

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

สรุปผลการทดลอง

1. ปริมาณสารสกัดที่ได้จากสมุนไพรจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ สมุนไพร A, B, C, D และ E พบว่าสารสกัด B มีปริมาณมากที่สุด คือ 22.73% รองลงมา ได้แก่ สารสกัด A และ D โดยปริมาณสารสกัดเท่ากับ 20.58% และ 13.43% ตามลำดับ
2. สารสกัด E ที่ความเข้มข้น 20 และ 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด โดยสามารถลดปริมาณแบคทีเรียดังกล่าวในวันเริ่มต้นจนถึงวันสุดท้ายของการทดลองได้ 94% และ 88% ตามลำดับ
3. สารสกัด E ที่ความเข้มข้น 5, 20 และ 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มทนเกลือได้ดีที่สุด โดยสามารถลดปริมาณแบคทีเรียได้ 90%, 97% และ 98% ตามลำดับ รองลงมาคือ สารสกัด D ความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสามารถลดปริมาณแบคทีเรียในวันเริ่มต้นจนถึงวันสุดท้ายของการทดลองได้ 19%
4. สารสกัด D ที่ความเข้มข้น 20 และ 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัด B ความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งราและยีสต์โดยสามารถลดปริมาณราและยีสต์ในวันเริ่มต้นจนถึงวันสุดท้ายของการทดลองได้ 92%, 99% และ 99% ตามลำดับ
5. สารสกัด E, D และ B มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด แบคทีเรียกลุ่มทนเกลือ และราและยีสต์ในอาหารทะเลแห้ง ดังนั้นจึงควรมีการนำไปใช้ในอาหารทะเลแห้งอย่างเป็นรูปธรรมเพื่อควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และลดการใช้สารกันเสียสังเคราะห์
6. ระยะเวลาในการเก็บรักษาหมึกแห้งที่เติมสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดพบว่าหมึกแห้งที่เติมสารสกัด D และ E ทุกความเข้มข้น และสารสกัด B ที่ความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถเก็บรักษาได้นานตลอดระยะเวลาการทดลองเป็นเวลา 17 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรป และราและยีสต์ ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปี พ.ศ. 2553
7. ชนิดของแบคทีเรียที่พบในตัวอย่างหมึกแห้งสามารถจัดจำแนกได้จำนวน 14 ชนิด ได้แก่ *Nestermonkia lacusekhoensi*, *Kocuria rosea*, *Staphylococcus haemolyticus/auricularis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus cohnii* subsp. 2, *Staphylococcus saccharolyticus*, *Stomatococcus mucilaginosum*, *Staphylococcus xylosum/gallinarum*, *Staphylococcus cohnii* subsp. 1, *Micrococcus antarcticus*, *Bacillus licheniformis*, *B. macerans*, *Bordetella parapertussis* และ *Oligella ureolytica* โดยพบว่าสารสกัด E สามารถยับยั้ง *B. parapertussis*, *O. ureolytica*, *Staph. hominis*, *Staph. cohnii* subsp. 2, *Staph. saccharolyticus*, *Staph. cohnii* subsp. 1 และ *M. antarcticus* ส่วนสารสกัด D มีฤทธิ์ยับยั้ง *B. parapertussis*, *Staph. hominis*, *Staph. cohnii* subsp. 2 และ *Staph. saccharolyticus* ในขณะที่ *B. parapertussis*, *O. ureolytica*, *Staph. hominis*, *Staph. cohnii* subsp. 2, *Staph.*

saccharolyticus, *Staph. cohnii* subsp. 1, *M. antarcticus* และ *Stom. Mucilaginosum* เป็นแบคทีเรียที่ไวต่อสารสกัด B

อภิปรายผลการทดลอง

1. คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารทะเลแห้ง

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าตัวอย่างหมึกแห้งพร้อมบริโคมมีการปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียกลุ่มเฮทโรโทรปทั้งหมด ราและยีสต์ และแบคทีเรียกลุ่มทนเกลื้อ อยู่ในช่วง $4.20 \pm 1.98 \times 10^3$ ถึง $1.97 \pm 1.09 \times 10^5$, $1.00 \pm 0.00 \times 10^2$ ถึง $5.48 \pm 2.58 \times 10^3$ และ $4.03 \pm 1.80 \times 10^3$ ถึง $1.90 \pm 0.06 \times 10^5$ ตามลำดับ และไม่พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มและ *E. coli* แบคทีเรียกลุ่มแอนเทอโรแบคทีเรียชื่อ *S. aureus* และ *Salmonella* spp. เมื่อนำผลการทดลองที่ได้มาเปรียบเทียบกับเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปี พ.ศ. 2553 กำหนดให้อาหารพร้อมบริโคมมีปริมาณแบคทีเรียรวมน้อยกว่า 1×10^6 CFU/g ปริมาณราและยีสต์รวมน้อยกว่า 1×10^2 CFU/g จำนวน *S. aureus* น้อยกว่า 1×10^2 CFU/g แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มและ *E. coli* ไม่เกิน 3 MPN/g และไม่พบแบคทีเรียกลุ่ม *Salmonella* spp. และ *Vibrio cholerae* ต่อตัวอย่าง 25 กรัม ดังนั้นสรุปได้ว่าอาหารทะเลแห้งที่นำมาศึกษาในครั้งนี้อยู่ในเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

นอกจากนี้พบว่าปริมาณการปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียกลุ่มต่างๆ ในตัวอย่างหมึกแห้งพร้อมบริโคมในการศึกษาครั้งนี้มีค่าต่ำกว่ารายงานหลายฉบับก่อนหน้านี้ที่พบว่าหมึกแห้งที่จำหน่ายในท้องตลาดมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ 1.00×10^7 CFU/g (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2526) และรายงานของสุภัฒจิต นิมรัตน์ และคณะ (2553ข) ที่ได้ทำการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างในกลุ่มหมึกแปรรูป โดยพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง 1.26×10^6 ถึง 1.97×10^9 CFU/g เป็นต้น นอกจากนี้ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มและ *E. coli* แบคทีเรียกลุ่มแอนเทอโรแบคทีเรียชื่อ *S. aureus* และแบคทีเรียกลุ่ม *Salmonella* spp. สอดคล้องกับรายงานการตรวจสอบจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ประมงบางชนิดของไทย ผลิตภัณฑ์ที่ตรวจไม่พบแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มและ *E. coli* คือ ปลาหมึกแห้งปรุงรส (มัทนา แสงจินดาวงษ์, 2523)

อาหารทะเลแห้งจะต้องมีการผ่านกระบวนการถนอมอาหารเพื่อป้องกันการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ โดยอาศัยหลักการที่ว่าแบคทีเรียต้องการน้ำในการดำรงชีพด้วยการทำให้แห้ง และแบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่สามารถทนต่อเกลือหรือความร้อนด้วยการเติมเกลือหรือการให้ความร้อน หรือหลักการควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์โดยการควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วงที่เอนไซม์ของแบคทีเรียไม่สามารถทำงานได้ หรือการใช้สารเคมีและการใช้รังสี เป็นต้น (Doe and Olley, 1990; Miller and Sikorski, 1990; Naczka and Artyukhova, 1990; Shenderyuk and Bykowski, 1990; Lanier, 1994) ซึ่งการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มเฮทโรโทรปทั้งหมด แบคทีเรียกลุ่มทนเกลื้อ และราและยีสต์ในตัวอย่างอาหารทะเลแห้งน่าจะเกิดจากสภาพแวดล้อม เช่น กรรมวิธีในการผลิตวัตถุดิบ เครื่องปรุงรสและผู้แปรรูปอาหารทะเล (Banwart, 1989) และการปนเปื้อนนี้อาจเกิดขึ้นได้ในทุกขั้นตอนตั้งแต่การจับสัตว์น้ำ การผลิต การบรรจุลงหีบห่อ การขนส่งและการวางจำหน่าย (Freeman and Burrow, 1985)

2. ฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพร

ผลของสารสกัดสมุนไพรจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ สมุนไพร A, B, C, D และ E ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ในตัวอย่างหมักแห้งแสดงให้เห็นว่าในการศึกษาคั้งนี้ สารสกัด E ที่ความเข้มข้น 20 และ 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีที่สุด โดยสามารถลดปริมาณของแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรปทั้งหมดและแบคทีเรียกลุ่มทนเกลือ รองลงมาคือสารสกัด D ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มทนเกลือได้ โดยการลดลงของปริมาณแบคทีเรีนั้นเกิดจากการที่สารสกัด E มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวได้นอกจากนั้นยังพบว่าสารสกัด D ที่ความเข้มข้น 20 และ 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งราและยีสต์ รวมทั้งสารสกัด D ความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยังมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มทนเกลือได้เช่นเดียวกัน ในการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าสารสกัด B ความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสามารถในการยับยั้งราและยีสต์ได้

เมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาหมักแห้งที่เติมสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดพบว่าหมักแห้งที่เติมสารสกัด D และ E ทุกความเข้มข้น และสารสกัด B ที่ความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถเก็บรักษาได้นานตลอดระยะเวลาการทดลองเป็นเวลา 17 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรปทั้งหมด และราและยีสต์ อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปี พ.ศ. 2553 ปริมาณของจุลินทรีย์ที่ลดลงอาจเกิดจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสมุนไพร ซึ่งจากการศึกษาของ Okigbo and Ogbonnanya (2006) พบว่าฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ยกตัวอย่างเช่น กระบวนการทำแห้งสมุนไพรซึ่งมีผลต่อความคงตัวและการสูญเสียของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ นอกจากนี้ยังพบว่าสกัดจากพืชที่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งอาจเกิดจากอายุของพืช สารละลายที่ใช้สกัด วิธีการสกัด และเวลาในการเก็บตัวอย่างพืช (Amadioha and Obi, 1999; Okigbo and Ajale, 2005; Okigbo et al., 2005)

นอกจากนี้การเก็บรักษาอาหารที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส มีผลให้กระบวนการเมแทบอลิซึม การเจริญของจุลินทรีย์รวมทั้งกิจกรรมของเอนไซม์เกิดได้ช้าลง และหมักแห้งยังผ่านการกำจัดน้ำส่วนใหญ่ที่อยู่ในอาหารซึ่งจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการดำรงชีวิตได้ออก จึงเป็นการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ชะลอการเน่าเสีย และลดอัตราการเปลี่ยนแปลงทางเคมีทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาอาหารได้ระยะหนึ่ง (นฤตม บุญหลง และกล้าณรงค์ ศรีรอด, 2545; พรพล รมย์นุกูล, 2545 และวิไล รัตตทอง, 2545)

จากการศึกษาชนิดของแบคทีเรียที่พบในตัวอย่างหมักแห้งสามารถจัดจำแนกได้จำนวน 14 ชนิด คือแบคทีเรียแกรมบวก รูปกลม ได้แก่ *Nesteronkonio lacusekhoensi*, *Kocuria rosea*, *Staphylococcus haemolyticus/auricularis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus cohnii* subsp. 2, *Staphylococcus saccharolyticus*, *Stomatococcus mucilaginosum*, *Staphylococcus xylosus/ gallinarum*, *Staphylococcus cohnii* subsp. 1 และ *Micrococcus antarcticus* แบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อน ได้แก่ *Bacillus licheniformis*, *B. macerans* และแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ได้แก่ *Bordetella parapertussis* และ *Oligella ureolytica* สอดคล้องกับรายงานของ ศิริโฉม ทุงแก้ว และ กิตติรัตน์ วงษ์อินทร์ (2550) ได้ตรวจสอบคุณภาพทาง

จุลชีววิทยาของหมักแห้งปิ้งรสพร้อมบริโภคนิตแบ่งจำหน่าย พบว่าแบคทีเรียที่พบมากที่สุดได้แก่ *Bacillus* รองลงมาคือ *Staphylococcus* และ *Acinetobacter* ตามลำดับ นอกจากนี้ Coton et al. (2011) รายงานการพบ *Bacillus simplex*, *B. subtilis*, *B. licheniformis* และ *Sporosarcina aquimarina* ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลซูริมิ ซึ่งการที่พบ *Bacillus* ได้มากในอาหารประเภทนี้ เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ทนความร้อนได้สูงจึงรอดชีวิตหลังกระบวนการผลิต แหล่งการปนเปื้อนที่สำคัญของแบคทีเรียเหล่านี้น่าจะมาจากเครื่องปิ้งรส โดยเฉพาะอย่างยิ่งพริกแห้งและน้ำตาลซึ่งมีโอกาสพบสปอร์ของแบคทีเรียได้ (Frazier and Westhoff, 1988)

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าสารสกัด E มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรปทั้งหมดและแบคทีเรียกลุ่มทนเกลือ ในขณะที่สารสกัด D และ B มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการยับยั้งราและยีสต์ในอาหารทะเลแห้ง และน่าจะทำการศึกษาในการประยุกต์ใช้สารสกัด E, D และ B ในการควบคุมกลุ่มจุลินทรีย์ดังกล่าวในอาหารทะเลแห้งอย่างเป็นรูปธรรมต่อไป