บทที่ 4

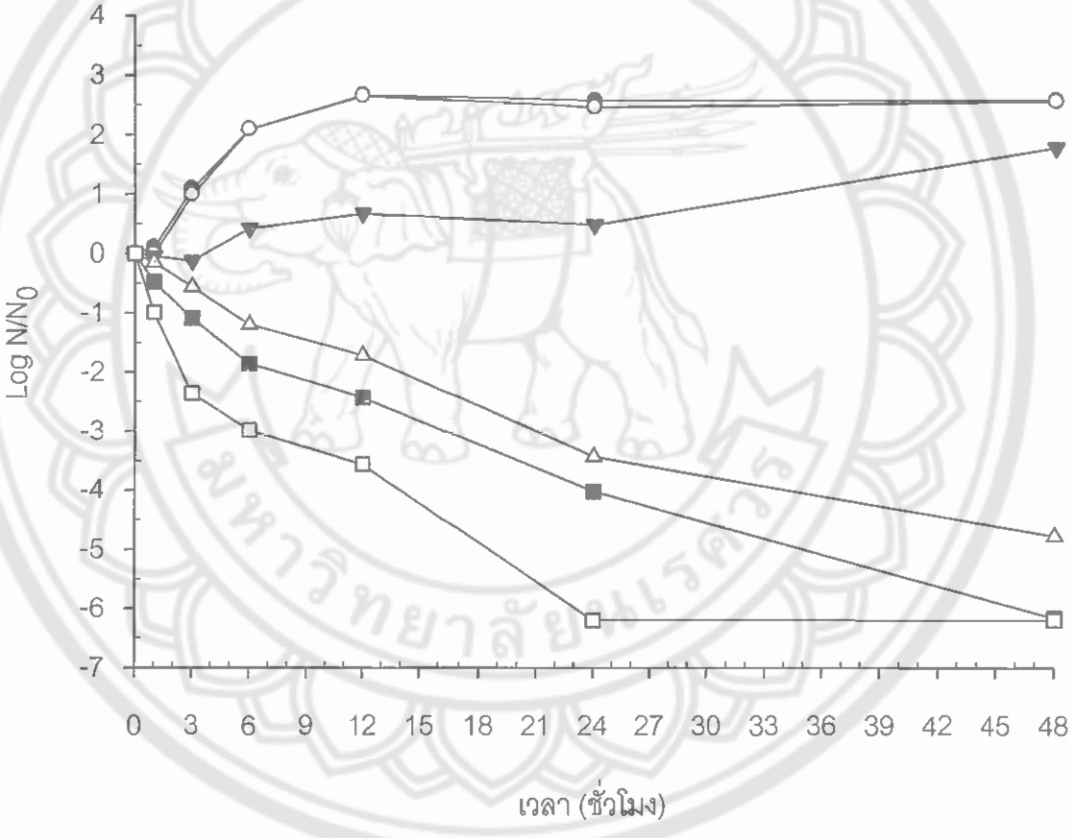
ผลการทดลองและอภิปรายผล

ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923

จากการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 โดยปริมาตร ในการยับยั้ง *S. aureus* ATCC 25923 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MH (Mueller Hinton broth) โดยใช้ tween80 เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ เพื่อช่วยในการละลายและกระจายตัวของน้ำมันหอมระเหยในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำผสมอยู่ด้วย ซึ่งเป็นปริมาณที่เหมาะสมในการช่วยละลายแต่ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ โดยจากการทดลองพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรามีผลต่อการเจริญของเชื้อ โดยที่ tween80 ร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร ไม่มีผลต่อการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923 เห็นได้จากปริมาณ *S. aureus* ATCC 25923 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MH ที่มี tween80 มีการเพิ่มขึ้นจากเชื้อเริ่มต้น 2.09, 2.65 และ 2.44 log CFU/ml เมื่อเวลาผ่านไป 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ และปริมาณเชื้อที่เพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญของเชื้อในอาหาร MHB ที่ไม่มีการเติม tween80 (ตาราง 5) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การใช้ tween80 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร ไม่มีผลต่อการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923

เมื่อเติมน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราลงใน MHB ที่มี tween80 เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ (ภาพ 5) พบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเพิ่มขึ้น *S. aureus* ATCC 25923 มีอัตราการเพิ่มจำนวน (log N/N_0) ลดลง โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 โดยปริมาตร เมื่อเวลาผ่านไป 3 ชั่วโมง เชื้อมีปริมาณคงที่จากเชื้อเริ่มต้น แล้วจึงเพิ่มจำนวนขึ้นเป็น 6.85 log CFU/ml ในชั่วโมงที่ 12 และมีปริมาณลดลงในชั่วโมงที่ 24 ก่อนที่จะเพิ่มขึ้นอีกครั้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P<0.05$) ที่ 48 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับชั่วโมงที่ 24 จนมีปริมาณเชื้อสูงสุด 7.95 log CFU/ml ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการที่เชื้อสามารถปรับตัวให้สามารถเจริญในสภาวะที่มีน้ำมันหอมระเหยได้ เมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราเป็นร้อยละ 0.50 โดยปริมาตร พบว่าเชื้อเริ่มลดจำนวนลงเมื่อเวลาผ่านไป 3 ชั่วโมง และมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง โดยมีปริมาณเชื้อเหลือเพียง 1.39 log CFU/ml ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 0.75 โดยปริมาตร พบว่าเชื้อจุลินทรีย์เริ่มลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง และลดจำนวนลงเรื่อยๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จนกระทั่งไม่สามารถตรวจ

พบจุลินทรีย์เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง และที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.00 โดยปริมาตร เชื้อจุลินทรีย์เริ่มลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง และลดลงเรื่อยๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จนไม่สามารถตรวจพบจุลินทรีย์เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ในระบบที่ประกอบด้วยอาหารเหลว MH และ tween 80 ร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร และมีค่า MIC เท่ากับร้อยละ 0.50 โดยปริมาตร เนื่องจากเป็นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้มากกว่า 90% เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง



ภาพ 5 ค่า log N/N_0 ของ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ใน MHB (●), MHB + 0.5% Tween80 (○), MHB + 0.5% Tween80 + EO 0.25% (▼), MHB + 0.5% Tween80 + EO 0.50% (△), MHB + 0.5% Tween80 + EO 0.75% (■) และMHB + 0.5% Tween80 + EO 1.00% (□) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ตาราง 5 ปริมาณ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 **ในอาหารเหลว** MH **ที่มีระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรา ร้อยละ** 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 **โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ** 37 **องศาเซลเซียส ณ เวลาต่างๆ**

ตัวอย่าง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์* (log CFU/ml)						
	เวลา (ชั่วโมง)						
	0	1	3	6	12	24	48
MHB	6.06^{d}±0.01	6.16^{d}±0.04	7.15^{c}±0.07	8.15^{b}±0.04	8.72^{a}±0.05	8.62^{a}±0.02	8.62^{a}±0.10
MHB+Tween80	6.21^{d}±0.04	6.21^{d}±0.02	7.20^{c}±0.01	8.30^{b}±0.06	8.86^{a}±0.10	8.66^{a}±0.13	8.76^{a}±0.15
MHB+Tween80+essential oil 0.25%	6.18^{d}±0.01	6.15^{d}±0.09	6.06^{d}±0.01	6.60^{c}±0.04	6.85^{b}±0.02	6.65^{c}±0.01	7.95^{a}±0.05
MHB+Tween80+ essential oil 0.50%	6.17^{a}±0.01	6.02^{a}±0.03	5.62^{b}±0.11	4.97^{c}±0.01	4.45^{d}±0.03	2.75^{e}±0.02	1.39^{f}±0.09
MHB+Tween80+ essential oil 0.75%	6.16^{a}±0.00	5.69^{b}±0.12	5.08^{c}±0.02	4.31^{d}±0.02	3.74^{e}±0.03	2.15^{f}±0.04	0.00^{g}±0.00
MHB+Tween80+ essential oil 1.00%	6.20^{a}±0.04	5.22^{b}±0.16	3.84^{c}±0.07	3.22^{d}±0.07	2.64^{e}±0.10	0.00^{f}±0.00	0.00^{f}±0.00

* ค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติระหว่างเวลา 0 – 48 ชั่วโมง ตัวอักษรที่ต่างกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในแนวนอน

ตาราง 6 ค่า log N/N_0 ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ในอาหารเหลว MH ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 โดยปริมาตร

ตัวอย่าง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (log reduction N/N_0) เวลา (ชั่วโมง)						
	0	1	3	6	12	24	48
MHB	0^{d}	$0.10^{A,d}\pm0.04$	$1.09^{A,c}\pm0.07$	$2.09^{A,b}\pm0.04$	$2.66^{A,a}\pm0.06$	$2.56^{A,a}\pm0.02$	$2.56^{A,a}\pm0.14$
MHB+Tween80	0^{d}	$-0.01^{AB,d}\pm0.02$	$0.99^{A,c}\pm0.01$	$2.09^{A,b}\pm0.06$	$2.65^{A,a}\pm0.14$	$2.45^{A,a}\pm0.18$	$2.55^{A,a}\pm0.21$
MHB+Tween80+essential oil 0.25%	0^{d}	$-0.04^{AB,de}\pm0.09$	$-0.12^{B,e}\pm0.01$	$0.42^{B,c}\pm0.04$	$0.67^{B,b}\pm0.02$	$0.47^{B,c}\pm0.01$	$1.77^{B,a}\pm0.07$
MHB+Tween80+ essential oil 0.50%	0^{a}	$-0.15^{B,a}\pm0.03$	$-0.56^{C,b}\pm0.11$	$-1.20^{C,c}\pm0.01$	$-1.72^{C,d}\pm0.04$	$-3.43^{C,e}\pm0.02$	$-4.78^{C,f}\pm0.13$
MHB+Tween80+ essential oil 0.75%	0^{a}	$-0.48^{C,b}\pm0.12$	$-1.09^{D,c}\pm0.02$	$-1.86^{D,d}\pm0.02$	$-2.43^{D,e}\pm0.04$	$-4.02^{D,f}\pm0.05$	$-6.16^{D,g}\pm 0.00$
MHB+Tween80+ essential oil 1.00%	0^{a}	$-0.99^{D,b}\pm0.16$	$-2.36^{E,c}\pm0.07$	$-2.98^{E,d}\pm0.07$	$-3.56^{E,e}\pm0.10$	$-6.20^{E,f}\pm0.00$	$-6.20^{D,f}\pm0.00$

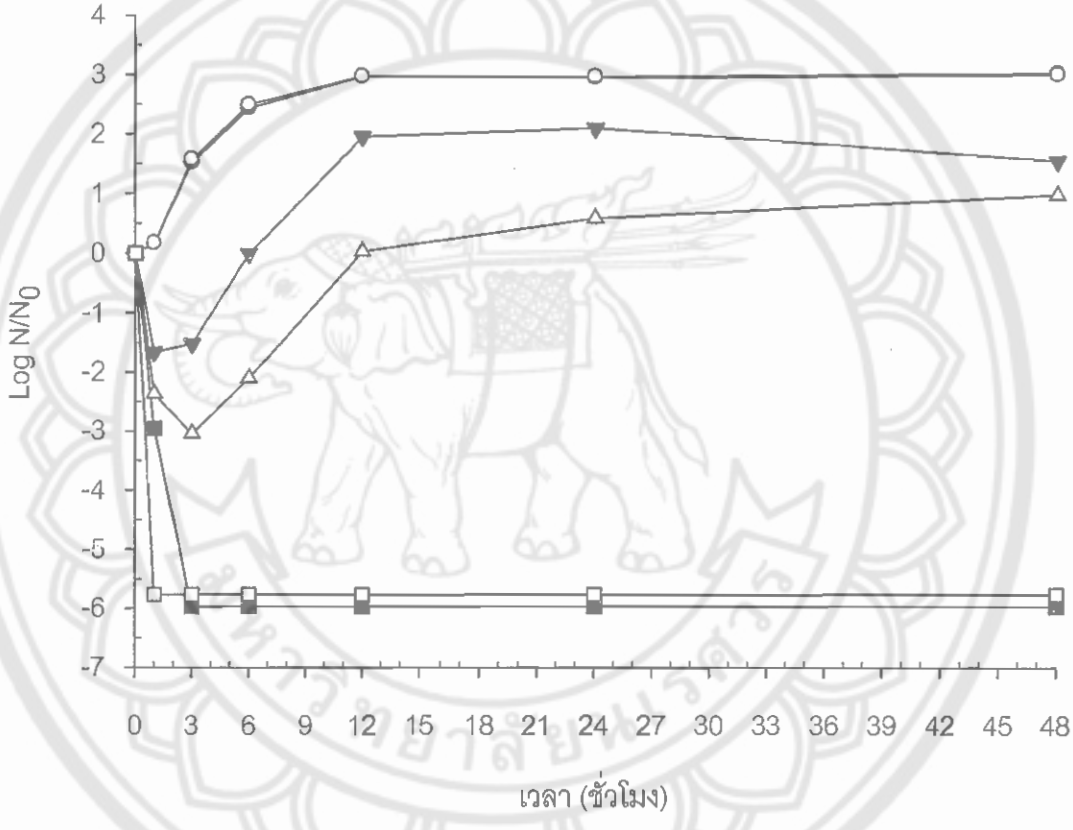
* ตัวอักษรชุดแรก (A-E) และชุดที่สอง (a-g) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในแนวตั้งและแนวนอนตามลำดับ

ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราในการยับยั้งเชื้อ *Sal. typhimurium* ATCC 14028

จากการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 โดยปริมาตร ในการยับยั้ง *Sal. typhimurium* ATCC 14028 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MH โดยใช้ tween80 เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรามีผลต่อการเจริญของเชื้อ โดยที่ tween80 ร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร ไม่มีผลต่อการเจริญของ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 โดยเห็นได้จากปริมาณ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MH ที่มี tween80 มีการเพิ่มขึ้นจากเชื้อเริ่มต้น 2.49, 2.97 และ 2.96 log CFU/ml เมื่อเวลาผ่านไป 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ (ภาพ 6) และปริมาณเชื้อที่เพิ่มขึ้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญของเชื้อในอาหาร MHB ที่ไม่มีการเติม tween80 (ตาราง 7) การทดลองแสดงให้เห็นว่า การใช้ tween80 ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร ไม่มีผลต่อการเจริญของ *Sal. typhimurium* ATCC 14028

เมื่อเติมน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราลงใน MHB ที่มี tween80 เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ พบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้น *Sal. typhimurium* ATCC 14028 มีอัตราการเพิ่มจำนวน (log N/N_0) ลดลง โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 โดยปริมาตร เชื้อมีปริมาณลดลงจากเชื้อเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P<0.05$) เมื่อเวลาผ่านไป 1 และ 3 ชั่วโมง จากนั้นจึงมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P<0.05$) จากชั่วโมงที่ 3 เมื่อเวลาผ่านไป 24ชั่วโมง แล้วจึงมีปริมาณเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P<0.05$) จากชั่วโมงที่ 24 เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง โดยมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นจากเชื้อเริ่มต้น 1.54 log CFU/ml (ตาราง 7) และเมื่อใช้น้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.50 โดยปริมาตร เมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง เชื้อมีปริมาณลดลงจากเชื้อเริ่มต้นอย่างรวดเร็วจนเมื่อเวลาผ่านไป 3 ชั่วโมง จากนั้นจึงเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จากชั่วโมงที่ 3 เป็น 7.06 log CFU/ml ในชั่วโมงที่ 48 โดยเชื้อมีปริมาณเพิ่มขึ้นจากเชื้อเริ่มต้น 0.97 log CFU/ml อาจมีสาเหตุมาจากการที่เชื้อสามารถปรับตัวให้สามารถเจริญในสภาวะที่มีน้ำมันหอมระเหยได้ เมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราเป็นร้อยละ 0.75 โดยปริมาตร พบว่าเชื้อมีปริมาณลดลงจากเชื้อเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง และไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เมื่อเวลาผ่านไป 3 ชั่วโมง โดยสามารถลดปริมาณเชื้อจากเชื้อเริ่มต้นได้ 5.97 log CFU/ml ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.00 โดยปริมาตร สามารถยับยั้งเชื้อได้หมด โดยไม่พบการเจริญของเชื้อเลย เมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้อลดลงจากเชื้อเริ่มต้น 5.77 log CFU/ml ตามลำดับ และเชื้อไม่มีการเพิ่มจำนวนจนเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า

น้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 ในระบบที่ประกอบด้วยอาหารเหลว MH และ tween 80 ร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร และมีค่า MIC เท่ากับร้อยละ 0.75 โดยปริมาตร เนื่องจากเป็นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้มากกว่า 90% เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง



ภาพ 6 ค่า log N/N_0 ของเชื้อ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 ใน MHB (●), MHB + 0.5% Tween80 (○), MHB + 0.5% Tween80 + EO 0.25% (▼), MHB + 0.5% Tween80 + EO 0.50% (△) และ MHB + 0.5% Tween80 + EO 0.75% (■) และMHB + 0.5% Tween80 + EO 1.00% (□) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

ตาราง 7 ปริมาณ *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 **ในอาหารเหลว** MH **ที่มีระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจาก**ใบกะเพรา **ร้อยละ** 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 **โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ** 37 **องศาเซลเซียส ณ เวลาต่างๆ**

ตัวอย่าง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (log CFU/ml)						
	เวลา (ชั่วโมง)						
	0	1	3	6	12	24	48
MHB	$6.08^{e}\pm0.04$	$6.25^{d}\pm0.11$	$7.60^{c}\pm0.06$	$8.51^{b}\pm0.13$	$9.05^{a}\pm0.06$	$9.03^{a}\pm0.03$	$9.10^{a}\pm0.04$
MHB+Tween80	$6.04^{e}\pm0.01$	$6.21^{d}\pm0.01$	$7.61^{c}\pm0.03$	$8.53^{b}\pm0.04$	$9.01^{a}\pm0.04$	$9.00^{a}\pm0.04$	$9.04^{a}\pm0.17$
MHB+Tween80+essential oil 0.25%	$6.23^{c}\pm0.04$	$4.57^{d}\pm0.14$	$4.71^{d}\pm0.06$	$6.22^{c}\pm0.06$	$8.18^{a}\pm0.13$	$8.32^{a}\pm0.04$	$7.77^{b}\pm0.16$
MHB+Tween80+essential oil 0.50%	$6.09^{c}\pm0.04$	$3.74^{e}\pm0.06$	$3.05^{f}\pm0.07$	$3.99^{d}\pm0.04$	$6.12^{c}\pm0.04$	$6.67^{b}\pm0.04$	$7.06^{a}\pm0.01$
MHB+Tween80+ essential oil 0.75%	$5.97^{a}\pm0.09$	$3.02^{b}\pm0.01$	$0.00^{c}\pm0.00$	$0.00^{c}\pm0.00$	$0.00^{c}\pm0.00$	$0.00^{c}\pm0.00$	$0.00^{c}\pm0.02$
MHB+Tween80+ essential oil 1.00%	$5.77^{a}\pm0.01$	$0.00^{b}\pm0.00$	$0.00^{b}\pm0.00$	$0.00^{b}\pm0.00$	$0.00^{b}\pm0.00$	$0.00^{b}\pm0.00$	$0.00^{b}\pm0.02$

* ค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติระหว่างเวลา 0 – 48 ชั่วโมง ตัวอักษรที่ต่างกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในแนวนอน

ตาราง 8 ค่า log N/N_0 ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ในอาหารเหลว MH ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 โดยปริมาตร

ตัวอย่าง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (log reduction N/N_0)						
	เวลา (ชั่วโมง)						
	0	1	3	6	12	24	48
MHB	0^{d}	$0.17^{A,d}\pm0.11$	$1.52^{A,c}\pm0.06$	$2.43^{A,b}\pm0.13$	$2.97^{A,a}\pm0.06$	$2.95^{A,a}\pm0.03$	$3.02^{A,a}\pm0.04$
MHB+Tween80	0^{d}	$0.17^{A,d}\pm0.01$	$1.57^{A,c}\pm0.03$	$2.49^{A,b}\pm0.04$	$2.97^{A,a}\pm0.03$	$2.96^{A,a}\pm0.04$	$3.00^{A,a}\pm0.17$
MHB+Tween80+essential oil 0.25%	0^{c}	$-1.66^{B,d}\pm0.14$	$-1.52^{B,d}\pm0.06$	$-0.01^{B,c}\pm0.06$	$1.95^{B,a}\pm0.13$	$2.09^{B,a}\pm0.04$	$1.54^{B,b}\pm0.16$
MHB+Tween80+essential oil 0.50%	0^{c}	$-2.36^{C,e}\pm0.06$	$-3.04^{C,f}\pm0.07$	$-2.10^{C,d}\pm0.04$	$0.03^{C,c}\pm0.04$	$0.58^{C,b}\pm0.04$	$0.97^{C,a}\pm0.01$
MHB+Tween80+ essential oil 0.75%	0^{a}	$-2.95^{D,b}\pm0.01$	$-5.97^{E,c}\pm0.00$	$-5.97^{E,c}\pm0.00$	$-5.97^{E,c}\pm0.00$	$-5.97^{E,c}\pm0.00$	$-5.97^{D,c}\pm0.00$
MHB+Tween80+ essential oil 1.00%	0^{a}	$-5.77^{E,b}\pm0.00$	$-5.77^{D,b}\pm0.00$	$-5.77^{D,b}\pm0.00$	$-5.77^{D,b}\pm0.00$	$-5.77^{D,b}\pm0.00$	$-5.77^{D,b}\pm0.00$

* ตัวอักษรชุดแรก (A-E) และชุดที่สอง (a-f) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในแนวตั้งและแนวนอนตามลำดับ

ในการทดลองนี้ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคที่มีบทบาทสำคัญในประเทศไทย เพื่อเป็นแนวทางในการขยายการประยุกต์ใช้ของน้ำมันหอมระเหยในผลิตภัณฑ์อาหาร และพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 ในอาหาร MHB ที่มี tween80 เป็นตัวทำละลาย สาเหตุที่ต้องเติม tween80 ลงใน MHB เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยเป็นสารประกอบที่ไม่มีขั้ว(non-polar) จึงทำให้ไม่สามารถผสมเป็นเนื้อเดียวกันกับอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการเติมสารอิมัลซิไฟเออร์เพื่อทำให้น้ำมันหอมระเหยสามารถรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกันกับอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยที่ tween80 ที่เติมลงไปไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดที่นำมาทดสอบในการศึกษาครั้งนี้

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 0.25 โดยปริมาตร มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 ได้ โดยมีค่า MIC เท่ากับร้อยละ 0.50 และ 0.75 โดยปริมาตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งผลการทดลองนี้เป็นไปในแนวเดียวกันกับการทดลองในการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศหลายๆ ชนิด มีรายงานการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันกานพลูในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria monocytogenes* พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นของน้ำมันกานพลูเพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีกว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร (Mytle et al., 2006) ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 อาจเป็นผลเนื่องมาจากในมันหอมระเหยจากใบกะเพรา(บริษัทอุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด จังหวัดพระนครศรีอยุธยา) มีองค์ประกอบหลักคือสารเมทธิลยูจีนอลในอัตราส่วนร้อยละ 27.50 และยูจีนอลร้อยละ 10.77 โดยปริมาตร (วิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบต่างๆ ของน้ำมันหอมระเหยโดย รศ. ดร.นพมาศ สุนทรเจริญนนท์ ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล) ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้เป็นสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) มีการรายงานว่าฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่มาจากสารประกอบฟีนอลิกโดยมีการออกฤทธิ์ที่เยื่อหุ้มเซลล์เป็นหลัก ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ของน้ำมันหอมระเหย ทำให้น้ำมันหอมระเหยสามารถแทรกตัวผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปภายใน

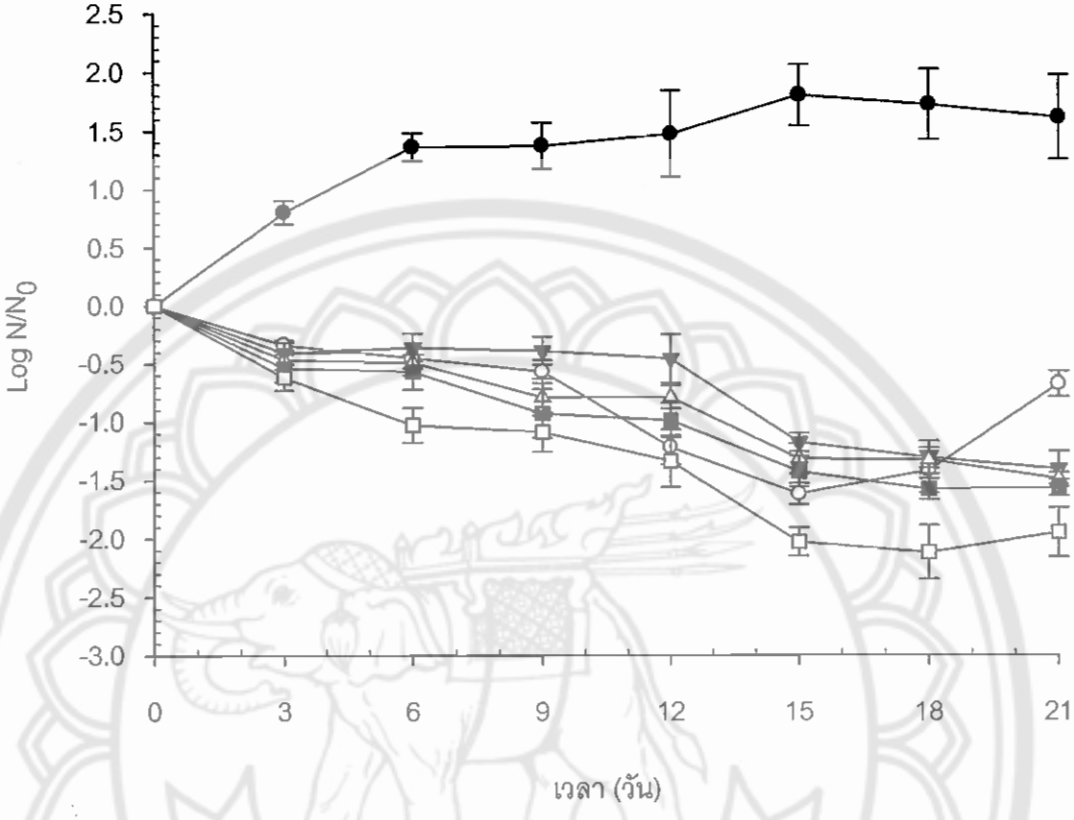
cytoplasm ของเซลล์แบคทีเรีย ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ฉีกขาด เกิดการรั่วของอิออนต่างๆ จากภายในเซลล์ออกมานอกเซลล์ ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์ และโปรตีนต่างๆ เสียสภาพ รวมทั้งไปรบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ (Burt, 2004) โดยจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า *S. aureus* ATCC 25923 มีความไวต่อน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรามากกว่า *Sal. typhimurium* ATCC 14028 ซึ่งผลที่ได้นี้เป็นไปในแนวทางเดียวกับการศึกษาของ Oussalah et al. (2006) ที่พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก Satureja ซึ่งมีสารฟีนอลิก carvacrol เป็นองค์ประกอบหลัก สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่า *E. coli* O157:H7 และ *Sal. typhimurium* ถึง 4 เท่า และยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Tassou et al. (2000) ที่พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากมิ้นท์ซึ่งมีองค์ประกอบหลักเป็นสารประกอบฟีนอลิกเช่นเดียวกันสามารถลดจำนวนเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้เป็นสองเท่าของเชื้อ *Sal. enteritidis* และ Shelef et al. (1980) ได้ศึกษาความไวของของแบคทีเรียแกรมลบ 22 สายพันธุ์ และแบคทีเรียแกรมบวก 24 สายพันธุ์ ต่อ เสจ (sage), โรสแมรี่ (rosemary) และพริกหอม (allspice) พบว่าแบคทีเรียแกรมบวกจะทนต่อเครื่องเทศน้อยกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ผลที่ได้นี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียทั้งสองชนิด แบคทีเรียแกรมบวกมีผนังเซลล์เพียงชั้นเดียว มีโครงสร้างหลักคือ เปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) ในขณะที่แบคทีเรียแกรมลบ มีผนังเซลล์ 2 ชั้น ได้แก่ ผนังเซลล์ชั้นนอก (outer membrane) และผนังเซลล์ชั้นในซึ่งเป็นเปปติโดไกลแคน โดยผนังเซลล์ชั้นนอกจะช่วยในการควบคุมการผ่านเข้าออกของสารพิษ มีผลทำให้น้ำมันหอมระเหยผ่านเข้าไปทำลายองค์ประกอบภายในเซลล์ได้ยากกว่า ส่งผลให้เซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ มีความทนต่อน้ำมันหอมระเหยได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Holley and Patel, 2005)

ผลของการใช้ไคโตซานร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราต่อการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ในไส้กรอก

ในการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราร่วมกับไคโตซานในการยับยั้ง *S. aureus* ATCC 25923 ในไส้กรอกระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้ทำการศึกษาโดยการจุ่มไส้กรอกในสารละลายแขวนลอยแบคทีเรียแล้วจึงนำไปจุ่มในสารละลายไคโตซานร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ที่มีน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (ร้อยละ 0.50 0.75 และ 1.00 โดยปริมาตร) ซึ่งค่าเหล่านี้เป็นค่า MIC ที่ได้จากการทดลองตอนที่ 1 และ 2 โดยมีตัวอย่างไส้กรอกซึ่งจุ่มในสารละลายอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยปริมาตร (Smulder, 1995) และน้ำกลั่น ถูกใช้เป็นตัวอย่างควบคุมบวกและลบตามลำดับ

ผลการทดลองพบว่าการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923 ในไส้กรอกที่เป็นตัวอย่างควบคุมลบเพิ่มขึ้น 1.36 log CFU/g เมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน แล้วคงที่หลังจากผ่านไป 21 วัน (ภาพ 7) โดยมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 เป็นปริมาณ 1.72 log CFU/g ในขณะที่ในตัวอย่างควบคุมบวกซึ่งใช้กรดอะซิติก ร้อยละ 2 โดยปริมาตร เมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน เชื้อมีปริมาณลดลง 0.34 log CFU/g แล้วคงที่จนถึงวันที่ 12 จากนั้นมีปริมาณลดลงอีกครั้งในวันที่ 15 แล้วจึงมีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเวลาผ่านไป 21 วัน (ภาพ 7) โดยมีปริมาณเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 เป็นปริมาณ 0.68 log CFU/g ในขณะที่การใช้ไคโตซานร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก เพียงอย่างเดียว พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 9 วัน เชื้อมีแนวโน้มคงที่ประมาณ 4.59-5.00 log CFU/g จนเมื่อเวลาผ่านไป 12 วัน จึงเริ่มมีแนวโน้มลดลง(ภาพ 7) และเมื่อเวลาผ่านไป 21 วัน เชื้อมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เปรียบเทียบกับวันที่ 0 เป็นปริมาณ 1.41 log CFU/g แต่เมื่อใช้ไคโตซานร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.50 โดยปริมาตร พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน เชื้อมีปริมาณลดลง 0.47 log CFU/g แล้วคงที่ จนเมื่อเวลาผ่านไป 15 วัน เชื้อมีปริมาณลดลงอีกครั้งแล้วคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 21 วัน (ภาพ 7) โดยมีปริมาณเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 เป็นปริมาณ 1.49 log CFU/g เช่นเดียวกับการใช้ไคโตซานร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.75 โดยปริมาตร เมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน เชื้อมีปริมาณลดลง 0.54 log CFU/g แล้วคงที่ และเมื่อเวลาผ่านไป 15 วัน เชื้อมีปริมาณลดลงอีกครั้งแล้วคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 21 วัน (ภาพ 7) โดยมีปริมาณเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เปรียบเทียบกับวันที่ 0 เป็นปริมาณ 1.57 log CFU/g ส่วนการใช้ไคโตซานร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.00 โดยปริมาตร เมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน เชื้อมีปริมาณลดลง 0.62 log CFU/ml แล้วคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 9 วัน จากนั้นเชื้อมีแนวโน้มลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 15 วัน แล้วคงที่จนเมื่อเวลาผ่านไป 21 วัน (ภาพ 7) โดยมีปริมาณเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เปรียบเทียบกับวันที่ 0 เป็นปริมาณ 1.95 log CFU/g

จากการใช้น้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.50 0.75 และ 1.00 โดยปริมาตร ร่วมกับไคโตซานในไส้กรอกต่อการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923 เมื่อเวลาผ่านไป 21 วัน พบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเพิ่มขึ้นสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้เพิ่มขึ้น แต่ปริมาณเชื้อไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และไม่แตกต่างจากการใช้ไคโตซานเพียงอย่างเดียว



ภาพ 7 ค่า log N/N_0 ของ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ในไส้กรอกที่จุ่มด้วยน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับสารละลายไคโตซาน (● ตัวอย่างควบคุมลบ; ○ ตัวอย่างควบคุมบวก; ▼ ไคโตซาน 1% ; △ ไคโตซาน 1% + EO 0.50%; ■ ไคโตซาน 1% + EO 0.75% ; □ ไคโตซาน 1% + EO 1.00%) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

ตาราง 9 ปริมาณ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ในตัวอย่างไส้กรอกที่จุ่มด้วยน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับไคโตซาน ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่างๆ

ตัวอย่าง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (log CFU/ml)							
	เวลา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
control	5.41±0.18^{c}	6.21±0.17^{b}	6.77±0.21^{ab}	6.78±0.34^{ab}	6.88±0.63^{ab}	7.21±0.45^{a}	7.13±0.52^{a}	7.02±0.63^{ab}
Acetic acid 2%	4.91±0.05^{a}	4.57±0.06^{b}	4.46±0.15^{b}	4.34±0.18^{b}	3.69±0.27^{c}	3.29±0.15^{d}	3.49±0.33^{bc}	4.23±0.19^{b}
Chitosan 1%	5.00±0.13^{a}	4.59±0.16^{ab}	4.64±0.20^{ab}	4.61±0.21^{ab}	4.54±0.37^{b}	3.82±0.13^{c}	3.69±0.25^{c}	3.59±0.25^{c}
Chitosan 1% + essential oil 0.50%	4.73±0.20^{a}	4.26±0.15^{b}	4.24±0.18^{b}	3.94±0.28^{b}	3.94±0.18^{b}	3.41±0.23^{c}	3.40±0.12^{c}	3.24±0.08^{c}
Chitosan 1% + essential oil 0.75%	4.71±0.28^{a}	4.17±0.20^{b}	4.14±0.26^{b}	3.78±0.36^{b}	3.72±0.27^{b}	3.28±0.22^{c}	3.13±0.16^{c}	3.14±0.12^{c}
Chitosan 1% + essential oil 1.00%	4.54±0.37^{a}	3.92±0.20^{b}	3.51±0.27^{bc}	3.45±0.30^{bc}	3.20±0.38^{c}	2.51±0.21^{d}	2.42±0.39^{d}	2.59±0.36^{d}

* ค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติระหว่างเวลา 0 – 21 วัน ตัวอักษรที่ต่างกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในแนวนอน

ตาราง 10 ค่า log N/N_0 ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ในตัวอย่างไส้กรอกที่จุ่มด้วยน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราร่วมกับไคโตซาน ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตัวอย่าง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (log CFU/ml)							
	เวลา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
control	0^{C}	$0.80^{A,b}\pm0.17$	$1.36^{A,ab}\pm0.21$	$1.37^{A,ab}\pm0.34$	$1.47^{A,ab}\pm0.64$	$1.80^{A,a}\pm0.45$	$1.72^{A,a}\pm0.52$	$1.61^{A,ab}\pm0.63$
Acetic acid 2%	0^{a}	$-0.34^{B,b}\pm0.06$	$-0.45^{B,b}\pm0.15$	$-0.57^{BC,b}\pm0.18$	$-1.22^{C,c}\pm0.27$	$-1.62^{BC,d}\pm0.15$	$-1.42^{B,cd}\pm0.33$	$-0.68^{B,b}\pm0.19$
Chitosan 1%	0^{a}	$-0.41^{B,ab}\pm0.16$	$-0.36^{B,ab}\pm0.20$	$-0.39^{B,ab}\pm0.21$	$-0.46^{B,b}\pm0.37$	$-1.18^{B,c}\pm0.13$	$-1.31^{B,c}\pm0.25$	$-1.41^{C,c}\pm0.25$
Chitosan 1% + essential oil 0.50%	0^{a}	$-0.47^{B,b}\pm0.15$	$-0.49^{B,bc}\pm0.18$	$-0.79^{BC,c}\pm0.28$	$-0.79^{BC,c}\pm0.18$	$-1.32^{B,d}\pm0.23$	$-1.33^{B,d}\pm0.12$	$-1.49^{C,d}\pm0.08$
Chitosan 1% + essential oil 0.75%	0^{a}	$-0.54^{B,b}\pm0.20$	$-0.57^{B,b}\pm0.26$	$-0.93^{C,bc}\pm0.36$	$-0.99^{BC,c}\pm0.27$	$-1.43^{B,d}\pm0.22$	$-1.58^{BC,d}\pm0.16$	$-1.57^{C,d}\pm0.12$
Chitosan 1% + essential oil 1.00%	0^{a}	$-0.62^{B,b}\pm0.20$	$-1.03^{C,bc}\pm0.27$	$-1.09^{C,bc}\pm0.30$	$-1.34^{C,c}\pm0.38$	$-2.03^{C,d}\pm0.21$	$-2.12^{C,d}\pm0.39$	$-1.95^{C,d}\pm0.36$

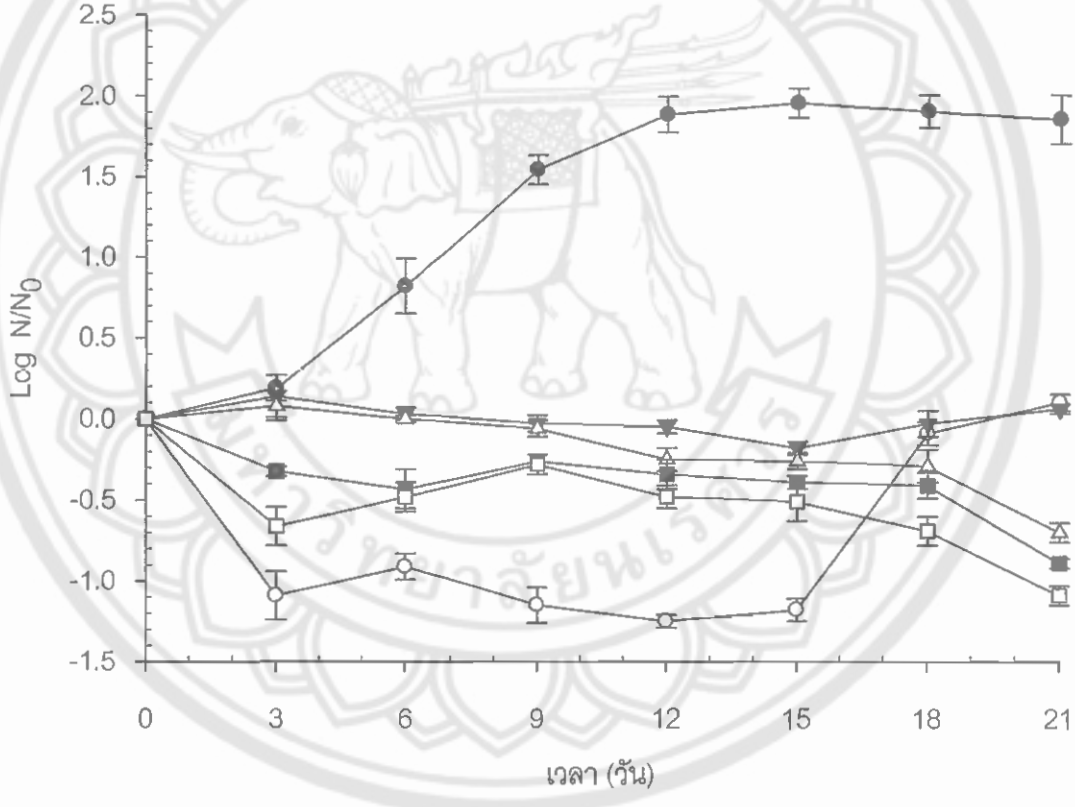
ตัวอักษรชุดแรก (A-C) และชุดที่สอง (a-d) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในแนวตั้งและแนวนอนตามลำดับ

ผลของการใช้ไคโตซานร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราต่อการเจริญของเชื้อ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 ในไส้กรอก

จากการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราร่วมกับไคโตซานในการยับยั้ง *Sal. typhimurium* ATCC 14028 ในไส้กรอกระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ภาพ 8) พบว่าการเจริญของ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 ในตัวอย่างไส้กรอกที่เป็นตัวอย่างควบคุมลบ (น้ำกลั่น) มีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้น 0.82 log CFU/g เมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนเพิ่มขึ้นสูงสุด 7.06 log CFU/g เมื่อเวลาผ่านไป 15 วัน และคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 21 วัน โดยมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เปรียบเทียบกับวันที่ 0 เป็นปริมาณ 1.85 log CFU/g ในขณะที่ตัวอย่างควบคุมบวก ซึ่งใช้กรดอะซิติก ร้อยละ 2.0 โดยปริมาตร เมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน มีปริมาณเชื้อลดลง 1.09 log CFU/g แล้วมีแนวโน้มคงที่ จนเมื่อเวลาผ่านไป 18 วัน เชื้อจึงมีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุดแล้วคงที่ถึงวันที่ 21 โดยมีปริมาณเชื้อไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 ในขณะที่การใช้ไคโตซานร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ในไส้กรอก พบว่าปริมาณเชื้อมีแนวโน้มคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน โดยมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เปรียบเทียบกับวันที่ 0 เป็นปริมาณ 0.06 log CFU/g แต่เมื่อใช้ไคโตซานร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.50 โดยปริมาตร พบว่าเชื้อมีปริมาณคงที่จนเมื่อเวลาผ่านไป 12 วัน เชื้อจึงมีปริมาณลดลง 0.25 log CFU/g และมีปริมาณคงที่จนถึงวันที่ 18 แล้วจึงลดลงอีกครั้งในวันที่ 21 โดยมีปริมาณเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เปรียบเทียบกับวันที่ 0 เป็นปริมาณ 0.70 log CFU/g เมื่อระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 0.75 โดยปริมาตร *Sal. typhimurium* ATCC 14028 มีปริมาณลดลง 0.32 log CFU/g เมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน แล้วคงที่ และลดลงอีกครั้งเมื่อเวลาผ่านไป 21 วัน โดยมีปริมาณเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 เป็นปริมาณ 0.89 log CFU/g ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.00 โดยปริมาตร เมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน เชื้อมีปริมาณลดลง 0.66 log CFU/g และมีแนวโน้มคงที่ จนเมื่อเวลาผ่านไป 18 วัน ปริมาณเชื้อมีแนวโน้มลดลงอีกครั้งจนถึงวันที่ 21 โดยมีปริมาณเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เปรียบเทียบกับวันที่ 0 เป็นปริมาณ 1.09 log CFU/g

จากการใช้น้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.50, 0.75 และ 1.00 โดยปริมาตร ร่วมกับไคโตซานในไส้กรอกต่อการเจริญของ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 เมื่อเวลาผ่านไป 21 วัน พบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเพิ่มขึ้นสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้เพิ่มขึ้น โดยการใช้น้ำมันหอมระเหยเข้มข้นร้อยละ 1.00 โดยปริมาตร สามารถลดปริมาณ

เชื้อจุลินทรีย์ได้ไม่แตกต่างจากการใช้น้ำมันหอมระเหยเข้มข้นร้อยละ 0.75 โดยปริมาตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้มากกว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยเข้มข้นร้อยละ 0.50 โดยปริมาตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และการใช้น้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.50, 0.75 และ 1.00 โดยปริมาตร สามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้มากกว่าการใช้ไคโตซานเพียงอย่างเดียวและตัวอย่างควบคุมบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นจึงได้เลือกใช้น้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.75 โดยปริมาตร ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ไปใช้ในการทดลองที่ 2.5 และ 2.6 เพื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาและทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของไส้กรอก



ภาพ 8 ค่า log N/N_0 ของ *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ในตัวอย่างไส้กรอกที่จุ่มด้วยน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับสารละลายไคโตซาน (● ตัวอย่างควบคุมลบ; ○ ตัวอย่างควบคุมบวก; ▼ ไคโตซาน 1% ; △ ไคโตซาน 1% + EO 0.50%; ■ ไคโตซาน 1% + EO 0.75% ; □ ไคโตซาน 1% + EO 1.00%) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

ตาราง 11 ปริมาณ *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ในตัวอย่างไส้กรอกที่จุ่มด้วยน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับไคโตซาน ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่างๆ

ตัวอย่าง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (log CFU/ml)							
	เวลา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
control	5.11±0.11^{d}	5.30±0.14^{d}	5.93±0.30^{c}	6.65±0.16^{b}	6.99±0.19^{ab}	7.06±0.16^{a}	7.01±0.16^{a}	6.96±025^{ab}
Acetic acid 2%	4.75±0.03^{a}	3.66±0.26^{bc}	3.84±0.13^{b}	3.60±0.20^{bc}	3.50±0.07^{c}	3.57±0.12^{bc}	4.66±0.12^{a}	4.85±0.09^{a}
Chitosan 1%	5.04±0.16^{ab}	5.18±0.23^{a}	5.07±0.07^{ab}	5.01±0.08^{ab}	4.99±0.08^{ab}	4.86±0.07^{b}	5.01±0.15^{ab}	5.10±0.06^{ab}
Chitosan 1% + essential oil 0.50%	4.88±0.19^{a}	4.96±0.16^{a}	4.88±0.03^{a}	4.82±0.08^{ab}	4.63±0.12^{b}	4.62±0.08^{b}	4.59±0.18^{b}	4.18±0.10^{c}
Chitosan 1% + essential oil 0.75%	4.96±0.23^{a}	4.64±0.05^{b}	4.53±0.21^{b}	4.70±0.07^{b}	4.62±0.15^{b}	4.57±0.07^{b}	4.55±0.13^{b}	4.07±0.06^{c}
Chitosan 1% + essential oil 1.00%	4.95±0.14^{a}	4.30±0.21^{c}	4.47±0.16^{bc}	4.67±0.11^{b}	4.47±0.12^{bc}	4.44±0.22^{bc}	4.26±0.16^{c}	3.86±0.10^{d}

* ค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติระหว่างเวลา 0 – 21 วัน ตัวอักษรที่ต่างกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในแนวนอน

ตาราง 12 ค่า log N/N_0 ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 **ในตัวอย่างไส้กรอกที่จุ่มด้วยน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราร่วมกับไคโตซาน ที่ระดับ**ความเข้มข้นต่างๆ **ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส**

ตัวอย่าง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (log reduction N/N_0)							
	เวลา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
control	0^{d}	$0.19^{A,d}\pm0.14$	$0.82^{A,c}\pm0.30$	$1.54^{A,b}\pm0.16$	$1.88^{A,a}\pm0.19$	$1.95^{A,a}\pm0.16$	$1.90^{A,a}\pm0.16$	$1.85^{A,ab}\pm0.25$
Acetic acid 2%	0^{a}	$-1.09^{D,bc}\pm0.26$	$-0.91^{D,b}\pm0.13$	$-1.15^{D,bc}\pm0.20$	$-1.25^{D,c}\pm0.07$	$-1.18^{D,bc}\pm0.12$	$-0.09^{B,a}\pm0.12$	$0.10^{B,a}\pm0.09$
Chitosan 1%	0^{bc}	$0.14^{A,a}\pm0.23$	$0.03^{B,bc}\pm0.07$	$-0.03^{B,bc}\pm0.08$	$-0.05^{B,bc}\pm0.08$	$-0.18^{B,c}\pm0.07$	$-0.03^{B,bc}\pm0.15$	$0.06^{B,a}\pm0.06$
Chitosan 1% + essential oil 0.50%	0^{a}	$0.08^{A,a}\pm0.16$	$0.00^{B,a}\pm0.03$	$-0.06^{BC,a}\pm0.08$	$-0.25^{BC,b}\pm0.12$	$-0.26^{B,b}\pm0.08$	$-0.29^{BC,b}\pm0.18$	$-0.70^{C,c}\pm0.10$
Chitosan 1% + essential oil 0.75%	0^{a}	$-0.32^{B,b}\pm0.05$	$-0.43^{C,b}\pm0.21$	$-0.26^{C,b}\pm0.07$	$-0.34^{C,b}\pm0.15$	$-0.39^{BC,b}\pm0.07$	$-0.41^{BC,b}\pm0.13$	$-0.89^{CD,c}\pm0.06$
Chitosan 1% + essential oil 1.00%	0^{a}	$-0.65^{C,c}\pm0.21$	$-0.48^{C,bc}\pm0.16$	$-0.28^{C,b}\pm0.11$	$-0.48^{C,bc}\pm0.12$	$-0.51^{C,bc}\pm0.22$	$-0.69^{C,c}\pm0.16$	$-1.09^{D,d}\pm0.10$

* ตัวอักษรชุดแรก (A-D) และชุดที่สอง (a-d) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในแนวตั้งและแนวนอนตามลำดับ

ในการทดลองตอนนี้ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราร่วมกับไคโตซานซึ่งเป็นโพลิเมอร์ชีวภาพอย่างหนึ่ง สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นเยื่อบางได้ตามธรรมชาติ และยังสามารถต่อต้านจุลินทรีย์ได้ ไคโตซานถูกนำมาใช้ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคที่มีความสำคัญและพบว่ามีการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เพื่อเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้น้ำมันหอมระเหยในผลิตภัณฑ์อาหาร

ข้อมูลที่ได้แสดงให้เห็นว่าการใช้ไคโตซานร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 0.50 โดยปริมาตร มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 ในไส้กรอกได้ นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองเพิ่มขึ้นไปด้วยเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 และ 2 โดยไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรามีประสิทธิภาพร่วมกันในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 เนื่องมาจากไคโตซานซึ่งมีโมเลกุลเป็นประจุบวกสามารถทำปฏิกิริยาประจุลบของเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีนและส่วนประกอบภายในเซลล์ นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติเป็นสาร chelating สามารถเลือกสร้างพันธะกับโลหะ ทำให้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการสร้างสารพิษและการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ไคโตซานยังสามารถเข้าไปในนิวเคลียสของจุลินทรีย์เพื่อจับกับ DNA รบกวนกระบวนการสังเคราะห์ mRNA และโปรตีนของเซลล์จุลินทรีย์อีกด้วย (Shahidi et al., 1999) นอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราซึ่งมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบหลัก ที่ออกฤทธิ์โดยตรงต่อเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ฉีกขาด เกิดการรั่วของอิออนต่างๆ จากภายในเซลล์ออกมานอกเซลล์ ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์และโปรตีนต่างๆ เสียสภาพ รวมทั้งไปรบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ส่งผลให้การเจริญเติบโตของเซลล์หยุดชะงัก และนำไปสู่การตายของเซลล์ในที่สุด (Burt, 2004) มีรายงานว่าการออกฤทธิ์ต่อเชื้อจุลินทรีย์ของทั้งไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรามีกลไกคล้ายคลึงกัน กล่าวคือส่งผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์และส่วนประกอบของผนังเซลล์ ดังนั้นเมื่อนำมาใช้ร่วมกันจึงทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเพิ่มมากขึ้น (synergistic effect) (Helander et al., 2001) Georgantelis et al. (2007) รายงานว่าตัวอย่างไส้กรอกหมูที่ใช้สารสกัดโรสแมรี่ร่วมกับไคโตซาน พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ต่ำที่สุดซึ่งแสดงถึงความเป็นไปได้ที่มีผลการเสริมฤทธิ์กัน โดยจากการศึกษานี้ การใช้ไคโตซานร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราสามารถลดจำนวนเชื้อ

S. aureus ATCC 25923 ได้ปริมาณ 1.09-1.95 log CFU/g ในขณะที่สามารถลดจำนวนเชื้อ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 ได้ 0.7-1.49 log CFU/g แสดงให้เห็นว่า *S. aureus* ATCC 25923 ทนต่อไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราน้อยกว่า *Sal. typhimurium* ATCC 14028 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kanatt et al. (2008) ซึ่งพบว่าการใช้ไคโตซานร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก ร่วมกับ สารสกัดจากมิ้นท์ร้อยละ 0.1 โดยปริมาตร ในตัวอย่างเนื้อแกะบด สามารถลดจำนวนเชื้อ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 ได้ 1 log cycle ในขณะที่สามารถลดจำนวนเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ได้ถึง 2-3 log cycle นอกจากนี้ความเป็นกรดจากการใช้กรดอะซิติกร้อยละ 1.0 โดยปริมาตร ในสารละลายไคโตซานกับน้ำมันหอมระเหยที่มีค่า pH 3.91 และการใช้กรดอะซิติกร้อยละ 2.0 โดยปริมาตร ซึ่งมีค่า pH 2.60 เป็นตัวอย่างควบคุมบวกในไส้กรอก ยังมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923 และ *Sal. typhimurium* ATCC 14028 ด้วย เนื่องจากความเป็นกรดจะมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์และมีผลต่อการขนส่งสารอาหารเข้าสู่เซลล์เยื่อบุเซลล์ (cell membrane) ของจุลินทรีย์ (บุษกร อุตรภิชาติ, 2545, หน้า 43)

อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการใช้ไคโตซานร่วมกับน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร ให้ผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แตกต่างจากการใช้ไคโตซานเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบต่างๆ ในอาหาร เช่น ไขมัน โปรตีน และน้ำ ซึ่งมีผลกระทบต่อฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหย และเนื่องจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำอาจทำให้ฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยลดลง เนื่องจากคุณสมบัติในการยืดหยุ่นของไขมันที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งประกอบด้วยส่วนของสายโซ่ไฮโดรคาร์บอนเกิดการแข็งตัว มีผลให้น้ำมันหอมระเหยผ่านเข้าไปภายในเซลล์แบคทีเรียได้ยากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการเก็บอาหารที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้เชื้อเจริญได้ช้าลง เนื่องจากสภาวะที่ไม่เหมาะสมทำให้เชื้อไม่สามารถนำสารอาหารต่างๆ เข้าสู่เซลล์ได้อย่างสะดวก และในสภาวะที่ไม่เหมาะสมนี้เองอาจมีการสร้างโปรตีนต่างๆ ที่ช่วยให้แบคทีเรียอยู่รอดในสภาวะดังกล่าว เช่น universal stress protein A (UspA) ที่สร้างขึ้นบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ เพื่อที่จะสามารถช่วยทำให้นำสารต่างๆ เข้าสู่เซลล์และเชื้อยังคงอยู่รอด หรือมีการเจริญได้ต่อไปอย่างช้าๆ (Kvint et al.)

ผลการศึกษาอายุการเก็บรักษาของไส้กรอก

จากการทดลองศึกษาอายุการเก็บรักษาตัวอย่างไส้กรอกซึ่งจุ่มด้วยสารละลายไคโตซานร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.75 โดยปริมาตร เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมลบ (ไม่จุ่มสารใดเลย) และตัวอย่างควบคุมบวก (กรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยปริมาตร) แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

และสุ่มตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ psychrotrophic ตั้งแต่วันแรกและทุกๆ 5 วัน เป็นเวลา 15 วัน ได้ผลดังภาพ 9 และ 10

ภาพ 9 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างไส้กรอกควบคุมลบ ตัวอย่างควบคุมบวก และตัวอย่างไส้กรอกในไคโตซาน + EO ร้อยละ 0.75 โดยปริมาตร ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ตาราง 13 ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราร่วมกับไคโตซานต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในการยืดอายุการเก็บรักษาของไส้กรอกแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตัวอย่าง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (log CFU/g)			
	เวลา (ชั่วโมง)			
	0	5	10	15
control	$2.41^{A,d}$±0.18	$4.15^{A,c}$±0.11	$6.47^{A,b}$±0.19	$8.32^{A,a}$±0.08
Acetic acid 2%	$2.44^{A,d}$±0.23	$3.63^{B,c}$±0.26	$5.42^{B,b}$±0.37	$7.77^{B,a}$±0.06
Chitosan 1%+essential oil 0.75%	$2.31^{A,d}$±0.25	$3.76^{B,c}$±0.10	$5.49^{B,b}$±0.15	$7.45^{C,a}$±0.12

* ตัวอักษรชุดแรก (A-C) และชุดที่สอง (a-d) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ในแนวตั้งและแนวนอนตามลำดับ

จากภาพ 9 จะเห็นได้ว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในวันที่ 0 ของตัวอย่างไส้กรอกทั้งหมดมีประมาณ 2.31-2.44 log CFU/g และเมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน ตัวอย่างควบคุมลบมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 4.15 log CFU/g แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) จากตัวอย่างควบคุมบวกและตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยกับไคโตซานซึ่งมีปริมาณเชื้อ 3.63 และ 3.76 log CFU/g ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 10 วัน ตัวอย่างควบคุมลบมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 6.47 log CFU/g แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) จากตัวอย่างควบคุมบวกและตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยกับไคโตซานซึ่งมีปริมาณเชื้อ 5.42 และ 5.49 log CFU/g ตามลำดับ และเมื่อเวลาผ่านไป 15 วัน ตัวอย่างควบคุมลบมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 8.32 log CFU/g แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) จากตัวอย่างควบคุมบวกและตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยกับไคโตซาน ซึ่งมีปริมาณเชื้อ 7.77 และ 7.45 log CFU/g ตามลำดับ

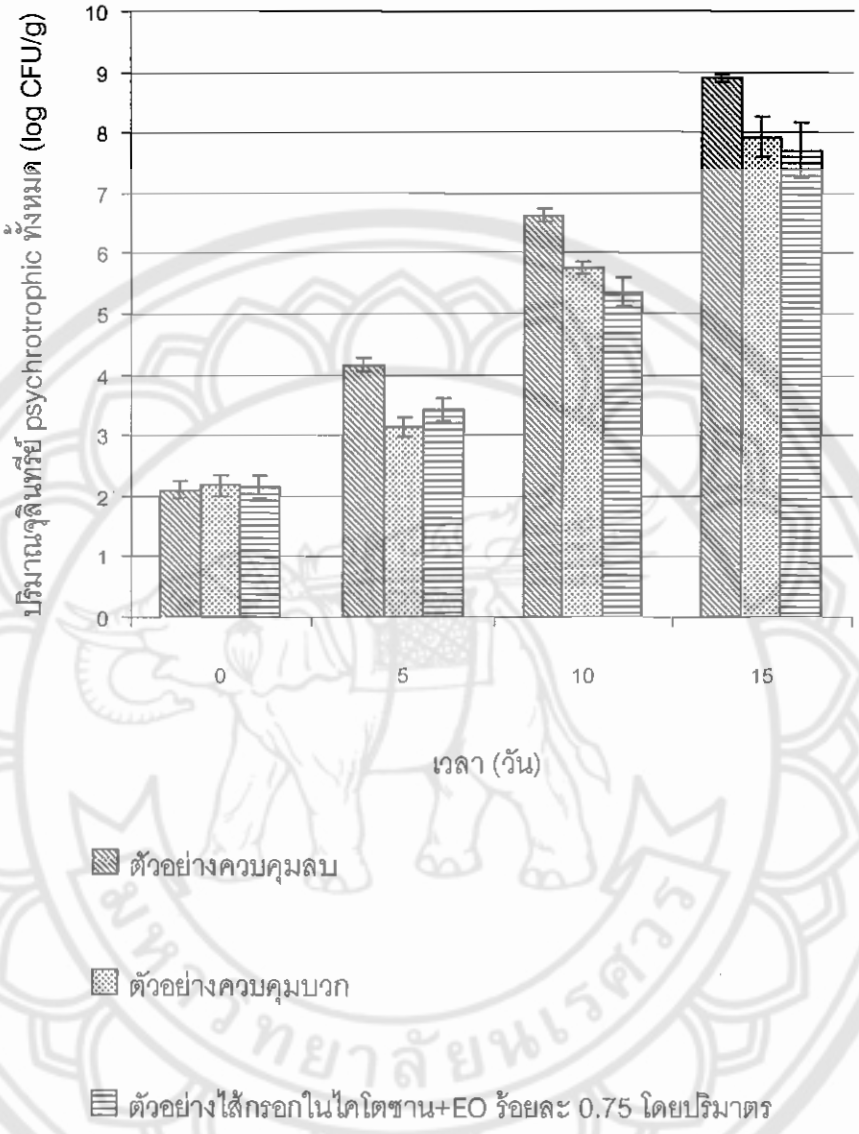
จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบในตัวอย่างควบคุมลบ ตัวอย่างควบคุมบวกและตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยกับไคโตซาน มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างควบคุมลบมีจำนวนสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ในตัวอย่างควบคุมบวกและตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยกับไคโตซาน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผลของการใช้ไคโตซานร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรา และผลของกรดอะซิติก ทำให้เชื้อจุลินทรีย์มีการเจริญลดลง และพบว่าตัวอย่างควบคุมลบเกิดการเสื่อมเสียภายหลังเก็บไว้ 5 วัน ในขณะที่ตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยกับไคโตซานและตัวอย่างควบคุมบวก

เสื่อมเสียภายหลังเก็บไว้ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เนื่องจากมีเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดมากกว่า 10^4 CFU/g (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน) จากการศึกษาของ Soultos et al. (2008) พบว่าตัวอย่างไส้กรอกหมู หลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดถึง 10^7 CFU/g ซึ่งเป็นปริมาณที่เกินกว่าระดับที่ยอมรับได้ และ Sagoo, Board and Roller (2002) ยังพบว่าไส้กรอกหมูมีอายุการเก็บรักษา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส เนื่องจากมีเชื้อจุลินทรีย์เกินว่า 10^7 CFU/g

จากภาพ 10 จะเห็นได้ว่าจำนวนจุลินทรีย์ psychrotrophic ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ ในวันที่ 0 ตัวอย่างไส้กรอกทั้งหมดมีจุลินทรีย์ psychrotrophic ประมาณ 2.10-2.17 log CFU/g และเมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน ตัวอย่างควบคุมลบมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 4.15 log CFU/g แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จากตัวอย่างควบคุมบวกและตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยกับ ไคโตซาน ซึ่งมีปริมาณเชื้อ 3.12 และ 3.42 log CFU/g ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 10 วัน ตัวอย่างควบคุมลบมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 6.62 log CFU/g แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จากตัวอย่างควบคุมบวกและตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยกับไคโตซาน ซึ่งมีปริมาณเชื้อ 5.75 และ 5.36 log CFU/g ตามลำดับ โดยตัวอย่างควบคุมบวกมีปริมาณเชื้อมากกว่าตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยกับไคโตซาน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และเมื่อเวลาผ่านไป 15 วัน ตัวอย่างควบคุมลบมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 8.88 log CFU/g แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมบวกและตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยกับไคโตซาน ซึ่งมีปริมาณเชื้อ 7.92 และ 7.70 log CFU/g ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าจำนวนจุลินทรีย์ psychrotrophic ที่ตรวจพบในตัวอย่างควบคุมลบ ตัวอย่างควบคุมบวก และตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยกับไคโตซาน มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยจำนวนจุลินทรีย์ psychrotrophic ในตัวอย่างควบคุมลบมีจำนวนสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)ในตัวอย่างควบคุมบวก และตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยกับไคโตซาน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผลของการใช้ไคโตซานร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรา และผลของกรดอะซิติก ทำให้เชื้อจุลินทรีย์มีการเจริญลดลง

จะเห็นได้ว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและจำนวนจุลินทรีย์ psychrotrophic ที่ตรวจพบมีปริมาณใกล้เคียงกัน ซึ่งอาจสรุปได้ว่าจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่ตรวจพบในไส้กรอกนั้นเป็นเชื้อจุลินทรีย์ psychrotrophic



ภาพ 10 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ psychrotrophic ทั้งหมดในตัวอย่างไส้กรอกควบคุมลบ ตัวอย่างควบคุมบวก และตัวอย่างไส้กรอกในไคโตซาน + EO ร้อยละ 0.75 โดยปริมาตร ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ตาราง 14 ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราร่วมกับไคโตซานต่อเชื้อจุลินทรีย์ psychrotrophic ในการยืดอายุการเก็บรักษาของไส้กรอกแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตัวอย่าง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (log CFU/g)			
	เวลา (ชั่วโมง)			
	0	5	10	15
control	$2.10^{A,d}$±0.15	$4.15^{A,c}$±0.11	$6.62^{A,b}$±0.11	$8.88^{A,a}$±0.06
Acetic acid 2%	$2.17^{A,d}$±0.17	$3.12^{B,c}$±0.16	$5.75^{B,b}$±0.10	$7.92^{B,a}$±0.33
Chitosan 1%+essential oil 0.75%	$2.15^{A,d}$±0.19	$3.42^{B,c}$±0.19	$5.36^{C,b}$±0.24	$7.70^{B,a}$±0.46

ตัวอักษรชุดแรก (A-C) และชุดที่สอง (a-d) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในแนวตั้งและแนวนอนตามลำดับ

การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

เมื่อนำตัวอย่างไส้กรอกซึ่งจุ่มด้วยสารละลายไคโตซานร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.75 โดยปริมาตร ตัวอย่างควบคุมซึ่งจุ่มด้วยสารละลายกรดอะซิติก ร้อยละ 2 โดยปริมาตร และตัวอย่างไส้กรอกที่ไม่จุ่มสารใดเลย ไปทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคทางด้าน กลิ่น รสชาติ กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม โดยให้คะแนนแบบ Hedonic Scale 9 ระดับคะแนน ได้ผลดังตาราง 15

ตาราง 15 คะแนนการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของตัวอย่างไส้กรอกที่มีน้ำมันหอมระเหยกับไคโตซานเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม

คุณลักษณะที่ใช้ทดสอบ	ตัวอย่างควบคุมลบ	ตัวอย่างควบคุมบวก	ตัวอย่างไส้กรอกที่มีน้ำมันหอมระเหยกับไคโตซาน
สี	7.58 ±0.64 [a]	7.14 ±0.99 [b]	7.50 ±0.84 [a]
กลิ่น	7.50 ±0.84 [a]	6.62 ±1.07 [b]	7.28 ±0.93 [a]
รสชาติ	7.46 ±0.79 [a]	6.96 ±1.03 [b]	7.34 ±0.87 [a]
กลิ่นรส	7.32 ±0.68 [a]	6.82 ±0.96 [b]	7.22 ± 0.82 [a]
เนื้อสัมผัส	7.46 ±0.50 [a]	7.16±0.93 [b]	7.48± 0.71 [a]
ความชอบโดยรวม	7.56±0.84 [a]	6.96±0.88 [b]	7.32 ± 0.87 [a]

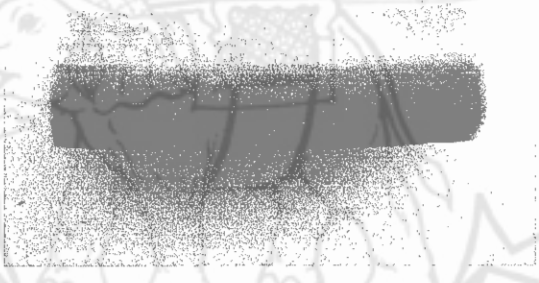
[a] ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างทางสถิติ (P<0.05)

จากผลการวิเคราะห์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค 2 ชนิด (*S. aureus* ATCC 25923 และ *Sal. typhimurium* ATCC 14028) ในตัวอย่างไส้กรอกซึ่งจุ่มด้วยสารละลายไคโตซานร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ ได้เลือกตัวอย่างไส้กรอกที่จุ่มด้วยสารละลายไคโตซานร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราความเข้มข้นร้อยละ 0.75 โดยปริมาตร เนื่องจากมีผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แตกต่างจากการใช้ไคโตซานเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และไม่แตกต่างจากการใช้น้ำมันหอมระเหยเข้มข้นร้อยละ 1.00 โดยปริมาตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยนำตัวอย่างไส้กรอกที่จุ่มด้วยสารละลายไคโตซานร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราความเข้มข้นร้อยละ 0.75 โดยปริมาตร มาทำการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยใช้แบบทดสอบแบบ Hedonic scale 9 ระดับ และใช้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝน จำนวน 50 คน ผลการทดสอบการยอมรับ (ตาราง 15) พบว่าตัวอย่างไส้กรอกที่มีน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้นร้อยละ 0.75 โดยปริมาตร กับไคโตซานร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก มีคะแนนการยอมรับไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P>0.05) กับตัวอย่างควบคุมลบแต่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ในด้านสีพบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับ

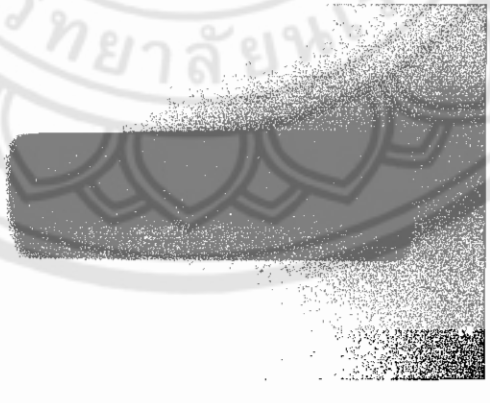
ตัวอย่างไส้กรอกที่มีน้ำมันหอมระเหย กับไคโตซานไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมลบ ในระดับความชอบปานกลาง แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เช่นเดียวกับการยอมรับในด้านกลิ่น รสชาติ กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม โดยผู้บริโภคให้ความเห็นว่ามีกลิ่นของกะเพราเล็กน้อยในปริมาณที่ยอมรับได้ และผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราไม่มีผลโดยตรงต่อการยอมรับของผู้บริโภค และเป็นปริมาณที่ไม่เป็นอันตรายกับผู้บริโภค (ธานี ศุขกลิ่น และคณะ, 2546)

โดยต้นทุนการผลิตสำหรับสารละลายน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราร้อยละ 0.75 โดยปริมาตร กับไคโตซานร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก เพื่อใช้จุ่มไส้กรอก คิดเป็น 1.02 บาท ต่อไส้กรอก 1 กิโลกรัม (น้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราราคา 10,000 บาท ต่อกิโลกรัม, ไคโตซานราคา 2,500 บาท ต่อกิโลกรัม และ กรดอะซิติก 90 บาท ต่อ 450 มิลลิลิตร) ในขณะที่การใช้กรดอะซิติกร้อยละ 2.0 โดยปริมาตร มีต้นทุนการผลิต 0.04 บาท ต่อกิโลกรัม ถึงแม้การใช้กรดอะซิติกมีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยร่วมกับไคโตซาน แต่การใช้กรดอะซิติกในไส้กรอกมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคทั้งในด้านกลิ่น รสชาติ กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ในขณะที่การใช้น้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราร่วมกับไคโตซานไม่มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นการใช้น้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราร่วมกับไคโตซานจึงควรนำไปใช้ในไส้กรอกมากกว่าการใช้กรดอะซิติก นอกจากนี้การใช้น้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราร่วมกับไคโตซาน ยังสามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้นานขึ้น รวมทั้งยังช่วยยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *Sal. typhimurium* ได้อีกด้วย

ภาพ 11 ตัวอย่างไส้กรอกควบคุมลบ



ภาพ 12 ตัวอย่างไส้กรอกควบคุมบวก



ภาพ 13 ตัวอย่างไส้กรอกจุ่มด้วยน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรา ร้อยละ 0.75 โดยปริมาตร ร่วมกับไคโตซานร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก