ฤทธิ์ของน้ำหมักชีวภาพจากสับปะรด มะเขือเทศ ผลยอ และผลไม้รวมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* Typhimurium

Effects of Bioextract Juices from *Ananas comosus, Solanum lycopersicum, Morinda citrifolia,* Linn., and Mixed Fruits for Growth Inhibition of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* Typhimurium

อัจฉรา เพิ่ม[1] **อัสมา มาลินี**[2] **ฮุสนา ดอเลาะ**[3]
[1]อาจารย์ประจำ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
aphoem@yahoo.com
[2,3]นักศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
wat03679@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนแบคทีเรียแลคติก จำนวนยีสต์ และฤทธิ์ของน้ำหมักชีวภาพจากสับปะรด มะเขือเทศ ผลยอ และผลไม้รวมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311 พบว่า น้ำหมักชีวภาพทุกชนิดยกเว้นน้ำหมักชีวภาพจากผลยอมีสีส้มใส และกลิ่นเหม็นเปรี้ยว น้ำหมักชีวภาพแต่ละชนิดมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และยีสต์ไม่ แตกต่างกัน น้ำหมักชีวภาพจากผลไม้รวมมีจำนวนแบคทีเรียแลกติกมากที่สุดโดยมีค่าเป็น 6.65 log CFU/mL และน้ำหมักชีวภาพจากผลยอสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคทั้ง 2 สายพันธุ์ได้ดีที่สุด MIC ของน้ำหมักชีวภาพจากผลยอต่อเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *S.* Typhimurium ATCC 13311 มีค่าเป็น 25 และ 12.5 % (v/v) ตามลำดับ

คำสำคัญ : การยับยั้ง, น้ำหมักชีวภาพ, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311

ABSTRACT

The research aimed to determine physical characteristics, total microbial count, lactic acid bacteria count, yeast count, and antibacterial activity of bioextract juices (*Ananas comosus, Solanum lycopersicum, Morinda citrifolia,* L., and mixed fruits) against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311. All bioextract juices (except bioextract from *M. citrifolia,* L.) had clear orange and sour smell. The numbers of total microorganisms and lactic acid bacteria in each bioextract juice were not different. The numbers of lactic acid bacteria in bioextract juice from

mixed fruits were 6.65 log CFU/mL. The highest antibacterial activity was resulted from *M. citrifolia,* L. MIC of bioextract from *M. citrifolia,* L. against *S. aureus* ATCC 25923 and *S.* Typhimurium ATCC 13311 was 25 and 12.5% (v/v), respectively.

Keywords : inhibition, bioextract juice, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311

1. บทนำ

ในปัจจุบันจากสถิติจากประเทศสหรัฐอเมริกามีประชากรป่วยจากโรคติดเชื้อในอาหารปีละมากกว่า 76 ล้านคน ต้องรักษาในโรงพยาบาลกว่า 3 แสนล้านคน และตายกว่า 5 พันคนต่อปี การแพร่ระบาดของโรคส่วนมากพบว่าเกิดจากการรับประทานอาหารประเภทเนื้อ นม ไข่ และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เชื้อก่อโรคในเนื้อสัตว์สามารถถ่ายทอดและก่อให้เกิดโรคแก่ผู้บริโภคได้ เช่น เชื้อ Salmonella, Escherichia coli, Campylobacter, Shigella และ Staphylococcus เป็นต้น (Silva and Gibbs, 2011; Vandenplas et al., 2015) เชื้อเหล่านี้สามารถกำจัดได้โดยการใช้ยาปฏิชีวนะหรือทางเลือกอื่นที่ปลอดภัยกว่า เช่น สมุนไพร โปรไบโอติก และน้ำหมักชีวภาพ

น้ำหมักชีวภาพ (bioextract juice) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาการหมัก พืช ผัก ผลไม้ และมีการเติมกากน้ำตาลลงไปเพื่อเร่งการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียแลคติก ซึ่งจะมี การหมักแบบใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจน น้ำหมักชีวภาพมีการนำมาใช้ประโยชน์ 5 ด้านหลักๆได้แก่ ใช้เป็นเครื่องดื่มเสริมสุขภาพ เพราะมีฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ใช้ทางการเกษตรเพื่อทดแทนปุ๋ยเคมีมีการปรับปรุงดินทำให้ได้ผลผลิตเพิ่มขึ้น ใช้ทางด้านสิ่งแวดล้อมในการบำบัด น้ำเสียตามโรงงานอุตสาหกรรม ใช้ในด้านปศุสัตว์เพื่อเสริมสุขภาพสัตว์เลี้ยง และใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคซึ่งมักจะปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหาร (ดวงพร คันธโชติ และคณะ, 2547)

ผลยอ สับปะรด และมะเขือเทศเป็นผลไม้ที่พบได้ง่ายในท้องถิ่น มีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน วิตามิน และแร่ธาตุ นอกจากนี้ยังพบสารสำคัญในผลยอ สับปะรด และมะเขือเทศคือ กรดคาโปรอิก (caproic acid) กรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) และกรดพีคูมาริก (p-coumaric acid) ตามลำดับ

ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนแบคทีเรียแลคติก จำนวนยีสต์ และความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ Staphylococcus aureus ATCC 25923 และ Salmonella Typhimurium ATCC 13311โดยใช้น้ำหมักชีวภาพจากสับปะรด มะเขือเทศ ผลยอ และผลไม้รวม

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

2.1 ศึกษาลักษณะทางกายภาพของน้ำหมักชีวภาพ ได้แก่ สี กลิ่น ความใส

2.2 ศึกษาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียแลกติก และยีสต์ในน้ำหมักชีวภาพ

2.3 ศึกษาฤทธิ์ของน้ำหมักชีวภาพจากสับปะรด มะเขือเทศ ผลยอ และผลไม้รวมในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *S.* Typhimurium ATCC 13311

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมน้ำหมักชีวภาพ

เตรียมวัตถุดิบที่ต้องการนำมาล้างให้สะอาด นำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ โดยมาผสมตามสูตรดังนี้ (ดัดแปลงวิธีการของดวงพร คันธโชติ และคณะ, 2547)

สับปะรด : น้ำตาลทรายแดง : น้ำ = 3 : 1 : 10 (กิโลกรัม : กิโลกรัม : ลิตร)

มะเขือเทศ : น้ำตาลทรายแดง : น้ำ = 3 : 1 : 10 (กิโลกรัม : กิโลกรัม : ลิตร)

ผลยอ : น้ำตาลทรายแดง : น้ำ = 3 : 1 : 10 (กิโลกรัม : กิโลกรัม : ลิตร)

ผลไม้รวม (ผลยอ สับปะรด มะเขือเทศ) : น้ำตาลทรายแดง : น้ำ = 3 : 1 : 10 (กิโลกรัม : กิโลกรัม : ลิตร)

นำมาหมักในโอ่งเคลือบ ที่เตรียมไว้ โดยให้เหลือพื้นที่น้อยที่สุด เพื่อให้เกิดสภาพที่อากาศน้อยที่สุด ปิดฝาให้สนิท เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 เดือน นำส่วนที่ทำการหมักทั้งหมดไปกรองด้วยผ้าขาวบางโดยเอาเฉพาะส่วนของน้ำมาใช้ในการทดสอบขั้นต่อไป ศึกษาลักษณะทางกายภาพของน้ำหมักชีวภาพแต่ละสูตร และบันทึกค่าพีเอช ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2 จำนวนจุลินทรีย์ในน้ำหมักชีวภาพ

3.2.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

1) ทำการเจือจางน้ำหมักชีวภาพแต่ละชนิดโดยนำน้ำหมักชีวภาพมา 1 มิลลิลิตร ใส่ใน น้ำกลั่นผสม 0.85% โซเดียมคลอไรด์ (NaCl; Difco, Dickinson, USA) 9 มิลลิลิตร

2) เขย่าให้เข้ากันทำให้ได้ความเข้มข้น 10^{-2} ทำแบบเดียวกันจนได้ความเข้มข้น 10^{-5}

3) นำตัวอย่างที่เจือจางในระดับ 10^{-3}-10^{-5} มาอย่างละ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Glucose Yeast Extract Peptone agar (GYP; Merck, Damstadt, Germany) ทำการ spread plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นคำนวณค่าเป็น log CFU/mL ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.2 จำนวนแบคทีเรียแลคติก

นำตัวอย่างที่เจือจางในระดับ 10^{-3}-10^{-5} จากข้อ 3.2.1 มาอย่างละ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร De Man Rogosa and Sharpe (MRS agar; Merck, Damstadt, Germany) ที่เติม bromocresol purple เพื่อเป็นตัวชี้วัดการสร้างกรดอินทรีย์ของแบคทีเรียแลคติก ทำการ spread plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่รอบโคโลนีมีสีเหลือง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.3 จำนวนยีสต์

นำตัวอย่างที่เจือจางในระดับ 10^{-3}-10^{-5} จากข้อ 3.2.1มาอย่างละ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Yeast Extract Malt Agar (YM; Merck, Damstadt, Germany) ทำการ spread plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นคำนวณค่าเป็น log CFU/mL ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.3 การทดสอบฤทธิ์ของน้ำหมักน้ำหมักชีวภาพ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ Staphylococcus aureus ATCC 25923 และ Salmonella Typhimurium ATCC 13311

การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) (บัวนัส วงษ์สุด และคณะ, 2548)

3.3.1 การเตรียมเชื้อ

1) นำเชื้อ S. aureus ATCC 25923 และ S. Typhimurium ATCC 13311 มาเลี้ยงในอาหาร Meuller Hinton Agar (MHA; Merck, Damstadt, Germany) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2) นำโคโลนีที่บริสุทธิ์มาใส่ใน 0.85% Normal Saline Solution (NSS) แล้วปรับความขุ่นเชื้อให้ได้เท่ากับ 0.5 McFarland จะทำให้มีปริมาณเชื้อเป็น $1.5x10^8$ CFU/mL แล้วเจือจางให้ได้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นเป็น 10^5 CFU/mL

3.3.2 การทดสอบฤทธิ์ของน้ำหมักชีวภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ S. aureus ATCC 25923 และ S. Typhimurium ATCC 13311

1) นำเชื้อแต่ละชนิดปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และน้ำหมักชีวภาพแต่ละชนิดปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองผสมให้เข้ากัน

2) นำ 0.5 มิลลิลิตรของส่วนผสมที่ได้จากหลอดที่ 1 ใส่ในหลอดที่ 2 ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Meuller Hinton Broth (MHB; Merck, Damstadt, Germany) ปริมาต ร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

3) นำส่วนผสมที่ได้จากหลอดที่ 2 ใส่ในหลอดที่ 3 ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรทำไปเช่นนี้จนครบ 10 หลอด ซึ่งความเข้มข้นสุดท้ายของน้ำหมักชีวภาพในหลอดทดลอง คือ 0, 0.08, 0.19, 0.39, 0.78, 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25 และ 50 % v/v (ตารางที่ 1) ชุดควบคุมบวก (positive control) นำเชื้อแต่ละชนิดผสมให้เข้ากับอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB ชุดควบคุมลบ (negative control) นำน้ำหมักชีวภาพแต่ละชนิดผสมให้เข้ากับอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB

4) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง สังเกตผลโดย ดูจากความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ หาค่า MIC ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพและปริมาณเชื้อที่ใช้ทดสอบ

หลอดที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ความเข้มข้นน้ำหมัก (%v/v)	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.19	0.08
จำนวนเชื้อ ($x10^5$ CFU/mL)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

4. ผลการวิจัย

4.1 ลักษณะทางกายภาพของน้ำหมักชีวภาพ

จากการศึกษาน้ำหมักชีวภาพจากพืชทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ สับปะรด มะเขือเทศ ผลยอ และผลไม้รวม ซึ่งได้นำเอาส่วนของผลมาทำการทดลองโดยใช้เวลาในการหมักนาน 1 เดือน โดยได้ศึกษาลักษณะทางกายภาพของน้ำหมักชีวภาพแต่ละชนิดพบว่า

สัปดาห์ที่ 1 สีของน้ำหมักชีวภาพจากผลสับปะรดเป็นสีเหลืองอ่อน น้ำหมักชีวภาพจากมะเขือเทศเป็นสีส้มอ่อน น้ำหมักชีวภาพจากผลยอเป็นสีน้ำตาลอ่อน และน้ำหมักชีวภาพจากผลไม้รวมเป็นสีส้มเข้ม และมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว ยกเว้นน้ำหมักชีวภาพจากผลยอ มีกลิ่นเหม็นเขียว ซึ่งน้ำหมักชีวภาพทั้ง 4 สูตร ไม่มีฟองอากาศ

สัปดาห์ที่ 2 สีของน้ำหมักชีวภาพจากสับปะรดเป็นสีเหลืองอ่อน น้ำหมักชีวภาพจากมะเขือเทศเป็นสีส้มขุ่น น้ำหมักชีวภาพผลยอเป็นสีน้ำตาลขุ่น และน้ำหมักชีวภาพผลไม้รวมเป็น สีส้มขุ่น และมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว ยกเว้นน้ำหมักชีวภาพชีวภาพจากผลยอ มีกลิ่นเหม็นเขียว ซึ่งน้ำหมักชีวภาพจากสับปะรดและมะเขือเทศ มีฟองอากาศเล็กน้อย ส่วนน้ำหมักชีวภาพจากผลยอและผลไม้รวม มีฟองอากาศปานกลาง

สัปดาห์ที่ 3 สีของน้ำหมักชีวภาพจากสับปะรดเป็นสีส้มเข้ม น้ำหมักชีวภาพมะเขือเทศเป็นสีส้มใส น้ำหมักชีวภาพจากผลยอเป็นสีน้ำตาลขุ่น และผลไม้รวม เป็นสีส้มใส และมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว ยกเว้นน้ำหมักชีวภาพจากผลยอ มีกลิ่นเหม็นเขียว ซึ่งน้ำหมักชีวภาพจากสับปะรดมีฟองอากาศปานกลาง มะเขือเทศ มีฟองอากาศเล็กน้อย ส่วนน้ำหมักชีวภาพจากผลยอและผลไม้รวมมีฟองอากาศมาก

สัปดาห์ที่ 4 สีของน้ำหมักชีวภาพจากสับปะรด มะเขือเทศและผลไม้รวมมีสีส้มใส ยกเว้นน้ำหมักชีวภาพจากผลยอเป็นสีน้ำตาลใส น้ำหมักชีวภาพจากสับปะรด มะเขือเทศและผลไม้รวมมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว ยกเว้นน้ำหมักชีวภาพจากผลยอ มีกลิ่นเหม็นเขียว ซึ่งน้ำหมักชีวภาพจากสับปะรดและมะเขือเทศมีฟองอากาศปานกลาง ส่วนน้ำหมักชีวภาพจากผลยอและผลไม้รวม มีฟองอากาศมาก

สัปดาห์ที่ 4 มีการวัดค่าพีเอชของน้ำหมักชีวภาพจากสับปะรด มะเขือเทศ ผลยอ และผลไม้รวมมีค่าเป็น 3.41, 3.52, 3.80 และ 3.55 ตามลำดับ

4.2 จำนวนจุลินทรีย์ในน้ำหมักชีวภาพ

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

การศึกษาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำหมักชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ น้ำหมักชีวภาพจากสับปะรด มะเขือเทศ ผลยอ และผลไม้รวมพบว่า มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด เท่ากับ 5.83, 5.93, 5.89 และ 6.15 log CFU/mL ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 2)

จำนวนแบคทีเรียแลคติก

การศึกษาจำนวนแบคทีเรียแลคติกในน้ำหมักชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ น้ำหมักชีวภาพจากสับปะรด มะเขือเทศ ผลยอ และผลไม้รวมพบว่า มีจำนวนแบคทีเรียแลคติก เท่ากับ 5.62, 5.52, 5.61 และ 6.65 log CFU/mL ตามลำดับ โดยที่น้ำหมักชีวภาพจากผลไม้รวมจะพบจำนวนเชื้อ

มากที่สุด มีความแตกต่างกัน จากน้ำหมักชีวภาพอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 2)

จำนวนยีสต์

การศึกษาจำนวนยีสต์ในน้ำหมักชีวภาพทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ น้ำหมักชีวภาพจากสับปะรด น้ำหมักชีวภาพจากมะเขือเทศ ผลยอ และผลไม้รวม พบว่า มีจำนวนยีสต์ เท่ากับ 5.04, 5.77, 5.11 และ 5.11 log CFU/mL ตามลำดับ ($p<0.05$) โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียแลคติก และยีสต์ในน้ำหมักชีวภาพ

น้ำหมักชีวภาพ	จำนวนเชื้อ (CFU/mL)		
	จุลินทรีย์ทั้งหมด	แบคทีเรียแลคติก	ยีสต์
สับปะรด	5.83 ± 0.05^{A}	5.62 ± 0.07^{B}	5.04 ± 0.10^{A}
มะเขือเทศ	5.93 ± 0.10^{A}	5.52 ± 0.05^{B}	5.77 ± 0.09^{A}
ผลยอ	5.89 ± 0.09^{A}	5.61 ± 0.11^{B}	5.11 ± 0.05^{A}
ผลไม้รวม	6.15 ± 0.07^{A}	6.65 ± 0.05^{A}	5.11 ± 0.04^{A}

ค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ
ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ในแนวตั้งที่ต่างกัน คือ จำนวนเชื้อในน้ำหมักชีวภาพแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4.3 การทดสอบฤทธิ์ของน้ำหมักชีวภาพ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ Staphylococcus aureus ATCC 25923 และ Salmonella Typhimurium ATCC 13311

จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *S.* Typhimurium ATCC 13311 **(ตารางที่ 3)** พบว่า น้ำหมักชีวภาพแต่ละชนิดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S.* Typhimurium ATCC 13311 โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 12.5–50 % v/v ส่วนเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 พบว่า มีความไวต่อน้ำหมักชีวภาพจากผลยอโดยมีค่า MIC เท่ากับ 25 % v/v แต่น้ำหมักชีวภาพจากสับปะรด มะเขือเทศ และผลไม้รวมไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923ได้ แม้ว่าจะใช้ความเข้มข้นสูงถึง 100 % v/v

ตารางที่ 3 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำหมักชีวภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ Staphylococcus aureus ATCC 25923 และ Salmonella Typhimurium ATCC 13311

น้ำหมักชีวภาพ	ค่า MIC ต่อเชื้อชนิดต่าง ๆ (% v/v)	
	S. aureus	S. Typhimurium
สับปะรด	-	25.0
มะเขือเทศ	-	12.5
ผลยอ	25.0	12.5
ผลไม้รวม	-	50.0

หมายเหตุ - : ไม่ยับยั้ง

5. อภิปรายผล

สีและกลิ่นของน้ำหมักชีวภาพขึ้นอยู่กับประเภทของผลไม้ ส่วนใหญ่มีสีส้มใส ยกเว้นน้ำหมักชีวภาพจากผลยอมีสีน้ำตาลใสถึงเข้ม อาจเกิดจากปฏิกิริยามิลยาร์ด (millard reaction) ระหว่างกากน้ำตาลกับกรดอะมิโน น้ำหมักชีวภาพแทบทุกชนิดยังคงกลิ่นของวัตถุดิบที่นำมาหมักมีการทำปฏิกิริยาระหว่างกรดอินทรีย์กับแอลกอฮอล์ให้สารพวกอะโรมาติก เอสเทอร์ (aromatic esters) ซึ่งเป็นกลิ่นเฉพาะของจุลินทรีย์ (ดวงพร คันธโชติ, 2547) จะเห็นได้ว่าน้ำหมักชีวภาพจากสับปะรด มะเขือเทศ และผลไม้รวมมีกลิ่นเปรี้ยว เนื่องจากการสร้างกรดอินทรีย์ ในขณะที่น้ำหมักชีวภาพจากผลยอมีกลิ่นเหม็นเขียว เพราะมีการสร้างกรดอินทรีย์ผสมกับสารประกอบฟีนอลลิก (phenolic compound) ส่งผลให้พีเอชในน้ำหมักชีวภาพ แต่ละชนิดมีค่าลดลงอยู่ในช่วง 3.41-3.80 สอดคล้องกับงานวิจัยของสมหมาย ปัตตาลี และพรพิมล ม่วงไทย (2551) พบว่า น้ำหมักชีวภาพจากผลมะหลอดมีสีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม และมีรสเปรี้ยว

น้ำหมักชีวภาพแต่ละชนิดมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและยีสต์ไม่แตกต่างกัน แต่น้ำหมักชีวภาพจากผลไม้รวมมีจำนวนแบคทีเรียแลคติกมากกว่าน้ำหมักชีวภาพชนิดอื่นๆ เนื่องจากเมื่อนำน้ำหมักชีวภาพจากสับปะรด มะเขือเทศ และผลยอมารวมกันจะทำให้มีคาร์โบไฮเดรตเพิ่มมากขึ้น แบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ในวัตถุดิบตามธรรมชาติสามารถใช้สารอาหารเปลี่ยนผ่านกระบวนการ Embden-Meyerhof Pathway (EMP) สร้างเป็นกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลกติก กรดอะซิติก และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Ahmad et al., 2017) สอดคล้องกับงานวิจัยของสมหมาย ปัตตาลี และพรพิมล ม่วงไทย (2551) พบว่า น้ำหมักชีวภาพจากผลมะหลอดมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 0.1-10 CFU/mL

น้ำหมักชีวภาพจากสับปะรด มะเขือเทศ ผลยอ และผลไม้รวมสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ S. Typhimurium ATCC 13311 ได้ดี แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ S. aureus ATCC 25923 ได้ ยกเว้นน้ำหมักชีวภาพจากผลยอ เนื่องจากน้ำหมักชีวภาพจากผลยอมีเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่สามารถสร้างกรดอินทรีย์ หรือสารยับยั้งตัวอื่นๆ เช่น แบคเทอริโอซิน รูเทอริน และกรดคาโปรอิก นอกจากนี้ น้ำหมักชีวภาพจากผลยอยังมีสาร phenolic compound

เป็นองค์ประกอบมากกว่าผลไม้อื่นๆ จึงสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้เพิ่มขึ้น (บัวนัส วงษ์สุด และคณะ, 2548) สอดคล้องกับงานวิจัยของ กรรณิกา ศรีประย่า และณฐนนท์ ตราชู (2551) พบว่า น้ำผลไม้หมักจากอะโวกาโด้สามารถสร้างกรดอินทรีย์มายับยั้งเชื้อก่อโรค คือ Campylobacter jejuni, Listeria monocytogenes, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus cereus และ Escherichia coli O157 : H7 ได้ดีกว่าน้ำผลไม้หมักชนิดอื่นๆ

จากผลการทดลองที่ได้ทั้งหมดนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลประกอบการผลิต เช่น ผลิตอย่างไรให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค แต่ยังคงให้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น แบคทีเรียแลคติกเจริญได้และสร้างผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์ รวมทั้งสารสำคัญที่มีคุณค่าเมื่อบริโภค นอกจากนี้ อาจใช้ข้อมูลเพื่อการปรับปรุงผลิตภัณฑ์น้ำหมักชีวภาพที่ได้จากพืช ให้มีคุณภาพมาตรฐาน ปลอดภัยและได้รับประโยชน์สูงสุดเพื่อการบริโภคต่อไป

6. สรุปผลการวิจัย

ลักษณะทางกายภาพของน้ำหมักชีวภาพจากสับปะรด มะเขือเทศ และผลไม้รวม หลังจากหมักเป็นเวลา 1 เดือนพบว่า มีสีส้มใส และกลิ่นเหม็นเปรี้ยว แต่น้ำหมักชีวภาพจากผลยอมีสีน้ำตาลใส และกลิ่นเหม็นเขียว น้ำหมักชีวภาพแต่ละชนิดมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและยีสต์ไม่ แตกต่างกัน น้ำหมักชีวภาพจากผลไม้รวมมีจำนวนแบคทีเรียแลคติกมากที่สุด และน้ำหมักชีวภาพจากผลยอสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคได้ดีที่สุด โดยที่ค่า MIC ของน้ำหมักชีวภาพจาผลยอต่อเชื้อ S. aureus ATCC 25923 และ S. Typhimurium ATCC 13311 มีค่าเป็น 25 และ 12.5% (v/v) ตามลำดับ

7. ข้อเสนอแนะ

7.1 ควรมีการทดลองโดยใช้พืชหลากหลายชนิด

7.2 ควรเพิ่มเวลาในการหมักน้ำหมักชีวภาพให้นานขึ้นเพื่อจะได้เปรียบเทียบระยะเวลาในการหมักต่อผลของประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค

เอกสารอ้างอิง

กรรณิกา ศรีประย่า, และณฐนนท์ ตราชู. (2551). กิจกรรมต้านจุลินทรีย์ของน้ำผลไม้หมักต่อเชื้อก่อโรคทางเดินอาหารบางชนิด. **วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น**, ***13*****(8)**,906-918.

ดวงพร คันธโชติ, วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, และณรงค์ฤทธิ์ อัศวเรืองพิภพ. (2547). ลักษณะของน้ำหมักชีวภาพจากพืชในภาคใต้ของประเทศไทย. **วารสารสงขลานครินทร์ฉบับวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี**, ***27*****(4)**, 601-615.

บัวนัส วงษ์สุด, สุภาภรณ์ ฤกษ์พูลสวัสดิ์, ณรงชัย จักษุพา, นงนิตย์ ธีระวัฒนสุข, พรพรรณ สุนทรธรรม และกาญจนา มหาพล. (2548). การศึกษาฤทธิ์ของน้ำหมักชีวภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์. **วารสารวิชาการ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 7 (1)**, 114-133.

สมหมาย ปัตตาลี และพรพิมล ม่วงไทย. (2551). **การศึกษาคุณภาพของน้ำหมักชีวภาพที่ผลิตจากผลมะหลอด** (ปริญญานิพนธ์ ปริญญามหาบัณฑิต).

Ahmad, V., Khan, M.S., Jamal, Q.M.S., Alzohairy, M.A., & Siddiqui, M.U. (2017). Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. **International Journal of Antimicrobial Agents, 49(1)**, 1-11.

Silva, F.V.M. & Gibbs, P.A. (2011). Thermal pasteurization requirement for the inactivation of **Salmonella in food. Food Research International, 20,** 127-131.

Vandenplas, Y., Huys, G., & Daube, G. (2015). Probiotics: an update. **Journal of Pediatria, 91**, 6-21.

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์
BURIRAM RAJABHAT UNIVERSITY