศักดิ์ ภูดีทิพย์

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

29 เมษายน 2559

# กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยความร่วมมือและความอนุเคราะห์จากหลายฝ่าย คณะผู้จัดทำโครงการขอขอบคุณ ผศ.ดร.ดลฤดี สงวนเสริมศรี ผศ.นสพ.ดร.พันธุ์ชนะ สงวนเสริมศรี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร อาจารย์ Ian Fraser, Chemistry, Monash University, Australia ที่ได้ให้คำปรึกษาและแนะนำในการทำงานวิจัยนี้ และขอขอบคุณนิสิตคณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร และนักศึกษาคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้ร่วมมือในการทำงานจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่สนับสนุนงบประมาณประจำปี 2558 สำหรับการวิจัยครั้งนี้

ผู้วิจัย

สารบัญเรื่อง


| | หน้า |
|---|---|
| สารบัญตาราง | ข |
| สารบัญภาพ | ค |
| บทคัดย่อ | 1 |
| Abstract | 2 |
| วัตถุประสงค์ของการวิจัย | 5 |
| ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 5 |
| การตรวจเอกสาร | 6 |
| อุปกรณ์และวิธีการวิจัย | 26 |
| ผลการวิจัย | 32 |
| สรุปผลการวิจัย | 42 |
| เอกสารอ้างอิง | 43 |

# สารบัญตาราง


หน้า

ตารางที่ 1 ผลการสกัดน้ำมันหอมระเหย 32

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยการยับยั้งแบคทีเรียด้วยน้ำมันหอมระเหยโดยวิธี agar diffusion 34

ตารางที่ 3 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่ยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย 37

ตารางที่ 4 ค่า IC50 และ TEAC ของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรและเครื่องเทศ 38

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยกานพลู 39

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบ agar disc diffusion ของน้ำมันหอมระเหย 47

ตารางที่ 7 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่ยับยั้งและฆ่าแบคทีเรียก่อโรคที่มาจาก อาหาร 50

# สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ชุดสกัดน้ำมันหอมระเหย 28

ภาพที่ 2 ผลการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคจากอาหารด้วยน้ำมันหอมระเหย โดยวิธี agar disc diffusion 35

ภาพที่ 3 GC-MS chromatogram ของน้ำมันหอมระเหยกานพลู 40

# การศึกษาคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคที่มาจากอาหารและแอนติออกซิแดนของสมุนไพรและเครื่องเทศของไทย

# Study of Anti-foodborne Bacteria and Antioxidant Activities of Thai Herbs and Spices

นลิน วงศ์ขัตติยะ[1] รุ่งทิพย์ กาวารี[1] เกรียงศักดิ์ ภูดีทิพย์[1] และศรีกาญจนา คล้ายเรือง[1]

**Nalin Wongkattiya[1], Rungtip Kawaree[1], Kriangsak Phudeethip[1] and Srikanjana Klayruang[1]**

[1]สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

---

## บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคจากอาหารและการต้านออกซิเดชั่นของสารจากสมุนไพรและเครื่องเทศ การศึกษาครั้งนี้ได้สกัดน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรและเครื่องเทศจำนวน 20 ชนิด นำมาทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียโดยใช้วิธี agar disc diffusion และ microdilution broth การทดสอบฤทธิ์การต้านออกซิเดชั่นทำโดยวิธี DPPH และ ABTS ผลการทดลองพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรและเครื่องเทศทุกชนิดมีฤทธิ์การต้านแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ (broad spectrum) และมีฤทธิ์การต้านออกซิเดชั่นที่ดี โดยน้ำมันหอมระเหยกานพลูมีฤทธิ์ทั้งการต้านแบคทีเรียและต้านออกซิเดชั่นที่ดีมาก ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้สามารถที่นำไปใช้เป็นข้อมูลเพื่อพัฒนาการใช้สารสกัดจากเครื่องเทศและสมุนไพร ในการยับยั้งแบคทีเรียและต้านออกซิเดชั่นต่อไป

คำสำคัญ: น้ำมันหอมระเหย สมุนไพรและเครื่องเทศ การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคจากอาหาร การต้านออกซิเดชั่น

**Abstract**

This research aims to investigate anti-foodborne bacteria and antioxidant activities. Essential oils from 20 Thai herbs and spices were extracted and tested for their antibacterial activity by agar disc diffusion assay and microdilution broth assay. Antioxidant activity was performed by DPPH and ABTS methods. The results showed that most of essential oils presented in herbs and spices have potential in antibacterial and antioxidant activities. Clove essential oil showed outstanding antibacterial and antioxidant activities. The results will be useful for beneficial development of Thai herbs and spices regarding to antibacterial and antioxidant activities.

Keywords: essential oils, herbs and spices, anti-foodborne, antioxidant

# คำนำ

น้ำมันหอมระเหยเป็นของเหลวที่ระเหยได้ง่ายและมีกลิ่น สกัดได้มาจากพืชชนิดต่างๆ มนุษย์มีการใช้ประโยชน์จากพืชที่มีกลิ่นเหล่านี้มานาน โดยแรกเริ่มนิยมใช้กับอาหารเพื่อให้มีกลิ่นรสที่ต้องการ ต่อมาเมื่อมีการสกัดน้ำมันหอมระเหยและศึกษาสมบัติของน้ำมันหอมระเหย จึงพบว่ามีคุณประโยชน์หลายประการ ตัวอย่างเช่น การใช้ประโยชน์ในทาง ใช้เป็นสารต้านแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ต้านมะเร็ง ต้านการกลายพันธุ์ ต้านเบาหวาน ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านโปรโตซัว การแพทย์ (Raut and Karuppayil, 2014) เป็นต้น ในอุตสาหกรรมอาหารและการเกษตรได้นำน้ำมันหอมระเหยมาใช้ประโยชน์ได้เช่นกัน (Calo, et al., 2015) ตัวอย่างเช่น ใช้ยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหาร เนื้อสัตว์ ผักและผลไม้ เพื่อยืดอายุการเก็บรักาและฆ่าเชื้อก่อโรคที่ปนเปื้อนมากับอาหาร เป็นต้น

ปัจจุบันได้มีรายงานการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคที่มาจากอาหารอยู่อย่างต่อเนื่อง การลดปริมาณเชื้อปนเปื้อนอาจมีหลายวิธีทั้งทางกายภาพ และการใช้สารเคมี ในยุคปัจจุบันผู้บริโภคมีความรู้และความใส่ใจกับสุขภาพมากขึ้น อายุเฉลี่ยของประชากรในประเทศไทยสูงขึ้นตามลำดับ ประชากรมีทางเลือกในการบริโภคอาหารที่มีคุณภาพดีและปลอดภัย ผู้บริโภคจึงมีความต้องการบริโภคอาหารที่เป็นธรรมชาติ หลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีสังเคราะห์ จึงทำให้ผู้บริโภคสนใจผลิตภัณฑ์อาหารจากธรรมชาติที่สามารถลดความเสี่ยงจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน การบริโภคอาหารอย่างมีคุณภาพจะส่งผลให้มีสุขภาพที่ดีและมีคุณภาพชีวิตที่ดีมากขึ้น เมื่อประชากรของประเทศมีสุขภาพและคุณภาพชีวิตที่ดี จะมีผลต่อการพัฒนาประเทศทั้งทางเศรษฐกิจและสังคมอีกด้วย

การใช้ประโยชน์จากพืชนั้นมีมาช้านานในแต่ละพื้นที่ทั่วโลก พืชที่นำมาใช้ในแต่ละแหล่งมีความแตกต่างกันไป เนื่องจากประเทศไทยพบว่าเป็นประเทศแถบร้อน มีความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตสูง จึงมีพืชหลากหลายชนิดที่นำมาใช้ประโยชน์ได้ จากความรู้การใช้เครื่องเทศและสมุนไพรในตำราอาหารต่างๆของไทยที่มีมาแต่โบราณ ที่นอกจากจะใช้เพื่อการแต่งกลิ่นและรสของอาหารแล้ว เครื่องเทศและสมุนไพรต่างๆยังมีสรรพคุณอีกมากมาย รวมทั้งใช้ต้านแบคทีเรียก่อโรคจากอาหารอีกด้วย แต่จากข้อมูลที่เคยมีรายงานมานั้นมีแต่การศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย แต่ข้อมูลยังไม่ครบถ้วน เช่น มีการศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากพืช 12 ชนิด เพื่อใช้ในการยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงที่ปนมากับอาหารเพียงชนิดเดียว คือ *Bacillus cereus* (นวลจันทร์ และ สุภาพร, 2550) หรือการศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ส้ม 3 ชนิดต่อแบคทีเรียก่อโรคจากอาหาร (Fisher and Phillips, 2006) อีกทั้งเครื่องเทศท้องถิ่นที่จำเพาะในภาคเหนือ และข้อมูลของสมบัติการต้านออกซิเดชั่นของพืชเหล่านี้ก็ยังไม่ครบถ้วน

การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียก่อโรคจากอาหารทั้งแกรมบวกและแกรมลบหลายๆชนิด และศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชั่นของน้ำมันหอมระเหยของเครื่องเทศและสมุนไพรชนิดต่างๆที่หาได้ในภาคเหนือของประเทศไทย

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศและสมุนไพรในการต้านแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร
2. เพื่อศึกษาสมบัติในการต้านออกซิเดชั่นของน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศและสมุนไพร

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ทราบสมบัติของน้ำมันหอมระเหยในการต้านแบคทีเรียและต้านออกซิเดชั่น เพื่อหาแนวทางพัฒนามาใช้ในการลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียในอาหาร
2. เป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าของสมุนไพรไทย
3. ได้ฝึกและพัฒนานักศึกษาให้เข้าใจการวิจัยทางวิทยาศาสตร์และผลิตบัณฑิต

# การตรวจเอกสาร

ในปัจจุบันผู้บริโภคต่างตระหนักถึงความปลอดภัยในการบริโภคอาหาร คำนึงถึงอาหารที่เป็นธรรมชาติ ปลอดภัย มีประโยชน์ต่อร่างกาย และพยายามหลีกเลี่ยงสารเคมีที่เติมลงในอาหารที่อาจเป็นโทษต่อร่างกาย งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากสมุนไพรและเครื่องเทศต่างๆและฤทธิ์การต้านแบคทีเรียก่อโรคที่มาจากอาหารและฤทธิ์การต้านออกซิเดชั่น

## 1. สมุนไพรและเครื่องเทศ

สมุนไพรหมายถึงพืชทั้งต้นหรือส่วนของพืช ใช้ในการปรุงอาหาร เป็นยา และใช้ทำน้ำหอม เครื่องเทศหมายถึงชิ้นส่วนของพืชที่ทำให้แห้ง ใช้ในการประกอบอาหาร เพื่อเพิ่มกลิ่นรส สี ใช้ถนอมอาหาร หรือกลบกลิ่นรสที่ไม่ต้องการ อาจใช้เป็นส่วนประกอบในการผลิตยา ทำน้ำหอม หรือใช้ในพิธีกรรมทางศาสนา สมุนไพรและเครื่องเทศจึงมีความคล้ายคลึงกันมาก บางครั้งจึงยากที่จะบอกว่าพืชใดเป็นสมุนไพรหรือเครื่องเทศ แต่สมุนไพรและเครื่องเทศมีข้อแตกต่างกันคือ เครื่องเทศมีต้นกำเนิดมาจากเอเชียใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ส่วนสมุนไพรเป็นพืชท้องถิ่นพบได้ทุกแห่งในโลก ข้อแตกต่างอีกอย่างหนึ่งคือ ในการปรุงอาหารจะใช้ปริมาณเครื่องเทศน้อยกว่าสมุนไพร เพราะสมุนไพรมีความเข้มข้นไม่มากเท่าเครื่องเทศ (วรชัย, 2555)

สมุนไพรและเครื่องเทศของไทยนั้น มีรายงานการใช้ประโยชน์มานานทั้งทางการแพทย์และอาหาร ดังตัวอย่าง ต่อไปนี้

**กานพลู (clove)** (วิทย์, 2536)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Eugenia aromatica* (Caryophyllum)

ชื่อวงศ์ Myrtaceae

ใช้ดอกเป็นยาแก้พิษโลหิต ปวดท้อง แก้ลม เหน็บชา พิษน้ำเหลือง แก้อุจจาระให้ปกติ เลือดออกตามไรฟัน ปวดฟัน หืดหอบ ละลายเสมหะ ดับกลิ่นปาก เป็นต้น

**ยี่หร่า (caraway)** (วิทย์, 2536)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Carum carvi* Linn.

ชื่อวงศ์ Umbelliffrae

ภายในผลสุกมีน้ำมัน กลั่นออกมาเป็นน้ำมันยี่หร่า ช่วยในการย่อย ยาขับลม แก้ปวดท้อง ท้องอืดท้องเฟ้อ

มะแหลบ (ศูนย์สนเทศภาคเหนือ, 2550)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Heracleum siamicum* Craib. (Heracleum Barmanicum Kurz )

ชื่อวงศ์ Umbelliferae

เมล็ดใช้เป็นเครื่องเทศของอาหารทางภาคเหนือ ใช้แต่งกลิ่นอาหารโดยผสมในเครื่องแกง หรือน้ำพริกต่างๆ เพื่อปรุงอาหารพื้นบ้าน เช่น ลาบ อาหารของทางภาคเหนือจึงมีกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์มีความแตกต่างจากอาหารภาคอื่นๆ ในประเทศอินเดียกินส่วนที่เป็นราก ใช้เป็นยาบำรุงและยาแก้ไข้

---

**มะแขว่น** (โครงการเผยแพร่ข้อมูลทรัพยากรชีวภาพและภูมิปัญญาท้องถิ่นบนพื้นที่สูง, 2553)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Zanthoxylum rhetsa* DC (Syn. *Zanthoxylum limonella* (Dennst.) Alston

ชื่อวงศ์ Rutaceae

เมล็ด ตากแห้ง ใช้ใส่ลาบ หรือแกง ทำให้มีกลิ่นหอม ผล ตากแห้งแล้วนำไปประกอบอาหาร เช่น ใส่แกง ผลและเมล็ด ตากแห้งหรือนำไปคั่ว แล้วตำใส่น้ำพริกลาบ แต่เปลือกผลมีกลิ่นหอมกว่า จึงคัดเอาเมล็ดออกใช้แต่ เปลือกผลก็ได้

**มะกรูด (kaffir lime)** (วิทย์, 2536)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus hystrix* DC.

ชื่อวงศ์ Rutaceae

ใบสดใช้ปรุงอาหารดับกลิ่นคาว ผลสดนำมาประกอบอาหาร หรือนำมาดองใช้เป็นยาฟอกเลือดในสตรี ขับลมในลำไส้ ขับระดู แก้ลมจุกเสียด แก้โรคลักปิดลักเปิด และใช้บำรุงประจำเดือน

**ส้มสายน้ำผึ้ง (orange)** (นิตยสารหมอชาวบ้าน ก.พ. 2551 คอลัมน์ ต้นไม้ใบหญ้า เดชา ศิริภัทร เล่มที่ 346) http://www.doctor.or.th/article/detail/1180

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Lonicera japonica* Thunb.

ชื่อวงศ์ Rutaceae

ช่วยรักษาโรคเลือดออกตามไรฟันและป้องกันการเป็นหวัด ป้องกันการติดเชื้อจากแบคทีเรีย ช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลในโลหิต ช่วยให้ระบบการย่อยอาหารเป็นไปอย่างปกติ เป็นยาระบายอ่อนๆ บรรเทาอาการกระหาย

มะนาว **(lime)** (วิทย์, 2536)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus aurantifolia* Swing.

ชื่อวงศ์ Rutaceae

ใบ แก้ไอ รำมะนาด ละลายเสมหะ แก้ท้องอืด ผลใช้คั้นน้ำกิน แก้กระหาย แก้ร้อนใน บำรุงธาตุ เจริญอาหาร แก้เลือดออกตามไรฟัน ขับเสมหะ เปลือกผลใช้แก้จุกเสียดแน่นท้อง ปวดท้อง ขับลม รากใช้เป็นยาแก้ฟกช้ำ แก้ปวด

---

**ขิง (Ginger)** (วิทย์, 2536)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Zingiber officinalis* Roscoe.

ชื่อวงศ์ Zingiberaceae

มีสรรพคุณทางยามากมาย เช่น เป็นยาแก้อาเจียน ยาขมเจริญอาหาร ยาแก้ท้องขึ้น ท้องอืดเฟ้อ ขับลม แก้ไอ ขับเสมหะ บำรุงธาตุ สามารถต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร ลดอาการจุกเสียดได้ดี มีฤทธิ์ในการขับน้ำดี เพื่อย่อยอาหาร แก้ปากคอเปื่อย แก้ท้องผูก ลดความดันโลหิต

**ข่า (Galangal)** (วิทย์, 2536)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Alpinia galangal* Stunz.

ชื่อวงศ์ Zingiberaceae

ช่วยลดอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ช่วยขับลม เพราะข่ามีน้ำมันหอมระเหยออกซึ่งมีฤทธิ์ขับลม รักษาอาการโรคผิวหนัง กลาก เกลื้อน เพราะข่ามีสารออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อรา

**กระชาย (Fingerroot)** (วิทย์, 2536)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Boesenbergia pandurata* Holtt.

ชื่อวงศ์ Zingiberaceae

ใช้เป็นยาบำรุงหัวใจ บำรุงกำลัง ขับปัสสาวะ แก้บิดมูกเลือด แก้ปวดมวนในท้อง ท้องเดิน

**ไพล (Plai)** (สุนทรี, 2544)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Zingiber montanum* (Koenig) Link ex Dietr.

ชื่อวงศ์ Zingiberaceae

เป็นยาแก้ท้องขึ้น ท้องอืดเฟ้อ ขับลม แก้บิด ท้องเดิน ขับประจำเดือนสตรี ทาแก้ฟกบวม แก้ผื่นคัน เป็นยารักษาหืด ยากันเล็บถอด ใช้ต้มน้ำอาบหลังคลอด รักษาอาการเคล็ดขัดยอก ฟกบวม แพลงช้ำเมื่อย ช่วยขับระดู ประจำเดือนสตรี เลือดร้าย แก้ระดูขาว แก้อาเจียน แก้ปวดฟัน ขับโลหิต กระจายเลือดเสีย แก้ธาตุพิการ แก้อุจาระพิการ แก้ไข้ ปวดเมื่อย แก้ครั่นเนื้อครั่นตัว แก้เมื่อย

**ขมิ้นชัน (Turmeric)** (วิทย์, 2536)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Curcuma longa* Linn.

ชื่อวงศ์ Zingiberaceae

ใช้ป้องกันและรักษาแผลในกระเพาะอาหาร แก้อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับลมเนื่องจากมีสารเคอร์คิวมิน และน้ำมันหอมระเหยที่มีสีเหลือง ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และลดอาการอักเสบ

**สะระแหน่ (Kitchen Mint)** (เต็ม, 2544)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Mentha cordifolia* Opiz ex Fresen

ชื่อวงศ์ Lamiaceae

ใบ ช่วยในการขับลม ขับเหงื่อ ช่วยบรรเทาอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับผายลม แก้หืด แก้ปวดท้อง ลดอาการเกร็งของกล้ามเนื้อ

**ตะไคร้ (Lemon Grass)** (วิทย์, 2536)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cymbopogon citratus* Stapf.

ชื่อวงศ์ Graminae

ใช้เป็นยารักษาโรคหืด แก้ปวดท้อง ขับปัสสาวะ และแก้อหิวาตกโรค หรือทำเป็นยาทานวดก็ได้ หัว รักษาเกลื้อน แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ แก้นิ่ว ใบสดช่วยลดความดันโลหิตสูง แก้ไข้ ราก เป็นยาแก้ไข้ ปวดท้องและท้องเสีย ต้นเป็นยาแก้ขับลม แก้เบื่ออาหาร

**กะเพรา (Holy basil)** (วิทย์, 2536)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ocimum sanctum* Linn.

ชื่อวงศ์ Labtatae

แก้อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ และปวดท้อง ช่วยในการขับลม ลดการบีบตัวของลำไส้ ขับน้ำดี ช่วยย่อยไขมัน และลดอาการจุกเสียด

โหระพา **(sweet basil)** (วิทย์, 2536)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ocimum basilicum* Linn.

ชื่อวงศ์ Labtatae

ลำต้นสด แก้ปวด แก้หวัด ท้องเสีย ขับเหงื่อ ขับเสมหะ ขับลม ปวดศีรษะ ปวดข้อ หนองใน ใบสดแก้แผลเป็นหนองเรื้อรัง แก้พิษฉูกงูกัด แมลงสัตว์กัดต่อย เมล็ดแก้โรคตาแดง รากสดหรือแห้ง พอกแผลเรื้อรัง

**พลู** (Betel pepper) (วิทย์, 2536)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Piper betle* Linn.

ชื่อวงศ์ Piperaceae

ใบ เป็นยากระตุ้นน้ำลาย ขับเสมหะ ขับเหงื่อ แก้ปวดท้อง (ที่มีอาการเย็นบริเวณท้อง) ปวดท้อง เพราะพยาธิ เป็นยาฆ่าเชื้อและแก้ลมพิษ น้ำมันจากใบ ทำให้ผิวหนังร้อนแดง แก้คัดจมูกและใช้ทำเป็นยาอมกลั้วคอแก้เจ็บคอ

**2. น้ำมันหอมระเหย**

น้ำมันหอมระเหยเป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้น มักมีกลิ่นหอม ระเหยง่ายที่อุณหภูมิห้อง พืชที่ให้น้ำมันหอมระเหยมีกระจายอยู่ในวงศ์พืชต่างๆ ที่สำคัญได้แก่ Labiatae (มินต์), Rutaceae (ส้ม), Zingiberaceae (ขิง), Gramineae (ตะไคร้) โดยพืชเหล่านี้จะมีเซลล์พิเศษ ต่อมหรือท่อ เพื่อสร้างและกักเก็บน้ำมันหอมระเหย ซึ่งจะเห็นต่อมน้ำมันได้ชัดในส่วนของใบและเปลือกผลของพืชจำพวกส้ม และยังพบได้ตามส่วนต่างๆของพืช ได้แก่ ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล เมล็ด (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ, 2544) การสกัดน้ำมันหอมระเหยมีหลายวิธีที่แตกต่างกัน เลือกใช้ตามความเหมาะสม

**การสกัดน้ำมันหอมระเหย (สิริลักษณ์, 2545)**

การที่จะได้น้ำมันหอมระเหยจากพืชมานั้น จะต้องผ่านกรรมวิธีที่เรียกว่า การสกัด ซึ่งสามารถทำได้ 5 วิธีคือ

1) การกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam Distillation)

เป็นวิธีที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายเนื่องจากเป็นวิธีที่ประหยัด โดยการให้ไอน้ำผ่านสมุนไพรที่จะสกัดน้ำมันหอมระเหยที่อยู่ในหม้อกลั่น น้ำมันหอมระเหยจะถูกสกัดออกมาพร้อมกับไอน้ำ ซึ่งจะผ่านไปตามท่อ และถูกทำให้เย็นตัวเป็นของเหลวเก็บไว้ในขวดหรือภาชนะเก็บ น้ำมันหอม

ระเหยไม่ละลายในน้ำจะแยกตัวออกจากชั้นน้ำ ทำให้สามารถที่จะนำออกมาใช้ได้ง่าย เช่น น้ำมันไพล และน้ำมันตะไคร้ เป็นต้น

2) การสกัดด้วยไขมันสัตว์ (Extraction by animal fat)

วิธีนี้จะใช้กับน้ำมันหอมระเหยที่ระเหยได้ง่ายเมื่อกลั่นด้วยไอน้ำ วิธีนี้จะใช้เวลานาน เนื่องจากต้องแช่พืชสมุนไพรไว้ในน้ำมันหลายวันเพื่อให้น้ำมันดูดเอาสารที่ให้กลิ่นหอมออกมา เช่น น้ำมันหอมระเหยจากดอกมะลิ หรือ ดอกกุหลาบ เป็นต้น

3) การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction)

วิธีนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้นสูง แต่คุณภาพไม่ดีเนื่องจากมีสารอื่นปะปนออกมาด้วย การสกัดแบบนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยที่เรียกว่า absolute oil จะใช้กับพืชสมุนไพรที่ทนความร้อนสูงไม่ได้ เช่น มะลิ และหลังจากการสกัดต้องระเหยตัวทำละลายที่ใช้ออกให้หมด ตัวทำละลายที่นิยมใช้เป็นตัวสกัด คือ แอลกอฮอล์

4) การคั้นหรือบีบ

วิธีนี้จะทำให้น้ำมันที่อยู่ในเปลือกของผลไม้ เช่น เปลือกของผลไม้ตระกูลส้ม ออกมา แต่น้ำมันหอมระเหยที่ได้จะมีปริมาณน้อยและไม่บริสุทธิ์

5) การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลว

เป็นการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์เหลวที่ความดันสูงผ่านพืชสมุนไพร ซึ่งวิธีนี้จะมีต้นทุนการผลิตที่สูง แต่จะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพดี และมีความบริสุทธิ์สูง

**3. แบคทีเรียก่อโรคจากอาหาร**

แบคทีเรียที่ก่อโรคที่มาจากอาหาร (foodborne pathogen) นั้นมีหลายชนิด พบได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เช่น *Listeria monocytogenes, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Salmonella* sp. *Shigella* sp., *Escheriachia coli, Pseudomonas* sp., *Vibrio parahaemolyticus, Campylobacter jejuni* และ *Clostridium botulinum* แบคทีเรียเหล่านี้ปะปนมากับอาหารในขั้นตอนต่างๆ จนกระทั่งมาถึงผู้บริโภค หากผู้บริโภคได้รับแบคทีเรียเหล่านี้เข้าสู่ร่างกายจะส่งผลเสียต่อสุขภาพ หรืออาจทำความเสียหายเป็นวงกว้างในทางเศรษฐกิจและสังคมหากพบเชื้อก่อโรคจากอาหารในอุตสาหกรรมอาหาร

1. ***Listeria monocytogenes*** (นงลักษณ์, 2547)

เป็นเชื้อก่อโรคที่สำคัญในสัตว์ ที่ทำให้เกิดการแท้งและสมองอักเสบในแกะ วัว ควาย และเกิดอีกหลายโรคในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม นก และปลา การติดต่อในคนพบในประชากรบางกลุ่ม เช่น

ทารกแรกเกิด หญิงตั้งครรภ์และคนไข้ที่มีภูมิต้านทานโรคต่ำ ทำให้เกิดโรคทางเดินหายใจ โลหิตเป็นพิษ และสมองอักเสบ

**ลักษณะของเชื้อ**

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อนสั้น กว้าง 0.4-0.5 ไมโครเมตร ยาว 0.5-2.0 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้ เจริญที่อุณหภูมิต่ำ ต้องการและไม่ต้องการออกซิเจน (facultative anaerobe) จะเจริญได้ดีในที่มีออกซิเจนน้อยๆ และมีคาร์บอนไดออกไซด์ 5-10 % เมื่อเลี้ยงในที่ 20-25 องศาเซลเซียส มีการเคลื่อนที่แบบกลิ้งไป โดยใช้แฟลกเจลลารอบตัว 4 เส้น แต่จะไม่พบที่ 37 องศาเซลเซียส เชื้อเจริญได้ดีในอาหารทั่วไป (nutrient agar)

**แหล่งที่พบ**

เป็นเชื้อที่เจริญได้ดีในที่เย็น และอุณหภูมิปานกลาง พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ดิน น้ำ ผัก ซากพืช ในสัตว์ต่างๆ และลำไส้ของสัตว์เลี้ยง รวมทั้งสัตว์ปีกต่างๆ มนุษย์สามารถเป็นพาหะของเชื้อนี้ได้โดยมีเชื้ออยู่ในลำไส้ ไม่แสดงอาการของโรคออกมา นอกจากนี้ยังพบในอาหารที่ปรุงไม่สุก เช่น น้ำนม ไข่ อาหารทะเลต่างๆ อาจจะพบเชื้อได้ในอาหารที่ผ่านความร้อนแล้ว เช่น ผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ เป็นต้น

**โรคที่เกิดจากเชื้อ *Listeria monocytogenes***

เป็นเชื้อที่ก่อโรคในสัตว์ สามารถแยกเชื้อได้จากดิน น้ำ น้ำเสีย จากอุจจาระของคนและสัตว์ที่ไม่แสดงอาการ โรคที่เกิดในคน โรคลิสเทอริโอซิส (listeriosis) จะไม่เกิดโรคนี้ในคนปกติ แต่จะเกิดในคนที่มีระบบภูมิคุ้มกันผิดปกติ หรือภูมิคุ้มกันต่ำ ผู้ที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเป็นโรคนี้ หญิงมีครรภ์ ผู้สูงอายุ ทารก นอกจากนี้ยังเกิดจากการกินอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ เช่น น้ำนมที่ไม่ผ่านการทำ การพาสเจอร์ไรซ์ เป็นสาเหตุการเกิดโรคได้ ซึ่งเมื่อเชื้อโรคบุกรุกเข้าสู่เนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆ เช่น ระบบประสาทส่วนกลาง โดยผ่านกระแสเลือด เชื้อโรคก็จะบุกรุกเข้าตัวอ่อนของหญิงมีครรภ์ อาการที่เกิดมักจะติดเชื้อในกระแสเลือด โรคไข้สมองอักเสบ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ ตัวอ่อนในครรภ์แท้ง รวมทั้งผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องมีอัตราการตายที่สูงมาก

**การป้องกัน และควบคุม**

เชื้อ *Listeria monocytogenes* ไวต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด เช่น แอมพิซิลลิน เพนิซิลลิน เททราไซคลิน คลอแรมเฟนิคอล อะมิโนไกลโคไซด์ และโคไตรมอกซาโซล การป้องกันและควบคุมทำได้ยาก เนื่องจากไม่มีวัคซีนสำหรับป้องกัน ป้องกันโดยหลีกเลี่ยงการสัมผัสสัตว์ที่ติดเชื้อและผลิตภัณฑ์จากสัตว์ หลีกเลี่ยงการสัมผัสผู้ป่วยลิสเทอริโอซิส

2. ***Bacillus cereus*** (อัจฉรา เพิ่ม, 2549; นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

เป็นเชื้อที่ก่อโรคในมนุษย์ เชื้อ *Bacillus cereus* ทำให้เกิดโรคได้หลายโรค ซึ่งเป็นเชื้อที่สามารถเกิดขึ้นได้ทั่วไปในมนุษย์

**ลักษณะของเชื้อ**

เป็นแบคทีเรียรูปท่อนขนาด 1-1.2 ไมโครเมตร ขนาดใหญ่ที่สร้างสปอร์ได้ เรียงกันเป็นรูปสายมีสปอร์เป็นรูปไข่อยู่ตรงกลาง ติดสีแกรมบวก เคลื่อนที่ได้ และไม่มีแคปซูล

**แหล่งที่พบ**

พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ในดิน น้ำ ตามพืชผักต่างๆ หรือจากการรับประทานอาหารต่างๆ ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *Bacillus cereus*

**โรคที่เกิดจากเชื้อ *Bacillus cereus***

โรคที่เกิดจากเชื้อ *Bacillus cereus* มีหลายแบบ คือ อาหารเป็นพิษ หรือกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ ตาอักเสบ และการติดเชื้อแบบฉวยโอกาส ดังนี้

1. โรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) หรือกระเพาะลำไส้อักเสบ (gastroenteritis)

โรคอาหารเป็นพิษหรือกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ เกิดจากเอนเทอโรทอกซิน ซึ่งมี 2 ชนิด คือ

*เอนเทอโรทอกซินที่ทนความร้อน (heat stable enterotoxin)*

ทำให้อาหารเป็นพิษแบบมีการอาเจียน เกี่ยวข้องกับการรับประทานอาหารพวกข้าวที่มีเชื้อปนเปื้อน ในขณะหุงข้าว เซลล์ปกติถูกฆ่าตายด้วยความร้อนแต่มีสปอร์ที่ทนร้อนยังมีชีวิตอยู่ ถ้าไม่ได้แช่เย็นข้าวนั้น สปอร์จะงอกและเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว เอนเทอโรทอกซินที่ทนความร้อนที่ปล่อยออกจากจะไม่ถูกทำลายเมื่อข้าวนั้นอุ่นซ้ำ ระยะเวลาฟักตัวของเชื้อ 1-6 ชั่วโมง หลังจากนั้นเมื่อรับประทานข้าวเข้าไป จะมีอาการ อาเจียน คลื่นไส้ ปวดท้อง แต่จะไม่มีไข้และท้องร่วง

*เอนเทอโรทอกซินที่ไม่ทนความร้อน (heat labile enterotoxin)*

ทำให้เกิดอาหาร ท้องร่วง (diarrhea) เป็นการกระตุ้นเอนไซม์อะดีนิเลตไซเคสที่เกี่ยวข้องกับ cyclic AMP ที่เยื่อบุผิวลำไส้ ซึ่งทำให้เกิดการสะสมของเหลวในลำไส้ เกี่ยวข้องกับการรับประทานอาหารพวกเนื้อหรือผักที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ เชื้อจะเพิ่มจำนวนและสร้างทอกซินที่ไม่ทนความร้อน มีระยะเวลาฟักตัวนานมากกว่า 6 ชั่วโมง มีอาการท้องร่วง คลื่นไส้ และปวดท้อง อาการของโรคเป็น 1 วันหรือมากว่านั้น

2. ตาอักเสบ (panophthalmitis)

โรคตาอักเสบจากเชื้อ *Bacillus cereus* มีทอกซินที่เกี่ยวข้องด้วยอย่างน้อย 3 ชนิด คือ necrotic toxin ซึ่งเป็นเอนเทอโรทอกซินที่ไม่ทนความร้อน cereolysin เป็นฮีโมไลซินที่มีฤทธิ์ร้ายแรง และ phospholipase C คือ เลซิทิเนส การทำลายตาอย่างรวดเร็ว เป็นผลมาจากการทำงานร่วมกันของเชื้อ *Bacillus cereus* ทั้ง 3 ชนิดและปัจจัยอื่นๆ

แหล่งของเชื้อมีอยู่ทั่วไปอาจอยู่ในสิ่งที่ปนเปื้อนกับดินและแพร่เข้าตา หรือเชื้อบริเวณรอบๆตาเข้าสู่โดยตรง ตาอักเสบจากเชื้อนี้จะลุกลามอย่างรวดเร็ว โดยเชื้อนี้อาจทำลายเนื้อเยื่อที่เรตินาได้ จนทำให้สูญเสียการมองเห็นได้ภายใน 48 ชั่วโมง

3. การติดเชื้อแบบฉวยโอกาส

การติดเชื้อแบบนี้ พบการติดเชื้อได้จากเครื่องมือสวนหลอดเลือด โดยการติดเชื้อแบบนี้จะติดเชื้อในทางเชื่อมกับระบบประสาทส่วนกลาง เยื่อบุหัวใจอักเสบ รวมทั้ง ปอดอักเสบ สมองอักเสบ จะพบในคนที่มีภูมิคุ้มกันถูกกดอย่างรุนแรง ส่วนใหญ่เป็นเชื้อที่ปนเปื้อนจากผิวหนังคนที่เป็นนั่นเอง

**การป้องกันและควบคุม**

เนื่องจากโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อ *Bacillus cereus* อาการเกิดในระยะสั้นๆ และถ้าไม่มีโรคแทรก การรักษาจึงรักษาตามอาการ แต่ถ้าเป็นการติดเชื้อที่อื่นจะมีการลุกลามของโรคอย่างรวดเร็ว การรักษาจะยุ่งยากและเชื้อมีแนวโน้มดื้อยาหลายชนิด เชื้อส่วนใหญ่ดื้อต่อยาเพนิซิลลินและเซฟาโลสปอริน รวมทั้งยาปฏิชีวนะอื่นๆ ยาที่ใช้ได้คือ คลินดาไมซิน แวนโคไมซิน และอะมิโนไกลโคไซด์ การป้องกันโรคอาหารเป็นพิษทำได้โดยอาหารที่ปรุงเสร็จแล้วนำเก็บแช่ตู้เย็น

**3. *Staphylococcus aureus*** (นงลักษณ์, 2547)

เชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไป และเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ มากมายในมนุษย์ เชื้อนี้บางชนิดที่สร้างแคปซูล จะทำให้การเกิดโรคเพิ่มความรุนแรง

**ลักษณะเชื้อ**

เป็นแบคทีเรีย ที่มีรูปร่างกลม ไม่เคลื่อนที่ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8-1.0 μm ติดสีแกรมบวก เรียงตัวเป็นรูปคล้ายพวงองุ่น เมื่อนำมาส่องกล้องดูจะเห็นอยู่เป็นเดี่ยวๆเป็นคู่ และอยู่กันเป็นกลุ่มต่อกันเป็นสายโซ่สั้นๆ มีบางชนิดที่สร้างแคปซูล

เชื้อ *Staphylococcus aureus* จะเจริญได้ดีในที่ที่มีอากาศและไม่มีอากาศ แต่ส่วนใหญ่จะเจริญได้ดีในที่ที่มีอากาศ บางสายพันธุ์ต้องใช้ $CO_2$ ในการเจริญด้วย จะเจริญได้ที่อุณหภูมิ 4.6-6.5 °C แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อ คือ 30-37 °C pH ที่เหมาะสม 7.0-7.5 แต่เจริญได้ดีที่ pH 4.2-9.3 และเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป เช่น nutrient agar

**แหล่งที่พบ**

เชื้อ *Staphylococcus aureus* นี้พบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ อาศัยอยู่ตามแหล่งต่างๆที่เชื้อนี้จะเพิ่มจำนวนและมีชีวิตอยู่รอดได้ แหล่งของเชื้อพบทั้งในสิ่งมีชีวิต เช่น คน สัตว์ แมลง และสิ่งไม่มีชีวิต

**โรคที่เกิดจากเชื้อ *Staphylococcus aureus***

1. การติดเชื้อที่ผิวหนัง

การติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ทำให้เกิดฝี ส่วนใหญ่เกิดที่ผิวหนัง ซึ่งเริ่มต้นจากการติดเชื้อที่ต่อมน้ำมันบริเวณที่เกิดฝีจะเกิดการอักเสบ มีการสะสมเม็ดเลือดขาว เกิดการตายของเนื้อเยื่อ เมื่อฝีเจริญเต็มที่บริเวณเนื้อเยื่อที่ตายจะเต็มไปด้วยเม็ดเลือดขาวที่ตายแล้ว รวมทั้งแบคทีเรียที่เม็ดเลือดขาวไปกิน และมีไฟบรินมาล้อมรอบ ซึ่งภายในบริเวณนี้จะไม่มีเลือดมาเลี้ยง เช่น โรคฝีและฝีฝักบัว โรคผิวหนังเป็นตุ่มพอง โรคผิวหนังหลุดลอก เป็นต้น

2. โรคปอดบวม

โรคปอดบวมนี้ อาจเกิดขึ้นทันทีทันใดหรือติดเชื้อภายหลังจากเป็นโรคอื่นมาก่อน การติดเชื้อนี้มักเกิดในคนที่ระบบการป้องกันร่างกายบกพร่อง การติดเชื้อจะมีการตายเนื้อเยื่อพร้อมกับเกิดฝีจำนวนมาก โดยเกิดเป็นหย่อมๆ

3. ไขกระดูกอักเสบ

ส่วนใหญ่จะเกิดตามหลังเมื่อมีการกระจายของเชื้อเข้ากระแสเลือดเมื่อเกิดบาดแผลหรือฝี เมื่อการติดเชื้อเกิดมากขึ้นจะมีการสะสมหนองและมากขึ้นจนโผล่ขึ้นมาที่ผิวของกระดูกเกิดเป็นหนองใต้เยื่อหุ้มกระดูก

4. การติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือดและเยื่อบุหัวใจอักเสบ

การติดเชื้อแบคทีเรียเกิดจาการติดเชื้อเฉพาะที่ เช่น ที่ผิวหนัง ทางเดินหายใจ หรือทางเดินระบบสืบพันธุ์และปัสสาวะ มักจะพบในผู้ที่เป็นโรคเบาหวาน โรคหัวใจและหลอด

เลือด ความผิดปกติของเม็ดเลือดขาวแกรนูโลไซต์ และภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง นอกจากนี้ สิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่กระแสเลือด เช่น การสวนหัวใจ ทำให้เป็นสาเหตุเชื้อเข้าหลอดเลือด จนเกิดภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด

5. อาหารเป็นพิษ

เกิดจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ที่สร้างเอนเทอโรทอกซิน ที่มีการปนเปื้อนในอาหาร และอาหารที่เก็บไว้ในตู้เย็นที่ไม่เย็นพอ จึงทำให้เชื้อเจริญและสร้างทอกซินได้

6. ลำไส้อักเสบ

ลำไส้อักเสบเป็นอาการที่รุนแรง โดยมีเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ถูกยับยั้งการเจริญด้วยยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้าง ทำให้เชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่สร้างเอนเทอโรทอกซิน ที่ดื้อยา เจริญมากเกินไป

7. ช็อก

เกิดจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ที่สร้างทอกซิน ทำให้เกิดโรคช็อก (Toxic Shock Syndrome, TSS)

**การป้องกัน และควบคุม**

การติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* จะไม่สามารถควบคุมได้อย่างสมบูรณ์ การแพร่กระจายของเชื้อจะลดลงถ้าทุกคนมีสุขอนามัยที่ดีพอ และทิ้งหรือทำลายสิ่งของปนเปื้อนด้วยเชื้อ ควรหลีกเลี่ยงการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างพร่ำเพรื่อเพื่อป้องกันการแพร่ของเชื้อดื้อยา ควรระมัดระวังการติดเชื้อในระหว่างการผ่าตัดและเครื่องมือผ่าตัดควรให้ปลอดเชื้อมากที่สุด

***4. Escherichia coli*** (นงลักษณ์, 2547)

**ลักษณะของเชื้อ**

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เซลล์เป็นรูปท่อน ไม่สร้างสปอร์ อาจเคลื่อนที่ได้หรือไม่เคลื่อนที่ บางสายพันธุ์ที่แยกได้จากนอกลำไส้สร้างแคปซูล ให้โคโลนีเรียบ ไม่มีสี ถ้าเลี้ยงบนอาหาร Mac Conkey agar จะมีโคโลนีเป็นสีแดงชมพู ขนาดใหญ่ เชื้อนี้เจริญได้ในอุณหภูมิ 15-45 ˚C บางสายพันธุ์ทนความร้อน 60 ˚C 15 นาที หรือ 55 ˚C 60 นาที

**แหล่งที่พบ**

พบเชื้อ *Escheriachia coli* ได้ทั่วไปในอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อและอาหารที่ได้รับความร้อนไม่เพียงพอ และในลำไส้มนุษย์

**โรคที่เกิดจากเชื้อ *Escherichia coli***

*Escheriachia coli* มีหลายสายพันธุ์ เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรค ทั้งในมนุษย์และสัตว์ ทำให้เกิดโรคต่างๆ เช่น โรคท้องร่วง (gastroenteritis) ทางเดินปัสสาวะอักเสบ (urinary infections) โลหิตเป็นพิษ (septicemia) เยื่อหุ้มสมองอักเสบ (neonatal meningitis) และโรคท้องร่วง (gastroenteritis)

เชื้อ *Escheriachia coli* ทำให้เกิดโรคท้องร่วงทั้งในมนุษย์และสัตว์ เชื้อจะสร้างเอนเทอโรทอกซิน ซึ่งเป็นเอกโซทอกซินอย่างหนึ่ง ทอกซินที่สร้างมี 2 ชนิด คือ

1.1 ทอกซินชนิดไม่ทนความร้อน ทอกซินนี้จะถูกทำลายด้วยความร้อน 65 °C ในเวลา 30 นาที การสร้างทอกซินมีพลาสมิดควบคุม และถ่ายทอดไปยังเซลล์อื่นได้

1.2 ทอกซินชนิดทนความร้อน

STa ทอกซินชนิดนี้ทนความร้อน 100 °C 30 นาที และทนเอนไซม์โปรตีเอส ไม่มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน

STb เป็นทอกซินที่ทนความร้อนอีกชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดท้องร่วง ในลูกหมู แต่ไม่ให้ผลเมื่อทดลองกับหนู

**การป้องกันและควบคุม**

เชื้อนี้ไวต่อยาซัลโฟนาไมด์ อะมิโนไกลโคไซด์ คลอแรมเฟนิคอล เตตราไซคลิน แอมพิ-ซิลลิน คาร์เบนิซิลลิน และเซฟาโลสปอริน

**5. *Salmonella* sp.**

**ลักษณะของเชื้อ**

*Salmonella* จัดอยู่ในตระกูล Enterobacteriaceae ติดสีแกรมลบ มีรูปร่างเป็นท่อนตรงขนาด 0.7-1.5 x 2.0-5.0 ไมโครเมตร เจริญได้ทั้งที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobe)เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียส ในช่วง pH 4.5-9.0 (Jay, 1970) ความชื้น (Water activity, Aw) ที่เหมาะต่อการเจริญประมาณ 0.945-0.999 (Hayes, 1985) ไม่สร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ใช้สารอาหารโดยกระบวนการหายใจ และเฟอร์เมนต์น้ำตาล ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้โดยอาศัยแฟลกเจลลา (flagella) รอบตัวที่เรียกว่า peritrichous (Banwart, 1979) ไม่สร้างเอนไซม์ออกซิเดส (oxidase) แต่สร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase) *Salmonella* ส่วนมากจะสร้างแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ ($H_2S$) แต่

บางซีโรวาร์อาจไม่สร้าง เช่น *Salmonella ser.* Berta, *Salmonella ser. cholerae-suis, Salmonella ser.* paratyphi A, *Salmonella ser.* typhi และ *Salmonella ser.* Sendai

**แหล่งที่พบ**

*Salmonella* เป็นแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารซึ่งพบได้ตามธรรมชาติ เช่น ในน้ำ ดิน อากาศ และติดอยู่ตามพืชต่าง ๆ ทำให้สามารถปนเปื้อนไปในอาหารได้หลายประเภท เช่น น้ำดื่ม เนื้อสัตว์ต่างๆ หรือผักผลไม้

**โรคที่เกิดจากเชื้อ *Salmonella* sp.**

โรคที่เกิดจากเชื้อ *Salmonella* จำแนกได้ 4 แบบ คือ

1. Gastroenteritis โรคอุจจาระร่วง โรคอาหารเป็นพิษหรือโรคกระเพาะอาหาร และโรคลำไส้อักเสบ เชื้อ Salmonella ส่วนใหญ่จะทำให้เกิดอาการแบบนี้ โดยได้รับเชื้อในปริมาณมากกว่า 10,000 เซลล์ หรือได้รับเซลล์ในปริมาณน้อยกว่า 100 เซลล์แต่ปนเปื้อนไปในอาหารที่สามารถป้องกันเซลล์แบคทีเรียได้ เช่น อาหารพวกไขมัน (Bell and Kyriakides, 2002) เชื้อจะเข้าไปเจริญอยู่ในลำไส้ มีระยะฟักตัวประมาณ 12-36 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่อักเสบ ท้องร่วง ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน และมีไข้เล็กน้อย จะมีอาการอยู่ 1-4 วัน ในช่วงที่มีอุจจาระร่วงจะพบเชื้อในอุจจาระผู้ป่วยประมาณ $10^6$-$10^9$ CFU/g. เชื้อจะเจริญในลำไส้เท่านั้น ไม่แพร่กระจายเข้าสู่กระแสเลือด

2. Enteric fever คือ โรคไข้ไทฟอยด์หรือพาราไทฟอยด์ โดยได้รับเชื้อ *Salmonella* ser. Typhi หรือ *Salmonella* ser. Paratyphi A, B หรือ C ซึ่งจะก่อโรคกับคนเท่านั้น โดยได้รับเชื้อเข้าไปมากกว่า 100,000 เซลล์จากอาหารหรือน้ำดื่ม มีระยะฟักตัวประมาณ 7-28 วัน ในระยะแรกผู้ป่วยจะมีอาการไข้สูง (39.5-40 องศาเซลเซียส) อาจเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดทำให้เกิดอาการโลหิตเป็นพิษ มีอาการปวดศีรษะ ปวดเมื่อยตามตัว เซื่องซึมเบื่ออาหาร ปวดท้อง ตับและม้ามโต อาจมีผื่นขึ้นตามลำตัว หัวใจเต้นช้ากว่าปกติ ในระยะหลังจะมีอาการท้องร่วง อาจมีเลือดปนมากับอุจจาระด้วย จะมีอาการอยู่ประมาณ 1-3 สัปดาห์ และลดลงในสัปดาห์ที่ 3 หรือ 4 ส่วนโรคพาราไทฟอยด์จะมีอาการคล้ายกันแต่จะรุนแรงน้อยกว่า

3. Septicemia คือการที่เชื้อเข้าสู่กระแสเลือดโดยตรง เป็นการติดเชื้อที่รุนแรง เกิดจากสายพันธุ์ที่ก่อโรครุนแรง เช่น *Salmonella* ser. Typhi, *Salmonella* ser. Enteritidis, *Salmonella* ser. Dublin และ *Salmonella* ser. Cholerae-suis เป็นต้น สามารถตรวจพบเชื้อได้โดยที่ไม่มีอาการของโรคอุจจาระร่วง โดยผู้ป่วยมีอาการไข้สูงเป็นระยะ หนาวสั่น เบื่ออาหาร ตับและม้ามโต น้ำหนักลด เซื่องซึม เยื่อหุ้มสมองอักเสบ เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ เป็นต้น (นงลักษณ์, 2547) ในรายที่ติดเชื้อ

*Salmonella* ser. Typhi อาจพบจุดสีแดงบนหน้าอกและคอ มีเลือดออกจากลำไส้และจมูก บางครั้งอาจเสียชีวิต หรือถ้าหายป่วยก็จะยังมีเชื้ออยู่ในร่างกายเป็นเวลานาน

4. Sequelae เป็นอาการเรื้อรังของผู้ที่เกิด Septicemia อาจทำให้เกิดโรคไขข้ออักเสบกระดูกอักเสบ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ เยื่อบุลิ้นหัวใจอักเสบ และอาจมีอาการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะร่วมด้วย

***6. Pseudomonas aeruginosa***

เชื้อ Pseudomonas อยู่ในวงศ์ Pseudomonadaceae ซึ่งพบอยู่ทั่วไปตามธรรมชาติ เช่น ดิน น้ำ อากาศ และอุจจาระ เป็นแบคทีเรียที่ก่อโรค

**ลักษณะของเชื้อ**

เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* มีรูปร่างเป็นท่อน ติดสีแกรมลบ เซลล์เป็นรูปท่อนหรือโค้งเล็กน้อย มีแฟลกเจลลาที่ขั้ว เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 5-42 องศาเซลเซียส ให้โคโลนีลักษณะ กลม บางสายพันธุ์เป็นเมือก ต้องการออกซิเจนในการเจริญ มีเอนไซม์สลายเม็ดเลือดแดง มีกลิ่นเฉพาะตัวมีสีเขียวอมฟ้าหรือเขียวอมเหลือง ให้ผลบวกกับออกซิเดส ไม่หมักย่อยแล็กโทส

**แหล่งที่พบ**

เชื้อนี้พบได้ในอุจจาระของคนปกติ และเป็นเชื้อฉวยโอกาสที่ก่อโรคติดเชื้อต่างๆ ในโรงพยาบาล

**โรคที่เกิดจากเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa***

โรคที่เกิดจาก เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* เป็นเชื้อฉวยโอกาสที่ก่อโรคติดเชื้อต่างๆ ในโรงพยาบาล เช่น โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ ฝี หนองต่างๆ โรคที่เกิดจากเชื้อนี้เป็นปัญหาสำคัญ เนื่องจากเชื้อมักดื้อต่อยาปฏิชีวนะ พบบ่อยในผู้ที่ใช้ยาปฏิชีวนะติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน

***7. Vibrio parahaemolyticus***

เป็นฮาโลฟิลิกแบคทีเรีย (halophilic bacteria) คือแบคทีเรียที่ทนต่อความเค็ม เป็นแบคทีเรียที่พบได้ในอาหารทะเลดิบๆ เช่น กุ้ง หอย ปลา เป็นต้น โรคที่เกิดจากเชื้อนี้พบได้ทั่วโลกและพบมากที่สุดในบริเวณที่มีการบริโภคอาหารทะเล

**ลักษณะของเชื้อ**

*V. parahaemolyticus* คล้ายกับ *Vibrio* ทั้งด้านโครงสร้างและสมบัติการย้อมสี เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวและในอาหารที่ pH 8.5 หรือมากกว่า จะสร้างแฟลกเจลลาเส้นเดียว แต่ถ้าเลี้ยงบน

อาหารแข็งจะสร้างแฟลกเจลลารอบตัว เจริญได้ดีที่สุดในสภาพเป็นด่างระหว่าง pH 7.6-9.0 เจริญได้ดีในอาหาร TCBได้โคโลนีสีเขียว อาหารที่ใช้เลี้ยงต้องเติม NaCl 5% ได้ผลบวกกับออกซิเดส ไลซีน และออร์นิทีนดีคาร์บอกซิเลส และสร้างอินโดลได้ สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลกลูโคส แมนนิทอล และแมนโนส และใช้ซิเตรตเป็นแหล่งคาร์บอน สายพันธุ์ส่วนใหญ่ของ *V.* parahaemolyticus แยกได้จากอุจจาระให้ผลการย่อยเม็ดเลือดแดงแบบบีตาฮีโมไลซิส บนอาหาร Wagatsuma agar เพราะมีฮีโมไลซินที่เรียกว่า คานากาวา ฮีโมไลซิน จากการทดลองเชื้อนี้ไวต่อยาเตตราไซคลิน คลอแรมเฟนิคอล เพนิซิลลิน แอมพิซิลลิน และอะมิโนไกลโคไซด์

**แหล่งที่พบ**

พบเชื้อนี้ได้ตามธรรมชาติ มีชีวิตอยู่ได้ในน้ำทะเล จะตายง่ายเมื่ออยู่ในน้ำสกปรก และมีชีวิตได้ตามพืชผัก ผลไม้ และอาหารต่างๆ ได้หลายวัน

**โรคที่เกิดจากเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus***

เป็นฮาโลฟิลิกแบคทีเรีย ที่ทำให้เกิดอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบรุนแรง หลังจากกินอาหารทะเลดิบๆ เข้าไป โดยมีระยะฟักตัว 12-24 ชั่วโมง จะเกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดศีรษะ ปวดท้อง มีไข้ และถ่ายอุจจาระเป็นน้ำมีเลือดหรือเมือกปนเล็กน้อย อาการจะบรรเทาได้เอง ภายใน 1-4 วัน โดยไม่ต้องรักษา

**4. วิธีการทดสอบความไวในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial susceptibility test) (นันทนา, 2537)**

การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพโดยทั่วไป หมายถึงการใช้เทคนิควิธีในหลอดทดลอง (*in vitro*) เพื่อตรวจสอบความไว หรือการดื้อของเชื้อหนึ่งๆ ต่อยาต้านจุลชีพ การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพมีหลายวิธี หากเชื้อทดสอบเป็นแบคทีเรีย สามารถทำได้ทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (broth medium) และอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง (agar medium) โดยวิธีหลักอยู่ 3 วิธี ดังนี้

1. Agar diffusion test
2. Broth dilution susceptibility test
3. Agar dilution susceptibility test

**1. Agar diffusion Test** (ประสาทพร และคณะ, 2551; นันทนา, 2537)

วิธีนี้นิยมใช้อย่างแพร่หลายมากที่สุด เนื่องจากสะดวก ประหยัด และใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่นๆ วิธีนี้เป็นการทดสอบในเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลว่าเชื้อมีความไวต่อการทดสอบหรือไม่

แต่ไม่อาจทราบค่าความเข้มข้นของสารที่ทดสอบว่าความเข้มข้นเท่าใดจึงจะฆ่าจุลินทรีย์ได้ ไม่เหมาะในการทดสอบกับเชื้อที่เจริญช้า และเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้อากาศในการดำรงชีพ

วิธีการทดสอบยาต้านจุลชีพวิธีการนี้ มักใช้ความเข้มข้นยาเพียงความเข้มข้นเดียวแล้วดูขนาดวงใส (inhibition zone) ที่เกิดขึ้น ความกว้างของวงใสพบว่าเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวของเชื้อที่ทดสอบและยังสามารถอธิบายว่าเชื้อนั้นๆ มีความไวต่อยามากน้อยเพียงใด และยานั้นสามารถยับยั้งหรือฆ่าเชื้อนั้นๆได้ โดยเปรียบเทียบกับตารางแปรผลความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ เช่น ตารางเปรียบเทียบของคู่มือมาตรฐาน

วิธีการทำ agar diffusion test มีดังนี้ การเตรียมเชื้อที่ใช้ทดสอบ ใช้เชื้อที่เจือจางด้วยน้ำเกลือแล้วเทียบความขุ่นกับ McFarland เบอร์ 0.5 ใช้สำลีพันก้านจุ่มเชื้อแล้วเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร 3 แนว ทำมุม 60 องศาในจานเพาะเชื้อ ดูดสารทดสอบลงใน sterile disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm. วาง disc ที่มีสารทดสอบบนผิวหน้าอาหารที่เกลี่ยเชื้อแล้ว แต่ละแผ่นวางห่างกัน 15-20 mm. ห่างจากขอบจานเพาะเชื้อประมาณ 15 mm. (นันทนา, 2537)

การอ่านหรือแปรผล เป็นการวัดขนาดบริเวณวงใส (inhibition zone) จะต้องใช้เครื่องมือวัดที่มีความละเอียดสูงวัดเฉพาะขอบนอกที่ใสสม่ำเสมอ สาเหตุที่ทำให้วงใสไม่ชัดกล่าวคือบริเวณขอบยังมีเชื้อเจริญอยู่ (ถูกยับยั้งไม่หมด) อาจเป็นผลจากกลไกการออกฤทธิ์ของตัวยาหรือจากการที่เชื้อผลิตเอนไซม์ซึ่งสามารถทำให้ยาเสื่อมฤทธิ์ เช่น *S. aureus* ที่ผลิต penicillinase ได้เมื่อทดสอบกับเชื้อกลุ่มยา penicillinase sensitive penicillins อาจให้ปรากฏการณ์นี้ได้ ในกรณีควรตรวจสอบเชื้อว่าผลิตเอนไซม์นี้ได้หรือไม่ (นันทนา, 2537)

**2. Broth dilution susceptibility** (นันทนา, 2537)

ทั้ง broth และ agar dilution susceptibility test มีหลักการทดสอบคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ ยาจะถูกเจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นจึงใส่เชื้อลงใน/บน อาหารเลี้ยงเชื้อที่มียา ภายหลังการบ่มเพาะให้ดูค่า MIC โดยสังเกตความขุ่น หรือใสของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว วิธีการ broth dilution susceptibility test สามารถแบ่งเป็น macrodilution และ microdilution test

***MIC (minimal inhibitory concentration)*** (ประสาทพร และ คณะ, 2551)

เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ หน่วยที่ใช้โดยทั่วไป คือ ไมโครกรัม (μg) ต่อมิลลิลิตร(ml) ค่า MIC นี้ สามารถนำมาใช้เป็นค่าเปรียบเทียบเพื่อดูความไวของเชื้อหนึ่ง ๆ ในการทดสอบเพื่อหาค่า MIC จะมีการการเจือจางให้มีความเข้มข้นลดลงทุก 2 เท่าไปเรื่อย ๆ (2-fold serial dilution)

*MBC (minimal bactericidal concentration)* (นันทนา, 2537)

เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถฆ่าทำลายเชื้อแบคทีเรีย ยาต้านจุลินทรีย์ที่มีวิถีการออกฤทธิ์เป็นชนิดฆ่าทำลาย แบคทีเรียจะมีค่า MIC และ MBC เหมือนหรือใกล้เคียงกัน (ไม่เกินหนึ่งหรือสองความเข้มข้น) ยกเว้นแบคทีเรียที่ถูกฆ่าทำลายยาก เช่น enterococci เป็นต้น ซึ่งค่า MBC ที่ได้อาจสูงกว่า MIC มาก ส่วนยาที่มีวิถีการออกฤทธิ์เป็นชนิดยับยั้ง จะให้ค่า MBC สูงกว่า MIC หลายๆ ความเข้มข้น อย่างไรก็ตาม อัตราส่วนของ MBC และ MIC มักแปรผันตามชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

สำหรับ microdilution test ทำใน microtiter plate ซึ่งมีทั้งหมด 96 หลุม มีวิธีการสรุปดังนี้ stock solution ความเข้มข้น 1,280-2,000 µg/ml เจือจางด้วย broth ในลักษณะการเจือจางลดลงทุก 2 เท่า โดยหลุมควบคุม (control) เป็น broth ที่ไม่มียา ในแต่ละหลุมจะมีปริมาตรของ broth ทดสอบ 0.05 ml จากนั้นใส่เชื้อที่ปรับปริมาณแล้ว 2.5 x $10^6$ CFU/ml ปริมาตร 0.05 ml ลงในแต่ละหลุมแล้วปิดฝาก่อนนำไปบ่มเพาะ อ่านค่า MIC และเพื่อให้อ่านค่านี้ได้ง่ายขึ้น อาจใช้ microtiter reading mirror หรือ อุปกรณ์ที่สามารถอ่านค่าความขุ่นใสของ broth

3. **Agar dilution susceptibility** (นันทนา, 2537)

ทำใน Petri dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 9 เซนติเมตร การเตรียม agar ทดสอบ นำสารต้านจุลินทรีย์ที่เป็น stock solution นำมาเจือจางด้วยน้ำหรือตัวเจือจางที่เหมาะสม จนได้ความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบ แล้วจึงใส่ใน agar medium ซึ่งหลอมเหลวไว้ (45-50 °C) โดยใช้ยา 1 ส่วนต่อ medium 9 ส่วน ภายหลังผสมตัวยาเข้ากับ medium แล้วให้เท 20-25 ml ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ในกรณีที่ใช้ dimethyl formamide, dimethylsulfoxide หรือ ตัวทำละลายอื่นที่อาจมีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อด้วย ปริมาตรของยาที่ใช้ควรลดเป็น 0.2 ml ใน agar 20 ml (ยาเตรียมก่อนผสมจึงควรมีความเข้มข้นเป็น 100 เท่า ของความเข้มข้นที่จะทดสอบ) ถ้าต้องเติมสิ่งเสริม เช่น เลือด ฯลฯ ให้เติมหลังใส่ยาแล้วทันที ส่วน control plate จะเติมเฉพาะตัวเจือจางทิ้งไว้ให้แข็ง

**5. การศึกษาการควบคุมแบคทีเรียก่อโรคจากอาหาร**

เชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับอาหารเกิดจากหลายสาเหตุ ตั้งแต่ส่วนประกอบของอาหารมีการปนเปื้อน การปรุง การเสิร์ฟ หรือ การจัดเก็บอาหารไม่ถูกต้อง มีรายงานอย่างต่อเนื่องในกรณีของการพบเชื้อแบคทีเรียที่ปนมากับอาหาร แล้วทำให้ผู้บริโภคเกิดการเจ็บป่วย อาการเจ็บป่วยนั้นมีมากน้อยแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ชนิด และปริมาณของเชื้อที่ได้รับเข้าไป และสภาวะของผู้บริโภคในแต่ละบุคคล ในประเทศไทยมักพบการรายงานการเจ็บป่วยที่เกิดจาก

การได้รับเชื้อแบคทีเรียจากอาหาร (นงนุช และคณะ, 2556; วาที และคณะ, 2012) ทำให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพ กระทบต่อการเรียนและการทำงาน และต้องเสียค่าใช้จ่ายในการรักษา บางรายอาจเสียชีวิตได้ โดยเฉพาะในเด็กเล็ก ผู้สูงอายุ ผู้ที่มีโรคประจำตัว เจ็บป่วย และผู้ที่มีภูมิคุ้มกันที่อ่อนแออยู่ก่อนแล้ว

การกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่จะปนเปื้อนมาในอาหารทำได้หลายวิธี เช่น การใช้ความร้อนขณะปรุง หรือการใส่สารเคมีเพื่อถนอมอาหาร เป็นต้น แต่ในปัจจุบันผู้บริโภคได้ให้ความสำคัญในการบริโภคอาหารที่มีคุณภาพ ปลอดภัย และลดการใช้สารเคมีปรุงแต่งอาหาร เพื่อสุขภาพที่ดีและชีวิตที่ยืนยาว จึงได้มีผู้ให้ความสนใจในการนำเอาสารที่ได้จากธรรมชาติเช่นสมุนไพร มาเพื่อควบคุมแบคทีเรียเหล่านี้

ตามปกติแล้วสมุนไพรและเครื่องเทศมักอยู่เป็นส่วนประกอบของอาหารไทย พืชสมุนไพรและเครื่องเทศมีสมบัติทางยาร่วมด้วย จึงมีการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยใช้พืชเหล่านี้ เช่น มีการศึกษาสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp. จากพืชสมุนไพร 14 ชนิด (Nanasombat and Lohasupthawee, 2005) ได้แก่ กระวาน อบเชย กานพลู เมล็ดผักชี ยี่หร่า กระเทียม ขิง กระเพรา มะกรูด ตะไคร้ ดอกจันทน์ จันทน์เทศ พริกไทย และขมิ้น น้ำมันหอมระเหยจากกานพลู และมะกรูดมีฤทธิ์ยับยั้ง *Salmonella* sp. ได้ดีที่สุด น้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดสามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* ในข้าวหุงสุก พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดสามารถยืดอายุข้าวหุงสุกไม่ให้เน่าเสียได้ดี (นวลจันทร์ และ สุภาพร, 2550) น้ำมันอบเชยออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Eurotium* sp., *Penicillium chrysogenum* และ *Aspergillus flavus* ได้ดีกว่าน้ำมันกานพลูและน้ำมันขิง (Sukatta, et al, 2005) จึงนำมาใช้กับผลิตภัณฑ์ขนมอบได้ดี และมีการใช้น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยในการยับยั้งเชื้อราในทุเรียนกวน พบว่าสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของทุเรียนกวนได้ และยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคอีกด้วย (Haruthaithanasan, et al., 2001) นอกจากจะมีการใช้ประโยชน์จากน้ำมันหอมระเหยกับอาหารแล้ว ยังอาจมีการใช้ประโยชน์จากน้ำมันหอมระเหยในด้านอื่นๆอีก เช่น น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยจีนใช้ในเจลทาสิว (Charoenkul, et al. 2004) น้ำมันหอมระเหยจากไพล ขมิ้นชันและว่านนางคำ ใช้เป็นยากำจัดเห็บสุนัข (Phonsena et al., 2006) เป็นต้น

ในต่างประเทศก็มีการวิจัยเกี่ยวกับสมุนไพรในประเทศนั้นๆเช่นกัน เช่น สารสกัดจากออริกาโนสามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus, Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* และ *Salmonella enterica* ได้ (Friedman, et al., 2007) น้ำมันหอมระเหยจากหัวหอมและกระเทียมมีฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella enteritidis* ได้ดี (Smith, et al., 1998) น้ำมันหอมระเหยจากเบย์ อบเชย กานพลู และไทม์ สามารถยับยั้งเชื้อ *Campylobacter jejuni, Salmonella*

*enteritidis, Escherichia coli, Staphylococcus aureus* และ *Listeria monocytogenes* ได้ดี ในประเทศสเปนได้มีการศึกษาสารประกอบฟีนอลหลายชนิด (thymol, carvacrol, eugenol, hydroquinone, *p*-hydroxybenzolic acid, protocatechuic acid และ gallic acid) ที่พบได้ในพืชชนิดต่างๆ พบว่า caravacrol และ thymol มีฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Escherichia coli* และ *Pseudomonas fluorescens* ได้ดี gallic acid และ hydroquinone มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ดี จึงนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อลดแบคทีเรียก่อโรคและลดความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งได้ (Smith et al., 1998)

**6. อนุมูลอิสระและสารต้านออกซิเดชัน**

อนุมูลอิสระ (บุหรัน, 2556) คือ สารที่มีอิเล็คตรอนโดดเดี่ยวในอะตอมหรือโมเลกุล เป็นสารที่ไม่เสถียร พบได้ทุกแห่งในสิ่งแวดล้อม ในสิ่งมีชีวิตและในเซลล์ หรือจากกระบวนการเมแทบอลิซึม โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็คตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจน ทำให้อิเล็คตรอนในโมเลกุลของออกซิเจนไม่สมดุล จึงกลายเป็นอนุมูลอิสระและว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามาก และสามารถดึงอิเล็คตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็คตรอนที่ขาดหายไป เพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ปฏิกิริยานี้เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นลูกโซ่สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้กับสารชีวโมเลกุลและทำลายสมดุลของร่างกาย ทำลายสารชีวโมเลกุลทั้งในเซลล์และองค์ประกอบของเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น ไขมัน โปรตีน เอนไซม์ ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ คาร์โบไฮเดรต เซลล์เมมเบรน คอลลาเจน ไมโทคอนเดรีย และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน จึงเป็นสาเหตุของการเกิดโรคหลายชนิด เช่น โรคในระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคชรา โรคความจำเสื่อม โรคข้ออักเสบ โรคภูมิแพ้ ความผิดปกติของร่างกายในระบบต่างๆ หรือโรคมะเร็งต่างๆ ดังนั้นการควบคุมการเกิดอนุมูลอิสระหรือการทำลายอนุมูลอิสระจะช่วยป้องกันการเกิดโรคต่างๆได้

สารต้านออกซิเดชัน สารมารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในธรรมชาติสิ่งมีชีวิตมีระบบการป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ สารต้านออกซิเดชันมีทั้งที่เป็นเอนไซม์และไม่เป็นเอนไซม์ หรือสารประกอบที่ละลายในน้ำละลายในไขมัน กลไกการทำงานของสารต้านออกซิเดชันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) ยับยั้งการทำงานของปฏิกิริยาออกซิเจนที่ขาดอิเล็คตรอน (singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้ (metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain breaking) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition)

สารต้านออกซิเดชันอาจเป็นสารสังเคราะห์หรือสารที่พบในธรรมชาติ สารต้านออกซิเดชันที่เป็นสารสังเคราะห์ได้แก่ สารประกอบฟีนอล นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการ

เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติที่เปลี่ยนแปลงไป แต่สารสังเคราะห์มีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยในการบริโภค สารที่พบในธรรมชาติที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันพบได้ทั้งพืชและสัตว์ เป็นได้ทั้งเอนไซม์ วิตามิน และสารอื่นๆ ตัวอย่างเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระได้แก่ glutathione peroxidase, glutathione reductase และ glutathione transferase สารต้านออกซิเดชันที่เป็นวิตามินได้แก่ วิตามินซี และ วิตามินอี

สารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ทั้งการต้านเชื้อแบคทีเรียและการต้านออกซิเดชันนั้น เป็นเรื่องที่ควรให้ความสนใจในด้านอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากสารที่ได้จากพืชนั้นสามารถนำไปใช้กับอาหารได้ งานวิจัยในครั้งนี้จึงได้ศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายชนิดและทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจากอาหารและสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน

# อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

## 1. อุปกรณ์และสารเคมี

1. ชุดสกัดน้ำมันหอมระเหย (round bottom flask, Clevenger apparatus, condenser, tubes, hot plate)
2. Autoclave, Dihan Scientific, Korea
3. Incubator, Termaks, Norway
4. Hot air oven, Binder, Germany
5. Antibiotic disc 6 mm, Macherey-Nagel, Germany
6. Mueller Hinton broth/agar (MHA/MHB), Titan Biotech Ltd., India
7. Brain heart infusion agar (BHA), Criterion, USA
8. Nutrient broth/agar (NB/NA), Himedia, India
9. Glycerol, Merck, Germany
10. Petri dishes, Gosselin, France
11. Autopipettes and tips
12. Forceps
13. Vial
14. Microtiter plate 96 well-U bottom, Nest, China
15. Glassware (test tube, beaker, flask, pipette, slide, pasture pipette, etc.)
16. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) .), Sigma-Aldrich, Germany
17. Methanol, RCI Labscan, Thailand
18. Ethanol, RCI Labscan, Thailand
19. Tocopherol, Fluka, Switzerland
20. 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS), Fluka, Switzerland
21. Potassium persulfate, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia
22. Trolox, Sigma-Aldrich, China

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

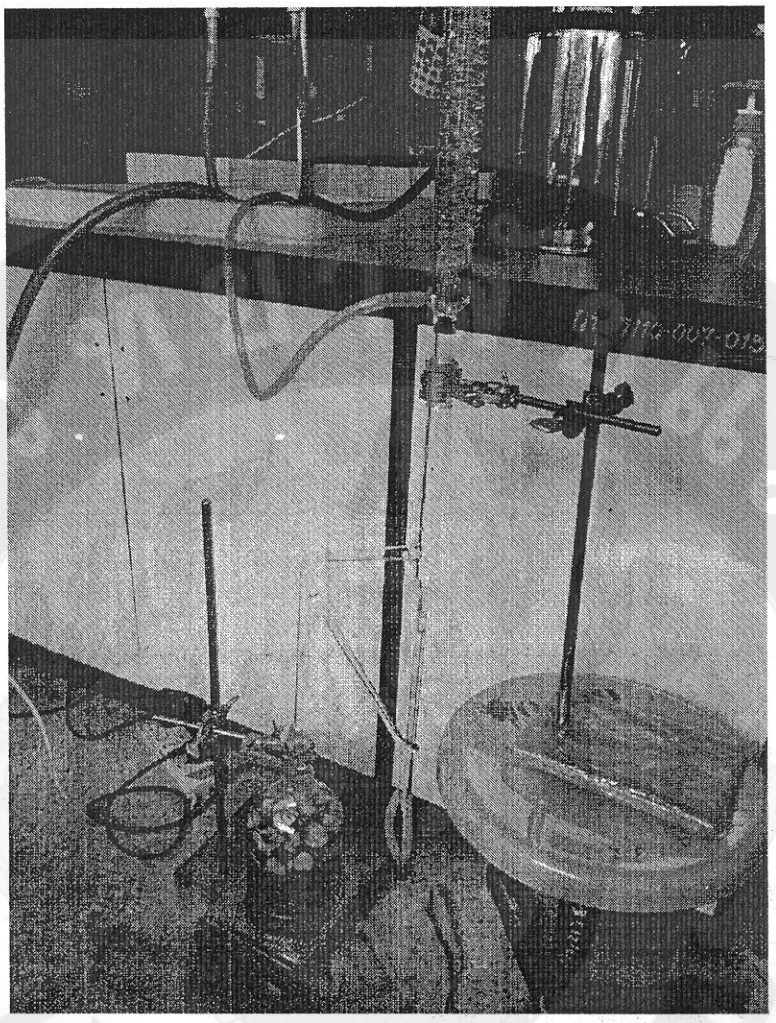

**2. วิธีการวิจัย**

**ตัวอย่างพืช**

ตัวอย่างพืช 20 ชนิดซื้อมาจากตลาดในจังหวัดเชียงใหม่ ได้แก่ กานพลู (ดอกตูมแห้ง) (*Eugsnia aromatic*) เมล็ดผักชี (*Coriandrum sativum*) ยี่หร่า (*Carum carvi* Linn.) มะแหลบ (*Heracleum siamicum* Craib.) มะแขว่น (*Zanthoxylum rhetsa DC.*) ดีปลี (*Piper longum*) พริกไทย (เมล็ด) (*Piper nigrum*) มะกรูด (*Citrus hystrix DC.*) ส้ม (*Lonicera japonica* Thunb) มะนาว (เปลือกผล) (*Citrus aurantifolia* Swing.) ขิง (*Zingiber officinalis* Roscoe) ข่า (*Alpinia galangal* Stunz.) กระชาย (*Boesenbergia pandurate* Holtt.) ไพล (*Zingiber montanum*) ขมิ้นชัน (เหง้า) (*Curcuma longa* Linn.) สะระแหน่ (*menthe cordifolia* Opiz ex Fresen) ตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* Stapf.) กะเพรา (*Ocimum sanctum* Linn.) โหระพา (*Ocimum basilicum* Linn.) พลู (ใบหรือกาบใบ) (*Piper betle* Linn.)

**การสกัดน้ำมันหอมระเหย**

น้ำมันหอมระเหยสกัดด้วยวิธี water distillation โดยล้างทำความสะอาดตัวอย่างพืช ครั้งละ 1,000 กรัม หั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ นำตัวอย่างใส่ฟลาสก์ก้นกลมขนาด 5 ลิตรเติมน้ำให้ท่วมตัวอย่าง ต่อชุดอุปกรณ์การกลั่นได้แก่ ฟลาสก์ก้นกลมที่ใช้ใส่ตัวอย่าง clevenger apparatus เพื่อใช้เก็บน้ำมันหอมระเหยและ condenser เพื่อใช้ในการควบแน่น (ภาพที่ 1) ต้มจนน้ำเดือดไอน้ำจะลอยขึ้นไปจนถึง condenser น้ำและน้ำมันหอมระเหยจะถูกกลั่นตัวลงมาที่ clevenger apparatus น้ำและน้ำมันหอมระเหยจะแยกชั้นกันอยู่ เก็บตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ในขวดแก้วกันแสงและเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 1 ชุดสกัดน้ำมันหอมระเหย

เชื้อแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองได้แก่ *Listeria monocytogenes* DMST 2871, *Bacillus cereus* DMST 5040, *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Salmonella enteritidis* group. B, *Salmonella typhi* DMST 5784, *Escherichia coli* DMST 10743, *Pseudomonas aeruginosa* MJU และ *Vibrio parahaemolyticus* MT เลี้ยงบนอาหาร BHA ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนทำการทดสอบ และเก็บรักษาเชื้อใน 20% glycerol ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

การทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี agar disc diffusion

เตรียมเชื้อแบคทีเรียโดยปรับความขุ่นของเชื้อในอาหาร MHB ให้ได้เท่ากับ Standard McFarland No. 0.5 ใช้ cotton swab ที่ม่าเชื้อแล้ว จุ่มเชื้อพอหมาดๆ เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร MHA

เป็น 3 ระนาบ แล้วใช้ forceps ที่ฆ่าเชื้อแล้วคีบ disc ที่ชุบน้ำมันหอมระเหยปริมาตร 10 µl (entire extract) วางบนอาหาร บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดลองเป็นจำนวน 3 ซ้ำ ตรวจสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (inhibition zone) โดยใช้ vernier caliper บันทึกผล

**การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่ยับยั้งและฆ่าแบคทีเรียก่อโรคที่มาจากอาหาร (Minimal Inhibitory Concentration assay, MIC and Minimal Bactericidal Concentration, MBC)**

การทดสอบความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าแบคทีเรียได้ใช้วิธี microbroth dilution assay เจือจางน้ำมันหอมระเหยเป็นลำดับใน 96-well U-bottom microtiter plate นำเชื้อที่ต้องการทดสอบมาปรับความขุ่นให้ได้เท่ากับสารละลายมาตรฐาน 0.5 McFarland แล้วเจือจาง 100 เท่าโดยใช้อาหาร MHB นำเชื้อที่เตรียมปริมาตร 50 µl ใส่ในทุกหลุม แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง MIC หมายถึงค่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อในอาหารเหลวเมื่อสังเกตได้ด้วยตาเปล่า ค่า MBC หมายถึงค่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ ทำได้โดยนำอาหารจากหลุมที่ไม่สามารถสังเกตเห็นการเจริญของเชื้อมาปริมาตร 10 µl เพาะลงบนอาหาร BHA ความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อถือว่าเป็นค่า MBC ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

**การทดสอบสมบัติการกำจัดอนุมูลอิสระ**

1. การตรวจหาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging activity

วิธี DPPH นี้ เป็นการทดสอบการต้านออกซิเดชันโดยให้ตัวอย่างทำปฏิกิริยากับ DPPH (1,1-dipheryl-2-picrylhydrazyl) ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระที่คงตัวมีสีม่วง เมื่อ DPPH ได้รับอนุมูลอิสระไฮโดรเจน จะเปลี่ยนเป็นสารไม่มีสี วิธีทดสอบนี้ทำโดยเตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 mM ในเมทานอล จากนั้นผสมสารละลาย DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร กับสารละลายตัวอย่างที่ทราบความเข้มข้นต่างๆที่ละลายใน ethanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทำจำนวน 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ตัวควบคุมผลบวกได้แก่วิตามินอี คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) ดังนี้ %inhibition = $[(A_{control}-A_{sample})/A_{control}] \times 100$ โดยที่ $A_{sample}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่เติมสารละลาย DPPH ลบด้วยค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่เติม ethanol และ $A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ ethanol ที่เติม DPPH ลบด้วยค่าการดูดกลืนแสงของ ethanol จากนั้นนำค่า % inhibition ไปคำนวณหาค่า $IC_{50}$

ค่า $IC_{50}$ หมายถึง ค่าความเข้มข้นของสารสกัด ที่สามารถme]kpsinvde0yfอนุมูลอิสระ DPPH ได้ร้อยละ 50 จากปริมาณสารอนุมูลอิสระเริ่มต้น คำนวณได้จากกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์การกำจัดกับความเข้มข้น แสดงเป็นค่าความเข้มข้นที่กำจัดได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

2. การตรวจหาสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS free radical scavenging activity

วิธีนี้ ABTS (2,2-Azino-bis-(3-ethlbezothia zoline-6-sulfonic acid diammonium salt) จะถูกเปลี่ยนเป็นสารอนุมูลอิสระด้วยการถูกออกซิไดส์ด้วยการเติม potassium persulfate ซึ่งได้สารที่มีสีเขียว เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านออกซิเดชันสีเขียวจะเปลี่ยนเป็นสีที่ซีดจางลง การตรวจสอบทำได้โดยเตรียมสารละลาย ABTS 7 mM ในน้ำปราศจากไอออน และสารละลาย potassium persulfate 2.45 mM ในน้ำปราศจากไอออน จากนั้นเตรียม working ABTS โดยผสมสารละลาย ABTS และสารละลาย potsaaium persulfate ในอัตราส่วน 8:2 เก็บไว้ในที่มืดและเย็นเป็นเวลา 16 ถึง 18 ชั่วโมง ก่อนการใช้งาน เตรียมสารละลาย Trolox 500 µM ใน absolute ethanol เตรียมตัวอย่างที่ทราบความเข้มข้น นำตัวอย่างมาปริมาตร 200 µl ผสมกับ working ABTS ปริมาตร 1800 µl บ่มในที่มืด เป็นเวลา 5 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร คำนวณ % inhibition จากสูตร % inhibition = $[(A_{control} - A_{sample})/A_{control}] \times 100$ โดยที่ $A_{control}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของ ethanol ที่เติม ABTS ลบด้วย ค่าการดูดกลืนแสงของ ethanol ส่วน $A_{sample}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่เติม ABTS ลบด้วยค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่เติม ethanol ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของตัวอย่างแสดงผลในรูปของ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) หมายถึงความสามารถสารตัวอย่างในการกำจัดอนุมูล ABTS ที่เปรียบเทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Trolox โดยถ้าค่า TEAC มีค่าสูง แสดงว่าฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระได้มาก ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

**การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS )**

การวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยจากกานพลูด้วยเทคนิค GC-MS ทำโดยใช้ตัวอย่าง 30 µl ละลายใน dichloromethane 570 µl สภาวะของเครื่อง GC (ยี่ห้อ Agilent Technology, รุ่น GC 6890, USA) ใช้ปริมาณตัวอย่าง 1 µl ในส่วนของคอลัมน์ที่ใช้คือ HP-5MS 30 m x 0.25 mm ID x 0.25 µm Film Thickness (ยี่ห้อ HP, USA) ตั้งอัตราการไหลของก๊าซฮีเลียมเข้าคอลัมน์เป็น 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนอุณหภูมิคอลัมน์ตั้งโปรมแกรมโดยใช้อุณหภูมิเริ่มต้น 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นเพิ่มอัตราเร็ว 3 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 188 องศาเซลเซียส และเพิ่มอัตราเร็ว 20 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 280 องศาเซลเซียส คงที่อีก 3 นาที เวลาในการวิเคราะห์

นาน 49.93 นาที ส่วนของ MS (ยี่ห้อ Hewlet Packard, รุ่น 5973, USA) เป็น MS Quadrupole ที่ต่อกับ GC โดยตรง ซึ่งผ่านส่วนเชื่อมต่อ (Transfer Line) ที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 280 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิของ Ion Source เป็น 230 องศาเซลเซียส ในระบบ Electron Impact Ionization (EI) โดยให้ผลการแยกองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยเป็น Total Ion Chromatogram (TIC) ในระบบ Scan Mode ใช้ในช่วง Mass 30 ถึง 500 AMU (Atomic Mass Unit) และการพิสูจน์เอกลักษณ์ขององค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยใช้การเปรียบเทียบสเปกตรัมกับสเปกตรัมมาตรฐานของ Wiley Version 275 และ NIST Version 98 Library

## ผลการวิจัย

เมื่อได้สกัดน้ำมันหอมระเหยจากตัวอย่างพืชจำนวน 20 ชนิด ด้วยวิธี water distillation ได้น้ำมันหอมระเหยที่มีร้อยละของการผลิต และลักษณะดังตารางที่ 1 จากผลการทดลองพบว่ามีตัวอย่างพืช 16 ชนิดที่สามารถสกัดน้ำมันหอมระเหยออกมาได้ด้วยวิธี water distillation โดยมีร้อยละของผลผลิตอยู่ระหว่าง 0.06 ถึง 5 ส่วนตัวอย่างที่สกัดน้ำมันหอมระเหยออกมาได้น้อยมาก ไม่เพียงพอแก่การทดลองต่อไป ได้แก่ สะระแหน่ พริกไทย ดีปลี และเมล็ดผักชี

**ตารางที่ 1 ผลการสกัดน้ำมันหอมระเหยของพืชชนิดต่างๆ**

| สมุนไพรและเครื่องเทศ | ส่วนของพืชที่ใช้ | น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ใช้ (g) | ปริมาตรของน้ำมันหอมระเหย (ml) | ร้อยละของการผลิต | ลักษณะของน้ำมันหอมระเหย |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. กานพลูแห้ง | ดอกตูมแห้ง | 100 | 5 | 5 | ใสไม่มีสี |
| 2. ยี่หร่า | เมล็ดแห้ง | 1,040 | 1.8 | 0.17 | ใสไม่มีสี |
| 3.มะแหลบ | เมล็ดแห้ง | 90 | 0.3 | 0.33 | สีเหลืองใส |
| 4.มะแขว่น | เมล็ดแห้ง | 1,250 | 13.6 | 1.08 | สีเหลืองใส |
| 5.มะกรูด | เปลือกผล | 5,940 | 32.2 | 0.54 | ใสไม่มีสี |
| 6.ส้ม | เปลือกผล | 230 | 2.2 | 1.0 | สีเขียวใส |
| 7.มะนาว | เปลือกผล | 120 | 1.3 | 1.08 | สีเหลืองใส |
| 8.ขิง | เหง้าสด | 7,150 | 7.05 | 0.10 | สีส้มเหลืองใส |
| 9.ข่า | เหง้าสด | 7,950 | 11 | 0.14 | สีเหลืองอ่อนใส |
| 10.กระชาย | เหง้าสด | 9,750 | 15 | 0.15 | สีเหลืองอ่อนใส |
| 11.ไพล | เหง้าสด | 3,680 | 11.4 | 0.31 | ใสไม่มีสี |
| 12.ขมิ้นชัน | เหง้าสด | 14,970 | 22.7 | 0.15 | สีเหลืองใส |
| 13.ตะไคร้ | กาบใบสด | 10,050 | 19.7 | 0.20 | สีเหลืองอ่อนใส |
| 14.กะเพรา | ใบสด | 4,480 | 8.7 | 0.19 | สีเหลืองใส |
| 15.โหระพา | ใบสด | 4,310 | 8.9 | 0.21 | สีเหลืองใส |
| 16.พลู | ใบสด | 1,040 | 0.6 | 0.06 | สีเหลืองอ่อนใส |

**1. ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธี agar disc diffusion**

ผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโรคจากอาหารด้วยวิธี agar disc diffusion บนอาหาร MHA ทำการทดลอง 3 ซ้ำ มีตัวควบคุมได้แก่ ยาปฏิชีวนะ tetracycline 30 µg (Oxoid) ได้ผลการทดลองแสดงค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งแบคทีเรีย ดังแสดงในตารางที่ 2 ยาปฏิชีวนะ tetracycline ยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ โดยมีบริเวณยับยั้งตั้งแต่ 22 ถึง 34 มิลลิเมตร น้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆที่นำมาทดสอบมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ

เพื่อแสดงให้เห็นภาพอย่างชัดเจน จึงแสดงถึงความสามารถของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆในการยับยั้งแบคทีเรียดังแสดงในภาพที่ 2 ซึ่งพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายชนิดสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคจากอาหารได้ดีด้วยวิธี agar disc diffusion โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสมากกว่า 25 มิลลิเมตร ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยจากกานพลู มะแขว่น มะกรูด ขิง และ ตะไคร้

น้ำมันหอมระเหย ขิงและตะไคร้ สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้ดีมาก โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่าการใช้ tetracycline

น้ำมันหอมระเหยกานพลูสามารถยับยั้ง *Sal. Typhi* ได้ดี และดีเทียบเท่ากับ tetracycline

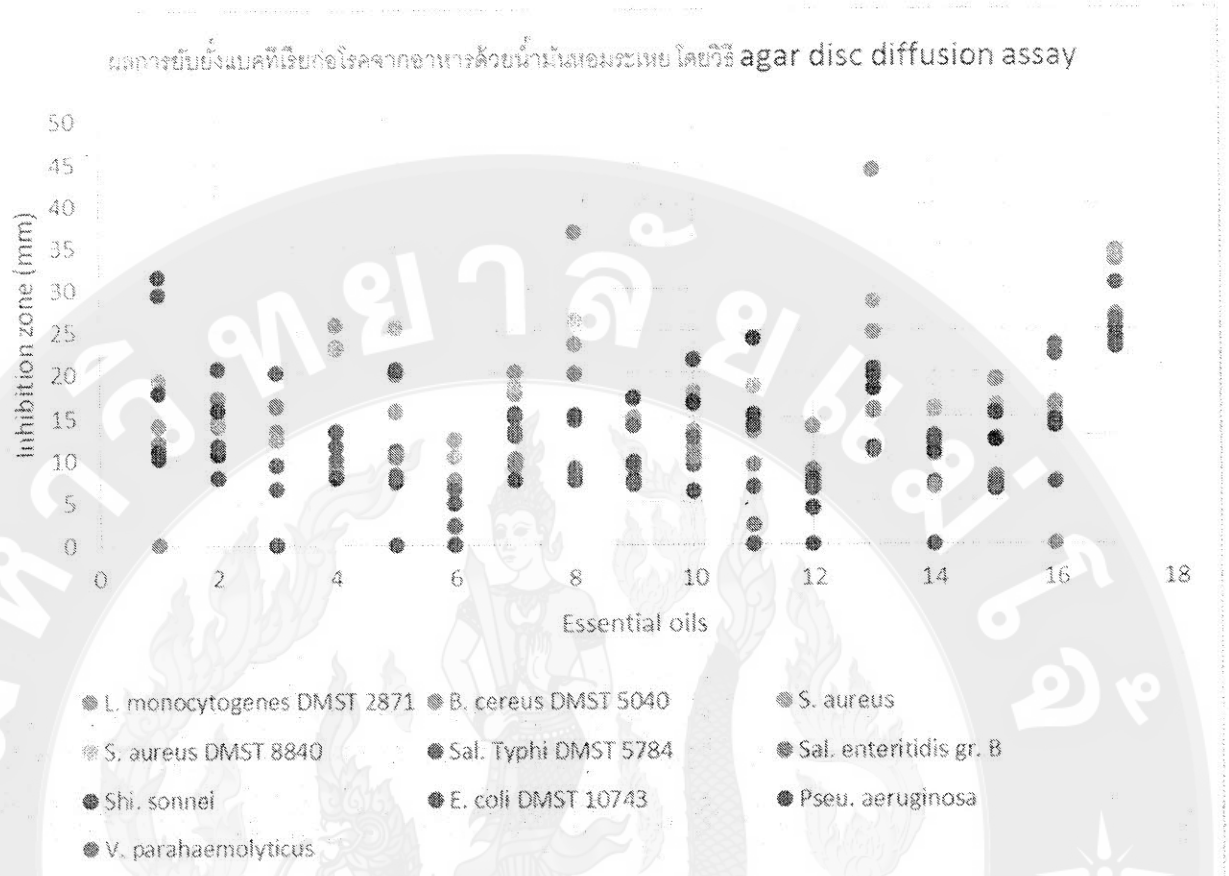
น้ำมันหอมระเหยมะแขว่น มะกรูด ขิง และตะไคร้สามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้ดี

น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้แสดงผลการยับยั้ง *B. cereus* ได้มากที่สุด (44 mm) และมากกว่า tetracycline และน้ำมันหอมระเหยจากขิงก็ยับยั้ง *B. cereus* ได้ดีมากกว่า tetracycline เช่นกัน (36.8 mm)

น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ขิง มะกรูด มะนาว และมะแขว่นสามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้ดี น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้และยี่หร่าสามารถยับยั้ง *S. typhi* ได้ดี น้ำมันหอมระเหยจากขิงสามารถยับยั้ง *L. monocytogenes* ได้ดี น้ำมันหอมระเหยจากกระชาย มะแหลบ และมะกรูดสามารถยับยั้ง *Pseu. aeruginosa* ได้ดี

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยการยับยั้งแบคทีเรียด้วยน้ำมันหอมระเหย โดยวิธี agar diffusion

| essential oil | Inhibition zone (mm) | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *L. monocytogenes* DMST 2871 | *B. cereus* DMST 5040 | *S. aureus* | *S. aureus DMST 8840* | *Sal. Typhi* DMST 5784 | *Sal. enteeritidis gr. B* | *Shi. sonnei* | *E. coli* DMST 10743 | *Pseu. aeruginosa* | *V. parahaemolyticus* |
| 1. กานพลู | 0 | 12.02 | 13.98 | 19.18 | 31.48 | 11.27 | 17.82 | 11.10 | 10.20 | 29.28 |
| 2. ยี่หร่า | 10.67 | 17.17 | 14.1 | 14.3 | 20.67 | 10.8 | 10.67 | 15.78 | 8 | 11.67 |
| 3. มะแหลบ | 12.33 | 16.33 | 13.33 | 12.33 | 9.33 | 0 | 0 | 0 | 20.18 | 6.67 |
| 4. มะแขว่น | 8.67 | 23.13 | 25.67 | 22.98 | 11.67 | 9.00 | 8.00 | 7.90 | 13.33 | 10.00 |
| 5. มะกรูด | 10.33 | 20.00 | 15.67 | 25.33 | 11.00 | 10.57 | 0 | 7.37 | 20.5 | 8.33 |
| 6. ส้ม | 0 | 7.67 | 12.43 | 10.47 | 6.67 | 2.17 | 0 | 0 | 5 | 2.33 |
| 7. มะนาว | 9.17 | 17.67 | 20.13 | 18.46 | 12.87 | 10.03 | 15.33 | 7.53 | 15 | 13.33 |
| 8. ขิง | 20 | 36.80 | 23.33 | 26.17 | 14.67 | 8.17 | 15.11 | 7.63 | 7.67 | 8.97 |
| 9. ข่า | 9.13 | 9.33 | 14.83 | 7.63 | 14 | 9.17 | 17.16 | 7.67 | 9.67 | 7.17 |
| 10. กระชาย | 16.5 | 11.47 | 13.43 | 17.8 | 9.33 | 10.33 | 16.67 | 6.33 | 21.67 | 12.67 |
| 11. ไพล | 2.33 | 0 | 13.43 | 18.47 | 14.1 | 9.33 | 24.00 | 15.25 | 0 | 6.83 |
| 12. ขมิ้นชัน | 8.67 | 13.8 | 7 | 7.83 | 7 | 6.83 | 0 | 4.32 | 7.83 | 6.57 |
| 13. ตะไคร้ | 15.67 | 44 | 24.67 | 28.37 | 20.5 | 15.67 | 18.17 | 11.45 | 19.67 | 11.13 |
| 14. กะเพรา | 11.67 | 10.5 | 15.87 | 15.83 | 7.33 | 6.83 | 10.83 | 0 | 12.33 | 12.67 |
| 15. โหระพา | 12.33 | 8 | 19.19 | 16.1 | 7.33 | 6.57 | 12.15 | 6.4 | 15.33 | 7.16 |
| 16. พลู | 0 | 15.32 | 16.43 | 15.52 | 22.17 | 16.25 | 13.89 | 14.59 | 7.22 | 23.28 |
| 17. Tetracycline | 34.25 | 33.33 | 26.65 | 34 | 30.47 | 23.33 | 23.99 | 25.27 | 22.87 | 26.17 |




**ภาพที่ 2 ผลการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคจากอาหารด้วยน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆโดยวิธี agar disc diffusion**

**2. ผลความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่ยับยั้งและฆ่าแบคทีเรียก่อโรคที่มาจากอาหาร**

การหาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่ยับยั้งและฆ่าแบคทีเรียก่อโรคที่มาจากอาหาร ทำโดยวิธี microdilution ใน 96 well U-bottom microtiter plate โดยเจือจางน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้นเป็นลำดับส่วน ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3 จากตารางพบว่าน้ำมันหอมระเหยหลายชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ดีมาก สังเกตจากค่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ยับยั้งและฆ่าเชื้อ (MIC และ MBC) หากยิ่งน้อยแสดงว่ายับยั้งเชื้อได้ดี แต่ *L. monocytogenes* และ *Pseu. aeruginosa* อาจต้องใช้น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นสูงจึงจะสามารถยับยั้งเชื้อได้ (>1024 µg/ml)

น้ำมันหอมระเหยกานพลู ยี่หร่า ขิง และ ตะไคร้ สามารถยับยั้งได้ดีมาก *B. cereus* ค่า MIC และ MBC ที่เท่ากันแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียนั้น

น้ำมันหอมระเหย กานพลู ขิง กระชาย ไพล ตะไคร้ สามารถยับยั้งได้ดี *S. aureus*

น้ำมันหอมระเหย กานพลู ยี่หร่า กระชาย สามารถยับยั้ง *Sal.* Typhi ได้ดี

น้ำมันหอมระเหย กานพลู สามารถยับยั้ง *Sal. enteritidis* ได้ดี

น้ำมันหอมระเหย กานพลู สามารถยับยั้ง *Shi. Sonnei* ได้ดี

น้ำมันหอมระเหย กานพลู ยี่หร่า สามารถยับยั้ง *E. coli* ได้ดี

น้ำมันหอมระเหย กานพลู ขิง กระชาย ตะไคร้ กระเพรา พลู สามารถยับยั้ง *V. parahaemolyticus* ได้ดี

ตารางที่ 3 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่ยับยั้ง (MIC, µg/ml) และฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC, µg/ml) ก่อโรคที่มาจากอาหาร

| น้ำมันหอมระเหย | *L. monocytogenes* DMST 2871 | | *Bacillus cereus* DMST 5040 | | *Staphylococcus aureus* DMST 8840 | | *Staphylococcus aureus* | | *Salmonella Typhi* DMST 5784 | | *Salmonella enteritidis* gr. B | | Shi. sonnei | | *Escheriachia coli* DMST 10743 | | *Pseu. aeruginosa* | | *V. parahaemolyticus* | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC |
| 1. กานพลู | 1024 | >1024 | 0.25 | 0.25 | 128 | 1024 | <0.06 | <0.06 | <0.06 | <0.06 | 32 | 32 | 4 | 4 | 16 | 16 | >1024 | >1024 | 8 | 8 |
| 2. ยี่หร่า | >1024 | >1024 | 4 | 16 | 1024 | 1024 | 16 | 4096 | <0.06 | <0.06 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 32 | 32 | >1024 | >1024 | 512 | 1024 |
| 3. มะแหลบ | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 |
| 4. มะแขว่น | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 |
| 5. มะกรูด | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 1024 | >1024 | 128 | 256 | 1024 | 1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 1024 | 1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 |
| 6. ส้ม | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 |
| 7. มะนาว | >1024 | >1024 | 1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 256 | 256 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 |
| 8. ขิง | >1024 | >1024 | 4 | 4 | 8 | 256 | 0.5 | 16 | 128 | 512 | 1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 16 | 16 |
| 9. ข่า | >1024 | >1024 | 256 | 256 | >1024 | >1024 | 16 | 1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 |
| 10. กระชาย | >1024 | >1024 | 256 | 1024 | 256 | 1024 | 1 | 256 | 8 | 8 | 1024 | 1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 16 | 16 |
| 11. ไพล | >1024 | >1024 | 256 | 512 | >1024 | >1024 | 16 | 256 | 1024 | >1024 | 1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 |
| 12. ขมิ้นชัน | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 16 | 512 |
| 13. ตะไคร้ | 512 | 1024 | 4 | 1 | 0.06 | 0.06 | 0.125 | 0.25 | 64 | 512 | >1024 | >1024 | 1024 | 1024 | 2048 | >1024 | >1024 | >1024 | 8 | 8 |
| 14. กะเพรา | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 1024 | 1024 | 1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 2 | 2 |
| 15. โหระพา | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 256 | 1024 |
| 16. พลู | >1024 | >1024 | 256 | 256 | 1024 | >1024 | 1024 | >1024 | 128 | 128 | 512 | 512 | 256 | 512 | 512 | 512 | >1024 | >1024 | 8 | 8 |

**3. ผลการทดสอบสมบัติการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS**

การทดสอบสมบัติการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยใช้ตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศพบว่า กานพลู และ พลูให้ค่า $IC_{50}$ ต่ำที่สุด รองลงมาได้แก่ กะเพรา (62 mg/l) (ตารางที่ 4)

การทดสอบสมบัติการกำจัดอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี ABTS (ตารางที่ 4) โดยน้ำมันหอมระเหยจากกานพลู ให้ค่า TEAC สูงที่สุด (2,183 μM) รองลงมาคือ กะเพรา ส่วน มะแขว่น ขิง ข่า ไพล ขมิ้นชัน โหระพา และพลู นั้นมีสมบัติการกำจัดอนุมูลอิสระเช่นกัน

**ตารางที่ 4 ค่า $IC_{50}$ และ TEAC ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ**

| พืช | $IC_{50}$ (mg/l) | TEAC (μM) |
|---|---|---|
| 1.กานพลู | 4.01 | 2183.79 |
| 2.ยี่หร่า | 27,086.05 | 0.80 |
| 3.มะแหลบ | 36,690.35 | 0.68 |
| 4.มะแขว่น | 24,084.52 | 13.62 |
| 5.มะกรูด | 28,901.49 | 3.95 |
| 6.ส้ม | 15,399.30 | 4.39 |
| 7.มะนาว | 28,097.19 | 8.21 |
| 8.ขิง | 3,274.27 | 23.88 |
| 9.ข่า | 4,175.01 | 71.15 |
| 10.กระชาย | 41,610.10 | 9.88 |
| 11.ไพล | 3,226.90 | 22.07 |
| 12.ขมิ้นชัน | 7,024.28 | 17.61 |
| 13.ตะไคร้ | 25,290.88 | 8.96 |
| 14.กะเพรา | 62.93 | 425.96 |
| 15.โหระพา | 5,192.68 | 14.54 |
| 16.พลู | 3.93 | 30.59 |
| Vitamin E | 3.67 | 0.26 |
| Beta carotene | 108.78 | 108.79 |

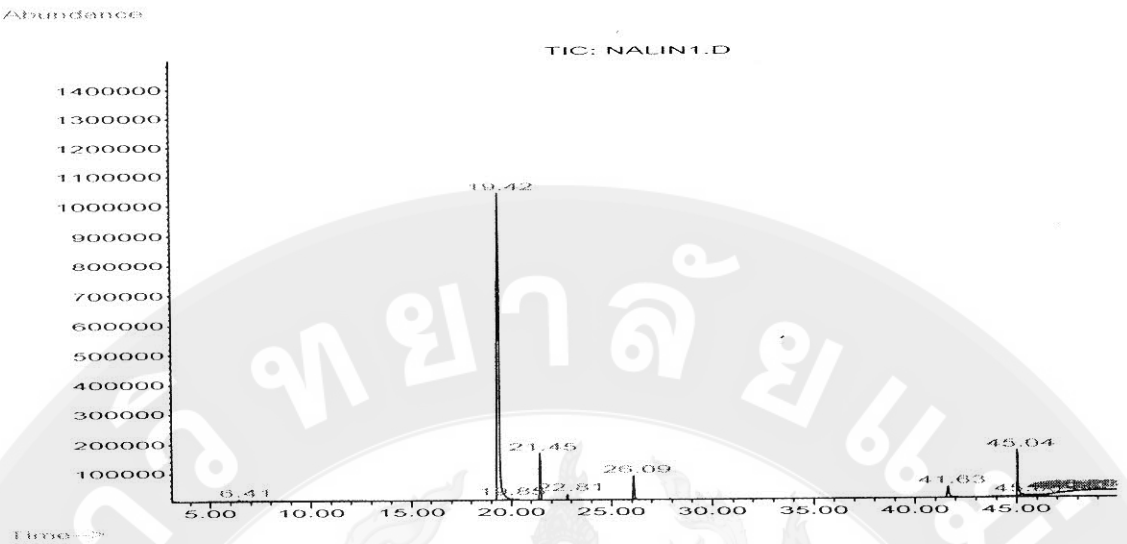
จากผลการทดสอบทั้งฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย และการกำจัดอนุมูลอิสระ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูมีฤทธิ์ที่ดีที่สุด จึงคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยกานพลูมาศึกษาองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี GC-MS

**4. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยกานพลูด้วยวิธี GC-MS**

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูด้วย เทคนิค GC-MS พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้มีองค์ประกอบทางเคมี 13 ชนิดและมีองค์ประกอบหลัก คือ eugenol อยู่ถึง 79.75 % (ตารางที่ 5 และภาพที่ 3)

**ตารางที่ 5** องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยกานพลู

| Peak | Components | Retention time | area % |
|---|---|---|---|
| 1 | 2-Pentamine, 4-methyl | 6.42 | 0.12 |
| 2 | Eugenol | 19.42 | 79.75 |
| 3 | 2-Amino-1-(O-methoxyphenyl)propane | 19.85 | 0.35 |
| 4 | Beta-Caryophyllene | 21.44 | 6.37 |
| 5 | Beta-Selinene | 22.81 | 0.74 |
| 6 | Acetyl eugenol | 26.09 | 3.50 |
| 7 | Hexadecanoic acid | 41.63 | 2.56 |
| 8 | Octadecanoic acid | 45.04 | 5.56 |
| 9 | 2-Hexamine, 5-methyl | 45.38 | 0.01 |
| 10 | Octodrine | 46.97 | 0.06 |
| 11 | 2-Butanamine, 3, 3-dimethyl | 47.02 | 0.02 |
| 12 | Propanamide, N-(1-cyclohexylethyl) | 47.21 | 0.6 |
| 13 | 3, 3-Dimethyl-4-methylamino-butan-2 | 47.76 | 0.35 |




ภาพที่ 3 GC-MS chromatogram ของน้ำมันหอมระเหยกานพลู

## วิจารณ์ผลการวิจัย

พืชที่ให้น้ำมันหอมระเหยนั้นมีประวัติการใช้มาอย่างยาวนาน ทั้งในการบริโภคและทางการรักษาโรค และเป็นที่ทราบกันว่าพืชเหล่านี้นอกจากจะใช้ประกอบอาหารแล้วยังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

ผลการทดลองสกัดน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรและเครื่องเทศของไทย พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชเหล่านี้มีสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคจากอาหารทั้งแกรมบวกและแกรมลบ จึงถือว่ามีขอบเขตการออกฤทธิ์กว้าง (board spectrum)

ผลการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี agar disc diffusion และ microdilution broth อาจได้ผลที่สอดคล้องหรือแตกต่างกันได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ในการทดสอบด้วยวิธี agar disc diffusion บริเวณวงใสที่ยับยั้งเชื้อได้นั้นขึ้นอยู่กับการแพร่ของสารทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือ การทดสอบด้วยวิธี microdilution broth ความสามารถในการยับยั้งเชื้อนั้นขึ้นอยู่กับการสัมผัสระหว่างน้ำมันหอมระเหยและแบคทีเรีย หรือความสามารถในการละลายของน้ำมันหอมระเหยกับอาหารทดสอบ ดังนั้นการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียควรทำการทดสอบหลายวิธีร่วมกัน

ผลการจำแนกฤทธิ์ของสารต้านแบคทีเรียมี 2 แบบ คือ ฤทธิ์ฆ่าหรือทำลายแบคทีเรีย (bactericidal effect) และ ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (bacteriostatic effect) โดยสังเกตจากค่า MIC และ ค่า MBC ที่เท่ากันหรือใกล้เคียงกันไม่เกิน 1 หรือ 2 ความเจือจาง จากผลการทดลองจึงพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *B. cereus* และ *S. aureus* ได้เป็นอย่างดี น้ำมันหอมระเหยจากขิงมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *B. cereus* น้ำมันหอมระเหยจากยี่หร่ามีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *S. typhi* น้ำมันหอมระเหยจากกานพลูฆ่าเชื้อ *B. cereus, S. aureus, S. typhi* และ *E. coli* ได้ดี ผลการทดสอบจากงานวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยอื่นๆ น้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายชนิดมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคจากอาหารได้ ผลจากงานวิจัยของ Friedman และคณะ (2002) รายงานว่า น้ำมันหอมระเหยจากออริกาโน ไทม์ อบเชย ใบเบย์ กานพลู ตะไคร้ และ allspice มีฤทธิ์ต้าน *E. coli* O157:H7 น้ำมันหอมระเหยจากใบเบย์ กานพลู ออริกาโน อบเชย allspice และไทม์ มีฤทธิ์ต้าน *L. monocytogenees*

น้ำมันหอมระเหยกานพลูมีฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจากอาหารได้หลายชนิดทั้งแกรมบวกและลบ มีฤทธิ์การต้านแบคทีเรียที่ดีโยสังเกตจากค่า MIC และ MBC ที่ต่ำ ในน้ำมันหอมระเหยกานพลูมี Eugenol เป็นองค์ประกอบหลักที่สำคัญ จากงานวิจัยของ Devi และคณะ (2010) รายงานว่า eugenol มีฤทธิ์ต้าน *Salmonella typi* โดย eugenol ไปทำลายเซลล์เมมเบรนทำให้สารต่างๆมีการผ่านเข้าออกเซลล์มาก ดังนั้นน้ำมันหอมระเหยกานพลูที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดีนั้น จึงมาจากการที่เซลล์เมมเบรนของแบคทีเรียถูกทำลาย

จากการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดต่างๆมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน โดยเมื่อ

ตรวจสอบด้วยวิธี DPPH น้ำมันหอมระเหยกานพลู และพลู สามารถกำจัดอนุมูลอิสระที่ดีมาก รองลงมาคือกะเพรา ส่วนการทดสอบด้วยวิธี ABTS พบว่าน้ำมันหอมระเหยกานพลูให้ค่า TEAC สูงที่สุด รองลงมาคือกะเพรา

จากการทดลองจะเห็นได้ว่า น้ำมันหอมระเหยกานพลูมีทั้งฤทธิ์การต้านเชื้อและการกำจัดอนุมูลอิสระที่เด่นกว่าพืชชนิดอื่น จึงได้เลือกน้ำมันหอมระเหยกานพลูมาศึกษาองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี GC-MS พบว่า eugenol เป็นองค์ประกอบหลัก สารนี้น่าจะเป็นสารออกฤทธิ์ทั้งในการฆ่าเชื้อและการกำจัดอนุมูลอิสระ

ผลการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH จากการทดลองนี้พบว่า กานพลูและตะไคร้ให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 4.01 และ 25,290 mg/l ซึ่งแตกต่างจากผลจากงานวิจัยของ ประภัสสร และ วัชรี (2554) ที่ให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.134 และ 0.654 mg/ml

น้ำมันหอมระเหยจากพืชที่ได้มาจากแหล่งที่ต่างกัน ให้องค์ประกอบทางเคมีที่ต่างกัน ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยกานพลูจากการทดลองนี้พบ eugenol เป็นองค์ประกอบหลัก 80% รองลงมาคือ beta-caryophyllene 6% ส่วนผลจากงานวิจัยของ ประภัสสร และ วัชรี (2554) พบ eugenol 99% และ caryophyllene 0.3% องค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันนั้นมาจากหลายปัจจัย เช่น แหล่งที่ปลูกพืช ฤดูกาลเก็บเกี่ยว วิธีการสกัดสาร เป็นต้น

เครื่องเทศและสมุนไพรไทยมีสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคจากอาหารและฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน จากผลการทดลองทำให้ทราบสมบัติของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด การศึกษาในอนาคตจึงควรหาองค์ประกอบและทดสอบองค์ประกอบแต่ละชนิดว่าชนิดใดเป็นตัวออกฤทธิ์ในน้ำมันหอมระเหย จะทำให้ข้อมูลการฆ่าเชื้อหรือการกำจัดอนุมูลอิสระที่ชัดเจนมากขึ้น และทำให้สามารถนำไปพัฒนาใช้ได้ตามวัตถุประสงค์ที่จำเพาะต่อไปได้

## สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ทำการหาตัวอย่างพืชเพื่อมาสกัดน้ำมันหอมระเหย สำหรับการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่มาจากอาหาร และสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ พบว่าน้ำมันหอมระเหยหลายชนิดมีศักยภาพที่จะพัฒนาไปใช้ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคจากอาหารทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์

# เอกสารอ้างอิง


ก่องกานดา ชยามฤต. 2548. **ลักษณะประจำวงศ์พรรณไม้** จาก http://web3.dnp.go.th/botany/PDF/publications/family_characters1.pdf. [8 เมษายน 2558.]

โครงการเผยแพร่ข้อมูลทรัพยากรชีวภาพและภูมิปัญญาท้องถิ่นบนพื้นที่สูง. 2553. **มะแขว่น**. จาก http://cherb.hrdi.or.th/search_result_details.php?herbariumID= 506&name. [8 เมษายน 2558]

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. 2544. **ข้อมูลพรรณไม้**. จาก http://www.rspg.or.th/plants_ data/pdata_04.htm [10 เมษายน 2558]

เต็ม สมิตินันทน์. 2544. **ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย**. จาก http://www.rspg.or.th/plants_data/pdata_02.htm. [10 เมษายน 2558]

นงนุช จตุราบัณฑิต และคณะ. (2556). **รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาประจำสัปดาห์. การสอบสวนโรคอาหารเป็นพิษในสามเณรภาคฤดูร้อน พระอารามหลวง อำเภอเมือง จังหวัดพังงา**, 44,. จาก https://www.google.co.th/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source= web&cd=9& cad=rja&ved=0CFUQFjAI&url=http%3A%2F%2F203.157.15.4%2Fwesr%2Ffile% 2Fy56%2FF56173_1356.pdf&ei=HgsnUoTtL8jliAe6uoCQCw&usg=AFQjCNENzD73HA84IIdzPs9lyh3pYvQl5w [7 กรกฎาคม 2557]

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2547. **แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

นันทนา อรุณฤกษ์. 2537. **การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรปส์**. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 21(3): 275-286.

ประภัสสร วีระพันธ์ และ วัชรี คุณกิตติ. 2554. คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง. **วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน**. 7(3): 30-38.

ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร, พิทัย กาญบุตร และสาธร พรตระกูลพิพัฒน์. 2551. **สัตวแพทย์ทางเลือกวันนี้**. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2536. **พจนานุกรม สมุนไพรไทย**. กรุงเทพมหานครฯ: สำนักพิมพ์สุริยบรรณ..

ศูนย์สนเทศภาคเหนือ. 2550. **มะแหลบ**. จาก http://library.cmu.ac.th/ntic/lannafood/detail_ingredient.php?id_ingredient=245. [7 เมษายน 2558]

สุนทรี สิงหบุตรา. 2544. **ไพล**. จาก http://www.rspg.or.th/plants_data/ herbs/herbs_ 06_6.htm. [10 เมษายน 2558]

สิริลักษณ์ มาลานิยม. 2545. **การสกัดน้ำมันหอมระเหย**. น้ำมันหอมระเหยสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทย 325 (0125-4782).

วาที สิทธิ, ศณิยา สันตยากร, วิไลพร วงศ์พฤกษาสูง, พรพัฒน์ ภูนากลม, เทอดธง ภิระบรรณ์, สดมภ์ คำภีระ, ดุสิต ปิยวรกุล, อรรณพ เสริมสุข, พิมผกา นิศาวัฒนานันท์, นเรศฤทธิ์ ขัดธะสีมา, ปณิธี ธัมมวิจยะ. 2555. **การสอบสวนโรคอาหารเป็นพิษในค่ายฝึกนักศึกษาวิชาทหาร อำเภอวังเหนือ จังหวัดลำปาง**. 5, 16-22. จาก http://www.osirjournal.net/upload/files/3_%20Salmonellosis%20(Thai).pdf [4 กันยายน 2556]

Bell, C. and Kyriakides, A. 2002. **Salmonella: A practical approach to the organism and its control in foods**. Oxford: Blackwell Science Ltd.

Calo, J. R., Crandall, P. G., O'Bryan, C. A. and Ricke, S. C. 2015. Essential oils as antimicrobials in food systems - A review. **Food Control** 54(0): 111-119.

Charoenkul, N., Rimkeeree, H., Chompreeda, P., Dilokkunanant, U. and Changchenkit, C. 2004. **Development of acne gel with cassia oil *(Cinnamomum cassia)***. Paper presented at the 42nd Kasetsart University Annual Conference: Fisheries, Agro-Industry, Bangkok, Thailand.

Devi, K.P., Nisha, S.A., Sakthivel, R. and Pandian, S.K. 2010. Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against Salmonella typhi by disrupting the cellular membrans. **Journal of Ethnopharmacology** 130(1): 107-115.

Friedman, M., Henika, P. R., Levin, C. E. and Mandrell, R. E. 2007. Recipes for Antimicrobial Wine Marinades against *Bacillus cereus, Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. **Journal of Food Science** 72(6): M207-M213.

Friedman, M., Henika. P.R. and Mandrell, R.E. 2002. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni, Escherichia coli, Listeria monocytogenes* and Salmonella enteritica. **Journal of Food Protection** 65: 1545-1560.

Haruthaithanasan, V., Nitimongkonchai, N. and Rimkeeree, H. 2001. **Use of cinnamon oil as antifungi in durian paste**. Paper presented at the the 39th Kasetsart University Annual Conference: Fisheries, Agro-Industry, Bangkok, Thailand.

Nanasombat, S. and Lohasupthawee, P. 2005. Antibacterial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against Salmonellae and other entrobacteria. **KMITL Science and Techechnology Journal**. 5(3): 527-538.

Phonsena, P., Banchong, Y. and Rawanghet, C. 2006. **Efficacy of essential oils from Phlai (*Zingiber montanum*), turmeric (*Curcuma longa*) and Wan Nang Kham (*C. aromatica*) against brown dog ticks**. Paper presented at the 44th Kasetsart University Annual Conference: Animal, Veterinary Medicine Bangkok, Thailand.

Raut, J. S. and Karuppayil, S. M. 2014. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products** 62(0): 250-264.

Smith, P., Stewart and Fyfe. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. **Letters in Applied Microbiology** 26(2): 118-122.

Sukatta, U., Haruthaithanasan, V. and Dilokkunanant, U. 2005. **Efficiency of essential oil from some herbs on inhibiting growth of spoilage molds in bakery products**. Paper presented at the 43rd Kasetsart University Annual Conference: Animals, Agro-Industry, Bangkok, Thailand.

**ผลงานนำเสนอ**

นลิน วงศ์ขัตติยะ วริษฐา ขันแก้ว พันธุ์ชนะ สงวนเสริมศรี เกรียงศักดิ์ ภูดีทิพย์ Ian Fraser และ ดลฤดี สงวนเสริมศรี. 2558. การศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคจากอาหาร. โปสเตอร์. การประชุมวิชาการประจำปี 2558. 8-9 ธันวาคม 2558. มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

**Output**

กฤษณา สุวรรณ. 2557. การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรและเครื่องเทศ. การเรียนรู้อิสระ. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

วริษฐา ขันแก้ว. 2557. การศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรี. ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาสาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร.

พัชรินทร์ ชุมภูชัย. 2558. การศึกษาการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคจากอาหาร โดยน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยบางชนิด. การเรียนรู้อิสระ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

อัศวชัย ช่วยพรหม. (อยู่ในระหว่างดำเนินการวิจัย). วิทยานิพนธ์ดุษฎีบัณฑิต. ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

# ภาคผนวก ก ตารางการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ

**ตารางที่ 6 ผลการทดสอบ agar disc diffusion ของน้ำมันหอมระเหยต่อแบคทีเรียชนิดต่างๆ**

| | Inhibition zone (mm) | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| essential oil | *L. monocytogenes* DMST 2871 | *B. cereus* DMST 5040 | *S. aureus* | *S. aureus DMST 8840* | *Sal. Typhi* DMST 5784 | *Sal. enteeritidis gr. B* | *Shi. sonnei* | *E. coli* DMST 10743 | *Pseu. aeruginosa* | *V. parahaemolyticus* |
| กานพลู | 0 | 12.12 | 14.10 | 19.55 | 32.50 | 11.85 | 17.05 | 11.30 | 9.20 | 28.30 |
| | 0 | 11.85 | 13.80 | 18.90 | 31.10 | 10.95 | 18.12 | 11.02 | 10.60 | 29.70 |
| | 0 | 12.10 | 14.03 | 19.10 | 30.85 | 11.02 | 18.30 | 10.98 | 10.80 | 29.85 |
| *เฉลี่ย* | *0* | *12.02* | *13.98* | *19.18* | *31.48* | *11.27* | *17.82* | *11.10* | *10.20* | *29.28* |
| *SD* | *0.00* | *0.12* | *0.12* | *0.24* | *0.68* | *0.38* | *0.52* | *0.13* | *0.67* | *0.66* |
| ยี่หร่า | 15.00 | 11.00 | 14.00 | 11.00 | 16.00 | 12.00 | 11.00 | 16.00 | 7.00 | 12.0 |
| | 8.50 | 20.50 | 17.30 | 17.00 | 23.00 | 10.40 | 10.00 | 15.40 | 8.00 | 12.00 |
| | 9.50 | 20.00 | 11.00 | 15.00 | 23.00 | 10.00 | 11.00 | 15.95 | 9.00 | 11.00 |
| *เฉลี่ย* | *10.67* | *17.17* | *14.1* | *14.3* | *20.67* | *10.8* | *10.67* | *15.78* | *8* | *11.67* |
| *SD* | *2.67* | *4.11* | *2.13* | *2.22* | *3.11* | *0.80* | *0.44* | *0.26* | *0.67* | *0.44* |
| มะแหลบ | 14.00 | 16.00 | 14.00 | 11.00 | 7.30 | 0 | 0 | 0 | 19.55 | 6.50 |
| | 9.50 | 18.00 | 11.0 | 12.00 | 10.00 | 0 | 0 | 0 | 25.00 | 6.50 |
| | 13.50 | 15.00 | 15.00 | 14.00 | 7.00 | 0 | 0 | 0 | 16.00 | 7.00 |
| *เฉลี่ย* | *12.33* | *16.33* | *13.33* | *12.33* | *9.33* | *0* | *0* | *0* | *20.18* | *6.67* |
| *SD* | *1.89* | *1.11* | *1.56* | *1.11* | *1.27* | *0.00* | *0.00* | *0.00* | *3.21* | *0.22* |
| มะแขว่น | 11.00 | 24.00 | 27.00 | 23.0 | 12.00 | 9.00 | 8.00 | 8.70 | 12.00 | 11.0 |
| | 8.00 | 28.40 | 24.00 | 23.35 | 11.0 | 9.00 | 8.00 | 8.00 | 15.00 | 10.00 |
| | 7.00 | 17.00 | 26.00 | 22.60 | 12.00 | 9.00 | 8.00 | 7.00 | 13.00 | 9.00 |
| *เฉลี่ย* | *8.67* | *23.13* | *25.67* | *22.98* | *11.67* | *9.00* | *8.00* | *7.90* | *13.33* | *10.00* |
| *SD* | *1.56* | *4.09* | *1.11* | *0.26* | *0.44* | *0.00* | *0.00* | *0.60* | *1.11* | *0.67* |
| มะกรูด | 10.00 | 21.00 | 15.00 | 26.00 | 10.00 | 7.70 | 0 | 7.80 | 22.0 | 7.00 |
| | 11.00 | 20.00 | 16.00 | 25.00 | 11.00 | 15.00 | 0 | 6.50 | 22.00 | 9.00 |
| | 10.00 | 19.00 | 16.00 | 25.00 | 12.00 | 9.00 | 0 | 7.80 | 17.50 | 9.00 |
| *เฉลี่ย* | *10.33* | *20.00* | *15.67* | *25.33* | *11.00* | *10.57* | *0* | *7.37* | *20.5* | *8.33* |
| *SD* | *0.44* | *0.67* | *0.44* | *0.44* | *0.67* | *2.96* | *0.00* | *0.58* | *2.00* | *0.89* |
| ส้ม | 0 | 7.00 | 14.00 | 10.00 | 7.00 | 6.50 | 0 | 0 | 7.00 | 7.00 |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 7.00 | 10.00 | 10.40 | 6.50 | 0 | 0 | 0 | 8.00 | 0 |
| | 0 | 9.00 | 13.30 | 11.00 | 6.50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *เฉลี่ย* | *0* | *7.67* | *12.43* | *10.47* | *6.67* | *2.17* | *0* | *0* | *5* | *2.33* |
| *SD* | *0.00* | *0.89* | *1.62* | *0.36* | *0.22* | *2.89* | *0.00* | *0.00* | *3.33* | *3.11* |
| มะนาว | 11.00 | 11.00 | 22.10 | 13.40 | 14.30 | 9.00 | 13.00 | 8.00 | 16.00 | 10.00 |
| | 8.50 | 12.00 | 21.00 | 19.00 | 11.00 | 10.60 | 17.00 | 7.80 | 15.00 | 10.0 |
| | 8.00 | 30.00 | 17.30 | 23.00 | 13.30 | 10.50 | 16.00 | 6.80 | 14.00 | 20.00 |
| *เฉลี่ย* | *9.17* | *17.67* | *20.13* | *18.46* | *12.87* | *10.03* | *15.33* | *7.53* | *15* | *13.33* |
| *SD* | *3.44* | *8.26* | *6.94* | *7.06* | *4.74* | *2.68* | *5.75* | *2.83* | *4.38* | *4.61* |
| ขิง | 26.00 | 33.40 | 28.00 | 28.50 | 15.00 | 8.00 | 14.0 | 7.00 | 8.00 | 11.00 |
| | 18.00 | 39.00 | 22.00 | 25.00 | 15.00 | 8.00 | 15.20 | 8.00 | 8.00 | 8.90 |
| | 16.00 | 38.00 | 20.00 | 25.00 | 14.00 | 8.70 | 16.12 | 7.90 | 7.00 | 7.00 |
| *เฉลี่ย* | *20* | *36.80* | *23.33* | *26.17* | *14.67* | *8.17* | *15.11* | *7.63* | *7.67* | *8.97* |
| *SD* | *4.00* | *2.27* | *3.11* | *1.56* | *0.44* | *0.31* | *0.74* | *0.42* | *0.44* | *1.36* |
| ข่า | 12.40 | 11.00 | 12.50 | 7.49 | 10.00 | 10.00 | 15.06 | 8.00 | 12.0 | 7.00 |
| | 7.00 | 8.00 | 13.00 | 7.95 | 9.00 | 9.00 | 17.45 | 8.00 | 8.0 | 7.00 |
| | 8.00 | 9.00 | 19.00 | 7.50 | 8.00 | 8.50 | 18.96 | 7.00 | 9.00 | 7.50 |
| *เฉลี่ย* | *9.13* | *9.33* | *14.83* | *7.63* | *14* | *9.17* | *17.16* | *7.67* | *9.67* | *7.17* |
| *SD* | *2.18* | *1.11* | *2.78* | *0.20* | *0.67* | *0.56* | *1.40* | *0.44* | *1.56* | *0.22* |
| กระชาย | 18.00 | 14.40 | 14.30 | 19.00 | 7.00 | 9.00 | 16.00 | 6.00 | 21.60 | 7.50 |
| | 15.00 | 10.00 | 13.00 | 20.00 | 13.00 | 12.00 | 16.00 | 7.50 | 27.40 | 8.00 |
| | 16.50 | 10.00 | 13.00 | 14.40 | 8.00 | 10.00 | 18.00 | 5.50 | 16.00 | 8.00 |
| *เฉลี่ย* | *16.5* | *11.47* | *13.43* | *17.8* | *9.33* | *10.33* | *16.67* | *6.33* | *21.67* | *12.67* |
| *SD* | *1.00* | *1.96* | *0.58* | *2.27* | *2.44* | *1.11* | *0.89* | *0.78* | *3.82* | *0.22* |
| ไพล | 7.00 | 0 | 8.30 | 21.40 | 17.30 | 11.00 | 24.00 | 22.45 | 0 | 6.5 |
| | 0 | 0 | 13.00 | 20.00 | 12.00 | 8.00 | 23.50 | 12.30 | 0 | 7.00 |
| | 0 | 0 | 20.00 | 14.00 | 13.00 | 9.00 | 24.50 | 11.00 | 0 | 7.00 |
| *เฉลี่ย* | *2.33* | *0* | *13.43* | *18.47* | *14.1* | *9.33* | *24.00* | *15.25* | *0* | *6.83* |
| *SD* | *3.11* | *0.00* | *4.16* | *2.98* | *2.13* | *1.11* | *0.33* | *4.80* | *0.00* | *0.22* |
| ขมิ้นชัน | 8.00 | 14.00 | 7.00 | 8.00 | 7.50 | 7.50 | 0 | 6.50 | 7.00 | 6.20 |
| | 9.00 | 18.0 | 7.00 | 8.00 | 6.50 | 6.50 | 0 | 0 | 8.00 | 7.00 |
| | 9.00 | 9.40 | 7.00 | 7.50 | 7.00 | 6.50 | 0 | 6.50 | 8.50 | 6.50 |
| *เฉลี่ย* | *8.67* | *13.8* | *7* | *7.83* | *7* | *6.83* | *0* | *4.32* | *7.83* | *6.57* |
| *SD* | *0.44* | *2.93* | *0.00* | *0.22* | *0.33* | *0.44* | *0.00* | *2.89* | *0.56* | *0.29* |
| ตะไคร้ | 30.00 | 43.00 | 23.00 | 24.00 | 25.00 | 10.00 | 18.50 | 12.35 | 20.00 | 11.00 |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 9.00 | 47.00 | 27.00 | 27.00 | 18.50 | 19.00 | 17.50 | 12.35 | 19.00 | 12.40 |
| | 8.00 | 42.00 | 24.00 | 34.10 | 18.0 | 18.00 | 18.50 | 9.65 | 20.00 | 10.0 |
| *เฉลี่ย* | *15.67* | *44* | *24.67* | *28.37* | *20.5* | *15.67* | *18.17* | *11.45* | *19.67* | *11.13* |
| *SD* | *9.56* | *2.00* | *1.56* | *3.82* | *3.00* | *3.78* | *0.44* | *1.20* | *0.44* | *0.84* |
| กะเพรา | 8.00 | 8.00 | 18.20 | 13.00 | 8.00 | 7.00 | 11.00 | 0 | 12.00 | 13.00 |
| | 15.0 | 11.50 | 14.40 | 15.0 | 7.00 | 6.50 | 10.00 | 0 | 18.00 | 12.00 |
| | 12.0 | 12.00 | 15.00 | 19.00 | 7.00 | 7.00 | 11.5 | 0 | 7.00 | 13.00 |
| *เฉลี่ย* | *11.67* | *10.5* | *15.87* | *15.83* | *7.33* | *6.83* | *10.83* | *0* | *12.33* | *12.67* |
| *SD* | *2.44* | *1.67* | *1.56* | *2.22* | *0.44* | *0.22* | *0.56* | *0.00* | *3.78* | *0.44* |
| โหระพา | 9.00 | 0 | 20.13 | 11.30 | 7.00 | 6.20 | 11.0 | 6.2 | 2.500 | 7.50 |
| | 14.0 | 12.00 | 22.45 | 16.0 | 8.00 | 6.50 | 12.00 | 6.5 | 13.00 | 7.00 |
| | 14.00 | 12.00 | 15.0 | 21.0 | 7.00 | 7.00 | 13.45 | 6.5 | 8.00 | 7.00 |
| *เฉลี่ย* | *12.33* | *8* | *19.19* | *16.1* | *7.33* | *6.57* | *12.15* | *6.4* | *15.33* | *7.16* |
| *SD* | *2.22* | *5.33* | *2.80* | *3.27* | *0.44* | *0.29* | *0.87* | *0.13* | *3.56* | *0.22* |
| พลู | 0 | 15.20 | 15.30 | 15.45 | 21.10 | 15.30 | 14.00 | 13.10 | 7.00 | 22.05 |
| | 0 | 16.45 | 16.5 | 16.40 | 22.39 | 16.48 | 13.00 | 15.47 | 7.02 | 23.64 |
| | 0 | 14.3 | 17.5 | 14.70 | 23.01 | 16.97 | 14.68 | 15.21 | 7.64 | 24.15 |
| *เฉลี่ย* | *0* | *15.32* | *16.43* | *15.52* | *22.17* | *16.25* | *13.89* | *14.59* | *7.22* | *23.28* |
| *SD* | *0.00* | *0.76* | *0.76* | *0.59* | *0.71* | *0.63* | *0.60* | *1.00* | *0.28* | *0.82* |
| tetracycline 30 µg | 34.00 | 35.00 | 38.00 | 33.00 | 32.40 | 20.00 | 24.35 | 24.80 | 26.00 | 27.50 |
| | 34.50 | 33.00 | 21.50 | 34.00 | 30.00 | 25.00 | 26.10 | 26.00 | 21.60 | 25.50 |
| | 34.25 | 32.00 | 20.45 | 35.00 | 29.00 | 25.00 | 21.51 | 25.00 | 21.00 | 25.50 |
| *เฉลี่ย* | *34.25* | *33.33* | *26.65* | *34* | *30.47* | *23.33* | *23.99* | *25.27* | *22.87* | *26.17* |
| *SD* | *0.17* | *1.11* | *7.57* | *0.67* | *1.29* | *2.22* | *1.65* | *0.49* | *2.09* | *0.89* |

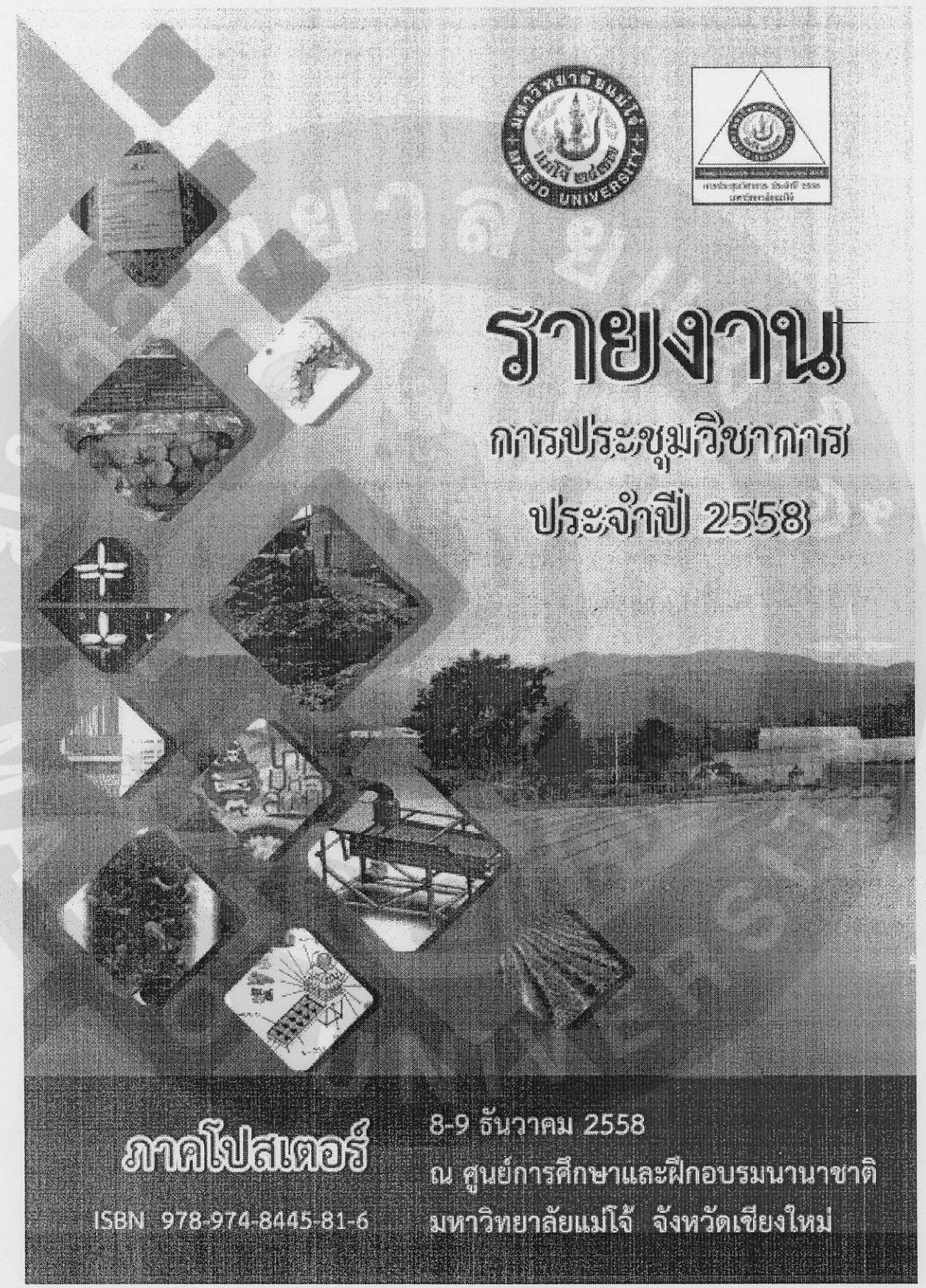
MAEJO UNIVERSITY

ตารางที่ 7 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่ยับยั้ง (MIC, µg/ml) และฆ่าแบคทีเรีย (MBC, µg/ml) ก่อโรคที่มาจากอาหาร

| น้ำมันหอมระเหย | *L. monocytogenes* | | *Bacillus cereus* DMST 5040 | | *Staphylococcus aureus* DMST | | *Staphylococcus aureus* | | *Salmonella Typhi* DMST 5784 | | *Salmonella enteritidis* gr. B | | Shi. sonnei | | *Escheriachia coli* DMST 10743 | | *Pseu. aeruginosa* | | *V. parahaemolyticus* | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC |
| 1. กานพลู | 1024 | 2048 | 0.25 | 0.25 | 128 | 1024 | <0.06 | <0.06 | <0.06 | <0.06 | 32 | 32 | 4 | 4 | 16 | 16 | 65536 | 262144 | 8 | 8 |
| 2. ยี่หร่า | 65536 | 262144 | 4 | 16 | 1024 | 1024 | 16 | 1096 | <0.06 | <0.06 | 2048 | 2048 | 655361 | 131072 | 32 | 32 | 65536 | 131072 | 512 | 1024 |
| 3. มะแหลบ | 262144 | >262144 | 65536 | 65536 | 131072 | >262144 | >262144 | >262144 | 131072 | >262144 | >262144 | >262144 | 131072 | >262144 | >262144 | >262144 | 262144 | >262144 | 8192 | 16384 |
| 4. มะแขว่น | 65536 | 65536 | 16384 | 16384 | 32768 | 65536 | 16384 | 16384 | 4096 | 1024 | 131072 | 131072 | 655361 | 131072 | 32768 | 32768 | 65536 | 131072 | 16384 | 16384 |
| 5. มะกรูด | 65536 | 262144 | 4096 | 4096 | 1024 | 16384 | 128 | 256 | 1024 | 1024 | 4096 | 4096 | >262144 | >262144 | 1024 | 1024 | 262144 | >262144 | 16384 | 32768 |
| 6. ส้ม | 262144 | >262144 | 16384 | 16384 | 32768 | 262144 | 32768 | 32768 | 16384 | 32768 | 65536 | 131072 | >262144 | >262144 | 65536 | 262144 | 262144 | >262144 | 16384 | 16384 |
| 7. มะนาว | 32768 | 131072 | 1024 | 2048 | 4096 | 16384 | 256 | 256 | 2048 | 4096 | 32768 | 32768 | 655361 | 131072 | 32768 | 32768 | 131072 | 131072 | 2048 | 2048 |
| 8. ขิง | 131072 | 131072 | 4 | 4 | 8 | 256 | 0.5 | 16 | 128 | 512 | 1024 | 16384 | 163841 | 163841 | 262144 | 262144 | 65536 | 65536 | 16 | **16** |
| 9. ข่า | >262144 | >262144 | 256 | 256 | 4096 | 4096 | 16 | 1024 | 2048 | 2048 | 2048 | 4096 | >262144 | >262144 | 4096 | 4096 | 262144 | 262144 | >262144 | >262144 |
| 10. กระชาย | 4096 | 4096 | 256 | 1024 | 256 | 1024 | 1 | 256 | 8 | 8 | 1024 | 1024 | 16384 | 65536 | 2048 | 2048 | 65536 | 131072 | 16 | **16** |
| 11. ไพล | >262144 | >262144 | 256 | 512 | 2048 | 16384 | 16 | 256 | 1024 | 16384 | 1024 | 2048 | >262144 | >262144 | 2048 | 4096 | 262144 | 262144 | >262144 | **>262144** |
| 12. ขมิ้นชัน | 65536 | 131072 | 32768 | 32768 | 1024 | 65536 | 4096 | 32768 | 16384 | 65536 | 131072 | 131072 | 131072 | 131072 | 131072 | 262144 | 131072 | 131072 | 16 | 512 |
| 13. ตะไคร้ | 512 | 1024 | 4 | 1 | 0.06 | 0.06 | 0.125 | 0.25 | 64 | 512 | 4096 | 4096 | 1024 | 1024 | 2048 | 2048 | 131072 | 131072 | 8 | 8 |
| 14. กะเพรา | 2048 | 16384 | 65536 | 65536 | 32768 | >262144 | 1024 | 10224 | 1024 | 16384 | 65536 | 131072 | 1024 | 4096 | 65536 | 131072 | 262144 | >262144 | 2 | 2 |
| 15. โหระพา | 131072 | 262144 | 131072 | 262144 | 262144 | >262144 | 32768 | 32768 | 1024 | 16384 | 131072 | 131072 | 65536 | 131072 | 131072 | 262144 | 262144 | >262144 | 256 | 1024 |
| 16. พลู | >262144 | >262144 | 256 | 256 | 1024 | 4096 | 1024 | 4096 | 128 | 128 | 512 | 512 | 256 | 512 | 512 | 512 | 131072 | >262144 | 8 | 8 |

# ภาคผนวก ข

ผลงานนำเสนอ


รายงาน
การประชุมวิชาการ
ประจำปี 2558
ภาคโปสเตอร์
8-9 ธันวาคม 2558
ณ ศูนย์การศึกษาและฝึกอบรมนานาชาติ
มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่
ISBN 978-974-8445-81-6

# การศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร

# Study on Antibacterial Activity of Herbal Essential Oils against Bacterial Foodborne Pathogens

นลิน วงศ์ขัตติยะ[1*] วริษฐา ขันแก้ว[2] พันธุ์ชนะ สงวนเสริมศรี[3] เกรียงศักดิ์ ภูดีทิพย์[1]
Ian Fraser[4] และดลฤดี สงวนเสริมศรี[5]

Nalin Wongkattiya[1], Warittha Khankaew[2], Phanchana Sanguansermsri[3]
Krieangsak Phudeetip[1], Ian Fraser[4] and Donruedee Sanguansermsri[5]

[1]สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

[2] สาขาวิชาจุลชีววิทยาและบริการวิชาการ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000

[3] สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000

[4]Physical, Analytical and Environmental Chemistry School of Chemistry, Monash University, Australia

[5]Program in Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

[6]Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Medical Science, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand 65000

[7]Department of Biochemistry, Faculty of Medical Science, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand 65000

*corresponding author: nalinxwongkattiya@gmail.com

## บทคัดย่อ

สมุนไพรส่วนมากจะใช้ในการปรุงแต่งรสชาติของอาหาร การศึกษาครั้งนี้จะศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร กานพลู พะไคร้ มะข่วง และมะแขว่น ในการต้านแบคทีเรียที่ก่อโรคในอาหาร จากผลการวิจัยพบว่า น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการศึกษา มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในอาหารทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ได้แก่ *Listeria monocytogenes, Salmonella typhi, Shigella sonnei, Salmonella choleraesuis, Pseudomonas aeruginosa* และ *Vibrio cholerae* จากการทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของ *V. cholerae* ด้วยวิธี Agar disc diffusion ของน้ำมันหอมระเหย พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากพะไคร้ มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อได้ดีที่สุด (51 mm) รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยจากกานพลู (27 mm) ซึ่งมีค่าในการต้านเชื้อ *V. cholerae* ใกล้เคียงกับยา Tetracycline (28 mm) นอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยทุกชนิดที่ใช้ในการศึกษายังมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. typhi* ซึ่งดื้อต่อยา Tetracycline จากค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ของน้ำมันหอมระเหยกานพลูและพะไคร้ต่อเชื้อ *V. cholerae* มีค่าเท่ากับ 0.03 µg/ml ซึ่งแสดงถึงศักยภาพของน้ำมันหอมระเหยกานพลูและพะไคร้ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย จากเหตุผลข้างต้นแสดงถึงศักยภาพของน้ำมันหอมระเหยกานพลู พะไคร้ มะข่วง และมะแขว่น เพื่อควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในอาหาร แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาผลของสารออกฤทธิ์จากน้ำมันหอมระเหยต่อการต้านแบคทีเรียที่ก่อโรคในอาหารยังคงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อใช้ในการควบคุมประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหย

**คำสำคัญ:** น้ำมันหอมระเหย แบคทีเรียที่ก่อโรคในอาหาร ฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย

## Abstract

Many herbs are used in food for enhancing flavor and taste. In this study, the antibacterial activity against foodborne pathogens of four essential oils commonly used for food namely clove, lemon grass, makhuang and makhwaen were investigated. The essential oils showed broad spectrum of inhibition against Gram-positive and Gram-negative foodborne pathogens including *Listeria monocytogenes, Salmonella typhi, Shigella sonnei, Salmonella choleraesuis, Pseudomonas aeruginosa* and *Vibrio cholerae*. The investigation of the in vitro susceptibility of the oils against *V. cholerae* using the agar disc diffusion assay revealed that lemon grass oil exhibited outstanding inhibition zone (51 mm) and clove oil showed similar inhibition zone (27 mm) as tetracycline (28 mm). All the essential oils had ability to inhibit tetracycline resistant *S. typhi* DMST 22842. Both minimum inhibitory concentration (MIC) value and minimum bactericidal concentration (MBC) of clove and lemon grass oils against *V. cholerae* and were 0.03 µg/ml. The two essential oils were considered as bactericidal. It is suggested that the essential oils could be potential use to control foodborne pathogens. However, further evaluation performed with pure compounds is required for the precise conclusion of bioactive components contributing to the antibacterial activity of the essential oils.


Keywords: essential oil, foodborne pathogens, antibacterial activity

## คำนำ

จากการรายงานขององค์กรอนามัยโลก พบว่าปัญหาการเจ็บป่วยเนื่องจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์แล้วทำให้เกิดการเจ็บป่วยนั้น เป็นปัญหาที่เกิดขึ้นทั่วโลก (Hanson *et al.*, 2012) เชื้อแบคทีเรียหลายชนิดที่เมื่อปนเปื้อนในอาหารแล้ว เมื่อมีการบริโภคเข้าไปจะเกิดการเจ็บป่วยได้ ตัวอย่างเช่น *Escherichia coli, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus* และ *Salmonella sp.* เป็นต้น สำหรับในประเทศไทยโรคอุจจาระร่วงก็ยังเป็นปัญหามาโดยตลอด จากการรายงานของสำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข (อาทิชา และ เสาวพักตร์, 2557) ได้รายงานสถานการณ์โรคอุจจาระร่วง ในปี พ.ศ. 2557 พบว่า ยังมีอุบัติการณ์ของโรคอุจจาระร่วงและมีรายงานผู้เสียชีวิตอยู่ในทุกพื้นที่ทั่วประเทศไทย จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร นอกจากจะเป็นสาเหตุให้อาหารเน่าเสียแล้วบางชนิดยังสามารถก่อโรคทางเดินอาหารหรือโรคอื่นๆ ได้อีกด้วย การแก้ปัญหาการปนเปื้อนจากแบคทีเรียนี้อาจทำโดยการใช้สารเคมีชนิดต่างๆ มาใส่ในอาหาร เพื่อเป็นการควบคุมจุลินทรีย์ สารกันเสียชนิดต่างๆ ที่ได้จากการสังเคราะห์นั้นมีประสิทธิภาพมากในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ แต่ในปัจจุบันผู้บริโภคได้มีการตระหนักถึงความปลอดภัยในการบริโภคสินค้าและอาหารต่างๆ และคำนึงถึงผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์อันเกิดจากการใช้สารเคมีสังเคราะห์ (ประสาทพร และคณะ, 2551) จึงได้มีการศึกษาหาสารทดแทนจากธรรมชาติมาใช้แทนสารเคมีสังเคราะห์ พืชสมุนไพรก็เป็นหนึ่งในตัวเลือกที่ผู้คนให้ความสนใจกันมาก เนื่องจากประเทศไทยอยู่ในพื้นที่ที่มี

ความหลากหลายของสิ่งมีชีวิต รวมทั้งสมุนไพร จึงเป็นแหล่งของสมุนไพรหลากหลายชนิดที่น่าสนใจ สมุนไพรนั้นเป็นพืชที่มาจากธรรมชาติมีหลากหลายตามแต่ละท้องถิ่น การนำไปใช้กับผู้บริโภคจะได้รับการยอมรับมากกว่าการใช้สารเคมีสังเคราะห์ และอาจไม่ทำให้เกิดการดื้อยาเมื่อเทียบกับการใช้ยาปฏิชีวนะหรือสารเคมีอื่นๆ การศึกษาการใช้สมุนไพรจึงมีการประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางมากขึ้น เช่น ใช้เป็นยารักษาโรคในมนุษย์หรือสัตว์ ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นสารกันเสียในอาหารและเครื่องดื่มหรือใช้ในการเกษตร เป็นต้น ดังนั้นงานวิจัยชิ้นนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะศึกษาน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากสมุนไพรต่างๆ เพื่อใช้ในการควบคุมแบคทีเรียก่อโรคจากอาหาร โดยดูฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย เพื่อเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### พืชและการเตรียมน้ำมันหอมระเหย

พืชสมุนไพรที่นำมาใช้ในการทดสอบมี 4 ชนิด ได้แก่ กานพลู (*Syzygium aromaticum*, clove) หะไหร่ (*Cymbopogon citratus*, lemon grass) และ มะแขว่น (*Zanthoxylum limonella Alston*, makhwean) ตัวอย่างมาจากจังหวัดเชียงใหม่ ส่วนมะข่วง (*Zanthoxylum rhetsa*, makhuang) ได้ตัวอย่างมาจากจังหวัดพะเยา ในเดือนธันวาคม ปีพ.ศ. 2557 ตัวอย่างที่ได้นำมาสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (Hydro distillation) สมุนไพรที่ใช้สกัดนำมาจากส่วนต่างๆกัน กล่าวคือ กานพลูใช้ดอกตูมแห้ง หะไหร่ใช้ก้านใบ มะข่วงและมะแขว่นใช้ส่วนผล เมื่อได้น้ำมันหอมระเหยแล้วให้เก็บไว้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ-20 องศาเซลเซียส

### เชื้อแบคทีเรีย

เชื้อที่นำมาทดสอบ ได้แก่ *L. monocytogenes* DMST 17303, *L. monocytogenes* DMST 23145, *S. typhi* DMST 22842, *S. sonnei* DMST 561, *S. choleraesuis* DMST 8014, *P. aeruginosa* DMST 4739 และ *V. cholerae* non O1/non O138 DMST 2873 จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นำไปเก็บรักษาไว้ใน 20% glycerol ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยเชื้อทั้ง 7 สายพันธุ์นั้นใช้อาหาร Brain-Heart Infusion ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ

### สารเคมีและอุปกรณ์

Tetracycline 30 µg/disc (Oxoid, United Kingdom), Tetracycline (Pacific Science Co. Ltd., Thailand), Mueller Hintion broth/agar (MHB/MHA) (Criterion™, USA), Brain Heart Infusion agar/broth (BHA/BHB) (Criterion™, USA), Antibiotic disc ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (Macherey-Nagel, Germany), dimethyl sulfoxide (DMSO,RCI Labscan Co.Ltd., Thailand )

### การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการต้านแบคทีเรียด้วยวิธี Agar Disc Diffusion

วิธีการทดสอบจะทำโดยเตรียมเชื้อให้มีความขุ่นเท่ากับสารละลายมาตรฐาน 0.5 McFarland ใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อจุ่มเชื้อ แล้วป้ายให้ทั่วบนอาหาร MHA แล้วปิเปตน้ำมันหอมระเหย 10 µl ลงบน disc นำ disc วางลง

บนอาหารนำอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง บันทึกผลการทดลองโดยสังเกตบริเวณที่ไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Inhibition Zone) โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเป็นหน่วยมิลลิเมตร ซึ่งใช้ยาปฏิชีวนะ tetracycline ที่ความเข้มข้น 30 µg/disc เป็น positive control ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

**การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในยับยั้งการเจริญและการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย** (Minimum Inhibitory Concentration, MIC and Minimum Bactericidal Concentration, MBC)

การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ใช้วิธี broth microdilution method โดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับ เชื้อ *L. monocytogenes* คือ BHB ส่วนเชื้ออื่นๆใช้อาหาร MHB เตรียมน้ำมันหอมระเหยให้มีความเข้มข้น 512 mg/ml ใน DMSO แล้วเจือจางทีละ 2 เท่าด้วย MHB ใน 96-well plate เพิ่มแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบ ($10^5$ CFU/ml) ปริมาตร 50 µl ลงไปในแต่ละหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตและบันทึกผลการทดลอง โดยค่า MIC หมายถึงความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถสังเกตเห็นการยับยั้งการเจริญของเชื้อเมื่อดูด้วยตาเปล่า ส่วนการทดสอบหาค่า MBC ทำได้ด้วยการนำอาหารในแต่ละหลุมๆ 10 µl หยดลงบนอาหาร BHA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ค่า MBC หมายถึงค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อบนอาหาร BHA

## ผลการวิจัย

จากการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรด้วยวิธีกลั่นด้วยน้ำพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูให้ร้อยละของผลผลิตมากที่สุดเท่ากับ 5.15 ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ มะขวิด และมะแขว่น มีร้อยละของผลผลิตประมาณ 0.2-1.0 และทุกตัวอย่างมีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสีจนถึงสีเหลือง (Table 1)

Table 1 Herbal essential oils

| No | Herbs | % Yield | Characteristics |
|---|---|---|---|
| 1 | clove | 5.15 | clear, colorless |
| 2 | lemon grass | 0.2 | clear, colorless |
| 3 | makhuang | 0.29 | clear, colorless |
| 4 | makhwean | 1.08 | clear, bright yellow |

**ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคจากอาหารโดยน้ำมันหอมระเหย**

ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในอาหาร ด้วยวิธี agar disc diffusion (Table 2) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลู ตะไคร้ มะขวิด และมะแขว่น สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโรคจากอาหารได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*L. monocytogenes*) และแบคทีเรียแกรมลบ (*S. typhi, S. choleraesuis, P. aeruginosa และ V. cholerae*) โดยน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้ง *S. typhi* แต่ไม่สามารถยับยั้ง *S. sonnei* ได้ ในขณะที่ยาปฏิชีวนะ (tetracycline) ไม่สามารถยับยั้งได้เชื้อ *S. typhi* แต่สามารถยับยั้ง *S. sonnei* ได้

น้ำมันหอมระเหยจากพะไคร้แสดงผลการยับยั้ง *V. cholerae* ได้มากกว่ายาปฏิชีวนะ (tetracycline) ประมาณ 2 เท่า และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* และ *S. typhi* ได้ดีพอๆกับน้ำมันหอมระเหยจากกานพลู และจากผลการทดสอบยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูสามารถยับยั้ง *V. cholerae* ได้ใกล้เคียงกับยา tetracycline

Table 2 Susceptibility of bacterial foodborne pathogens to 4 Thai herbal essential oils by the disc diffusion method (n = 3)

| Essential oil/ Antibiotic | Diameter of inhibition zone (mm) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *L. monocytoges* DMST 17303 | *L. monocytoges* DMST 23145 | *S. typhi* DMST 22842 | *S. choleraesuis* DMST 8014 | *S. sonnei* DMST 561 | *P. aeruginosa* DMST 4739 | *V. cholera* DMST 2873 |
| Clove | 19±0.14 | 18.56±1.00 | 25.59±2.07 | 18.15±2.95 | - | 7.69±0.16 | 27.65±3.24 |
| Lemon grass | 20.90±0.22 | 21.44±1.20 | 24.62±2.96 | 16.37±1.21 | - | 9.42±0.76 | 51.58±1.00 |
| Makhuang | 8.41±0.79 | 7.95±0.58 | 20.90±0.45 | 16.37±0.19 | - | 11.68±2.48 | - |
| Makhwaen | 8.50±1.42 | 7.68±0.61 | 8.17±0.16 | 12.65±1.28 | - | 8.54±0.19 | - |
| Tetracycline | 34.21±0.92 | 35.17±0.46 | - | 30.05±2.25 | 27.14±0.64 | 28.03±1.19 | 28.56±3.33 |

เมื่อทำการทดสอบเพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อเชื้อแบคทีเรียพบว่าน้ำมันหอมระเหยกานพลูมีค่า MIC และ MBC ต่อ *S. typhi* ต่ำที่สุดเท่ากับ 0.125 µg/ml น้ำมันหอมระเหยกานพลู พะไคร้ และขะช่วย ให้ค่า MIC และ MBC ที่เท่ากันต่อเชื้อ *V. cholerae* เท่ากับ 0.03, 0.03 และ 0.5 mg/ml ตามลำดับ (Table 3)

Table 3 Susceptibility of foodborne bacteria to four essential oils by broth dilution method

| Essential oil/ antibiotic | Concentration (µg/ml) | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *L. monocytogenes* DMST 17303 | | *L. monocytogenes* DMST 23145 | | *S. typhi* DMST 22842 | | *S. choleraesuis* DMST 8014 | | *S. sonnei* DMST 561 | | *P. aeruginosa* DMST 4739 | | *V. cholera* DMST 2873 | |
| | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC |
| Clove | 0.5 | 1 | 2 | 4 | 0.125 | 0.125 | 0.25 | 0.25 | 0.06 | 4 | 0.25 | 2 | 0.03 | 0.03 |
| Lemon grass | 2 | 2 | 8 | 16 | 4 | 8 | 2 | 4 | 0.06 | 2 | 16 | 64 | 0.03 | 0.03 |
| Makhuang | 8 | 32 | 32 | 64 | 8 | 8 | 16 | 32 | 0.5 | 64 | 16 | 64 | 0.5 | 0.5 |
| Makhwaen | 128 | 128 | 64 | 256 | 16 | 16 | 32 | 32 | 2 | 8 | 8 | 32 | 2 | 2 |
| Tetracycline | <0.06 | <0.06 | <0.06 | <0.06 | 0.125 | 16 | <0.06 | 0.06 | <0.06 | 0.06 | <0.06 | 0.125 | <0.06 | <0.06 |

## วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจากอาหารของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร จำนวน 4 ชนิด พบว่า สมุนไพรที่นำมาทดสอบทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก *L. monocytogenes* และแบคทีเรียแกรมลบ *S. typhi, S. choleraesuis, P. aeruginosa* และ *V. cholerae* ยกเว้นเชื้อ *S. sonnei* โดยน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้ง *S. typhi* แต่ไม่สามารถยับยั้ง *S. sonnei* ได้ แต่ในขณะที่ยาปฏิชีวนะ (tetracycline) ให้ผลตรงกันข้ามคือ ยาปฏิชีวนะ tetracycline ไม่สามารถ

ยับยั้งเชื้อ *S. typhi* ได้ แต่สามารถยับยั้ง *S. sonnei* ได้ จากผลการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหย 4 ชนิด พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพะไคร้และกานพลูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303, *L. monocytogenes* DMST 23145, *S. typhi* DMST 22842 และ *V. cholerae* DMST 2873 ได้ดี

เมื่อทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ของน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูและพะไคร้ ต่อเชื้อ *Vibrio cholera* พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.03 µg/ml ค่า MIC และ MBC ที่เท่ากันนั้น แสดงให้เห็นว่าสารจากน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูและพะไคร้นั้น มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อได้ดีมาก การทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียโดยน้ำมันหอมระเหยนั้นอาจมีข้อจำกัดบางประการ เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยนั้นไม่ละลายน้ำ จึงอาจทำให้การแพร่ของสารในการทดสอบด้วยวิธี disc diffusion ไม่สมบูรณ์ และในการทดสอบด้วยวิธี broth dilution น้ำมันหอมระเหยถูกเจือจางให้มีความเข้มข้นตามต้องการด้วย DMSO ดังนั้นน้ำมันหอมระเหยจึงสัมผัสกับเชื้อได้ดีกว่า ผลการทดสอบด้วยวิธี disc diffusion และ broth dilution จึงอาจมีความแตกต่างกันได้ แต่การทดสอบแบบ disc diffusion นั้นเป็นการทดสอบแบบเบื้องต้น เนื่องจากสามารถทดสอบสารได้หลายชนิดในเวลาเดียวกัน ส่วนการทดสอบการต้านเชื้อแบบ broth dilution เป็นการทดสอบที่ทำให้ทราบถึงความเข้มข้นของสารที่ใช้ยับยั้งเชื้อได้ จากการทดลองนี้เชื้อ *V. cholera* ถูกยับยั้งได้อย่างมีประสิทธิภาพ เชื้อนี้เป็นเชื้อที่เป็นสาเหตุของอหิวาตกโรค เข้าสู่ร่างกายโดยการรับประทาน เชื้อจะเข้าไปอยู่บริเวณลำไส้ และสร้างพิษออกมา ทำปฏิกิริยากับเยื่อบุผนังลำไส้เล็กทำให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง อุจจาระเป็นน้ำสีขาวข้าว ร่างกายเสียน้ำ และเกลือแร่อย่างรวดเร็ว และรุนแรง ถ้าไม่ได้รับการรักษาอย่างทันท่วงทีอาจทำให้เสียชีวิตได้ เชื้อนี้ยังคงพบว่ามีการระบาดอยู่ในประเทศไทย (Chomvarin et. al., 2012) แนวทางในการรักษาจะให้ยาปฏิชีวนะ เช่น Tetracycline, Trimetoprim หรือ Sulfametoxazole และจากรายงานพบว่าเชื้อมีการดื้อยาปฏิชีวนะเหล่านี้อยู่ จึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อและหาสารสำคัญที่เป็นส่วนที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อนี้ต่อไป เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร หรือควบคุมโรคในมนุษย์เพื่อทดแทนหรือใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะหรือสารเคมีสังเคราะห์

## สรุปผลการวิจัย

น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพะไคร้ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. cholerae* DMST 2873 ได้ดีที่สุด เมื่อทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ของน้ำมันหอมระเหย พบว่า กานพลูและพะไคร้ซึ่งเป็นพืชที่ใช้เป็นส่วนประกอบในการปรุงในอาหารนั้น มีฤทธิ์ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อก่อโรคจากอาหารได้ดี

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2558 มหาวิทยาลัยแม่โจ้

## เอกสารอ้างอิง

ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร พิทัย กาญบุตร และสาธร พรพระกูลพิพัฒน์. 2551. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ. น. 91-101. ใน **รายงานการประชุมวิชาการสัตวแพทย์ มข. ครั้งที่ 9** 11-12 มิถุนายน 2551. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อาทิชา วงศ์คำบา และสาวพักตร์ อื้นจ้อย. 2557. **รายงานสถานการณ์โรคอุจจาระร่วง** (acute diarrhea) **ประเทศไทย พ.ศ. 2557. สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข** 1-2.

Chomvarin, C., W. Jumroenjit, W. Wongboot, B. Kanoktipporncha, P. Chaimanee, O. Jamjane, S. Huttayananont and W. Tangkanakul. 2012. Molecular analysis and antimicrobial resistance of *Vibrio cholera* O1 in Northeastern Thailand. **Southeast Asian Tropical Medical Public Health.** 43 (6): 1437-1446.

Hanson L.A., E.A. Zahn, S.R. Wild, D. Dopfer, J. Scott and C. Stein. 2012. Estimating global mortality from potentially foodborne diseases: an analysis using vital registration data. **Population Health Metrics.** 10 (5): 1-7.

# การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ

# Study on inhibitory effects of essential oils from herbs and spices on some pathogenic bacteria

นางสาวกฤษณา สุวรรณ

รหัสนักศึกษา 5404102302

สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ปีการศึกษา 2557

วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรี

สาขาวิชาจุลชีววิทยา

เรื่อง

# การศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร

# Study on antibacterial activity of herbal essential oils against Foodborne pathogens

โดย

นางสาว วริษฐา ขันแก้ว

อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย

ผศ.ดร. ดลฤดี สงวนเสริมศรี

รายวิชา 266949 วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรี (Undergraduate Thesis)

คณะ วิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

# การศึกษาการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคจากอาหาร โดยน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยบางชนิด

# Study on anti-foodborne bacteria by some Thai medicinal plants

นางสาวพัชรินทร์ ชุมภูชัย

รหัสนักศึกษา 5504102329

สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ปีการศึกษา 2558

**ประกาศบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร**
**เรื่อง อนุมัติให้นิสิตระดับปริญญาเอกดำเนินการทำวิจัย**
**ครั้งที่ ๐๗๓/๒๕๕๘**

.....

บัณฑิตวิทยาลัยอนุมัติให้ นายอัศวชัย ช่วยพรหม รหัสประจำตัว ๕๔๐๓๑๔๒๐ นิสิตระดับปริญญาเอก หลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี ดำเนินการทำวิจัยตามโครงร่างวิทยานิพนธ์ที่เสนอ

เรื่อง ภาษาไทย "องค์ประกอบของสมุนไพร ฟ้าทะลายโจร กระทกรก มะหาด มังคุด และฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร"

ภาษาอังกฤษ "CHEMICAL CONSTITUENTS OF *Andrographis paniculata* Ness., *Passiflora foetida* Linn. *Artocarpus lakoocha* Roxb. AND *Garcinia mangostana* Linn. AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST FOODBORNE PATHOGENS"

โดยมี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.พันธ์ชนะ สงวนเสริมศรี เป็นประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

จึงประกาศมาให้ทราบโดยทั่วกัน

ประกาศ ณ วันที่ ๒๙ มิถุนายน พ.ศ.๒๕๕๘

(ศาสตราจารย์ ดร.รัตนะ บัวสนธ์)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร