รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ปีที่ 2

เรื่อง

การพัฒนาศักยภาพพืชสมุนไพรไทยเพื่อยกระดับผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้งสู่มาตรฐานสากล (Development of Thai medicinal plants for improvement of dried seafood products into international standard)

โดย

นางสุบัณฑิต นิ่มรัตน์[1]

นายวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย[2]

[1]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

[2]ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

เสนอต่อ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องการพัฒนาศักยภาพพืชสมุนไพรไทยเพื่อยกระดับผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้งสู่มาตรฐานสากล (Development of Thai medicinal plants for improvement of dried seafood products into international standard) สำเร็จเรียบร้อยลงได้โดยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557 ข้าพเจ้าและคณะทำงานขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา และภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการทดลองและอุปกรณ์ต่าง ๆ และเพื่อทำให้เอื้อต่อการจดอนุสิทธิบัตร/ สิทธิบัตร จึงทำการปกปิดสมุนไพร และการกล่าวถึงสมุนไพรในเนื้อหาบางส่วน

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และคณะ

ตุลาคม 2557

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาถึงผลของสารสกัดเดี่ยวที่สกัดด้วยเอทานอลของสมุนไพรพื้นบ้าน 2 ชนิด คือ สมุนไพร A และสมุนไพร B รวมทั้งศึกษาถึงผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด แบคทีเรียก่อโรค 3 ชนิด ได้แก่ Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) T18, *Pseudomonas aeruginosa* DS001 และ *Edwardsiella tarda* biogroup 1 DS002 ในหมึกแปรรูป และได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ขั้นตอน ขั้นตอนที่ 1 เป็นการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียในหมึกแปรรูปของสารสกัดเดี่ยว และขั้นตอนที่ 2 เป็นการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียในหมึกแปรรูปของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C เป็นเวลา 28 วัน ผลของการศึกษาในครั้งนี้พบว่า สารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด ส่วนสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด MRSA T18 และ *E. tarda* biogroup 1 DS002 แต่สามารถยับยั้ง *P.aeruginosa* DS001 ได้ อย่างไรก็ตามสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C สามารถยับยั้งได้ทั้ง *P. aeruginosa* DS001 และ *E. tarda* biogroup 1 DS002 แต่ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและ MRSA T18 ในหมึกแปรรูปได้ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าควรทำการพัฒนาสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C เพื่อใช้เป็นสารต้านจุลชีพในอาหารแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ และขั้นตอนต่อมาได้ทำการประเมินเบื้องต้นถึงความเหมาะสมของการเติมสกัดสมุนไพรที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตอาหารทะเลแห้งและแปรรูปเพื่อลดชนิดและปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดรวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคในแต่ละขั้นตอนการผลิตต่อไป

คำสำคัญ: แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) T18, *Pseudomonas aeruginosa* DS001, *Edwardsiella tarda* biogroup 1 DS002, หมึกแปรรูป

Abstract

In the present study, the effects of a single ethanolic extract of two folk herbs: Herb A and Herb B and of a two series of mixed herb extracts: Herb A and Herb C and Herb B and Herb C were investigated on numbers of total heterotrophic bacteria (THB) and three pathogenic bacteria: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) T18, *Pseudomonas aeruginosa* DS001 and *Edwardsiella tarda* biogroup 1 DS002 in processed squid. The experiments were divided into 2 steps. In the first step, inhibitory effect of single herb extract on tested bacteria was determined in processed squid. The results showed that extract of single Herb A and Herb B did not have inhibitory activity against THB and three tested pathogenic bacteria. In the second step, the examinations on the effectiveness of herb extract mixture between Herb A and Herb C, and Herb B and Herb C were studied. The combination between Herb A and Herb C showed no inhibitory effects on THB and MRSA T18 but could effectively eliminate *P. aeruginosa* DS001 and *E. tarda* biogroup 1 DS002. There were no reduction in numbers of THB, MRSA T18 and *E. tarda* biogroup 1 DS002 in processed squid subjected with herb extract mixture of Herb B and Herb C. Therefore, this study indicated that the combination between Herb A and Herb C extracts should be developed in order to use as an antimicrobial substance in foodstuff instead of synthetic chemicals. In the next step, preliminary evaluation for appropriate application of herb extracts in processed squid production should be determined in order to decrease type and concentration of total bacteria including pathogenic bacteria.

Keywords: Total heterotrophic bacteria, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) T18, *Pseudomonas aeruginosa* DS001, *Edwardsiella tarda* biogroup 1 DS002, Processed squid

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	I
บทคัดย่อ	II
Abstract	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	V
สารบัญภาพ	VI
บทที่	
1 บทนำ	1
2 เอกสารและรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง	15
4 ผลการทดลอง	21
5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง	41
เอกสารอ้างอิง	43
Output จากโครงการวิจัย	49

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การออกแบบการทดลองในการศึกษาการควบคุมแบคทีเรียด้วยสารสกัดสมุนไพร A หรือสารสกัดสมุนไพร B	18
2	การออกแบบการทดลองในการศึกษาการควบคุมแบคทีเรียด้วยสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C	20
3	ผลของสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในหมึกแห้งแปรรูป	22
4	ผลของสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อปริมาณแบคทีเรีย MRSA T18 ในหมึกแห้งแปรรูป	24
5	ผลของสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อปริมาณแบคทีเรีย *P. aeruginosa* DS001 ในหมึกแห้งแปรรูป	26
6	ผลของสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อแบคทีเรีย *E. tarda* biogroup 1 DS002 ในหมึกแห้งแปรรูป	28
7	ผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในหมึกแห้งแปรรูป	30
8	ผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อปริมาณแบคทีเรีย MRSA T18 ในหมึกแห้งแปรรูป	32
9	ผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อปริมาณแบคทีเรีย *P. aeruginosa* DS001 ในหมึกแห้งแปรรูป	34
10	ผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อ *E. tarda* biogroup 1 DS 002 ในหมึกแห้งแปรรูป	36

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	*Staphylococcus aureus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker Egg Yolk Tellurite Agar	13
2	*Pseudomonas aeruginosa* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Pseudomonas Isolation Agar	14
3	หมึกแปรรูปขนาดกว้าง × ยาว เท่ากับ 2×2 เซนติเมตร	17
4	ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของหมึกแปรรูปที่เติมสารสกัดสมุนไพร B เติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001	25
5	ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของหมึกแปรรูปที่เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18	31
6	ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของหมึกแปรรูปที่เติมเติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001	33
7	การล้างทำความสะอาดหมึก	37
8	การผ่ากลางลำตัวหมึก	37
9	แช่หมึกในเครื่องปรุงรส	38
10	แผ่หมึกบนตะแกรงเพื่อเตรียมนำไปตากแดด	38
11	การบดหมึกให้เป็นแผ่นบางๆ	39
12	ตากหมึกไว้บนตะแกรง	39

บทที่ 1
บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ถือว่าเป็นแหล่งทรัพยากรทางด้านสมุนไพรที่มีความหลากหลายและเป็นประเทศที่มีความก้าวหน้าทางด้านเกษตรกรรมโดยเฉพาะพืชอาหาร ทำให้มีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นศูนย์กลางการผลิตวัตถุดิบสมุนไพรที่มีคุณภาพได้ ยิ่งไปกว่านั้นประเทศไทยยังได้เปรียบประเทศอื่นในด้านที่มีทรัพยากรสมุนไพรและภูมิปัญญาดั้งเดิมที่เป็นรากฐานสำคัญ ซึ่งสมุนไพรไทยเป็นทรัพยากรที่มีคุณค่ายิ่งอย่างหนึ่งของประเทศ การใช้สมุนไพรในการรักษาโรคและส่วนประกอบของอาหารของบรรพบุรุษไทยนั้นถือได้ว่าเป็นศาสตร์ที่ล้ำลึกและเป็นมรดกทางวัฒนธรรมที่ทรงคุณค่า (รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล และคณะ, 2542) ปัจจุบันผู้บริโภคได้ตระหนักถึงความปลอดภัยและต้องการอาหารที่ไม่เจือปนสารเคมีจึงส่งผลให้ผู้ประกอบการและบริษัทผู้ผลิตผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ หันมาสนใจเทคนิคที่ใช้สารที่ได้จากธรรมชาติหรือสารที่ไม่มีความเป็นพิษในการใช้เป็นส่วนผสมหรือใช้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร ดังนั้นทางเลือกจากธรรมชาติที่เป็นวิธีหนึ่งที่มีความเหมาะสมและสามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงมาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพคือ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชสมุนไพร จากรายงานการศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย พบว่าสารจากธรรมชาติ เช่น พืชพื้นเมืองหรือสารสกัดจากพืชสมุนไพรมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และสามารถเพิ่มอายุการเก็บรักษาและความปลอดภัยของอาหารได้ (Sofowora, 1982; Brul and Coote, 1999) ซึ่งปัจจุบันมีการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคโดยการใช้สารประกอบที่ค้นพบในธรรมชาติจากพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคในอาหารได้ (Lin et al., 2005) ยกตัวอย่างเช่น การใช้สารสกัดจากเครื่องเทศ ได้แก่ กานพลู โรสแมรี่ ขี้เหล็ก และชะเอม ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียในเนื้อหมูสดและแฮมที่เก็บรักษาแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิแช่เย็น โดยพบว่าสารสกัดของพืชสมุนไพรเหล่านี้สามารถยับยั้ง *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* และ *Lactobacillus sake* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Zhang et al., 2009)

แต่อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าประเทศไทยจะมีความได้เปรียบจากความหลากหลายทางชีวภาพและมรดกทางภูมิปัญญาดังที่ได้กล่าวมาแล้วนั้น ปัญหาหลักของประเทศไทยด้านการพัฒนาสมุนไพรที่สำคัญคือ ขาดการประยุกต์นำความรู้ด้านภูมิปัญญาสมุนไพรและยังมีข้อจำกัดในการใช้เทคโนโลยีเพื่อการพัฒนาอย่างเหมาะสม ส่งผลให้องค์ความรู้ในการวิจัยด้านพืชสมุนไพรไทยในการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารของประเทศไทยยังมีไม่มากนัก ประกอบกับเพื่อเป็นการเตรียมความพร้อมเพื่อเข้าสู่การเป็นประชาคมเศรษฐกิจอาเซียนในปี พ.ศ. 2558 จึงจำเป็นอย่างยิ่งในการพัฒนาและเพิ่มมูลค่าของสมุนไพรไทยและยกระดับมาตรฐานของผลิตภัณฑ์อาหารของประเทศไทย เพื่อให้สามารถส่งออกไปจำหน่ายในตลาดประชาคมอาเซียนและระดับนานาชาติ คณะผู้วิจัยจึงมุ่งมั่นในการพัฒนาศักยภาพของพืชสมุนไพรท้องถิ่นของประเทศไทยเพื่อยกระดับของผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้งของจังหวัดชลบุรีสู่มาตรฐานสากล ซึ่งสามารถพัฒนาไปสู่การผลิตในเชิงพาณิชย์และมีราคาที่ถูกเพื่อ

ทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ชนิดอื่นที่ใช้ในปัจจุบัน โดยได้เริ่มการศึกษาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553 ภายใต้โครงการวิจัยเรื่อง "การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารทะเลในจังหวัดชลบุรีให้ปราศจากยาฆ่าแมลง สีสังเคราะห์ และแบคทีเรียก่อโรค" ที่ได้รับการสนับสนุนจาก สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553-2555 และได้ค้นพบองค์ความรู้ในการประยุกต์ใช้พืชสมุนไพรท้องถิ่นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *S. aureus* ที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้ง ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญในการก่อโรคทางอาหารมากที่สุดชนิดหนึ่งของประเทศไทย รวมทั้งทราบถึงสถานการณ์การปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียหลากชนิดในอาหารทะเลแห้งและแปรรูป โดยพบว่าผลิตภัณฑ์อาหารเหล่านี้ปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียสกุล *Staphylococcus*, *Bacillus* และ *Pantoea* มากกว่าร้อยละ 50 ในขณะที่ *Acinetobacter calcoaceticus*, *A. hemolyticus*, *Acinetobacter* spp., *Bordetella holomesii*, *Burkholderia cepacia* complex, *Kluyvera cryocrescens*, *Neisseria weaveri*, *Rahnella aquatilis*, *Shigella dysenteriae*, *Serratia ficaria*, *S. odorifera*, *S. plymuthica* และ *S. rubidaea* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลบางชนิด (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และคณะ, 2553ก, 2553ข; 2553ค; Chotmongcol et al. 2010; Samutsan et al., 2010)

โครงการวิจัยนี้คณะผู้วิจัยได้ตระหนักถึงการพัฒนาการใช้พืชสมุนไพรท้องถิ่นในการควบคุมแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้งทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ รวมทั้งเมื่อพัฒนาได้แล้วจะทำการศึกษาเปรียบเทียบกับมาตรฐานในระดับประเทศและระดับนานาชาติเพื่อเป็นการมุ่งยกระดับผลิตภัณฑ์อาหารแห้งที่ผลิตจากจังหวัดชลบุรีสู่มาตรฐานสากลด้วยพืชสมุนไพรของไทย และเพื่อให้มหาวิทยาลัยบูรพาซึ่งเป็นมหาวิทยาลัยในภาคตะวันออกสามารถช่วยเหลือทางด้านวิชาการให้แก่ชุมชนได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งเพื่อทำให้การศึกษาในเรื่องดังกล่าวได้ดำเนินการอย่างต่อเนื่องและสามารถนำไปใช้ได้จริงในเชิงพาณิชย์ต่อไป

2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

2.1 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดพืชสมุนไพรที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารทะเลแห้ง

2.2 เพื่อศึกษาถึงปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารทะเลแห้งที่ทนต่อฤทธิ์ของสารสกัดพืชสมุนไพรแต่ละชนิด

2.3 เพื่อศึกษาหาระยะเวลาในการเก็บรักษาอาหารทะเลแห้งที่เติมสารสกัดพืชสมุนไพรแต่ละชนิดที่นานที่สุดและยังคงรักษาระดับมาตรฐานทั้งในประเทศและต่างประเทศ

3. ขอบเขตของโครงการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาต่อเนื่องจากงานวิจัย เรื่อง "การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารทะเลในจังหวัดชลบุรีให้ปราศจากยาฆ่าแมลง สีสังเคราะห์และแบคทีเรียก่อโรค" ที่ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553-2555 ที่ประสบความสำเร็จอย่างดีตลอดมา ซึ่งเป็นฐานองค์ความรู้สำหรับนำมาใช้ในการศึกษาวิจัยต่อเนื่องในโครงการวิจัยครั้งนี้

ซึ่งจากการศึกษาวิจัยในปีที่ 1 ที่ผ่านมาทำให้ได้มาซึ่งสารสกัดพืชสมุนไพรที่เหมาะสมในการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้ง แต่อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่มักปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารทะเล ดังนั้นการศึกษาในปีที่ 2 จึงวางแผนระเบียบวิจัยเพื่อทำการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดพืชสมุนไพรในรูปของสารผสมที่มีความเหมาะสมในการควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้ง โดยทำการตรวจติดตามคุณภาพทางจุลชีววิทยาของจุลินทรีย์ที่ทนต่อสารสกัดพืชสมุนไพร

4. ประโยชน์ที่ได้รับ

4.1 ทราบถึงประสิทธิภาพของสารสกัดพืชสมุนไพรที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารทะเลแห้ง

4.2 ทราบถึงระยะเวลาและปริมาณที่เหมาะสมของการใช้สารสกัดพืชสมุนไพรในการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด และปริมาณแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ MRSA T18, *P. aeruginosa* DS001 และ *E. tarda* biogroup 1 DS002 เพื่อยังคงรักษาระดับมาตรฐานทั้งในระดับประเทศและระดับนานาชาติ

บทที่ 2
เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาจำแนกได้ดังนี้

1. พืชสมุนไพร
2. อาหารทะเลแปรรูป
3. แบคทีเรียก่อโรค

1. พืชสมุนไพร

พืชสมุนไพร หมายถึง พืชที่ใช้ทำเป็นเครื่องยา ส่วนยาสมุนไพร หมายถึง ยาที่ได้จากส่วนของพืช สัตว์และแร่ ซึ่งยังมิได้ผสมปรุงหรือแปรสภาพ ส่วนการนำมาใช้อาจดัดแปลงรูปลักษณะของสมุนไพรให้ใช้ได้สะดวกขึ้น เช่น นำมาหั่นให้มีขนาดเล็กลง หรือ นำมาบดเป็นผง เป็นต้น (สมภพ ประธานธุรารักษ์ และพร้อมจิต ศรลัมพ์, 2552)

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ตั้งอยู่บริเวณเขตร้อนชื้น ซึ่งมีความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสูง ส่งผลให้ประเทศไทยถือว่าเป็นแหล่งทรัพยากรทางด้านชีวภาพที่มีความหลากหลาย ยิ่งไปกว่านั้นประเทศไทยยังมีมรดกทางวัฒนธรรมที่เป็นศาสตร์ที่ล้ำลึกและทรงคุณค่า นั่นคือศาสตร์แห่งการใช้สมุนไพรในการรักษาโรคซึ่งถูกถ่ายทอดมารุ่นแล้วรุ่นเล่า (รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล และคณะ, 2542) ประกอบกับในปัจจุบันการใช้สมุนไพรได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการวิจัยเพื่อมุ่งพัฒนาศักยภาพการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อให้ประเทศไทยสามารถพึ่งพาตนเองได้ในระยะยาว และสามารถผลิตผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อส่งออกจำหน่ายต่างประเทศได้อีกด้วย (นิจศิริ รังษีเรือง และธวัชชัย มังคละคุปต์, 2547)

1) สารประกอบทางเคมีในพืชสมุนไพร จำแนกได้เป็น 2 ประเภท คือ

1.1) สารปฐมภูมิ สารชนิดนี้เป็นสารที่พบได้ทั่วไปในพืชชั้นสูงทุกชนิด ซึ่งเป็นสารที่ได้จากกระบวนการเมแทบอลิซึมของพืช เช่น คาร์โบไฮเดรท ไขมัน โปรตีน เม็ดสี (Pigment) และเกลืออนินทรีย์ (Inorganic salt) เป็นต้น

1.2) สารทุติยภูมิ เป็นสารที่พบได้แตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด รวมทั้งมีคุณลักษณะที่จำเพาะและพิเศษแตกต่างกันออกไปตามชนิดของสาร ยกตัวอย่างเช่น สารประกอบอัลคาลอย (Alkaloid) แอนทราควิโนน (Anthraquinone) และน้ำมันหอมระเหย (Essential oil) เป็นต้น (นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, 2544)

2) ข้อดีของการใช้สมุนไพร

2.1) มีความเป็นพิษต่ำ เนื่องจากสมุนไพรส่วนมากมีฤทธิ์อ่อน ก่อให้เกิดอาการเป็นพิษหรืออาการข้างเคียงได้น้อยกว่าการใช้ยาแผนปัจจุบัน

2.2) ค่าใช้จ่ายน้อย เพราะสมุนไพรเป็นพืชประจำถิ่นที่หาได้ง่ายและสามารถปลูกได้อย่างง่ายดาย ส่งผลให้สมุนไพรมีราคาที่ถูกกว่ายาแผนปัจจุบันเป็นอย่างมาก

2.3) เป็นที่พึ่งของคนในชนบทที่ห่างไกล ตามปกติแล้วประชาชนในพื้นที่ชนบทมักเดินทางมารักษาในโรงพยาบาลหรือสถานบริการทางการแพทย์ได้ไม่สะดวกนัก แต่หากมีการใช้สมุนไพรในท้องถิ่นก็จะสามารถรักษาโรคพื้นฐานได้ เช่น อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ท้องผูกและอุจจาระร่วง เป็นต้น

2.4) เป็นการป้องกันการขาดแคลนยาแผนปัจจุบันในสภาวะคับขัน เนื่องจากยาแผนปัจจุบันมักต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ ส่งผลให้หากเกิดภาวะขาดแคลนหรือสภาวะสงครามย่อมทำให้การขนส่งเป็นไปได้อย่างยากลำบาก (วันดี กฤษณพันธ์, 2551)

ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันพืชสมุนไพรหลายชนิดถูกนำมาใช้ในเป็นส่วนประกอบของอาหารเพื่อเพิ่มรสชาติของอาหาร รวมทั้งยังนิยมนำมาใช้เป็นยารักษาโรคและเป็นสารกันเสียในอาหารอีกด้วย (Shan et al., 2007) โดยสารที่เป็นองค์ประกอบของพืชสมุนไพรที่ได้รับความสนใจในการศึกษาเป็นอย่างมาก คือ สารกลุ่มโพลีฟีนอลซึ่งเป็นสารชีวโมเลกุลที่มีกลไกการออกฤทธิ์ที่หลากหลาย โดยสารกลุ่มโพลีฟีนอลถูกศึกษาถึงฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติด้านต่าง ๆ มากที่สุด คือ แทนนินและฟลาโวนอยล์ (Ahmad and Beg, 2001; Machado et al., 2003; Naz et al., 2007; Shan et al., 2007) จากการศึกษาพบว่าการบริโภคเครื่องดื่มที่มีส่วนประกอบของแทนนิน ซึ่งส่วนมากพบในชาสามารถรักษาอาการป่วยได้ (Cowan, 1999) โดยแทนนินเป็นสารประกอบกลุ่มฟีนอลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงเป็นสารที่พบได้ในพืชหลายชนิด ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (Machado et al., 2003; Voravuthikunchai et al., 2004) พืชสมุนไพรที่พบสารประกอบชนิดนี้ เช่น ผล เปลือกและรากของทับทิม ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นยาแผนโบราณสำหรับรักษาโรคบิดและโรคอุจจาระร่วง (Ahmad and Beg, 2001; Braga et al., 2005; Voravuthikunchai et al., 2005; Reddy et al., 2007) ในประเทศเยเมนและประเทศต่าง ๆ บนคาบสมุทรอาหรับ นำเปลือกทับทิมที่แห้งมาใช้ในการรักษาอาการอุจจาระร่วง อาการปวดท้องและใช้เป็นยาสมานแผลได้ (Voravuthikunchai et al., 2005)

จากงานวิจัยหลายฉบับได้ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค ดังนี้

พนมพร ภาณุทัต และสาวิตรี วทัญญูไพศาล (2543) ศึกษาความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของเครื่องเทศและสมุนไพรไทยจำนวน 19 ชนิด โดยเทคนิค Agar diffusion method พบว่ามีเพียงหัวหอม (*Allium cepa* Linn.) กระเทียม (*Allium sativum* Linn.) พริก (*Capsicum* sp.) หมาก (*Areca catechu*) และใบฝรั่ง (*Psidium guajava* Linn.) มีความสามารถในการยับยั้ง *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* เมื่อนำพืชเครื่องเทศและสมุนไพรดังกล่าวทั้งในรูปสารสกัดด้วยน้ำและแอลกอฮอล์มาศึกษาเพิ่มเติมกับเชื้อแบคทีเรียอีก 5 ชนิด พร้อมทั้งหาค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Minimum Inhibitory Concentrations; MIC) พบว่าสารสกัดจากหมากและใบฝรั่งมีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดที่แตกต่างจากสารสกัดกระเทียม ค่า MIC ของสารสกัดจากหมากและใบฝรั่งอยู่ระหว่าง 62.5-500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อมาจึงได้ทดสอบการผสมสารสกัดระหว่างกระเทียมกับหมาก และกระเทียมกับใบฝรั่งเพื่อศึกษาขีดความสามารถในการเพิ่มจำนวนสายพันธุ์แบคทีเรียที่มีผลยับยั้ง พบว่าสารสกัดผสมมี

ศักยภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้หลายสายพันธุ์ขึ้นและไม่มีผลขัดขวางประสิทธิภาพซึ่งกันและกัน นอกจากนั้นสารสกัดใบฝรั่งที่ผ่านความร้อนแล้วยังคงคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรีย

สุชาดา ไชยสวัสดิ์ และสุรชัย แก้วบุญเรือง (2551) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อก่อโรคในสมุนไพรไทย 5 ชนิด ประกอบด้วย พริก (*Capsicum frutescens* Linn.) ใบมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) หอมแดง (*Allium cepa* Linn.) ขิง (*Zingiber officnale* Rose) และขมิ้นขาว (*Curcuma mangga* Valeton & Zijp) ในรูปน้ำคั้นสด (สารสกัดสด) และสารสกัดน้ำมันโดยใช้แอลกอฮอล์สกัด เพื่อนำมาทดสอบเบื้องต้นในการหาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 2 ชนิด คือ *S. aureus* และ *Salmonella typhi* ผลการศึกษาเบื้องต้นพบว่าสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด มีศักยภาพสูงในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่นำมาศึกษา จึงทำการศึกษาต่อโดยนำสารสกัดสดและสารสกัดน้ำมันของสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด มาศึกษาในฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคต่อ *S. aureus* และ *S. typhi* โดยวิธี Agar disc diffusion ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า สมุนไพรไทยที่นำมาศึกษาทั้ง 5 ชนิด มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแตกต่างกันโดยสารสกัดสดจากขมิ้นขาวแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* แต่ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. typhi* และสารสกัดสดของพริก ใบมะกรูด ขิงและหอมแดง ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ในขณะที่สารสกัดน้ำมันของสมุนไพรทุกชนิดแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* โดยใบมะกรูดและขมิ้นขาวแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อในระดับสูง ในขณะที่สมุนไพรอีก 3 ชนิด แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อในระดับปานกลาง และสารสกัดน้ำมันของสมุนไพรทุกชนิดแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. typhi* ในระดับปานกลาง ผลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า สารสกัดน้ำมันของสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด มีศักยภาพสูงในการต้านเชื้อก่อโรค 2 ชนิดที่นำมาศึกษา โดยใบมะกรูดและขมิ้นขาวมีศักยภาพสูงในการต้านเชื้อ *S. aureus* ในขณะที่สารสกัดสดของขมิ้นขาวเท่านั้นที่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ในขณะที่สมุนไพรชนิดอื่นไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ โดยพบว่าสารสกัดน้ำมันมีศักยภาพสูงกว่าสารสกัดสด ซึ่งคณะผู้วิจัยจะได้ทำการศึกษาสารออกฤทธิ์ของสมุนไพรเหล่านี้เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาเป็นยารักษาโรคต่อไปในอนาคต

สุชาดา ไชยสวัสดิ์ และคณะ (2551) ได้ทำการศึกษาสมุนไพรที่ใช้ในครัวไทย 15 ชนิด ซึ่งประกอบด้วย ผักชี (*Coriandrum sativa* Linn.) หอมแดง (*Allium cepa* Linn.) ขิง (*Zingiber officinale* Rosc.) ข่า (*Alpinia galanga* (L.) Willd.) ตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* (DC.) Staph) ใบมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) ผิวมะนาว (*Citrus aurantifolia* Swingle) พริกขี้หนู (*Capsicum frutescens* Linn.) ขมิ้น (*Curcuma longa* Linn.) โหระพา (*Ocimum basilicum* var. *thyrsiflora*) กะเพรา (*Ocimum sanctum* Linn.) มะระขี้นก (*Momordica charantia* Linn.) ผิวมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) มะเขือพวง (*Solanum torvum* Sw.) และลูกยอ (*Morinda citrifolia*) มาคั้นน้ำสดและสกัดน้ำมัน เพื่อทดลองและศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ขั้นต้น พบว่าสมุนไพรในครัวไทยที่นำมาศึกษา 6 ชนิดคือ ขิง หอมแดง ข่า ใบมะกรูด ผิวมะนาว และผิวมะกรูด มีศักยภาพสูงในการต้านจุลินทรีย์ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรค จึงนำสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด มาทำการศึกษาต่อโดยการนำน้ำคั้นสดและน้ำมันสกัดมาศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เบื้องต้น โดยวิธี Agar diffusion ในเชื้อก่อโรค 3 ชนิดคือ *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi* และ *S. aureus* ผลการศึกษาพบว่า สมุนไพรเกือบทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *B. cereus* และ *S. aureus* และมีเฉพาะสารสกัดขิงเท่านั้นที่ไม่แสดงฤทธิ์ต้าน *S. typhi* โดยน้ำมันสกัดแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อได้ดีกว่าน้ำคั้นสด จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า

ผิวมะกรูด หอมแดงและผิวมะนาวเป็นสมุนไพรในครัวไทยที่ใช้ประกอบอาหารมีศักยภาพสูงในการต้านเชื้อก่อโรค 3 ชนิดที่นำมาศึกษา ซึ่งคณะผู้วิจัยได้ศึกษาถึงองค์ประกอบหลักและสารสกัดที่เหมาะสมเพื่อหาแนวทางในการพัฒนาเป็นยารักษาโรคต่อไป

พีรพัฒน์ สุพรรณพันธุ์ และคณะ (2553) ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจำนวน 2 ชนิด คือ ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.) และกระเทียม (*Allium sativum* Linn.) เปรียบเทียบกับสารสมุนไพรสกัดสดจำนวน 6 ชนิด (ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.) กระเทียม (*Allium sativum* Linn.) ขิง (*Zingiber officinale* Rosc.)ข่า (*Alpinia galanga* (L.) Willd.) พริก (*Capsicum frutescens* Linn.) และใบมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.)) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล 99.8% ในอัตราส่วนสมุนไพร 1 มิลลิกรัมต่อเมทานอล 1 มิลลิลิตร ทำการเจือจางเป็น 3 ระดับความเข้มข้น (20, 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และนำไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยาเมทธิซิลิน (Methicillin-resistant *Staphylococcus* aureus; MRSA) และ *S. aureus* ที่ไวต่อยาเมทธิซิลิน (Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*; MSSA) กลุ่มละ 20 ไอโซเลท ด้วยวิธี Disk diffusion ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดพืชสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากขมิ้นชันสามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA เท่ากับ 10% และ 5% ตามลำดับ จากจำนวน MRSA 20 ไอโซเลทและ MSSA กลุ่มละ 20 ไอโซเลท และสารสกัดพืชสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากกระเทียมและสารสมุนไพรสกัดสดจากขมิ้นชัน กระเทียม ขิง ข่า พริก และใบมะกรูด ไม่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA ดังนั้นจากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดพืชสมุนไพรสำเร็จรูปจากขมิ้นชันมีความสามารถในการยับยั้ง MRSA และ MSSA ได้บางสายพันธุ์

Lopez et al. (2003) ได้ทำการศึกษาถึงความสามารถของสารสกัดหยาบของสมุนไพรจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ลูกใต้ใบแห้ง (*Phyllanthus niruri*; DPN) ลูกใต้ใบสด (FPB) และพลูแห้ง (*Piper betle*; DPB) ที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทางอาหารจำนวน 3 ชนิด คือ *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella derby* และจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus* spp., *Saccharomyces cerevisiae* และ *Aspergillus niger* ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยใช้เทคนิค Disc diffusion assay พบว่าสารสกัดพลูแห้งมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบทุกชนิด ส่วนสารสกัดลูกใต้ใบสดสามารถยับยั้ง *S. aureus* และ *Lactobacillus* spp. ได้ และ *Lactobacillus* spp. เป็นแบคทีเรียที่ยับยั้งได้โดยสารสกัดลูกใต้ใบแห้ง ต่อจากนั้นทำการศึกษาค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Minimum Inhibitory Concentrations; MIC) ของสารสกัดด้วยวิธี Agar dilution พบว่าสารสกัดลูกใต้ใบแห้งมีค่า MIC อยู่ในช่วง 160-10,240 หนึ่งส่วนในล้านส่วน (ppm) โดยพบว่า *S. cerevisiae* มีความไวมากที่สุดและ *B. subtilis* มีความไวน้อยที่สุดต่อสารสกัดลูกใต้ใบแห้ง ทั้งสารสกัดลูกใต้ใบแห้งและสดที่ความเข้มข้นสูงสุดคือ 10,240 ppm ไม่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบ

Dupont et al. (2006) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดพืชสมุนไพรในประเทศออสเตรเลียจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ มะนาวเมอร์เทิล (*Backhousia citriodora*) ยี่หร่า (*Anetholea anisata*) เปลือกมะนาว (*Eucalyptus staigerana*) หมากฝรั่งสตรอเบอร์รี่

(*Eu. olida*) และบุชมินท์ (*Prostanthera incisa*) ที่สกัดด้วยน้ำ เอทานอล และเฮกเซน ต่อแบคทีเรียในอาหารจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium และ *Staphylococcus aureus* ด้วยเทคนิค Microtitre broth microdilution โดยพบว่าสารสกัดพืชสมุนไพรทุกชนิดที่สกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์ยับยั้งต่ำหรือไม่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบในครั้งนี้ ยกเว้น *S. aureus* โดยความเข้มข้นที่น้อยที่สุดซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* (Minimum Inhibitory Concentrations; MIC) ของสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำของสารสกัดพืชสมุนไพรทุกชนิดมีค่าค่อนข้างสูง (15.6-125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ยกเว้นสารสกัดจากบุชมินท์ นอกจากนี้สารสกัดของพืชสมุนไพรทุกชนิดที่สกัดด้วยเอทานอลและเฮกเซนมีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียที่นำมาทดสอบไม่แตกต่างกัน จากการศึกษาพบว่า *S. aureus* เป็นแบคทีเรียที่มีความไวต่อสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 7.8-125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ *E. coli* และ *L. monocytogenes* ให้ผลในทางตรงข้ามกันคือพบว่ามีสารสกัดพืชสมุนไพรเพียง 5 ชนิด จากสารสกัดพืชสมุนไพรทุกชนิดร่วมกันจำนวน 15 สารสกัด ที่ยับยั้งเชื้อก่อโรคเหล่านี้ สารสกัดจากสมุนไพรพื้นเมืองของออสเตรเลียที่ใช้ในการศึกษานี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอาหารเพื่อเพิ่มอายุการเก็บรักษาหรือส่งเสริมความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

Weerakkody et al. (2010) รายงานการเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์ระหว่างสารสกัดจากเครื่องเทศและสมุนไพร 4 ชนิดที่ไม่นิยมใช้ ประกอบด้วย โกราก้า (*Garcinia quaesita*) ขิง (*Alpinia galanga*) เปลือกมะนาว (*Eucalyptus staigerana*) และพริกไทยภูเขา(*Tasmannia lanceolata*) และเครื่องเทศและสมุนไพรที่นิยมใช้ 3 ชนิดได้แก่ พริกไทย (*Piper nigrum*) โรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis*) และออริกาโน (*Oreganum vulgare*) โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ น้ำ เอทานอลและเฮกเซน นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์กับแบคทีเรียก่อโรคทางอาหารจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Listeria monocytogenes* และ *Staphylococcus aureus* โดยใช้เทคนิค Agar disc diffusion และ Broth dilution assays ผลการทดลองพบว่า ตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด มีผลต่อฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเครื่องเทศและสมุนไพร ยกเว้นสารสกัดพริกไทย ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งน้อยหรือไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเลย โดยทั่วไปสารสกัดจากเครื่องเทศและสมุนไพรมีประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ สารสกัดจากสมุนไพรและเครื่องเทศที่ไม่นิยมใช้มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งแบคทีเรียโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารสกัดขิงที่สกัดด้วยเฮกเซนและเอทานอล และสารสกัดเปลือกมะนาวที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำมีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* และ/หรือ *L. monocytogenes* ได้ดี นอกจากนั้นค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentrations; MIC) ที่ศึกษาด้วยเทคนิค Broth dilution และค่าบริเวณยับยั้งที่ศึกษาด้วยเทคนิค Disk diffusion ไม่ได้มีความสัมพันธ์กันอย่างมาก (r^2 อยู่ระหว่าง 0.10-0.70) ดังนั้นจึงเป็นการชี้ให้เห็นว่าการเลือกเพียงหนึ่งวิธีสำหรับการทดสอบสารต้านจุลินทรีย์อาจก่อให้เกิดข้อสรุปที่ไม่แน่นอน นอกจากนั้นการศึกษาในครั้งนี้ยังได้วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเครื่องเทศและสมุนไพรแต่ละชนิดเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และระดับของสารกลุ่มฟีนอล ซึ่งพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน การศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดพืชสมุนไพรและเครื่องเทศที่ไม่นิยมใช้มี

ศักยภาพในการต้านจุลินทรีย์ต่อแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร การศึกษานี้ได้บ่งชี้ว่าฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ในสมุนไพรและเครื่องเทศบางชนิดอาจเกิดจากสารอื่นที่ไม่ใช่สารกลุ่มฟีนอล

2. อาหารทะเลแปรรูป

อาหารทะเลแปรรูปมีมากมายหลายชนิด อาทิ ปลา กุ้ง หอย ปู หมึกและสาหร่ายทะเล เป็นต้น ซึ่งในปัจจุบันอาหารทะเลเป็นผลิตภัณฑ์อาหารยอดนิยมทั่วโลกเลยทีเดียว นอกจากจะมีรสชาติอร่อยแล้วยังเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงมาก ไม่ว่าจะเป็นด้านโปรตีน วิตามิน และเกลือแร่ ธาตุอาหารบางอย่างที่สำคัญและจำเป็นสำหรับมนุษย์หาได้เฉพาะในอาหารทะเลเท่านั้น เช่น ธาตุไอโอดีน เป็นต้น (ศรีสมร คงพันธุ์ และมณี สุวรรณผ่อง, 2533) ซึ่งการแปรรูปอาหารทะเลส่วนใหญ่ของคนไทยมักใช้กระบวนการหมักด้วยเกลือและการตากแห้ง ยกตัวอย่างเช่น เคยหรือกะปิ อันเป็นเครื่องปรุงรสหลักของสังคมไทย รวมทั้งผลิตภัณฑ์อาหารทะเลอื่นที่มีลักษณะเค็มและแห้ง ได้แก่ ปลาเค็ม ปลาแห้ง กุ้งแห้ง หอยแห้งและหมึกแห้ง เป็นต้น ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้ล้วนเป็นสัญลักษณ์ของแหล่งท่องเที่ยวตามชายทะเลของประเทศไทย เช่น ชลบุรีและระยอง เป็นต้น (ชมพู่ ยิ้มโต, 2550)

แต่อย่างไรก็ตามการบริโภคอาหารทะเลและผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแปรรูปสามารถก่อให้เกิดโรคได้เช่นเดียวกัน ทั้งนี้เกิดจากการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคทางอาหาร ยกตัวอย่างเช่น *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* เป็นต้น โดย *V. parahaemolyticus* เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบอย่างรุนแรงจากการบริโภคอาหารทะเลดิบ โดยจะแสดงอาการหลังการบริโภคอาหารประมาณ 15 ชั่วโมง ในประเทศญี่ปุ่นแบคทีเรียชนิดนี้เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษถึงร้อยละ 50-70 (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, 2551; Wittman and Flick, 1995; Munn, 2004) สำหรับ *V. cholerae* เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคอหิวาตกโรค ซึ่งทำให้เกิดโรคเฉพาะคนเท่านั้น โดยผู้ป่วยจะแสดงอาการคลื่นไส้อาเจียน ถ่ายเหลวจนถึงอุจจาระร่วง ส่งผลให้ร่างกายเกิดสภาวะขาดน้ำและเกลือแร่ (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, 2551; Hosseini et al., 2003) โดยไม่นานมานี้สำนักงานป้องกันควบคุมโรค (2551) ได้ตรวจพบผู้ป่วยที่มีอาการของโรคอหิวาตกโรคที่เกิดจากการรับประทานอาหารทะเลที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรีในเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2551 และจากข้อมูลของสำนักระบาดวิทยาพบว่า *V. parahaemolyticus* เป็นสาเหตุอันดับ 1 ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษคิดเป็นร้อยละ 56, 56, 58, 60, 61 และ 78 ของผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษทั้งหมดในปี พ.ศ. 2540-2545 ตามลำดับ (ศรีวรรณา หัทยานานนท์, 2554)

นอกจากนั้นงานวิจัยหลายฉบับได้ทำการศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียในผลิตภัณฑ์อาหาร ดังนี้

ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์ และคณะ (2532) ศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาและเคมีของกุ้งแห้งที่จำหน่ายทั่วไป พบว่ากุ้งแห้งมีจำนวนจุลินทรีย์ปนเปื้อนค่อนข้างสูง มีกลิ่นแอมโมเนียและมีปริมาณรงควัตถุแอสตาแซนทีนต่ำ กุ้งแห้งส่วนใหญ่มีความชื้นค่อนข้างสูงถึง 30% – 50% มีกลิ่นแอมโมเนีย จึงทำให้ค่าความเป็นกรดด่างสูง มีค่าประมาณ 8.00 – 8.4 มีค่าปริมาณน้ำที่จำเป็นต่อการดำรงชีพของจุลินทรีย์ในช่วง 0.72 – 0.78 และมีปริมาณเกลือสูงถึง 9% – 13% และจากการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา พบว่าจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด *S. aureus* และเชื้อรามีค่าเท่ากับ

5.00×10^{5}, 1.00×10^{2} และ 5.00x10 CFU/g ตามลำดับ แต่ไม่พบ *E. coli และ Salmonella* sp. ในตัวอย่างกุ้งแห้ง

สินหทัย สมบูรณ์ยิ่ง (2545) ได้ศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ปลาหมึกหวานปรุงรสที่จำหน่ายในตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี จำนวน 40 ตัวอย่าง ในเดือนตุลาคม - ธันวาคม พ.ศ. 2544 โดยเก็บตัวอย่างจาก 4 ร้าน ร้านละ 10 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด จำนวนเชื้อรา *E. coli* และแบคทีเรียก่อโรค คือ *S. aureus, Salmonella* sp. และ *Clostridium perfringens* พบว่าผลิตภัณฑ์ปลาหมึกหวานปรุงรสไม่ได้มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเลขที่ มอก.972-2533 เนื่องจากมีเชื้อราเกินกำหนด และพบ *E. coli* เกินกำหนด 1 ตัวอย่าง แต่ไม่พบแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด ดังกล่าวในตัวอย่าง

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และคณะ (2553ก) ศึกษาถึงการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มและแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีในผลิตภัณฑ์หมึกแห้งที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรีจำนวน 21 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มทุกตัวอย่างที่นำมาศึกษา (คิดเป็น 100%) โดยอาหารทะเลแห้งที่มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มมากที่สุดคือ หมึกกะตอย มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ $1.97\pm0.16\times10^{9}$ CFU/g และพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีจำนวน 3 ตัวอย่าง (คิดเป็น 12.5%) โดยอาหารทะเลแห้งที่มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีมากที่สุดคือ หมึกไข่ มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ $1.70\pm0.21\times10^{4}$ CFU/g เมื่อนำมาจำแนกชนิดของแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มในผลิตภัณฑ์หมึกแห้ง พบแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* มากที่สุด รองลงมาคือ *Micrococcus* และ *Bacillus* ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีที่จำแนกได้คือ *Proteus, Enterobacter* และ *Klebsiella* ดังนั้นควรมีการติดตามตรวจสอบและตระหนักถึงความปลอดภัยของอาหารเป็นระยะ โดยเฉพาะการปนเปื้อนของแบคทีเรียในอาหารที่บริโภคในแต่ละวันและผลิตภัณฑ์ที่มีการส่งออก

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และคณะ (2553ข) ศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปในอาหารทะเลแห้งที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรีจำนวน 29 ตัวอย่าง พบว่าอาหารทะเลแห้งมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปอยู่ในช่วง $6.00\pm2.00\times10^{2}$ ถึง $4.40\pm1.22\times10^{9}$ CFU/g โดยพบมากที่สุดในตัวอย่างหมึกกะตอยแห้ง และพบน้อยที่สุดในตัวอย่างหนวดหมึกชุบน้ำเชื่อม เมื่อนำมาจำแนกชนิดของแบคทีเรีย พบแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* มากที่สุด รองลงมาคือ *Bacillus* และ *Micrococcus* นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ *Corynebacterium* spp., *Enterobacter cloacae, Klebsiella pneumoniae, K. ozaenae, Listeria* spp. และ *Proteus mirabilis* ดังนั้นจึงควรมีการเฝ้าระวังและตรวจติดตามการปนเปื้อนของแบคทีเรีย เพื่อให้ผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้งที่วางจำหน่ายในจังหวัดชลบุรีมีคุณภาพทางจุลินทรีย์มากยิ่งขึ้น

Ayulo et al. (1994) ทำการศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของปลาและความปลอดภัยของอาหารทะเลที่จับได้จากบริเวณชายฝั่งของรัฐซานตา คาทารินาและจำหน่ายในเมืองฟลอเรียโนโปลิส ประเทศบราซิล จากการตรวจคุณภาพปลา Acoupa blanc (*Cynoscion leiarchus*) ทั้งที่อยู่ในรูปของปลาสดและแปรรูป กุ้งขาว (*Peneaus paulensis*) หอย (*Anomalocardia brasiliensis*) หอย Blue mussel (*Mytilus edulis*) และปูม้า (*Callinectes sapidus*) จากตลาดจำนวน 175 ตัวอย่าง จากการศึกษาพบว่า ในตัวอย่าง 175 ตัวอย่างตรวจพบ *S. aureus* จำนวน 35 ตัวอย่าง

คิดเป็น 20% และจากตัวอย่างเนื้อหอยคิดเป็น 60% และพบว่า *S. aureus* จำนวน 109 สายพันธุ์ มีจำนวน 9 สายพันธุ์ ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซิน ได้แก่ เอนเทอโรทอกซินเอจำนวน 4 สายพันธุ์ เอนเทอโรทอกซินดีจำนวน 1 สายพันธุ์ และเอนเทอโรทอกซินเอบี 4 สายพันธุ์ จากการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าควรมีการจัดการเอาใจใส่ในระหว่างการจับสัตว์น้ำและหลังการจับสัตว์น้ำที่ได้เพื่อลดการปนเปื้อนแบคทีเรียของปลาและอาหารทะเล

Jeyasekaran et al. (2004) ศึกษาการเก็บรักษาปลาบรีม (*Lethrinus miniatus*) โดยใช้น้ำแข็งแห้ง 20% ร่วมกับน้ำแข็ง 50% พบว่าเป็นสภาวะที่ดีในการเก็บรักษาได้ถึง 24 ชั่วโมง โดยไม่ต้องเติมน้ำแข็งเพิ่ม โดยปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง 10^4-10^7 CFU/g ในขณะที่แบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิต่ำมีปริมาณ 10^2-10^4 CFU/g ปริมาณแบคทีเรียแลคติกอยู่ในช่วง 10^1-10^2 CFU/g แบคทีเรียที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟล์ตรวจพบที่เวลา 6 ชั่วโมง โดยมีปริมาณ 10^2 CFU/g แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมดและแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญและรีดิวซ์ซัลไฟด์ไม่แสดงแนวโน้มที่สอดคล้องกัน

Immanuel et al. (2006) รายงานว่าปริมาณแบคทีเรียในทางเดินอาหารของกุ้งมังกรที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นในกระบวนการขนส่งมีค่าเท่ากับ 8.12-8.17 Log cfu/ml และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะ 14 ชั่วโมง ของการขนส่ง โดยอัตราการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียมีค่าสูงสุด (6.23%) ในชั่วโมงที่ 2 ของการขนส่ง ซึ่งแบคทีเรียที่พบในทางเดินอาหารของกุ้งมังกรตลอดระยะเวลาการขนส่ง ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus circulans*, *Escherichia coli*, *Photobacterium damselae*, *Flexibacter columnare*, *Micrococcus luteus* และ *Enterobacter aerogenes* ยกเว้น *Corynebacterium xerosis* ที่พบ 12 ชั่วโมงแรกของการขนส่งเท่านั้น

Lalitha and Surendran (2006) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณและชนิดของแบคทีเรียทั้งหมด แบคทีเรียกลุ่มที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง และแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำในกุ้งก้ามกรามที่เก็บรักษาแบบแช่เย็น พบว่ากุ้งก้ามกรามมีปริมาณแบคทีเรียดังกล่าวเท่ากับ 4.5-7, 4.3-7.4 และ 3-7.1 Log cfu/g ตามลำดับ โดยแบคทีเรียมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานาน 26 วัน ซึ่งแบคทีเรียที่ตรวจพบในกุ้งก้ามกราม ได้แก่ *Aeromonas*, *Shewanella puterfaciens*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Cytophaga*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Corynebaterium* และ *Bacillus*

3. แบคทีเรีย

3.1 *Edwardsiella tarda*

Edwardsiella spp. พบครั้งแรกใน ค.ศ.1965 มีด้วยกัน 3 สายพันธุ์ คือ *E. tarda*, *E. hoshinae* และ *E. ictaluri* พบในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เลือดเย็น เช่น ปลา สัตว์เลื้อยคลาน และตามสิ่งแวดล้อม และก่อโรคในปลา (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต, 2553) สปีชีส์ที่มีการรายงานการก่อโรคในมนุษย์คือ *E. tarda* แบคทีเรียชนิดนี้มีคุณสมบัติคล้ายกับ *Escherichai coli* ยกเว้นความสามารถในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ใน KIA หรือ TSI และไม่สามารถหมักย่อยน้ำตาลแล็คโทส ซึ่งคล้ายกับ *Citrobacter* หรือ *Salmonella* (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, 2552) ซึ่งพบว่า

E. tarda สามารถก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร เช่น โรคกระเพาะและลำไส้อักเสบ โรคอุจาระร่วง เป็นต้น (Slaven et al., 2001; Wang et al., 2005) นอกจากนี้ในปัจจุบันยังมีแบคทีเรียอีกชนิดหนึ่งที่มีความคล้ายคลึงกับ *E. tarda* แต่สามารถหมักย่อยน้ำตาลแมนนิทอลน้ำตาลซูโคส และน้ำตาลอะราบิโนส จึงให้ชื่อว่า "*E. tarda* biogroup 1" (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, 2552)

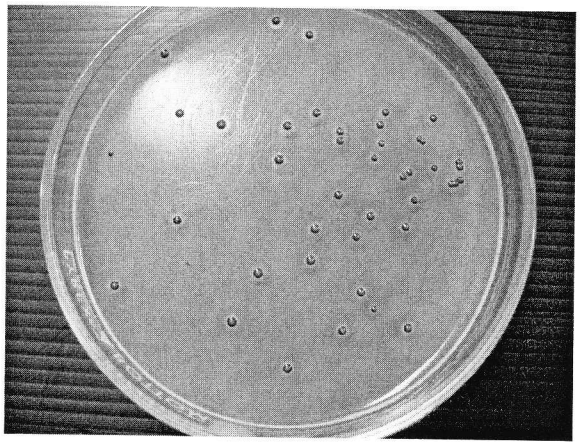
3.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Micrococcaceae รูปร่างกลม ไม่เคลื่อนที่ ย้อมติดสีแกรมบวก เมื่อแบ่งเซลล์จะเรียงตัวติดกันเป็นรูปคล้ายพวงองุ่น ถ้าเขี่ยเชื้อจากอาหารแข็งเซลล์มีลักษณะเป็นกลุ่ม แต่จากอาหารเหลวอาจเห็นเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้น ๆ ขึ้นอยู่กับสภาพการเพาะเลี้ยง (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547) ในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งโคโลนีส่วนใหญ่ของ *S. aureus* จะมีสีเหลืองทอง สีที่เกิดขึ้นเนื่องจากรงควัตถุพวกแคโรทีนอยด์ บางครั้งพบว่าโคโลนีมีสีตั้งแต่สีส้มจัดจนถึงสีเหลืองอ่อน (อัจฉรา เพิ่ม, 2550) *Staphylococcus* เจริญในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเล็กน้อย (Microaerophile; นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของ *S. aureus* คือ 30-37 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสม คือ 7.0-7.5 แต่เจริญได้ดีที่พีเอช 4.2-9.3 ต้องการปัจจัยที่ส่งเสริมการเจริญ 2 ชนิด คือ Adenine และ Thiamine แต่เมื่อเจริญอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่มีออกซิเจนจะต้องการ Uracil และ Pyruvate เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป เช่น Nutrient agar (อัจฉรา เพิ่ม, 2550) ให้ผลการทดสอบคะตาเลส (Catalase) เป็นบวกและให้ผลบวกกับโคแอกกูเลส (Coagulase positive; นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547) *S. aureus* มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในอาหารหลายชนิด โดยเชื้อปนเปื้อนในอาหารเหล่านี้ทางแผล ฝี หนอง ที่ผิวหนังของผู้ปรุงอาหาร เช่น อาหารพวกคัสตาร์ด สลัด เนื้อและผลิตภัณฑ์นม (Dairy product) อาหารที่ปนเปื้อน *S. aureus* จะมีกลิ่นและรสปกติ (อัจฉรา เพิ่ม, 2550)

S. aureus เป็นสาเหตุสำคัญของโรคฝีหนอง 80% เป็นเชื้อที่สำคัญในโรงพยาบาลและในชุมชน (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547) ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ ผลิตสารพิษ (Enterotoxin) ที่ทนทานต่อความร้อนสูง เป็นเชื้อแบคทีเรียที่กระจายอยู่ทั่วไป พบตามร่างกายของคนเป็นจำนวนมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งในโพรงจมูก รูหูของคน ผิวหนัง แผลที่นิ้วมือ (สุวิมล กีรติพิบูล, 2546) บาดแผลที่มีหนอง เต้านมวัวที่อักเสบ แต่ถ้าผิวหนังเกิดบาดแผล ถลอกหรือได้รับการผ่าตัด เชื้อนี้จะบุกรุกเข้าเนื้อเยื่อชั้นในได้ เมื่อเข้ากระแสเลือดจะทำให้เกิดโรคเยื่อบุหัวใจอักเสบเฉียบพลัน ไม่ทนความร้อน แต่สารพิษที่เชื้อแบคทีเรียนี้สร้างขึ้นสามารถทนความร้อนได้สูงถึง 100 – 110 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 นาที ทนทานต่อความแห้งแล้ง Enterotoxin (สุวิมล กีรติพิบูล, 2546) ที่พบส่วนใหญ่ ทำให้เกิดอาการอักเสบของเซลล์บุทางเดินอาหาร และดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดแล้วกลับมาทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษ โดยมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อุจจาระร่วง แต่มักไม่มีไข้ (อัจฉรา เพิ่ม, 2550) โดยทั่วไปจะเกิดอาการอาหารเป็นพิษ หลังจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนประมาณ 3 ชั่วโมง (สุวิมล กีรติพิบูล, 2546) และมักหายเองภายใน 8 ชั่วโมง แต่อาจเกิดอาการรุนแรงได้ในทารก คนชรา หรือผู้ที่มีร่างกายอ่อนแอ บางชนิดสร้างแคปซูลซึ่งเพิ่มความรุนแรงของการทำให้เกิดโรค (อัจฉรา เพิ่ม, 2550)

ในบรรดา Staphylococci ปรากฏว่า *S. aureus* เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษบ่อยที่สุด ตามปกติคาดว่าจะมีอยู่ในอาหารเพียงเล็กน้อย โดยเฉพาะอาหารที่มีนมและเนื้อสัตว์เป็นส่วนประกอบ และอาหารที่ผ่านการสัมผัสและเคลื่อนย้ายด้วยมือมนุษย์ รวมทั้งอาหารที่ไม่ได้ทำให้สุกก่อนบริโภค (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

เชื้อ Methicillin – resistant *S. aureus* (MRSA) เป็นเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายกลุ่ม (Multiple drug resistance) เช่น ยาเพนิซิลลิน (Penicillins) เตตราไซคลิน (Tetracyclines) ซัลโฟนาไมด์ (Sulfonamides) ยากลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ (Aminoglycosides) มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (Minimal inhibition concentration, MIC) ต่อยาเมทิซิลลิน (Methicillin) มากกว่าหรือเท่ากับ 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือมีค่า MIC ต่อยาออกซาซิลลิน (Oxacillin) มากกว่าหรือเท่ากับ 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต, 2553) ลักษณะโคโลนีบนอาหารแข็ง แสดงดังภาพที่ 1

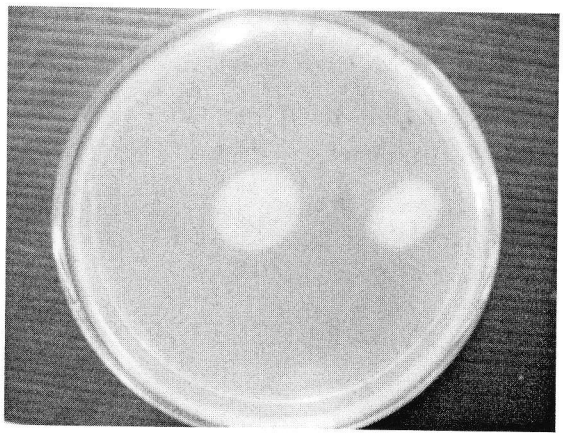


ภาพที่ 1 *Staphylococcus aureus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker Egg Yolk Tellurite Agar (ภาพโดย พรพิมล สุดแสวง)

3.3 *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa จัดอยู่ในวงศ์ Pseudomonadaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบกลุ่มใหญ่ที่สุด มีลักษณะเป็นรูปท่อนหรือโค้งเล็กน้อย ไม่สร้างสปอร์และแคปซูล เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่ปลายเซลล์ ผนังเซลล์มีโครงสร้างเหมือน Enterobacteriaceae ซึ่งประกอบด้วยลิโพพอลิแซ็กคาไรด์ (Lipopolysaccharide, LPS) ต้องการออกซิเจนในการเจริญแต่ก็เพิ่มจำนวนได้ช้า ๆ ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนถ้ามีไนเทรตเป็นตัวรับอิเล็กตรอน เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิกว้างระหว่าง 20-42 องศาเซลเซียส (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547) ชอบเจริญในที่ชื้นและสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ รวมทั้งในสภาพที่มีเกลือสูง ๆ สามารถใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งสร้างพลังงานได้ง่าย ๆ เช่น แอมโมเนีย (NH_4) เป็นแหล่งให้ไนโตรเจน อาจใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน (นันทนา อรุณฤกษ์, 2537)

P. aeruginosa สามารถเจริญได้ในอาหารธรรมดาที่ใช้แยกเชื้อ มักให้รงควัตถุสีเขียว โคโลนีขนาดใหญ่และแพร่กระจาย ดังภาพที่ 2 เมื่อเลี้ยงในอาหารผสมเลือดมักให้ลักษณะโคโลนีเป็นมันเงาคล้ายโลหะ (Metallic sheen) อาจเกิดการย่อยเม็ดเลือดแดง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวจะจับกันเป็นแผ่นที่ผิวหน้าอาหาร (Pellicle) ซึ่งแสดงว่าเชื้อชอบออกซิเจน (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)



ภาพที่ 2 *Pseudomonas aeruginosa* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Pseudomonas Isolation Agar (ภาพโดย พรพิมล สุดแสวง)

P. aeruginosa เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย พบได้ทั่วไปในน้ำ ดิน น้ำทิ้ง และของที่เน่าเสีย (สุวิมล กีรติพิบูล, 2546) ลำคอ อุจจาระของคนธรรมดา ซอกพับแขน ขา นอกจากนี้ยังพบในน้ำยาฆ่าเชื้อ สบู่ เฮกซาคลอโรฟีน ครีม โลชั่น วัสดุอุปกรณ์ข้างเตียงผู้ป่วย และเครื่องมือทางการแพทย์ต่าง ๆ ล้วนแต่เคยตรวจพบมาแล้วทั้งสิ้น การทนต่อสภาพแวดล้อมทั่วไป ทำให้ง่ายที่จะปนเปื้อนกับอุปกรณ์การแพทย์ต่าง ๆ เช่น การแช่เครื่องมือการแพทย์ในน้ำยาฆ่าเชื้อแล้วนำมาใช้ตรวจสอบภายในร่างกายผู้ป่วย เชื้อ *P. aeruginosa* เข้าไปในผู้ป่วยทำให้เกิดอาการติดเชื้อภายในรุนแรงจนถึงขั้นเสียชีวิต การติดเชื้อ *P. aeruginosa* จะพบในผู้ป่วยที่มีเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลน้อยกว่าปกติ ผู้ป่วยโรคเบาหวาน แผลไหม้รุนแรง ส่วนใหญ่การติดเชื้อมักเริ่มจากระบบหายใจส่วนล่าง ทางเดินปัสสาวะ ผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน ๆ โดยเฉพาะการติดเชื้อที่แผลไฟไหม้ และผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาโดยใช้เครื่องสวนหลอดปัสสาวะ การเกิดเยื่อบุหัวใจอักเสบพบในผู้ป่วยที่ได้รับยาทางหลอดเลือดดำ โดยแหล่งของการติดเชื้ออยู่ที่เครื่องมือที่ปนเปื้อน มักทำให้เกิดอาการลิ้นหัวใจอักเสบและเรื้อรัง (นันทนา อรุณฤกษ์, 2537) และผู้ที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกันมักเกิดการติดเชื้อได้ง่ายทำให้เชื้อเข้าสู่ร่างกายและเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดและปอดบวมตามมา (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์

1. วัสดุอุปกรณ์

1.1 ขวดรูปชมพู่

1.2 ชุดเครื่องแก้วกลั่นระเหย (Evaporation flask)

1.3 จานเพาะเชื้อ (Petri dish)

1.4 หัวกรองขนาด 0.20 ไมโครเมตร ยี่ห้อ Minisart RC 25 ประเทศเยอรมนี

1.5 กระดาษกรอง Whatman filter No.1 ประเทศอังกฤษ

1.6 กระบอกตวง (Cylinder)

1.7 บีกเกอร์ (Beaker)

1.8 แท่งแก้วสามเหลี่ยม (Spreader)

2. เครื่องมือ

2.1 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler รุ่น PG 802-S ประเทศสวิสเซอร์แลนด์

2.2 ไมโครปิเปต (Micropipette) ยี่ห้อ Gilson รุ่น N21808C ประเทศฝรั่งเศส

2.3 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ยี่ห้อ Tomy autoclave รุ่น SS-325 ประเทศญี่ปุ่น

2.4 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) ยี่ห้อ Memmert รุ่น KG 8540 ประเทศเยอรมนี

2.5 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ยี่ห้อ Memmert รุ่น BE400 ประเทศเยอรมนี

2.6 กล้องจุลทรรศน์ ยี่ห้อ Olympus รุ่น CH30RE200 ประเทศเยอรมนี

2.7 เครื่องกรองแบบสุญญากาศ (Vacuum pump) ยี่ห้อ Thomas รุ่น DOA-V130-BN ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.8 เครื่องปั่น (Blender) ยี่ห้อ Moulinex รุ่น AW9 ประเทศอินโดนีเซีย

2.9 ตู้เย็น ยี่ห้อ Sanden รุ่น Intercool ประเทศไทย

2.10 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ Memmert รุ่น 854 Schwabach ประเทศเยอรมนี

2.11 เครื่องกลั่นระเหยแห้ง (Rotary evaporator) ยี่ห้อ Buchi รุ่น R-205/V Basic ประเทศสวิสเซอร์แลนด์

2.12 Laminar flow biological safety cabinet ยี่ห้อ Super Clean รุ่น 150 VC ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.13 เครื่องเขย่า (Shaker) ยี่ห้อ PNP Green SSeriker II ประเทศไทย

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1 0.1% (w/v) Peptone water ยี่ห้อ Difco ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.2 Plate count agar (PCA) ยี่ห้อ Difco ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.3 Baird-Parker Egg Yolk Tellurite Agar ยี่ห้อ Difco ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.4 Hektoen Enteric agar ยี่ห้อ Difco ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.5 Pseudomonas Isolation Agar ยี่ห้อ Himedia ประเทศอินเดีย

4. แบคทีเรีย

4.1 *Edwardsiella tarda* biogroup 1 DS002

4.2 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) T18

4.3 *Pseudomonas aeruginosa* DS001

5. สมุนไพร

5.1 สมุนไพร A

5.2 สมุนไพร B

5.3 สมุนไพร C

เนื่องจากอาจจะมีการนำผลการศึกษาไปจดสิทธิบัตรหรืออนุสิทธิบัตร จึงต้องมีการปกปิดชื่อสมุนไพรในเบื้องต้น

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การเตรียมสารสกัดสมุนไพร (ดัดแปลงมาจาก Quave et al., 2008)

นำสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ สมุนไพร A สมุนไพร B และสมุนไพร C มาหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 48-72 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น นำสมุนไพรแต่ละชนิดมาสกัด (ขอสงวนวิธีเพื่ออาจจะจดอนุสิทธิบัตรและสิทธิบัตร) แล้วนำสารสกัดสมุนไพรที่ได้มาหา % yield ตามวิธีการของ AOAC (1990) จากนั้นนำไปเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

สูตรการคำนวณหา % yield

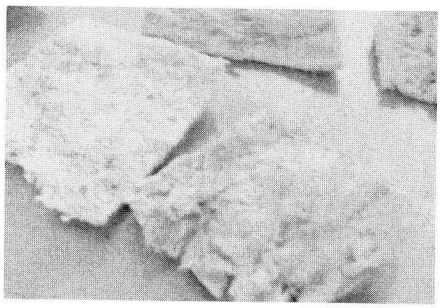
$$\text{ปริมาณสารที่สกัดได้ (Extract yield) (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดสมุนไพรหลังจากระเหยตัวทำละลายออก (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักแห้งของสมุนไพร (กรัม)}}$$

2. การเตรียมแบคทีเรียก่อโรค

แบคทีเรียก่อโรคที่นำมาทดสอบมี 3 ชนิด คือ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) T18, *Pseudomonas aeruginosa* DS001 และ *Edwardsiella tarda* biogroup 1 DS002 ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคที่แยกได้จากอาหารทะเลแห้ง จากห้องปฏิบัติการของรองศาสตราจารย์ ดร. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

3. การทดสอบสารสกัดสมุนไพร A และสารสกัดสมุนไพร B ในการควบคุมแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรคที่นำมาทดสอบที่ปนเปื้อนในหมึกแปรรูป (ดัดแปลงจาก Zhang et al., 2009)

ตัดหมึกแปรรูปให้มีขนาดกว้าง x ยาว เท่ากับ 2x2 เซนติเมตร (ภาพที่ 3) จากนั้นแบ่งการทดลองออกเป็น 13 ชุดการทดลอง ดังตารางที่ 1



ภาพที่ 3 หมึกแปรรูปขนาดกว้าง x ยาว เท่ากับ 2x2 เซนติเมตร

ตารางที่ 1 การออกแบบการทดลองในการศึกษาการควบคุมแบคทีเรียด้วยสารสกัดสมุนไพร A หรือสารสกัดสมุนไพร B

ชุดการทดลอง	ชนิดสารสกัด	ชนิดของแบคทีเรีย
1	เติมน้ำกลั่นแทนสารสกัด	ไม่เติมแบคทีเรีย
2	เติมสารละลายสารสกัด*	ไม่เติมแบคทีเรีย
3	ไม่เติมสารสกัด	MRSA T18
4	ไม่เติมสารสกัด	*P. aeruginosa* DS001
5	ไม่เติมสารสกัด	*E. tarda* biogroup 1 DS002
6	สมุนไพร A	ไม่เติมแบคทีเรีย
7	สมุนไพร A	MRSA T18
8	สมุนไพร A	*P. aeruginosa* DS001
9	สมุนไพร A	*E. tarda* biogroup 1 DS002
10	สมุนไพร B	ไม่เติมแบคทีเรีย
11	สมุนไพร B	MRSA T18
12	สมุนไพร B	*P. aeruginosa* DS001
13	สมุนไพร B	*E. tarda* biogroup 1 DS002

* ขอปกปิดเพื่อการจดอนุสิทธิบัตร/ สิทธิบัตร

เติมเชื้อ MRSA T18, *P. aeruginosa* DS001 หรือ *E. tarda* biogroup 1 DS002 โดยปิเปตเชื้อที่มีปริมาณเซลล์เท่ากับ 1.0×10^{4} CFU/mL ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนตัวอย่างหมึกแปรรูป จากนั้นเกลี่ยแบคทีเรียทดสอบให้ทั่วผิวหน้าของตัวอย่างอาหารทะเลแห้ง เติมสารสกัดความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนตัวอย่างหมึกแปรรูป นำตัวอย่างหมึกแปรรูปมาผึ่งให้แห้งในตู้ Laminar flow biological safety carbinet เป็นเวลา 15 นาที นำหมึกแปรรูปมาเก็บรักษาในถุงพลาสติกโดยแยกใส่ชิ้นละ 1 ถุง แล้วนำมาแช่เย็นในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำหมึกแปรรูปมาตรวจนับปริมาณแบคทีเรียในวันที่ 0, 1, 2, 3, 7, 14, 21 และ 28 ของการทดลอง

4. การตรวจนับปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด (Total heterotrophic bacteria; ดัดแปลงจาก Jeyasekaran et al., 2004)

เติม 0.1% (w/v) Peptone water ปริมาตร 4.5 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างหมึกแปรรูป 1 ชิ้น จากนั้นนำไปตีผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้ตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 10^{-1} ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงใน 0.1% (w/v) Peptone water ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 10^{-2} แล้วเจือจางต่อจนถึงระดับความเจือจาง 10^{-3} ปิเปตตัวอย่างของแต่ละระดับความเจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมปราศจากเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วจานเพาะเชื้อด้วยเทคนิค

Spread plate นำจานเพาะเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 35±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และบันทึกผล

5. การตรวจนับปริมาณแบคทีเรียก่อโรค (MRSA T18, *P. aeruginosa* DS001 และ *E. tarda* biogroup 1 DS002; ดัดแปลงจาก Keskin and Ekmekci, 2007; Normanno et al., 2005; Wei et al., 2012)

เติม 0.1% (w/v) Peptone water ปริมาตร 4.5 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างหมึกแปรรูป 1 ชิ้น จากนั้นนำไปตีผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้ตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 10^{-1} ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงใน 0.1% (w/v) Peptone water ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 10^{-2} แล้วเจือจางต่อจนถึงระดับความเจือจาง 10^{-3} ปิเปตตัวอย่างของแต่ละระดับความเจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker Egg Yolk Tellurite Agar สำหรับตรวจนับ MRSA อาหารเลี้ยงเชื้อ Pseudomonas Isolation Agar สำหรับตรวจนับ *P. aeruginosa* DS001 และอาหารเลี้ยงเชื้อ Hektoen Enteric agar สำหรับตรวจนับ *E. tarda* biogroup 1 ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมปราศจากเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วจานเพาะเชื้อด้วยเทคนิค Spread plate นำจานเพาะเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 35±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และบันทึกผล

จากผลการศึกษาการประยุกต์ใช้สารสกัดสมุนไพร A หรือสารสกัดสมุนไพร B ในการควบคุมปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด คือ MRSA T18, *P. aeruginosa* DS001 และ *E. tarda* biogroup 1 DS002 พบว่าสารสกัดทั้ง 2 ชนิดนี้ไม่มีคุณสมบัติในการควบคุมการเจริญของแบคทีเรียทดสอบทุกชนิด ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อมาจึงออกแบบการทดลองในการประยุกต์ใช้สารสกัดผสมของสมุนไพร ได้แก่ สารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C ในการควบคุมปริมาณแบคทีเรียดังกล่าว โดยมีขั้นตอนการดำเนินการทดลอง ดังนี้

6. สารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C ในการควบคุมแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรคที่นำมาทดสอบที่ปนเปื้อนในหมึกแปรรูป (ดัดแปลงจาก Zhang et al, 2009)

การเตรียมตัวอย่างหมึกแปรรูปดำเนินการเช่นเดียวกับการศึกษาการควบคุมแบคทีเรียด้วยสารสกัดเดี่ยวดังที่กล่าวมาแล้ว และมีการแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 14 ชุดการทดลอง ดังตารางที่ 2 จากนั้นนำหมึกแปรรูปมาตรวจนับปริมาณแบคทีเรียทั้ง 4 กลุ่ม ในวันที่ 0, 2, 4, 7, 14, 21 และ 28 ของการทดลอง ด้วยวิธีการทดลองเช่นเดียวกับการศึกษาการควบคุมแบคทีเรียด้วยสารสกัดเดี่ยวดังที่กล่าวมาแล้ว

ตารางที่ 2 การออกแบบการทดลองในการศึกษาการควบคุมแบคทีเรียด้วยสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C

ชุดการทดลอง	ชนิดสารสกัด	ชนิดของแบคทีเรีย
1	เติมน้ำกลั่นแทนสารสกัด	ไม่เติมแบคทีเรีย
2	เติมสารละลายสารสกัด*	ไม่เติมแบคทีเรีย
3	เติม DMSO 10% แทนสารสกัด	ไม่เติมแบคทีเรีย
4	ไม่เติมสารสกัดผสม	MRSA T18
5	ไม่เติมสารสกัดผสม	*P. aeruginosa* DS001
6	ไม่เติมสารสกัดผสม	*E. tarda* biogroup 1 DS002
7	สมุนไพร A กับสมุนไพร C	ไม่เติมแบคทีเรีย
8	สมุนไพร A กับสมุนไพร C	MRSA T18
9	สมุนไพร A กับสมุนไพร C	*P. aeruginosa* DS001
10	สมุนไพร A กับสมุนไพร C	*E. tarda* biogroup 1 DS002
11	สมุนไพร B กับสมุนไพร C	ไม่เติมแบคทีเรีย
12	สมุนไพร B กับสมุนไพร C	MRSA T18
13	สมุนไพร B กับสมุนไพร C	*P. aeruginosa* DS001
14	สมุนไพร B กับสมุนไพร C	*E. tarda* biogroup 1 DS002

* ขอปกปิดเพื่อการจดอนุสิทธิบัตร/ สิทธิบัตร

7. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean ± Standard deviation) และทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของการทดลองโดยใช้ One - way ANOVA โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 19 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($P<0.05$)

8. การประเมินเบื้องต้นถึงความเหมาะสมของการเติมสารสกัดสมุนไพรที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตอาหารทะเลแห้งและแปรรูป

ทำการศึกษาถึงกระบวนการผลิตอาหารทะเลแห้งและแปรรูปทุกขั้นตอน โดยใช้อาหารทะเลแห้งและแปรรูปที่มีแนวโน้มที่จะคุ้มทุนและเหมาะสมต่อการเติมสมุนไพร ยกตัวอย่างเช่น หมึกแปรรูปที่พบว่ามีการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ในปริมาณสูง เพื่อทำการประเมินเบื้องต้นที่จะนำมาสู่ในการประยุกต์ใช้สารสกัดพืชสมุนไพรในกระบวนการผลิตอาหารทะเลแห้งและแปรรูปต่อไป

บทที่ 4
ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสารสกัดเดี่ยวจากสมุนไพร A และสมุนไพร B รวมทั้งสารสกัดผสมระหว่างสารสกัดสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรคในหมึกแห้งแปรรูป ได้ผลการทดลองดังนี้

1. ผลของสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรค (MRSA T18, *P. aeruginosa* DS001 และ *E. tarda* biogroup 1 DS002) ในหมึกแห้งแปรรูป

1.1 ผลของสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในหมึกแห้งแปรรูป

จากการศึกษาผลของสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในหมึกแห้งแปรรูปบนอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย PCA พบว่าชุดการทดลองทั้ง 13 ชุด มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดอยู่ในช่วง $7.30 \pm 2.70 \times 10^4$ ถึง $2.05 \pm 0.07 \times 10^5$ CFU/g ในวันแรกของการทดลอง และในวันสุดท้ายของการทดลองมีปริมาณอยู่ระหว่าง $6.60 \pm 0.70 \times 10^4$ ถึง $1.23 \pm 0.09 \times 10^5$ CFU/g ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดสมุนไพร A และสมุนไพร B ไม่มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในหมึกแปรรูป ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลของสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในหมึกแห้งแปรรูป (CFU/g)

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการทดลอง (วัน)							
	0	1	2	3	7	14	21	28
T1	$1.06\pm0.20\times10^{5\ a,123}$	$1.69\pm0.06\times10^{5\ a,1}$	$6.86\pm1.76\times10^{4\ a,3}$	$1.54\pm0.99\times10^{5\ a,12}$	$9.45\pm0.15\times10^{4\ a,23}$	$1.16\pm0.06\times10^{5\ a,123}$	$1.01\pm0.25\times10^{5\ a,123}$	$7.30\pm0.30\times10^{4\ ab,3}$
T2	$2.05\pm0.77\times10^{5\ a,1}$	$1.13\pm0.15\times10^{5\ a,2}$	$9.90\pm1.56\times10^{4\ a,2}$	$1.26\pm0.48\times10^{5\ a,12}$	$9.13\pm3.27\times10^{4\ a,2}$	$1.11\pm0.19\times10^{5\ a,2}$	$8.23\pm2.35\times10^{4\ b,2}$	$7.93\pm1.40\times10^{4\ ab,2}$
T3	$1.74\pm0.25\times10^{5\ a,1}$	$1.03\pm0.02\times10^{5\ a,34}$	$8.87\pm1.86\times10^{4\ a,45}$	$1.20\pm0.09\times10^{5\ a,23}$	$8.63\pm1.35\times10^{4\ a,45}$	$1.26\pm0.10\times10^{5\ a,23}$	$1.29\pm0.04\times10^{5\ a,2}$	$7.70\pm0.20\times10^{4\ ab,5}$
T4	$1.53\pm0.08\times10^{5\ a,1}$	$1.01\pm0.24\times10^{5\ a,12}$	$5.27\pm0.81\times10^{4\ ab,3}$	$4.83\pm0.55\times10^{4\ bc,3}$	$1.04\pm0.21\times10^{5\ a,2}$	$1.09\pm0.12\times10^{5\ a,2}$	$9.13\pm1.76\times10^{4\ ab,2}$	$9.40\pm0.30\times10^{4\ a,2}$
T5	$1.12\pm0.70\times10^{5\ a,2}$	$7.50\pm1.96\times10^{4\ ab,2}$	$8.90\pm0.60\times10^{4\ a,2}$	$6.73\pm1.70\times10^{4\ b,2}$	$1.50\pm0.00\times10^{5\ a,3}$	$1.10\pm0.13\times10^{5\ a,2}$	$1.67\pm0.17\times10^{5\ a,1}$	$9.30\pm0.40\times10^{4\ a,2}$
T6	$1.02\pm0.17\times10^{5\ a,1}$	$1.10\pm0.45\times10^{5\ a,1}$	$4.97\pm1.10\times10^{4\ b,2}$	$8.33\pm4.75\times10^{4\ ab,12}$	$9.10\pm1.90\times10^{4\ a,12}$	$1.00\pm0.16\times10^{5\ a,12}$	$9.33\pm5.69\times10^{4\ ab,12}$	$9.40\pm1.39\times10^{4\ a,12}$
T7	$1.12\pm0.07\times10^{5\ a,1}$	$1.17\pm0.14\times10^{5\ a,1}$	$9.03\pm3.79\times10^{4\ a,1}$	$9.00\pm1.85\times10^{4\ ab,1}$	$9.63\pm0.05\times10^{4\ a,1}$	$1.06\pm0.13\times10^{5\ a,1}$	$9.70\pm0.60\times10^{4\ ab,1}$	$1.03\pm0.27\times10^{5\ a,1}$
T8	$1.12\pm0.16\times10^{5\ a,1}$	$8.00\pm1.18\times10^{4\ a,23}$	$4.70\pm1.51\times10^{4\ b,4}$	$7.20\pm0.70\times10^{4\ b,34}$	$9.53\pm0.05\times10^{4\ a,123}$	$1.05\pm0.29\times10^{5\ a,12}$	$7.40\pm0.46\times10^{4\ b,234}$	$1.04\pm0.26\times10^{5\ a,12}$
T9	$9.60\pm1.60\times10^{4\ a,23}$	$7.80\pm2.14\times10^{4\ ab,3}$	$7.13\pm1.35\times10^{4\ a,3}$	$7.60\pm0.85\times10^{4\ b,2}$	$9.23\pm2.40\times10^{4\ a,3}$	$9.03\pm1.53\times10^{4\ a,3}$	$1.19\pm0.10\times10^{5\ a,12}$	$1.23\pm0.09\times10^{5\ a,1}$
T10	$7.30\pm2.70\times10^{4\ a,123}$	$8.10\pm3.36\times10^{4a,12}$	$4.86\pm1.35\times10^{4\ b,34}$	$3.70\pm0.20\times10^{4\ c,3}$	$6.70\pm0.80\times10^{4\ ab,23}$	$8.00\pm0.20\times10^{4\ ab,12}$	$8.50\pm0.10\times10^{4\ b,12}$	$9.85\pm0.05\times10^{4\ a,1}$
T11	$1.12\pm0.19\times10^{5\ a,1}$	$8.40\pm2.05\times10^{4\ a,23}$	$5.93\pm1.31\times10^{4\ ab,3}$	$8.40\pm0.27\times10^{4\ ab,23}$	$9.40\pm1.15\times10^{4\ a,12}$	$1.03\pm0.19\times10^{5\ a,12}$	$8.16\pm1.12\times10^{4\ b,23}$	$9.25\pm0.55\times10^{4\ a,12}$
T12	$1.15\pm0.15\times10^{5\ a,1}$	$8.60\pm2.49\times10^{4\ a,12}$	$5.70\pm3.87\times10^{4\ ab,2}$	$7.95\pm2.85\times10^{4\ b,12}$	$8.30\pm0.10\times10^{4\ a,12}$	$7.50\pm1.87\times10^{4\ ab,12}$	$7.16\pm1.99\times10^{4\ b,2}$	$6.60\pm0.70\times10^{4\ ab,2}$
T13	$1.10\pm0.63\times10^{5\ a,1}$	$5.70\pm0.68\times10^{4\ b,2}$	$5.96\pm3.21\times10^{4\ ab,12}$	$6.50\pm0.55\times10^{4\ b,12}$	$8.20\pm1.50\times10^{4\ a,12}$	$8.30\pm1.42\times10^{4\ a,12}$	$1.07\pm0.45\times10^{5\ a,12}$	$8.40\pm1.30\times10^{4\ a,12}$

หมายเหตุ

อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตัวเลขที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

T1 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 1 เติมน้ำกลั่นแทนสารสกัด)

T2 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 2 เติมเอทานอล 40% แทนสารสกัด)

T3 ไม่เติมสารสกัดสมุนไพร A และสมุนไพร B เติม MRSA T18

T4 ไม่เติมสารสกัดสมุนไพร A และสมุนไพร B เติม *P. aeruginosa* DS001

T5 ไม่เติมสารสกัดสมุนไพร A และสมุนไพร B เติม *E. tarda* biogroup 1 DS002

T6 เติมสารสกัดสมุนไพร A ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

T7 เติมสารสกัดสมุนไพร A เติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T8 เติมสารสกัดสมุนไพร A เติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T9 เติมสารสกัดสมุนไพร A เติมแบคทีเรียก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

T10 เติมสารสกัดสมุนไพร B และไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

T11 เติมสารสกัดสมุนไพร B และเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T12 เติมสารสกัดสมุนไพร B และเติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T13 เติมสารสกัดสมุนไพร B และเติมแบคทีเรียก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

1.2 ผลของสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อปริมาณแบคทีเรีย MRSA T18 ในหมึกแห้งแปรรูป

จากการศึกษาผลของสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อปริมาณแบคทีเรีย MRSA T18 ในหมึกแห้งแปรรูปบนอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย BPA พบปริมาณแบคทีเรีย MRSA T18 อยู่ในช่วง 4.70 ± 0.52x10^4 ถึง 8.27 ± 0.63x10^4 CFU/g ในวันแรกของการทดลอง และในวันสุดท้ายของการทดลองมีปริมาณแบคทีเรีย MRSA T18 อยู่ในช่วง 2.67±1.05x10^4 ถึง 3.77±0.32x10^4 CFU/g และพบว่ามีการเจริญของ MRSA T18 บนอาหาร BPA ในชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรีย MRSA T18 ลงไปเท่านั้นคือ T3, T7 และ T11 เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณแบคทีเรีย MRSA T18 ที่พบในวันแรกของการทดลองและวันสุดท้ายของการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) นอกจากนี้เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B (T3) กับชุดการทดลองที่เติมสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A (T7) และสมุนไพร B (T11) พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดสมุนไพร A และสารสกัดสมุนไพร B ไม่มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย MRSA T18 ที่เติมในหมึกแห้งแปรรูป ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลของสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อปริมาณแบคทีเรีย MRSA T18 ในหมึกแห้งแปรรูป (CFU/g)

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการทดลอง (วัน)							
	0	1	2	3	7	14	21	28
T1	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T2	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T3	$8.27\pm0.63\times10^{4\ a,1}$	$5.63\pm0.15\times10^{4\ a,1}$	$5.90\pm0.26\times10^{4\ a,1}$	$4.70\pm0.61\times10^{4\ a,1}$	$5.77\pm0.76\times10^{4\ a,1}$	$6.87\pm0.61\times10^{4\ a,1}$	$5.83\pm0.67\times10^{4\ a,1}$	$3.77\pm0.32\times10^{4\ a,1}$
T4	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T5	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T6	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T7	$4.70\pm0.52\times10^{4\ a,12}$	$5.20\pm0.85\times10^{4\ a,12}$	$5.07\pm1.46\times10^{4\ a,12}$	$3.80\pm0.53\times10^{4\ a,23}$	$4.00\pm0.90\times10^{4\ a,123}$	$3.80\pm0.10\times10^{4\ a,123}$	$5.30\pm0.26\times10^{4\ a,1}$	$2.93\pm0.40\times10^{4\ a,3}$
T8	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T9	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T10	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T11	$5.16\pm0.40\times10^{4\ a,1}$	$2.73\pm0.64\times10^{4\ b,2}$	$3.90\pm0.52\times10^{4\ a,12}$	$2.70\pm0.17\times10^{4\ a,2}$	$3.76\pm0.15\times10^{4\ a,12}$	$3.03\pm2.14\times10^{4\ a,2}$	$3.95\pm0.06\times10^{4\ a,12}$	$2.67\pm1.05\times10^{4\ a,2}$
T12	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T13	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$

หมายเหตุ

อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตัวเลขที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

T1 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 1 เติมน้ำกลั่นแทนสารสกัด)

T2 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 2 เติมเอทานอล 40% แทนสารสกัด)

T3 ไม่เติมสารสกัดสมุนไพร A และสมุนไพร B เติม MRSA T18

T4 ไม่เติมสารสกัดสมุนไพร A และสมุนไพร B เติม *P. aeruginosa* DS001

T5 ไม่เติมสารสกัดสมุนไพร A และสมุนไพร B เติม *E. tarda* biogroup 1 DS002

T6 เติมสารสกัดสมุนไพร A ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

T7 เติมสารสกัดสมุนไพร A เติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T8 เติมสารสกัดสมุนไพร A เติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T9 เติมสารสกัดสมุนไพร A เติมแบคทีเรียก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

T10 เติมสารสกัดสมุนไพร B และไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

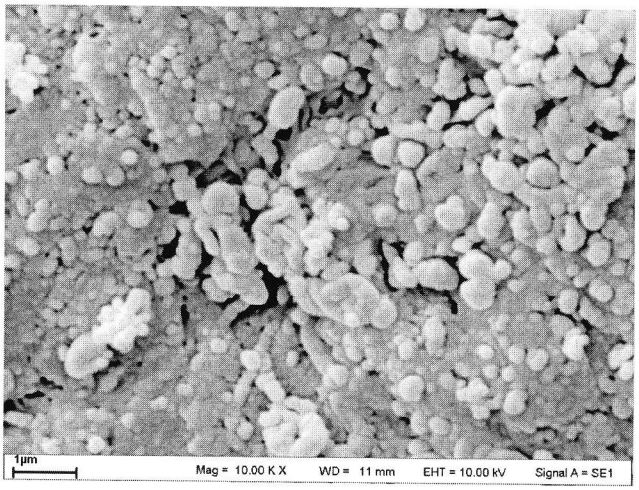
T11 เติมสารสกัดสมุนไพร B และเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T12 เติมสารสกัดสมุนไพร B และเติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T13 เติมสารสกัดสมุนไพร B และเติมแบคทีเรียก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

1.3 ผลของสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อปริมาณแบคทีเรีย *P. aeruginosa* DS001 ในหมึกแห้งแปรรูป

จากการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพร A ต่อปริมาณแบคทีเรีย *P. aeruginosa* DS001 ในหมึกแห้งแปรรูปบนอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย PIA สามารถพบการเจริญของ *P. aeruginosa* DS001 ในชุดการทดลองที่ 4 (ไม่เติมสารสกัดสมุนไพร A หรือสมุนไพร B เติม *P. aeruginosa* DS001) ชุดการทดลองที่ 8 (เติมสารสกัดสมุนไพร A เติม *P. aeruginosa* DS001 และชุดการทดลองที่ 12 เติมสารสกัดสมุนไพร B เติม *P. aeruginosa* DS001) ได้ในวันแรกของการทดลองเท่านั้น โดยมีปริมาณแบคทีเรียอยู่ในช่วง 2.00 ± 0.00x10^2 และ 5.67 ± 2.52x10^2 CFU/g ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดสมุนไพร A และสารสกัดสมุนไพร B ไม่มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *P. aeruginosa* DS001 ที่เติมลงในหมึกแห้งแปรรูป ดังแสดงในตารางที่ 5



ภาพที่ 4 ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของหมึกแปรรูปที่เติมสารสกัดสมุนไพร B เติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

ตารางที่ 5 ผลของสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อปริมาณแบคทีเรีย *P. aeruginosa* DS001 ในหมึกแห้งแปรรูป (CFU/g)

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการทดลอง (วัน)							
	0	1	2	3	7	14	21	28
T1	$<10^{b}$	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
T2	$<10^{b}$	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
T3	$<10^{b}$	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
T4	$5.67\pm2.52\times10^{2\ a,1}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	<10
T5	$<10^{b}$	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
T6	$<10^{b}$	<10	<10	<10	<10	<10	<10	$<10^{b}$
T7	$<10^{b}$	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
T8	$2.00\pm0.00\times10^{2\ a,1}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$
T9	$<10^{b}$	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
T10	$<10^{b}$	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
T11	$<10^{b}$	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
T12	$3.33\pm5.77\times10^{2\ a,1}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$
T13	$<10^{b}$	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

หมายเหตุ

อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตัวเลขที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

T1 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 1 เติมน้ำกลั่นแทนสารสกัด)

T2 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 2 เติมเอทานอล 40% แทนสารสกัด)

T3 ไม่เติมสารสกัดสมุนไพร A และสมุนไพร B เติม MRSA T18

T4 ไม่เติมสารสกัดสมุนไพร A และสมุนไพร B เติม *P. aeruginosa* DS001

T5 ไม่เติมสารสกัดสมุนไพร A และสมุนไพร B เติม *E. tarda* biogroup 1 DS002

T6 เติมสารสกัดสมุนไพร A ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

T7 เติมสารสกัดสมุนไพร A เติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T8 เติมสารสกัดสมุนไพร A เติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T9 เติมสารสกัดสมุนไพร A เติมแบคทีเรียก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

T10 เติมสารสกัดสมุนไพร B และไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

T11 เติมสารสกัดสมุนไพร B และเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T12 เติมสารสกัดสมุนไพร B และเติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T13 เติมสารสกัดสมุนไพร B และเติมแบคทีเรียก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

1.4 ผลของสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อปริมาณแบคทีเรีย *E. tarda* biogroup 1 DS002 ในหมึกแห้งแปรรูป

จากการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อ *E. tarda* biogroup 1 DS002 ในหมึกแห้งแปรรูปพบการเจริญของ *E. tarda* biogroup 1 DS002 เฉพาะในชุดการทดลองที่เติม *E. tarda* biogroup 1 DS002 เท่านั้น (ชุดการทดลองที่ 5, 9 และ 13) ซึ่งพบว่าปริมาณ *E. tarda* biogroup 1 DS002 ในวันแรกของการทดลองมีค่าเท่ากับ $1.13\pm0.45\times10^{3}$ – $6.30\pm0.62\times10^{3}$ CFU/g และมีปริมาณคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง ซึ่งมีค่าเท่ากับ $1.30\pm0.26\times10^{3}$ – $2.07\pm0.83\times10^{3}$ CFU/g ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบชุดการทดลองที่เติมและไม่เติมสารสกัดสมุนไพร A หรือสมุนไพร B มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารสกัดสมุนไพร A และสมุนไพร B ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *E. tarda* biogroup 1 DS002 ดังแสดงผลในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ผลของสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อแบคทีเรีย *E. tarda* biogroup 1 DS002 ในหมึกแห้งแปรรูป (CFU/g)

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการทดลอง (วัน)							
	0	1	2	3	7	14	21	28
T1	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$
T2	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$
T3	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$
T4	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$
T5	$6.30\pm0.62\times10^{3\ a,1}$	$7.10\pm0.50\times10^{3\ a,1}$	$5.33\pm0.56\times10^{3\ a,2}$	$3.85\pm0.25\times10^{5\ a,34}$	$4.60\pm0.40\times10^{3\ a,23}$	$3.00\pm0.62\times10^{3\ a,4}$	$4.10\pm0.10\times10^{3\ a,3}$	$2.07\pm0.83\times10^{3\ a,5}$
T6	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$
T7	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$
T8	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$
T9	$1.13\pm0.45\times10^{3\ b,5}$	$2.25\pm0.15\times10^{3\ b,2}$	$3.00\pm0.10\times1^{3\ b,1}$	$1.55\pm0.05\times10^{3\ a,34}$	$2.95\pm0.05\times10^{3\ a,1}$	$1.27\pm0.11\times10^{3\ a,45}$	$1.00\pm0.00\times10^{3\ c,5}$	$1.67\pm0.25\times10^{3\ a,3}$
T10	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$
T11	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$
T12	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$
T13	$1.70\pm0.36\times10^{3\ b,12}$	$2.10\pm0.20\times10^{3\ b,12}$	$2.60\pm1.20\times10^{3\ b,1}$	$1.55\pm0.05\times10^{3\ a,12}$	$1.47\pm0.56\times10^{3\ a,2}$	$1.30\pm0.52\times10^{3\ a,2}$	$1.03\pm0.66\times10^{3\ b,2}$	$1.30\pm0.26\times10^{3\ a,2}$

หมายเหตุ

อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตัวเลขที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

T1 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 1 เติมน้ำกลั่นแทนสารสกัด)

T2 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 2 เติมเอทานอล 40% แทนสารสกัด)

T3 ไม่เติมสารสกัดสมุนไพร A และสมุนไพร B เติม MRSA T18

T4 ไม่เติมสารสกัดสมุนไพร A และสมุนไพร B เติม *P. aeruginosa* DS001

T5 ไม่เติมสารสกัดสมุนไพร A และสมุนไพร B เติม *E. tarda* biogroup 1 DS002

T6 เติมสารสกัดสมุนไพร A ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

T7 เติมสารสกัดสมุนไพร A เติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T8 เติมสารสกัดสมุนไพร A เติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T9 เติมสารสกัดสมุนไพร A เติมแบคทีเรียก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

T10 เติมสารสกัดสมุนไพร B และไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

T11 เติมสารสกัดสมุนไพร B และเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T12 เติมสารสกัดสมุนไพร B และเติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T13 เติมสารสกัดสมุนไพร B และเติมแบคทีเรียก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

2. ผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรค (MRSA T18, *P. aeruginosa* DS001 และ *E. tarda* biogroup 1 DS002) ในหมึกแห้งแปรรูป

จากผลการศึกษาการประยุกต์ใช้สารสกัดสมุนไพร A หรือสารสกัดสมุนไพร B ในการควบคุมปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด คือ MRSA T18, *P. aeruginosa* DS001 และ *E. tarda* biogroup 1 DS002 พบว่าสารสกัดทั้ง 2 ชนิดนี้ไม่มีคุณสมบัติในการควบคุมการเจริญของแบคทีเรียทดสอบทุกชนิด ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อมาจึงออกแบบการทดลองในการประยุกต์ใช้สารสกัดผสมของสมุนไพร ได้แก่ สารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C ในการควบคุมปริมาณแบคทีเรียดังกล่าว โดยมีผลการทดลองดังนี้

2.1 ผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในหมึกแห้งแปรรูป

จากการศึกษาผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในหมึกแห้งแปรรูปบนอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย PCA พบว่าชุดการทดลองทั้ง 14 ชุดมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดอยู่ในช่วง $8.43 \pm 1.55 \times 10^{4}$ ถึง $1.50 \pm 0.00 \times 10^{5}$ CFU/g ในวันแรกของการทดลอง ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) หลังจากนั้นแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดมีปริมาณเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยตลอดระยะเวลาการทดลอง 28 วัน และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ยกเว้นชุดการทดลองที่ 7 ในวันที่ 28 ของการทดลอง ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากอิทธิพลร่วมกันของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า สารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C ไม่มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร Cสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในหมึกแห้งแปรรูป (CFU/g)

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการทดลอง (วัน)						
	0	2	4	7	14	21	28
T1	$9.43\pm0.15\times10^{4\ ab,1}$	$6.73\pm2.12\times10^{4\ ab,12}$	$4.80\pm0.50\times10^{4\ b,2}$	$1.16\pm0.06\times10^{5\ a,1}$	$1.01\pm0.25\times10^{5\ a,1}$	$7.30\pm0.30\times10^{4\ a,12}$	$6.40\pm0.20\times10^{4\ a,12}$
T2	$9.13\pm3.27\times10^{4\ ab,1}$	$8.53\pm1.05\times10^{4\ ab,1}$	$6.83\pm1.35\times10^{4\ ab,2}$	$1.11\pm0.19\times10^{5\ a,1}$	$8.23\pm2.35\times10^{4\ ab,1}$	$7.93\pm1.40\times10^{4\ a,12}$	$6.80\pm0.20\times10^{4\ a,2}$
T3	$8.43\pm1.55\times10^{4\ ab,12}$	$1.47\pm0.16\times10^{5\ a,1}$	$8.20\pm2.51\times10^{4\ a,12}$	$1.11\pm0.77\times10^{5\ a,1}$	$1.09\pm0.04\times10^{5\ a,1}$	$6.60\pm2.71\times10^{4\ a,2}$	$5.40\pm1.37\times10^{4\ ab,2}$
T4	$8.63\pm1.35\times10^{4\ ab,2}$	$1.32\pm0.32\times10^{5\ a,1}$	$1.45\pm0.24\times10^{5\ a,1}$	$1.26\pm0.10\times10^{5\ a,1}$	$1.29\pm0.03\times10^{5\ a,1}$	$7.70\pm0.20\times10^{4\ a,2}$	$7.07\pm0.15\times10^{4\ a,2}$
T5	$1.14\pm0.08\times10^{5\ a,1}$	$1.07\pm0.05\times15^{4\ a,1}$	$1.02\pm0.03\times10^{5\ a,1}$	$1.04\pm0.05\times10^{5\ a,1}$	$9.93\pm1.76\times10^{4\ a,12}$	$9.53\pm0.25\times10^{4\ a,2}$	$9.20\pm0.20\times10^{4\ a,2}$
T6	$1.50\pm0.00\times10^{5\ a,1}$	$1.00\pm0.20\times10^{5\ a,12}$	$1.20\pm0.04\times10^{5\ a,1}$	$1.10\pm0.13\times10^{5\ a,12}$	$1.67\pm0.17\times10^{5\ a,1}$	$9.30\pm0.40\times10^{4\ a,2}$	$8.50\pm2.31\times10^{4\ a,2}$
T7	$1.03\pm0.14\times10^{5\ a,1}$	$5.87\pm0.58\times10^{4\ b,2}$	$7.83\pm0.67\times10^{4\ ab,12}$	$7.27\pm1.72\times10^{4\ a,12}$	$8.00\pm0.80\times10^{4\ ab,12}$	$7.03\pm0.75\times10^{4\ a,12}$	$4.23\pm0.75\times10^{4\ b,2}$
T8	$1.24\pm0.08\times10^{5\ a,1}$	$1.32\pm0.06\times10^{5\ a,1}$	$1.06\pm0.06\times10^{5\ a,1}$	$1.44\pm0.12\times10^{5\ a,1}$	$1.24\pm0.11\times10^{5\ a,1}$	$6.43\pm0.15\times10^{4\ a,2}$	$6.03\pm0.25\times10^{4\ ab,2}$
T9	$1.21\pm0.19\times10^{5\ a,1}$	$7.73\pm1.45\times10^{4\ ab,12}$	$6.23\pm1.05\times10^{4\ ab,2}$	$6.77\pm1.04\times10^{4\ a,12}$	$5.23\pm0.15\times10^{4\ b,2}$	$8.60\pm0.60\times10^{4\ a,12}$	$5.30\pm2.17\times10^{4\ b,2}$
T10	$1.19\pm0.17\times10^{5\ a,1}$	$4.50\pm1.61\times10^{4\ b,3}$	$6.10\pm1.56\times10^{4\ ab,23}$	$8.60\pm0.70\times10^{4\ a,2}$	$1.21\pm0.22\times10^{5\ a,1}$	$8.30\pm1.23\times10^{4\ a,2}$	$8.20\pm0.20\times10^{4\ a,2}$
T11	$1.02\pm0.12\times10^{5\ a,1}$	$7.46\pm0.73\times10^{4\ ab,2}$	$9.25\pm0.05\times10^{4\ a,1}$	$1.03\pm0.25\times10^{5\ a,1}$	$9.50\pm0.30\times10^{4\ ab,1}$	$8.86\pm0.37\times10^{4\ a,12}$	$8.60\pm0.40\times10^{4\ a,12}$
T12	$8.70\pm0.20\times10^{4\ ab,1}$	$7.16\pm2.82\times10^{4\ ab,1}$	$6.30\pm2.21\times10^{4\ ab,1}$	$9.06\pm3.10\times10^{4\ a,1}$	$1.08\pm0.51\times10^{5\ a,1}$	$9.76\pm1.75\times10^{4\ a,1}$	$9.20\pm3.61\times10^{4\ a,1}$
T13	$1.15\pm0.49\times10^{5\ a,1}$	$8.10\pm2.07\times10^{4\ ab,12}$	$8.03\pm0.21\times10^{4\ a,12}$	$8.30\pm2.75\times10^{4\ a,12}$	$7.03\pm2.37\times10^{4\ ab,12}$	$6.80\pm2.69\times10^{4\ a,2}$	$6.60\pm0.36\times10^{4\ ab,2}$
T14	$1.02\pm0.07\times10^{5\ a,1}$	$7.25\pm0.05\times10^{4\ ab,23}$	$1.42\pm0.23\times10^{5\ a,1}$	$1.06\pm4.05\times10^{5\ a,1}$	$1.36\pm0.35\times10^{5\ a,1}$	$6.35\pm0.45\times10^{4\ a,3}$	$7.40\pm0.40\times10^{4\ a,23}$

หมายเหตุ

อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตัวเลขที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

T1 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 1 เติมน้ำกลั่น)

T2 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 2 เติมเอทานอล 40%)

T3 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 3 เติมสารละลาย DMSO 10%)

T4 ไม่เติมสารสกัดผสมสมุนไพรA กับสมุนไพรC และสมุนไพรB กับสมุนไพรC เติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T5 ไม่เติมสารสกัดและเติมก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T6 ไม่เติมสารสกัดและเติมก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

T7 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และไม่เติมก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

T8 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T9 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T10 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพรA กับสมุนไพรC และเติมแบคทีเรียก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

T11 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C และไม่เติมก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

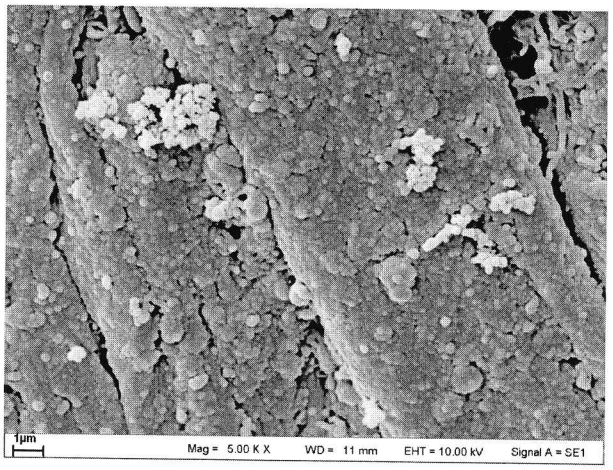
T12 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T13 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T14 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพรB กับสมุนไพรC และเติมแบคทีเรียก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

2.2 ผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อปริมาณแบคทีเรีย MRSA T18 ในหมึกแห้งแปรรูป

จากการศึกษาผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อปริมาณแบคทีเรีย MRSA T18 ในหมึกแห้งแปรรูปบนอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย BPA พบการเจริญของ MRSA T18 ในชุดการทดลองที่ 4 (ไม่เติมสารสกัดผสมและเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18) ชุดการทดลองที่ 6 (เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18) และชุดการทดลองที่ 12 (เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18) เท่านั้น และมีปริมาณแบคทีเรีย MRSA T18 อยู่ในช่วง $3.20 \pm 1.77 \times 10^4$ ถึง $5.77 \pm 0.76 \times 10^4$ CFU/g ในวันแรกของการทดลอง และมีปริมาณแบคทีเรีย MRSA T18 อยู่ในช่วง $1.70 \pm 0.31 \times 10^4$ ถึง $5.20 \pm 0.10 \times 10^4$ CFU/g ในวันสุดท้ายของการทดลอง เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณแบคทีเรีย MRSA T18 ที่พบในวันแรกของการทดลองและวันสุดท้ายของการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) นอกจากนี้เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดผสม (T4) ชุดการทดลองที่เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C (T8) และชุดทดลองที่เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C (T12) พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย MRSA T18 ที่เติมในหมึกแห้งแปรรูป ดังแสดงในตารางที่ 8



ภาพที่ 5 ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของหมึกแปรรูปที่เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

ตารางที่ 8 ผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อปริมาณแบคทีเรีย MRSA T18 ในหมึกแห้งแปรรูป (CFU/g)

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการทดลอง (วัน)						
	0	2	4	7	14	21	28
T1	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T2	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T3	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T4	$5.77 \pm 0.76 \times 10^{4\ a,1}$	$5.70 \pm 0.90 \times 10^{4\ a,1}$	$4.77 \pm 0.91 \times 10^{4\ a,1}$	$6.87 \pm 0.61 \times 10^{4\ a,1}$	$5.83 \pm 0.67 \times 10^{4\ a,1}$	$3.77 \pm 0.32 \times 10^{4\ a,1}$	$5.20 \pm 0.10 \times 10^{4\ a,1}$
T5	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T6	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T7	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T8	$3.96 \pm 0.67 \times 10^{4\ a,1}$	$4.00 \pm 0.92 \times 10^{4\ a,1}$	$3.93 \pm 0.63 \times 10^{4\ a,1}$	$3.93 \pm 0.95 \times 10^{4\ a,1}$	$3.20 \pm 0.70 \times 10^{4\ a,1}$	$4.67 \pm 0.72 \times 10^{4\ a,1}$	$4.63 \pm 0.58 \times 10^{4\ a,1}$
T9	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T10	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T11	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T12	$3.20 \pm 1.77 \times 10^{4\ a,1}$	$3.16 \pm 0.57 \times 10^{4\ a,1}$	$2.65 \pm 0.55 \times 10^{4\ a,1}$	$3.75 \pm 0.06 \times 10^{4\ a,1}$	$2.16 \pm 0.33 \times 10^{4\ a,1}$	$1.97 \pm 0.29 \times 10^{4\ a,1}$	$1.70 \pm 0.31 \times 10^{4\ a,1}$
T13	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T14	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$

หมายเหตุ

อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตัวเลขที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

T1 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 1 เติมน้ำกลั่น)

T2 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 2 เติมเอทานอล 40%)

T3 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 3 เติมสารละลาย DMSO 10%)

T4 ไม่เติมสารสกัดผสมสมุนไพรA กับสมุนไพรC และสมุนไพรB กับสมุนไพรC เติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T5 ไม่เติมสารสกัดและเติมก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T6 ไม่เติมสารสกัดและเติมก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

T7 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และไม่เติมก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

T8 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T9 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T10 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพรA กับสมุนไพรC และเติมแบคทีเรียก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

T11 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C และไม่เติมก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

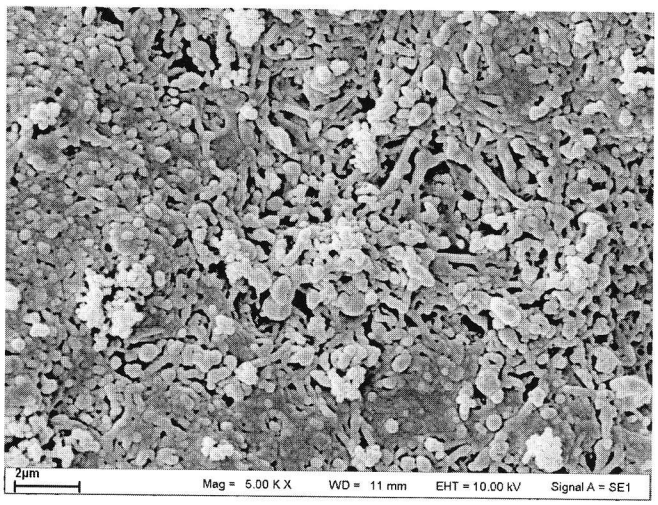
T12 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T13 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T14 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพรB กับสมุนไพรC และเติมแบคทีเรียก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

2.3 ผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อปริมาณแบคทีเรีย *P. aeruginosa* DS001

จากการศึกษาผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อปริมาณแบคทีเรีย *P. aeruginosa* DS001 ในหมึกแห้งแปรรูปบนอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย PIA พบว่ามีการเจริญของ *P. aeruginosa* DS001 ในชุดการทดลองที่ 5 (ไม่เติมสารสกัดและเติม *P. aeruginosa* DS001) ชุดการทดลองที่ 9 (เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และเติม *P. aeruginosa* DS001) และชุดการทดลองที่ 13 (เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001) เท่านั้น และมีปริมาณแบคทีเรีย *P. aeruginosa* DS001 อยู่ในช่วง $1.30 \pm 0.40 \times 10^3$ ถึง $3.43 \pm 0.95 \times 10^3$ CFU/g ในวันแรกของการทดลอง และมีปริมาณแบคทีเรีย *P. aeruginosa* DS001 อยู่ในช่วง $1.50 \pm 0.58 \times 10^2$ ถึง $1.53 \pm 0.31 \times 10^3$ CFU/g ในวันที่ 7 ของการทดลองและตรวจไม่พบ *P. aeruginosa* DS001 หลังจากวันที่ 7 จนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 28) เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณแบคทีเรีย *P. aeruginosa* DS001 ที่พบในวันแรกของการทดลองและวันที่ 7 ของการทดลองมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และเมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดผสม (T5) ชุดการทดลองที่เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C (T9) และชุดการทดลองที่เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C (T13) พบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดผสมทั้ง 2 กลุ่ม มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *P. aeruginosa* DS001 ที่เติมในหมึกแห้งแปรรูป ดังแสดงในตารางที่ 9



ภาพที่ 6 ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของหมึกแปรรูปที่เติมเติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร Cและเติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

ตารางที่ 9 ผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อปริมาณแบคทีเรีย *P. aeruginosa* DS001 ในหมึกแห้งแปรรูป (CFU/g)

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการทดลอง (วัน)						
	0	2	4	7	14	21	28
T1	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T2	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T3	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T4	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$
T5	$3.43\pm0.95\times10^{3\ a,1}$	$1.90\pm0.36\times10^{3\ a,2}$	$1.70\pm0.26\times10^{3\ a,2}$	$1.53\pm0.31\times10^{3\ a,2}$	$<10^{3}$	$<10^{3}$	$<10^{3}$
T6	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	<10
T7	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	<10
T8	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	<10
T9	$2.93\pm0.75\times10^{3\ a,1}$	$6.00\pm2.0\times10^{2\ b,2}$	$6.30\pm1.50\times10^{2\ b,2}$	$1.70\pm0.50\times10^{2\ b,2}$	$<10^{3}$	$<10^{3}$	$<10^{3}$
T10	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	<10
T11	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	<10
T12	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	<10
T13	$1.30\pm0.40\times10^{3\ a,1}$	$3.33\pm2.08\times10^{2\ b,23}$	$5.67\pm4.62\times10^{2\ b,12}$	$1.50\pm0.58\times10^{2\ b,3}$	$<10^{4}$	$<10^{4}$	$<10^{4}$
T14	$<10^{b}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{c}$	$<10^{b}$	$<10^{b}$	<10

หมายเหตุ

อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตัวเลขที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

T1 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 1 เติมน้ำกลั่น)

T2 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 2 เติมเอทานอล 40%)

T3 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 3 เติมสารละลาย DMSO 10%)

T4 ไม่เติมสารสกัดผสมสมุนไพรA กับสมุนไพรC และสมุนไพรB กับสมุนไพรC เติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T5 ไม่เติมสารสกัดและเติมก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T6 ไม่เติมสารสกัดและเติมก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

T7 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และไม่เติมก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

T8 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T9 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T10 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพรA กับสมุนไพรC และเติมแบคทีเรียก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

T11 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C และไม่เติมก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

T12 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T13 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T14 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพรB กับสมุนไพรC และเติมแบคทีเรียก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

2.4 ผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อ *E. tarda* biogroup 1 DS002 ในหมึกแห้งแปรรูป

จากการศึกษาผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อ *E. tarda* biogroup 1 DS002 ในหมึกแห้งแปรรูปพบการเจริญของ *E. tarda* biogroup 1 DS002 เฉพาะในชุดการทดลองที่เติม *E. tarda* biogroup 1 DS002 เท่านั้น (ชุดการทดลองที่ 6, 10 และ 14) ซึ่งพบว่าปริมาณ *E. tarda* biogroup 1 DS002 ในวันแรกของการทดลองมีค่าเท่ากับ $1.10\pm0.00\times10^3$ ถึง $4.60\pm0.40\times10^3$ CFU/g ในชุดการทดลองที่ 10 ซึ่งเติม *E. tarda* biogroup 1 DS002 และเติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C พบว่าการเจริญของ *E. tarda* biogroup 1 DS002 มีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการทดลอง จนถึงวันที่ 14 ของการทดลอง พบปริมาณ *E. tarda* biogroup 1 DS002 มีค่าเท่ากับ $4.00\pm2.65\times10^2$ CFU/g และไม่พบการเจริญของ *E. tarda* biogroup 1 DS002 อีกในชุดการทดลองดังกล่าวจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง ส่วนชุดการทดลองที่ 6 ซึ่งเติม *E. tarda* biogroup 1 DS002 และไม่เติมสารสกัดใด ๆ ในวันสุดท้ายของการทดลองพบปริมาณ *E. tarda* biogroup 1 DS002 มีค่าเท่ากับ $1.97\pm0.58\times10^3$ CFU/g ซึ่งการเจริญของ *E. tarda* biogroup 1 DS002 ค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการทดลอง ในขณะที่ชุดการทดลองทดลองที่ 14 (เติม *E. tarda* biogroup 1 DS002 และเติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C) พบแนวโน้มของปริมาณแบคทีเรียชนิดคล้ายคลึงกับชุดการทดลองที่ 6 จากการทดสอบทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบปริมาณ *E. tarda* biogroup 1 DS002 ของทั้งสามชุดการทดลอง (ชุดการทดลองที่ 6, 10 และ 14) พบว่าการเติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C ทำให้ปริมาณ *E. tarda* biogroup 1 DS002 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *E. tarda* biogroup 1 DS002 ในหมึกแห้งแปรรูป ดังแสดงผลในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ผลของสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อ *E. tarda* biogroup 1 DS 002 ในหมึกแห้งแปรรูป (CFU/g)

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการทดลอง (วัน)						
	0	2	4	7	14	21	28
T1	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$
T2	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$
T3	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$
T4	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$
T5	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$
T6	$4.60\pm0.40\times10^{3\ a,1}$	$3.00\pm0.10\times10^{3\ a,1}$	$2.65\pm0.05\times10^{3\ a,1}$	$3.00\pm0.62\times10^{3\ a,1}$	$4.10\pm0.10\times10^{3\ a,1}$	$2.07\pm0.83\times10^{3\ a,1}$	$1.97\pm0.58\times10^{3\ a,1}$
T7	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$
T8	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$
T9	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$
T10	$1.07\pm0.28\times10^{3\ b,1}$	$3.67\pm0.57\times10^{2\ b,2}$	$4.67\pm1.53\times10^{2\ b,2}$	$3.33\pm1.53\times10^{2\ b,2}$	$4.00\pm2.65\times10^{2\ b,2}$	$< 10^{b,3}$	$< 10^{b,3}$
T11	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$
T12	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$
T13	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{c}$	$< 10^{b}$	$< 10^{b}$
T14	$1.10\pm0.00\times10^{3\ b,1}$	$5.50\pm2.50\times10^{2\ b,2}$	$1.03\pm0.30\times10^{3\ a,1}$	$1.40\pm0.10\times10^{3\ a,1}$	$2.20\pm0.10\times10^{3\ a,1}$	$1.23\pm0.11\times10^{3\ a,1}$	$1.50\pm0.50\times10^{3\ a,1}$

หมายเหตุ

อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตัวเลขที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

T1 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 1 เติมน้ำกลั่น)

T2 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 2 เติมเอทานอล 40%)

T3 ไม่เติมแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและไม่เติมสารสกัด (ชุดควบคุมที่ 3 เติมสารละลาย DMSO 10%)

T4 ไม่เติมสารสกัดผสมสมุนไพรA กับสมุนไพรC และสมุนไพรB กับสมุนไพรC เติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T5 ไม่เติมสารสกัดและเติมก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T6 ไม่เติมสารสกัดและเติมก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

T7 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และไม่เติมก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

T8 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T9 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T10 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพรA กับสมุนไพรC และเติมแบคทีเรียก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

T11 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C และไม่เติมก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

T12 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค MRSA T18

T13 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C และเติมแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* DS001

T14 เติมสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพรB กับสมุนไพรC และเติมแบคทีเรียก่อโรค *E. tarda* biogroup 1 DS002

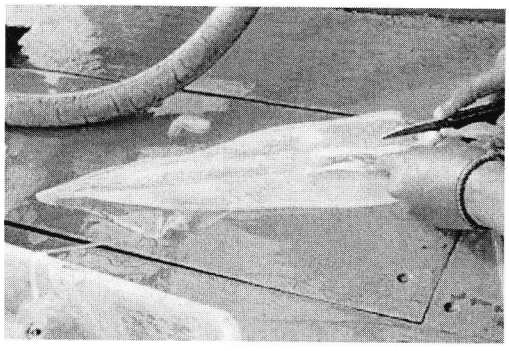
3. การประเมินเบื้องต้นถึงความเหมาะสมของการเติมสารสกัดสมุนไพรที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตอาหารทะเลแห้งและแปรรูป

จากการศึกษาผลการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C สามารถยับยั้งได้ทั้ง *P. aeruginosa* DS001 และ *E. tarda* biogroup 1 DS002 แต่ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและ MRSA T18 ในหมึกแปรรูปได้ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าควรทำการพัฒนาสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C เพื่อใช้เป็นสารต้านจุลชีพในอาหารแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ต่อไปกระบวนการผลิตอาหารทะเลแห้งและแปรรูป ดังนั้นต้องทำการประเมินเบื้องต้นถึงความเหมาะสมของการเติมสารสกัดสมุนไพรที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตอาหารทะเลแห้งและแปรรูปเพื่อสามารถลดแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียทั่วไปให้มีปริมาณที่อยู่ในมาตรฐานของไทยและระบบสากลและจากการศึกษาถึงขั้นตอนของการผลิตอาหารทะเลแห้งและแปรรูป พบว่าประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้ คือ

1. นำหมึกสดมาล้าง แล้วผ่าเอาตา และดีออก ถ้าหมึกตัวใดมีไข่ก็เอาไข่ออก

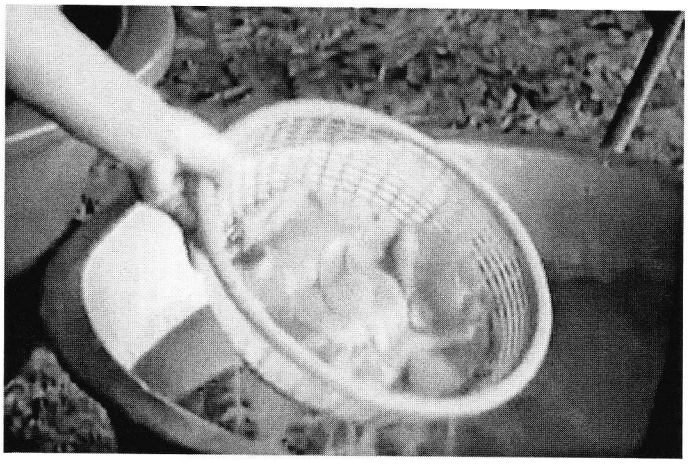
ภาพที่ 7 การล้างทำความสะอาดหมึก

2. ใช้มีดผ่ายาวกลางลำตัวของหมึกซีกใดซีกหนึ่ง จะได้หมึกตัวแบนๆ



ภาพที่ 8 การผ่ากลางลำตัวหมึก

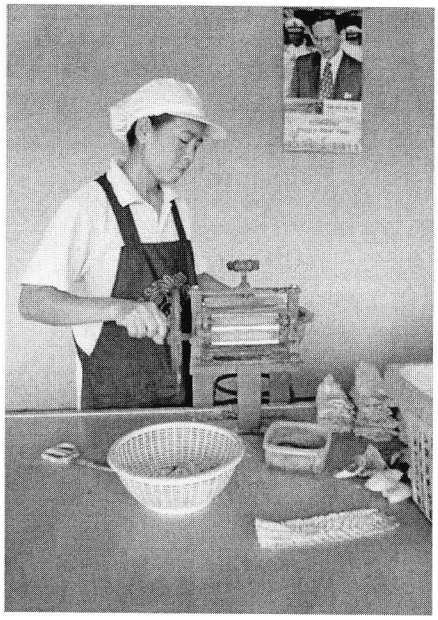
3. น้ำหมึกมาแช่เครื่องปรุงรสแล้วนำไปแผ่ไว้บนตะแกรง ตากไว้ประมาณ 2 วัน หรือจนกว่าหมึกจะแห้ง



ภาพที่ 9 แช่หมึกในเครื่องปรุงรส

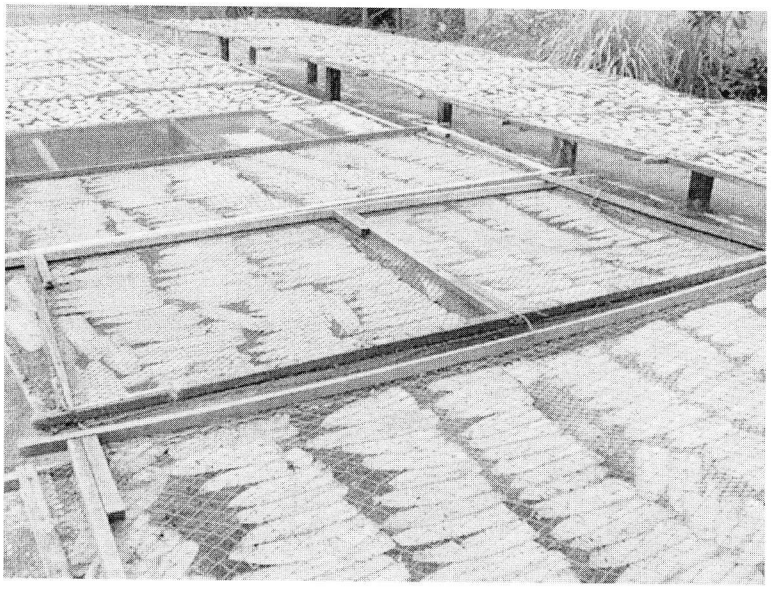
ภาพที่ 10 แผ่หมึกบนตะแกรงเพื่อเตรียมนำไปตากแดด

4. นำหมึกที่ตากแห้งแล้วมาย่างแล้วนำไปบดให้เป็นแผ่นบาง ๆ



ภาพที่ 11 การบดหมึกให้เป็นแผ่นบางๆ

5. นำหมึกปรุงรสมาตากให้แห้งก่อน 1-2 วัน



ภาพที่ 12 ตากหมึกไว้บนตะแกรง

หรือการผลิตหมึกแปรรูปแบบปรุงรสหลังตาก โดยมีประบวนการผลิต ดังนี้

1. นำหมึกสดมาล้าง แล้วผ่าเอาตา และดีออก ถ้าหมึกตัวใดมีไข่ก็เอาไข่ออก
2. ใช้มีดผ่ายาวกลางลำตัวของหมึกชีกใดชีกหนึ่ง จะได้หมึกตัวแบนๆ
3. นำหมึกมาแช่เครื่องปรุงรสแล้วนำไปแผ่ไว้บนตะแกรง ตากไว้ประมาณ 2 วัน หรือจนกว่าหมึกจะแห้ง
4. นำหมึกที่ตากแห้งแล้วมาย่างแล้วนำไปบดให้เป็นแผ่นบาง ๆ
5. นำหมึกปรุงรสมาตากให้แห้งก่อน 1-2 วัน

ดังนั้นเพื่อการประเมินเบื้องต้นถึงความเหมาะสมของการเติมสารสกัดสมุนไพรที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตอาหารทะเลแห้งและแปรรูปจึงได้วางแผนการดำเนินการหาชนิดและปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดรวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคในผลิตภัณฑ์ในแต่ละขั้นตอน เพื่อทราบถึงกระบวนการแต่ละขั้นตอนสามารถลดชนิดและปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดรวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคในผลิตภัณฑ์ได้มากน้อยแตกต่างกันอย่างไร รวมทั้งทำการศึกษาต่อเนื่องโดยการเติมแบคทีเรียก่อโรคลงในแต่ละขั้นตอนเพื่อประเมินถึงความสามารถในการลดชนิดและปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดรวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคในผลิตภัณฑ์ได้มากน้อยแตกต่างกันอย่างไร และขั้นตอนต่อมาคือการทดสอบการลดชนิดและปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดรวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคในผลิตภัณฑ์ด้วยสมุนไพรจากข้อ 3 ในแต่ละขั้นตอนการผลิต เพื่อทดสอบถึงความสามารถในการลดชนิดและปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดรวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคในผลิตภัณฑ์ได้มากน้อยแตกต่างกันอย่างไร แต่ยังคงลักษณะทางกายภาพและประสาทสัมผัสที่ดีน่ารับประทานควบคู่ไปด้วย

บทที่ 5
สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาถึงผลของสารสกัดเดี่ยวที่สกัดด้วยเอทานอลของสมุนไพรพื้นบ้าน 2 ชนิด คือ สมุนไพร A และสมุนไพร B ต่อแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด แบคทีเรียก่อโรค 3 ชนิด ได้แก่ Methicillin-Resistant *S. aureus* (MRSA) T18, *P. aeruginosa* DS001 และ *E. tarda* biogroup 1 DS002 ในหมึกแปรรูป พบว่าสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด ดังนั้นจึงมีการออกแบบการทดลองเพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรผสมระหว่างสารสกัดสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C ในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 4 กลุ่มดังกล่าว โดยพบว่าสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด MRSA T18 และ *E. tarda* biogroup 1 DS002 แต่สามารถยับยั้ง *P. aeruginosa* DS001 ได้ นอกจากนั้นสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C สามารถยับยั้งได้ทั้ง *P. aeruginosa* DS001 และ *E. tarda* biogroup 1 DS002 แต่ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและ MRSA T18 ในหมึกแปรรูปได้ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าควรทำการพัฒนาสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร A กับสมุนไพร C เพื่อใช้เป็นสารต้านจุลชีพในอาหารแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ต่อไป โดยจะทำการประเมินเบื้องต้นถึงความเหมาะสมของการเติมสกัดสมุนไพรที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตอาหารทะเลแห้งและแปรรูป คือ การทดสอบการลดชนิดและปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดรวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคในผลิตภัณฑ์ด้วยสมุนไพรจากข้อ 3 ในแต่ละขั้นตอนการผลิต เพื่อทดสอบถึงความสามารถในการลดชนิดและปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดรวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคในผลิตภัณฑ์ได้มากน้อยแตกต่างกันอย่างไร แต่ยังคงลักษณะทางกายภาพและประสาทสัมผัสที่ดีน่ารับประทานควบคู่ไปด้วย

อภิปรายผลการทดลอง

ความเจ็บป่วยที่เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคและมีสารพิษที่แบคทีเรียผลิตขึ้นเป็นปัญหาที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก (Gao et al., 2011) แต่เนื่องจากสารปฏิชีวนะมีข้อจำกัดในการประยุกต์ใช้และไม่สามารถหลีกเลี่ยงผลข้างเคียงจากการใช้ได้ (Sharma et al., 2012) จึงมีความสนใจที่จะนำสารสกัดหรือน้ำมันหอมระเหยจากพืชที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคและสารพิษที่แบคทีเรียผลิตขึ้นมาใช้กับอาหาร (Tyagi and Malik, 2011) ซึ่งพืชสมุนไพรได้มีการนำมาใช้ในการประกอบอาหารและเครื่องดื่ม (Shelef, 1983) พืชสมุนไพรบางชนิดมีคุณสมบัติเป็นยา มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย (Sharma et al., 2012) จากการศึกษาที่ผ่านมาได้รายงานถึงประโยชน์ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร ทั้งใช้ในการถนอมอาหารและการรักษาโรคด้วยน้ำมันหอมระเหย นอกจากนั้นน้ำมันหอมระเหยยังมีคุณสมบัติด้านเภสัชวิทยา เช่น ต้านแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ต้านอนุมูลอิสระและต้านมะเร็ง คุณสมบัติด้านยาของน้ำมันหอมระเหยในการถนอมอาหาร เช่น สามารถใช้แทนสารต้านจุลชีพในการยับยั้งแบคทีเรีย

ก่อโรคในอาหารชนิดต่าง ๆ (Alexopoulos et al., 2011) การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาถึงคุณสมบัติการต้านแบคทีเรียของสารสกัดเดี่ยว (สารสกัดสมุนไพร A และสารสกัดสมุนไพร B) และสารสกัดผสม 2 กลุ่ม ได้แก่ สารสกัดสมุนไพร A กับสมุนไพร C และสารสกัดสมุนไพร B กับสมุนไพร C ต่อแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรคในหมึกแปรรูปจำนวน 3 ชนิด คือ Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) T18, *Pseudomonas aeruginosa* DS001 และ *Edwardsiella tarda* biogroup 1 DS002 ซึ่งน้ำมันหอมระเหยมีการนำมาประยุกต์ใช้ได้สะดวกและไม่เป็นอันตราย

จากการศึกษาถึงผลของสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ที่ความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดเดี่ยวของสมุนไพร A และสมุนไพร B ไม่มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 4 กลุ่ม คือ แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด ซึ่งพบว่ามีรายงานสนับสนุนและขัดแย้ง แต่อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดชนิดเดียวกันมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับความแตกต่างของพันธุ์พืช แหล่งที่ทำการเพาะปลูก เวลาในการเก็บเกี่ยวตลอดจนสภาวะการแปรรูปและการเก็บรักษา (Burt, 2004)

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสารสกัดผสมระหว่างสมุนไพร B กับสมุนไพร C มีความสามารถในการยับยั้ง *P. aeruginosa* DS001 และ *E. tarda* biogroup 1 DS002 ได้ จึงน่าจะมีการนำมาศึกษาต่อไป เพื่อนำมาซึ่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่มาประยุกต์ใช้ในการถนอมอาหารแทนสารกันเสียสังเคราะห์ต่อไป เพื่อลดการใช้สารกันเสียสังเคราะห์ซึ่งมีผลข้างเคียงในการใช้มากกว่าการใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากพืช รวมทั้งทำการทดสอบการลดชนิดและปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดรวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคในผลิตภัณฑ์ด้วยสมุนไพรจากข้อ 3 ในแต่ละขั้นตอนการผลิต เพื่อทดสอบถึงความสามารถในการลดชนิดและปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดรวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคในผลิตภัณฑ์ได้มากน้อยแตกต่างกันอย่างไร แต่ยังคงลักษณะทางกายภาพและประสาทสัมผัสที่ดีน่ารับประทานควบคู่ไปด้วย เพื่อทำให้สมุนไพรสามารถออกฤทธิ์ได้ถูกขั้นตอนและทำให้อาหารทะเลแห้งและแปรรูปมีมาตรฐานสากล ตามีเอกลักษณ์ของไทยที่มีรสชาติ กลิ่นและรสของสมุนไพรต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ชมพู่ ยิ้มโต. (2550). *การถนอมอาหาร*. กรุงเทพ: โอ. เอส. พริ้นติ้ง เฮ้าส์.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. (2547). *แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค* (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: NOBLE PRINT

นพมาศ สุนทรเจริญนนท์. (2544). ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

นันทนา อรุณฤกษ์. (2537). *การจัดจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรปส์*. กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์.

นิจศิริ เรืองรังษี และธวัชชัย มังคละคุปต์. (2547). *สมุนไพรไทย เล่ม 1*. กรุงเทพฯ: บี เฮลท์ตี้.

ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, เนื้อทอง วนานุวัธ, สายสนม ประดิษฐดวง และวราภา วรพงษ์. (2532). *คุณภาพกุ้งแห้ง*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พนมพร ภาณุทัต และสาวิตรี วทัญญูไพศาล. (2543). การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในอาหารด้วยสารสกัดจากเครื่องเทศและสมุนไพรไทยบางชนิด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

พีรพัฒน์ สุพรรณพันธุ์, วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย และสุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2553). ประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าและสารสมุนไพรสกัดสดบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus*. *วารสารพิษวิทยาไทย*, 25(1), 15-28.

รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล, พร้อมจิตร ศรลัมพ์, วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล, วิชิต เปานิล, สมภพ ประธานธุรารักษ์ และนพมาศ สุนทรเจริญนนท์. (2542). *สมุนไพร: ยาไทยที่ควรรู้*. กรุงเทพฯ: อมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์ พับลิชชิ่ง.

วันดี กฤษณพันธ์. (2541). *สมุนไพรน่ารู้* (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ; สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศรีวรรณา หัทยานานนท์, (2554). ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโรคติดเชื้อและพาหะนำโรค : *Vibrio parahaemolyticus*. ศูนย์ข้อมูลติดเชื้อและพาหะนำโรค. เข้าถึงได้จาก http://webdb.dmscmoph.go.th/

ศรีสมร คงพันธุ์ และมณี สุวรรณผ่อง. (2533). *อาหารทะเล*. กรุงเทพฯ: แสงแดด.

สมภพ ประธานธุรารักษ์ และพร้อมจิต ศรลัมพ์. (2552). *สมุนไพร : การพัฒนาเพื่อการใช้ประโยชน์ที่ยั่งยืน* (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: สามลดา.

สินหทัย สมบูรณ์ยิ่ง. (2545). *การสำรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ปลาหมึกหวานปรุงรสที่จำหน่ายในตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี*. ปัญหาพิเศษทางจุลชีววิทยา ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาวิชาจุลชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

สุชาดา ไชยสวัสดิ์ และสุรชัย แก้วบุญเรือง. (2551). วันที่ค้นข้อมูล 6 มีนาคม 2554, เข้าถึงได้จาก http://www.olympic4.ob.tc/home2.html

สุชาดา ไชยสวัสดิ์, ดาราวรรณ ทองบุตร, วราภรณ์ เมธาวิริยะศิลป์, อริยะ ไชยสวัสดิ์, ณัฐพล พิทักษ์วรรัตน์, คชพล จาตุรนต์รัศมี และอมรรัตน์ สุทธิพินิจธรรม. (2551). การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพเบื้องต้นของสมุนไพรในครัวไทย. ใน นริศรา คำแก่น, *การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพร* (หน้า 7). กรุงเทพฯ: ก็อปปี้บ๊อกซ์.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2551). *การจัดจำแนกแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างท่อน : วงศ์วิบริโอนาซีอี.* กรุงเทพ ฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2552). *การจัดจำแนกแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน วงศ์เอนเทอโรแบคทีเรียซีอี.* กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, ปรียาพร ทองเนียม และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2553ก). แบคทีเรียกลุ่มทนเค็มและแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี ในผลิตภัณฑ์หมึกแห้งที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี ประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 38(4), 509-519.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย และปรียาพร ทองเนียม. (2553ข). การปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้งที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี. *วารสารปัญญาภิวัฒน์*, 2(1), 70-83.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย และสวามินี ธีระวุฒิ. (2553ค). การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารทะเลในจังหวัดชลบุรีให้ปราศจากยาฆ่าแมลง สีสังเคราะห์และแบคทีเรียก่อโรค. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ปีที่ 1. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. (2545). *จุลชีววิทยาทางอาหาร*. นนทบุรี: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

สุวิมล กีรติพิบูล. (2546). *จุลินทรีย์กับการควบคุมสุขลักษณะการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร.* กรุงเทพฯ: สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).

สำนักงานป้องกันควบคุมโรค. (2551). *รายงานเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา สคร. 6 ขอนแก่น.* กลุ่มระบาดวิทยา สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 6 จังหวัดขอนแก่น.

อัจฉรา เพิ่ม. (2550). *แบคทีเรียแลคติก*. กรุงเทพฯ: ภาพพิมพ์.

อิสยา จันทร์วิทยานุชิต. (2553). *แบคทีเรียทางการแพทย์* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Ahmad, I. and Beg, A. Z. (2001). Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, 74 , 113–133.

Alexopoulos, A., Kimbaris, A. C., Plessas, S., Mantzourani, I., Theodoridou, I., Stavropoulou, E., Polissiou, M. G., and Bezirtzoglou, E. (2011). Antibacterial activity of essential oil from eight Greek aromatic plants against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Anaerobe*, 17, 399-402.

Ayulo, A. M. R., Machado, R. A., and Scussel, V. M. (1994). Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fish and seafood from the southern region of Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, 24, 171-178.

Braga, L., Shupp, J., Cummings, C., Jett, M., Takahashi, J., Carmo, L., Chartone-Souza, E., and Nascimento, A. (2005). Pomegranate extract inhibits *Staphylococcus aureus* growth and subsequent enterotoxin production. *Journal of Ethnopharmacology*, 96, 335–339.

Brul, S., and Coote, P. (1999). Preservative agents in food: Mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Microbiology*, 50, 1-17.

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

Chotmongcol, K., Vuthiphandchai, V., Theeravut, S. and Nimrat, S. (2010) Contamination of formalin, salicylic acid and synthetic dyes of foods distributed in the Eastern Thailand. The 9th National Environmental Conference, March 24-27, 2010, Sunee Grand Hotel and Convention Center. (In Thai)

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Reviews*, 12, 564–582.

Dupont, S., Canffin, N., Bhandari, B., Dykes, G. A. (2006). In vitro antibacterial activity of Australian native herb extracts against food-related bacteria. *Food Control*, 17, 929-932.

Gao, C., Tian, C., Lu, Y., Xu, J., Luo, J., and Guo, J. (2011). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Sphallerocarpus gracilis* seed against selected food-related bacteria. *Food Control*, 22, 517-522.

Hosseini, H., Cheraghali, A.M., Yalfani, R. and Razavilar, V. (2003). Incidence of *Vibrio* spp. in shrimp caught off the south coast Iran. *Food Control*, 15, 187-190.

Immanuel, G., Raj, P. I., Raj, P. E., and Palavesam, A. (2006). Intestinal bacterial diversity in live rock lobster *Panulirus homarus* (Linnaeus) (Decapoda, Pleocyemata, Palinuridae) during transportation process. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 1(2), 69-73.

Jeyasekaran, G., Ganesan, P., Shakila, J. R., Maheswari, K., and Sukumar, D. (2004). Dry ice as a novel chilling medium along with water ice for short-term preservation of fish emperor breams, lethrinus (*Lethrinus miniatus*). *Innovative Food Science and Emerging Technology*, 5(4), 485-493.

Keskin, D., and Ekmekci, S. (2007). Investigation of the Incidence of *Pseudomonas* sp. in food. *Journal of Biological Chemistyr*, 35(3). 181-186.

Lalitha, K. V. and Surendren, P. K. (2006). Microbiological changes in farm reared freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) in ice. *Food Control*, 17, 802-807.

Lin, Y. T., Labbe, R. G. and Shetty, K. (2005). Inhibition of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood systems using oregano and cranberry phytochemical synergies and lactic acid. *Innovative Food Science and Emerging Technology*, 6, 453-458.

Lopez, C. M., Nitisinprasert, S., Wanchaitanawong, P. and Poovarodom, N. (2003). Antimicrobial activity of medicinal plant extracts against foodborne spoilage and pathogenic microorganisms. *Kasetsart Journal: Natural Science*, 37, 460 – 467.

Machado, T. B., Pinto, A. V., Pinto, M. C. F. R., Leal, I. C. R., Silva, M. G., Amaral, A. C. F., Kuster, R. M. and Netto-dosSantos, K. R. (2003). *In vitro* activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicillin-resistant *S. aureus*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 21, 279-284.

Munn, C. B. (2004). *Marine microbiology*. London: BIOS Scientific Publishers.

Naz, S., Siddiqi, R., Ahmad, S., Rasool, S. and Sayeed, S. (2007). Antibacterial activity directed isolation of compounds from *Punica granatum*. *Journal of Food Sciences*, 72, 341–345.

Normanno, G., Firinu, A., Virgilio, S., Mula, G., Dambrosio, A., Poggiub, A., Decastellic, L., Mionid, R., Scuotae, S., Bolzonif, G., Di Giannataleg, E., Salinettih, A. P., La Salandra G., Bartoli, M., Zuccon, F., Pirino, T., Sias, S., Parisi, A., Quaglia, N.C. and Celano, G.V. (2005). Coagulase-positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *Int. J. Food Microbiol,* 98, 73-79.

Quave, C. L., Plano, L. R. W., Pantuso, T., and Bennett, B. C. (2008). Effects of extracts from Italian medicinal plant on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 118, 418-428.

Reddy, M., Gupta, S., Jacob, M., Khan, S. and Ferreira, D. (2007). Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from *Punica granatum* L. *Planta Medica*, 73, 461–467.

Samutsan, S., Vuthiphandchai, V., Theeravut, S. and Nimrat, S. (2010) Distribution of borax, sodium hydrosulfite and pesticide residues in food product from Eastern Thailand. The 9th National Environmental Conference, March 24-27, 2010, Sunee Grand Hotel and Convention Center. (In Thai).

Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. and Corke, H. (2007). The *in vitro* antibacterial activity of dietary species and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology*, 117, 112–119.

Sharma, A., Gupta, S., Sarethy, I. P., Dang, S. and Gabrani, R. (2012). Green tea extract: Possible mechanism and antibacterial activity on skin pathogens. *Food Chemistry*, 135, 672-675.

Shelef, L. A. (1983). Antimicrobial effects of spices. *Journal of Food Safety*, 6, 29-44.

Sikkema, J., Bont, J. A. M. D. and Poolman, B. (1995). Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Reviews*, 59, 201– 222.

Slaven, E. M., Lopez, F. A., Hart, S. M. and Sanders, C. V. (2001). Myonecrosis caused by *Edwardsiella tarda*: a case report and case series of extraintestinal *E. tarda* infections. *Clinical Infectious Diseases*, 32(10), 1430-1433

Sofowora, A. (1982). *Medicinal plants and traditional medicine in Africa*. Chichester: John Wiley.

Tyagi, A. K. and Malik, A. (2011). Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. *Food Control*, 22, 1707-1714.

Voravuthikunchai, S., Lortheeranuwat, A., Jeeju, W., Sririrak, T., Phongpaichit, S. and Supawita, T. (2004). Effective medicinal plants against enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of Ethnopharmacology*, 94, 49–54.

Voravuthikunchai, S., Sririrak, T., Limsuwan, S., Supawita, T., Iida, T. and Honda, T. (2005) Inhibitory effects of active compounds from *Punica granatum* pericarp on verocytotoxin production by enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of Health Sciences*, 51, 590–596.

Wang, I. K., Chen, Y. M., Lin, C. L., Chang, H. Y., Chuang F. R. and Lee, M. H. (2005). Extraintestinal manifestations of *Edwardsiella tarda* infection. *International Clinical Psychopharmacology*, 59(8), 917-921.

Weerakkody, N. S., Caffin N., Turner, M. S. and Dykes, G. A. (2010). In vitro antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. *Food Control*, 21, 1408-1414.

Wei, L. S., Musa, N., Wendy, W., Musa, N., Seng, C. T., Shazili, N. A. and Shaharom, F. (2012). Reviews on phenothypes of *Edwardsiellatarda* in fish.*Ministry of Science, Technology and Innovation, Malaysia and National Science Fellowship.*

Wittman, R. J. and Flick, G. J. (1995). Microbial contamination of shellfish: prevalence, risk to human health, and control strategies. *Annual Review of Public Health*, 16, 123-140.

Zhang, H., Kong, B., Xiong, Y. L. and Sun, X. (2009). Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 °C. *Meat Science*, 81, 686–692.

Output จากโครงการวิจัย

การนำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการระดับชาติ (Full paper)

1. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ พรพิมล สุดแสวง และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย (2557) ผลของสารสกัดพริกไทยดำต่อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) T18 ในหมึกแปรรูป. ในการประชุมสัมมนาวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ครั้งที่ 7 การประชุมสัมมนาทางวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏกลุ่มศรีอยุธยา ครั้งที่ 4 "หัวข้อการวิจัยท้องถิ่นมุ่งสู่ประชาคมอาเซียน" และการประชุมวิชาการราชนครินทร์วิชาการและวิจัย ครั้งที่ 7. โรงแรมชลจันทร์ พัทยา รีสอร์ท ชลบุรี วันที่ 14-16 พฤษภาคม 2557.
2. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ พรพิมล สุดแสวง ไตรมาศ บุญไทย และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย (2557) ผลของสารสกัดพริกไทยดำต่อแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในหมึกแปรรูป. ในการประชุมสัมมนาวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ครั้งที่ 7 การประชุมสัมมนาทางวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏกลุ่มศรีอยุธยา ครั้งที่ 4 "หัวข้อการวิจัยท้องถิ่นมุ่งสู่ประชาคมอาเซียน" และการประชุมวิชาการราชนครินทร์วิชาการและวิจัย ครั้งที่ 7. โรงแรมชลจันทร์ พัทยา รีสอร์ท ชลบุรี วันที่ 14-16 พฤษภาคม 2557.
3. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ พรพิมล สุดแสวง พีรพัฒน์ สุพรรณพันธุ์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย (2557) ผลของสารสกัดพริกไทยดำต่อแบคทีเรียก่อโรค *Pseudomonas aeruginosa* DS001 ในหมึกแปรรูป. ในการประชุมสัมมนาวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ครั้งที่ 7 การประชุมสัมมนาทางวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏกลุ่มศรีอยุธยา ครั้งที่ 4 "หัวข้อการวิจัยท้องถิ่นมุ่งสู่ประชาคมอาเซียน" และการประชุมวิชาการราชนครินทร์วิชาการและวิจัย ครั้งที่ 7. โรงแรมชลจันทร์ พัทยา รีสอร์ท ชลบุรี วันที่ 14-16 พฤษภาคม 2557.

การนำเสนอผลงานในรูปแบบโปสเตอร์

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, พจมาลย์ น้อยอาษา และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2557) ผลของสารสกัดจากพริกไทยดำต่อแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรคในหมึกแปรรูป. นำเสนอผลงานในรูปแบบโปสเตอร์ ในงานสัปดาห์วิทยาศาสตร์แห่งชาติภาคตะวันออก ครั้งที่ 31 วันที่ 18-20 สิงหาคม 2557