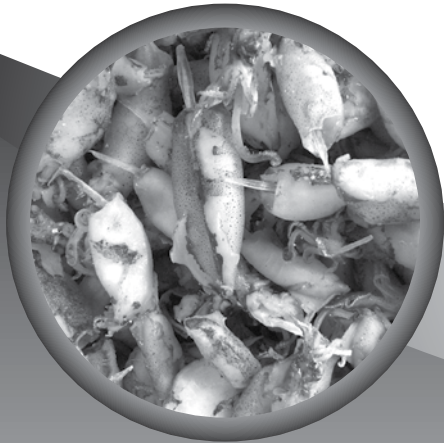


การสำรวจทางจุลชีววิทยาของหมึกกะตอยแห้งในเขต
เทศบาลนครนครราชสีมา

Microbiological Survey of Dired Muank Ka Toi (*Nipponololigo Beka*)
in Nakhon Ratchasima Municipality



ฐานะรัตน์ วาปิยะ*
Tanarat Wapiya
ดร.พันธ์ทิพย์ ต้นอ่วม**

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณจุลินทรีย์รวมและจำแนกชนิดของเชื้อราที่พบในหมึกกะตอยแห้ง จากตลาดในเขตเทศบาลนครนครราชสีมาในช่วงระหว่างเดือนตุลาคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2556 โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างจำนวน 33 ตัวอย่างและนำมาวัดปริมาณความชื้น หาปริมาณจุลินทรีย์รวมทั้งหมด การปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียโคลิฟอร์มผลการทดลองพบว่าปริมาณความชื้นของตัวอย่างหมึกกะตอยแห้งมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 17.07-22.11% ทั้งนี้เมื่อนำตัวอย่างมาหาปริมาณจุลินทรีย์รวมทั้งหมดด้วยวิธีการ Pour Plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณปนเปื้อนของจุลินทรีย์รวมทั้งหมดอยู่ในช่วงระหว่าง 1.1×10^1 - 5.6×10^8 CFU/g เมื่อนำหมึกกะตอยมาตรวจหาเชื้อราโดยการตัดตัวอย่างหมึกกะตอยแห้งวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิที่ 37°C เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำเชื้อรามาทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยการเพาะแบบจุด พบว่าสามารถแยกเชื้อราได้จำนวน 37 ไอโซเลท

หลังจากการเพาะเลี้ยงเชื้อราบนสไลด์และศึกษาสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์พร้อมทั้งจำแนกสกุลของเชื้อราพบว่าเป็นเชื้อราในสกุล *Aspergillus sp.* มากที่สุด (19 ไอโซเลท) รองลงมาคือ *Penicillium sp.* (7 ไอโซเลท), *Curvularia sp.* (2 ไอโซเลท) และ *Rhizopus sp.* (1 ไอโซเลท) ตามลำดับ ทั้งนี้มีเชื้อราที่ไม่สามารถระบุสกุลได้ จำนวน 8 ไอโซเลท นอกจากนี้เมื่อนำมาตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์มด้วยวิธี Most Probable Number (MPN) จากผลการทดลองพบเชื้อแบคทีเรียโคลิฟอร์ม มีค่า < 2 MPN/g ในทุกตัวอย่างที่ตรวจ

คำสำคัญ : หมึกกะตอยแห้ง เชื้อราแบคทีเรียโคลิฟอร์ม

ABSTRACT

The objective of this research were investigated the total colony of bacteria and mold identification in dried Muank Ka Toi (*Nipponololigobeka*). Thirty-three samples of Muank KaToi were collected by random sampling from morning market in Muang Nakhon Ratchasima during October to December in 2013.

*นักศึกษาลัทธิวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

** อาจารย์ประจำคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Moisture contents was measured after total count of bacteria, mold contamination and coliform bacteria results showed that moisture content of sample had a value between 17.07 to 22.11% Afterward, total count of bacteria were determined on Plate Count Agar (PCA) medium using pour plate technique. After incubation at 37°C for 24 to 48 hour, total count of bacteria was found to be 1.1×10^1 to 5.6×10^8 CFU/g. Muank Ka Toi was determined for mold contamination. A piece of sample was cut and incubated on Potato Dextrose Agar (PDA) medium, and then incubated at 37°C for 5 days. Hyphae were isolated on PDA by using point inoculation technique. Thirty-seven isolates were inoculated on PDA medium by using slide culture technique. The preliminary study of mold morphology was determination and observed under light microscopic and compared with mold classification of Samson, R.A. Results showed that the mold was in Genera *Aspergillus* (19 isolates), *Penicillium* (7 isolates), *Curvularia* sp. (2 isolates) and *Rhizopus* (1 isolates), respectively. However, eight isolates were not classified. In addition, coliform bacteria was determined by using Most Probable Number (MPN) technique and found that the value of coliform bacteria in all samples was less than two MPN/g.

Keywords : Muank Ka Toi Mold Coliform Bacteria

บทนำ

การแปรรูปสัตว์น้ำโดยการทำแห้งจัดเป็นการถนอมอาหารแบบหนึ่งซึ่งสัตว์ทะเลที่นิยมนำมาทำแห้งได้แก่ กุ้ง ปลา หอย และหมึก เป็นต้น โดยหมึกที่เป็นที่นิยมได้แก่ หมึกหอม หมึกกล้วย และหมึกกระดอง และหมึกกะตอย ซึ่งพบมากบริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันออก ตั้งแต่ชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด หมึกกะตอยเป็นผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้งที่มีการผลิตในปริมาณมากเนื่องจากเป็นหมึกที่ติดมากับอวนซึ่งส่วนใหญ่ไม่นิยมจำหน่ายสด ทั้งนี้เพราะมีขนาดตัวเล็ก ผิวขรุขระ ดังนั้นจึงนิยมนำมาทำการแปรรูป เพื่อให้สามารถเก็บไว้ได้นาน สำนักโรคระบาดวิทยา (ออนไลน์, 2552) ได้ทำสุ่มตรวจบริเวณที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อโรคในจังหวัดภาคใต้ตอนล่าง พบว่าทำเทียบเรือประมงสะพานปลาเป็นจุดเสี่ยงที่สำคัญแห่งหนึ่ง เนื่องจากมีการปล่อยน้ำเสียจากกระบวนการต่างๆ เช่น การล้างสัตว์น้ำ แปรรูปสัตว์น้ำ หรือล้างทำความสะอาดทำเทียบเรือประมงสะพานปลาเรือประมงลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติโดยตรง โดยไม่

ผ่านการบำบัดน้ำเสียเป็นปริมาณมาก ในแต่ละวันน้ำเสียเหล่านี้จะมีสารอินทรีย์ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาต่างๆ ของสัตว์น้ำเศษซากของสัตว์น้ำที่จับมาหรือเหลือจากการแปรรูปปนเปื้อนอยู่ในปริมาณมาก ส่งผลให้แหล่งน้ำมีคุณภาพเสื่อมโทรมลงและต่อเนื่องไปถึงคุณภาพของสินค้าสัตว์น้ำ เนื่องจากผู้ประกอบการมักใช้น้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติบริเวณใกล้เคียงในการล้างทำความสะอาดสัตว์น้ำในขบวนการแปรรูปสัตว์น้ำ ทำให้ผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำมีการปนเปื้อนสิ่งสกปรกต่างๆ ดังนั้นหากมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนจะส่งผลต่ออายุการเก็บผลิตภัณฑ์ ผู้บริโภคอาจได้รับผลกระทบโดยตรงหากผลิตภัณฑ์นั้นมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่นเดียวกับกับหมึกกะตอยแห้งที่ผลิตในระดับอุตสาหกรรมขนาดเล็กหรือในครัวเรือน อาจไม่มีระบบการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์รวมถึงลักษณะการวางจำหน่ายหมึกแห้งตามท้องตลาด มักบรรจุใส่กล่องกระดาษโดยไม่มีฝาปิด ดังนั้นจากกระบวนการเก็บและรอจำหน่ายอาจเป็นสาเหตุของการปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์และทำให้ผลิตภัณฑ์หมดอายุเร็วขึ้น ทั้งนี้หากผู้บริโภครับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เข้าไปอาจทำให้ได้รับสารพิษเข้าสู่ร่างกาย ซึ่งจะมีผลกระทบต่อร่างกายทั้งนี้แตกต่างกันตามชนิดและประเภทของจุลินทรีย์

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาปริมาณจุลินทรีย์รวมทั้งหมึกในหมึกกะตอยแห้ง
2. ศึกษาชนิดของเชื้อราที่พบในหมึกกะตอยแห้ง

กรอบแนวคิดในการวิจัย

ทำการสำรวจตลาดเช้าและร้านค้าที่ขายหมึกกะตอยแห้งจากนั้นทำการสุ่มตัวอย่างหมึกกะตอยแห้ง มาทำการวัดปริมาณความชื้นและตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ เช่น การหาปริมาณจุลินทรีย์รวมทั้งหมึก การปนเปื้อนของเชื้อราและตรวจหาโคลิฟอร์มแบคทีเรียในช่วงระยะเวลาตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2556

วิธีดำเนินการวิจัย

ในการสำรวจทางจุลชีววิทยาของหมึกกะตอยแห้งได้ทำการศึกษาและดำเนินการ ดังนี้

การเก็บตัวอย่างหมึกกะตอยแห้งที่จำหน่ายในตลาดเขตเทศบาลเมืองจังหวัดนครราชสีมาได้แก่หมึกกะตอยแห้งที่ขายในตลาดประปา จำนวนร้านค้า 3 ร้าน ตลาดแม่กิมเฮง จำนวนร้านค้า 2 ร้าน และตลาดสุรนคร จำนวนร้านค้า 6 ร้าน รวมจำนวนร้านค้าทั้งหมด 11 ร้าน ปริมาณหมึกกะตอยร้านละ 300 กรัม

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การสำรวจแหล่งจำหน่ายหมึกกะตอยแห้ง โดยสำรวจจากตลาดใหญ่ที่เปิดขายในช่วงเช้าตั้งแต่เวลา 01:00 น. ถึงเวลา 12:00 น. ซึ่งในเขตอำเภอเมืองนครราชสีมา มีจำนวน 3 ตลาด ตลาดประปา ตลาดสุรนคร และตลาดแม่กิมเฮง

2. การวัดค่าความชื้นในหมึกกะตอยแห้ง (AOAC.1990) นำภาชนะอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิดอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำออกจากตู้อบใส่ลงในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะเท่ากับอุณหภูมิห้องทำการชั่งน้ำหนักภาชนะจนได้น้ำหนักคงที่ จากนั้นชั่งตัวอย่างหมึกกะตอย จำนวน 3 กรัม ใส่ลงในภาชนะแล้วนำไปอบอีกครั้งที่อุณหภูมิ 105°C นาน 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำภาชนะพร้อมตัวอย่างออกจากตู้อบ ใส่ลงในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะเท่ากับอุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่าง นำผลที่ได้คำนวณหาปริมาณความชื้นและบันทึกผลการทดลอง

3. การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์รวม โดยวิธี Total Plate Count ด้วยเทคนิค Pour Plate (AOAC.1990) ซึ่งตัวอย่างหมึกกะตอย 25 กรัมใส่ลงในสารละลายเพปโตน 225 มิลลิลิตร เขย่าสารละลายและตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่อง stomacher จากนั้นทำการเจือจางสารละลายตัวอย่างด้วยสารละลายเพปโตน จนถึงระดับความเจือจาง 10⁻⁸ ปิเปตสารละลายเจือจางแต่ละความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้วเททับด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) ผสมสารละลายและอาหารให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 24-48 ชั่วโมง จากนั้นทำการนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมบันทึกผล

4. การตรวจเชื้อราจากหมึกกะตอยแห้ง (AOAC.1990) ตัดชิ้นหมึกกะตอยแห้งนำมาวางบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ที่เติม Kanamycin เข้มข้น 250mg/l นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลานาน 5 วัน จากนั้นทำการแยกโคโลนีเชื้อราให้บริสุทธิ์โดยการเพาะเลี้ยงแบบจุดในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 3-5 วัน เมื่อครบเวลานำเชื้อราบริสุทธิ์ที่บ่มไว้มาทำ Slide Culture ย้อมด้วยสี Lacto phenol cotton blue และนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงสังเกตผลการทดลองพร้อมบันทึกลักษณะโครงสร้างของเชื้อราตามวิธีการจำแนกของ Samson, R.A.

5. การตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (BAM.2001) ซึ่งตัวอย่างหมึกกะตอยจำนวน 10 กรัม ใส่ลงในสารละลายเพปโตน 90 มิลลิลิตร เขย่าสารละลายและตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่อง stomacher จากนั้นทำการปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาณ 0.1, 1, 10 มิลลิลิตรใส่ลงในชุดอาหาร Lauryl Sul-

phate Tryptose broth (LST) ที่ภายในมีหลอดดักก๊าซอยู่ 3 ชุด ชุดละ 5หลอด ตามลำดับนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาตรวจผลโดยการดูการเกิดก๊าซภายในหลอดดักก๊าซและการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารเลี้ยงเชื้อทำการตรวจยืนยันผลอีกครั้ง โดยใช้ loop ถ่ายเชื้อจาก LST ใส่ลงในอาหาร Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB) ที่มีหลอดดักก๊าซ นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาสังเกตลักษณะการเกิดฟองก๊าซ พร้อมบันทึกผลการทดลองเลือกหลอดอาหาร BGLB ที่ปรากฏฟองก๊าซภายในหลอดดักก๊าซมาทำการถ่ายเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Eosin Methylene Blue Agar (EMB) จากนั้นนำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงเมื่อครบเวลาทำการสังเกตลักษณะโคโลนี และการเปลี่ยนสีของอาหาร EMB นำโคโลนีที่ปรากฏบนอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB มาทำการเพาะเชื้อซ้ำลงในอาหาร LST นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หากเกิดการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อและเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซให้นำมาย้อมสีแกรม

ผลการวิจัย

ตารางที่ 1 ร้อยละของปริมาณความชื้นในหมึกกะตอยแห้งระหว่างเดือนตุลาคม-ธันวาคม พ.ศ. 2556

ร้าน	ปริมาณความชื้น (%)			ปริมาณความชื้นเฉลี่ย(%)
	ตุลาคม	พฤศจิกายน	ธันวาคม	
MR1	22.11	20.32	20.97	21.13
MR2	24.42	17.56	16.68	19.53
PR1	25.29	20.03	19.95	21.76
PR2	22.00	23.63	20.71	22.11
PR3	21.40	20.62	19.86	20.63
SR1	22.25	18.24	21.21	20.57
SR2	17.91	18.45	19.69	18.68
SR3	19.69	20.06	22.19	20.65
SR4	20.17	16.01	26.27	20.82
SR5	19.82	17.46	13.91	17.07
SR6	20.09	16.66	24.47	20.41

หมายเหตุ กำหนดให้ MR1-2 คือ ตลาดแม่กิมเฮงร้านที่ 1 ถึงร้านที่ 2
PR1-3 คือ ตลาดประปาร้านที่ 1 ถึงร้านที่ 3
SR1-6 คือ ตลาดสุรนครร้านที่ 1 ถึงร้านที่ 6

จากการหาค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นของหมึกกะตอยแห้งจำนวน 33 ตัวอย่าง พบว่าปริมาณค่าความชื้นในหมึกกะตอยแห้งในเดือนตุลาคม มีค่าความชื้นอยู่ระหว่าง 17.91-25.29 โดยร้านที่มีปริมาณความชื้นสูงสุดคือร้านค้า PR1 รองลงมาคือร้าน SR1 และ MR1 โดยมีปริมาณความชื้นเท่ากับ 25.29%, 22.25% และ 22.11 ตามลำดับ ขณะที่เดือนพฤศจิกายนมีค่าความชื้นอยู่ระหว่าง 16.66-23.63 โดยร้านที่มีปริมาณความชื้นสูงสุดคือร้านค้า PR2 รองลงมาคือร้าน PR3 และ MR1 โดยมีปริมาณความชื้นเท่ากับ 23.63%, 20.62% และ 20.32 ตามลำดับ และในเดือนธันวาคมค่าความชื้นอยู่ระหว่าง 17.07-22.11 โดยร้านที่มีปริมาณความชื้นสูงสุดคือร้านค้า PR2 รองลงมาคือร้าน PR1 และ MR1 โดยมีปริมาณความชื้นเท่ากับ 22.11%, 21.76% และ 21.13 ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 1

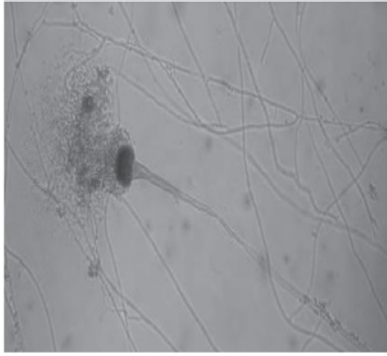
ตารางที่ 2 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่พบในตัวอย่างหมึกกะตอยแห้ง ในช่วงระหว่างเดือนตุลาคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2556

ตลาด	ปริมาณจุลินทรีย์รวม (CFU/g)		
	ตุลาคม	พฤศจิกายน	ธันวาคม
MR1	2.3x10 ³	1.1x10 ¹	7.3x10 ³
MR2	1.0x10 ²	1.5x10 ⁶	5.6x10 ⁸
PR1	3.1x10 ¹	6.8x10 ²	1.1x10 ¹
PR2	1.0x10 ⁵	2.8x10 ¹	9.0x10 ³
PR3	1.5x10 ⁵	1.4x10 ⁵	5.6x10 ⁸
SR1	2.7x10 ³	4.0x10 ³	2.8x10 ¹
SR2	7.0x10 ²	2.7x10 ⁶	3.6x10 ⁶
SR3	4.2x10 ⁵	2.3x10 ³	6.9x10 ¹
SR4	1.1x10 ⁵	2.3x10 ¹	1.4x10 ²
SR5	1.3x10 ¹	3.6x10 ¹	4.6x10 ¹
SR6	3.2x10 ¹	2.8x10 ¹	5.6x10 ⁸

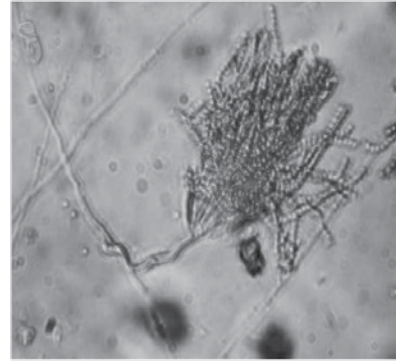
หมายเหตุ กำหนดให้ MR1-2 คือ ตลาดแม่กิมเฮงร้านที่ 1 ถึงร้านที่ 2
 PR1-3 คือ ตลาดประปาร้านที่ 1 ถึงร้านที่ 3
 SR1-6 คือ ตลาดสุรนครร้านที่ 1 ถึงร้านที่ 6

ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในหมึกกะตอยแห้งตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2556 แสดงในตารางที่ 2 พบว่าในเดือนตุลาคมร้าน SR3 รองลงมาคือร้าน PR3 และ ร้าน SR4 โดยมีปริมาณจุลินทรีย์รวมทั้งหมดเท่ากับ 4.2x10⁵, 1.5x10⁵ และ 1.1x10⁵ CFU/g ตามลำดับ ในเดือนพฤศจิกายนร้าน SR2 รองลงมาคือ ร้าน MR2 และ ร้าน PR3 โดยมีปริมาณจุลินทรีย์รวมทั้งหมดเท่ากับ 2.7x10⁶, 1.5x10⁶ และ 1.4x10⁵ CFU/g ตามลำดับและในเดือนธันวาคมร้าน MR2, ร้าน PR3 และร้าน SR6 รองลงมาคือร้าน SR2 และ ร้าน PR2 โดยมีปริมาณจุลินทรีย์รวมทั้งหมดเท่ากับ 5.6x10⁸, 3.6x10⁶ และ 9.0x10³ CFU/g ตามลำดับ

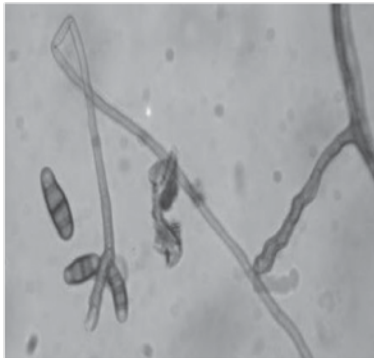
4. การตรวจเชื้อราจากหมึกกะตอยแห้ง หมึกกะตอยที่เก็บตัวอย่างมีเชื้อราปนเปื้อนจำนวน 37 ไอโซเลท สามารถจำแนกเชื้อราระดับสกุลได้ 4 ชนิดคือ *Aspergillus* sp. จำนวน 19 ไอโซเลท *Penicillium* sp. จำนวน 7 ไอโซเลท *Curvularia* sp. จำนวน 2 ไอโซเลทและ *Rhizopus* sp. จำนวน 1 ไอโซเลท นอกจากนี้ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้อีกจำนวน 8 ไอโซเลทโดยเชื้อแต่ละสกุลมีลักษณะโครงสร้างของเส้นใยดังแสดงในภาพที่ 1



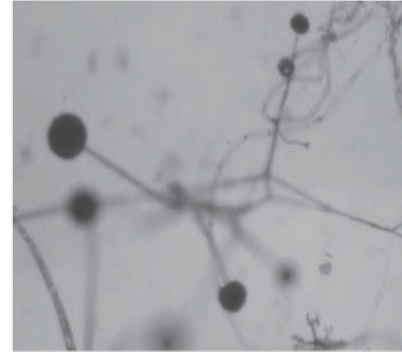
ก. *Aspergillus* sp.



ข. *Penicillium* sp.



ค. *Curvularia* sp.



ง. *Rhizopus* sp.

ภาพที่ 1 รูปร่างและลักษณะโครงสร้างของเชื้อรา ก) *Aspergillus* sp. ข) *Penicillium* sp. ค) *Curvularia* sp. และ ง) *Rhizopus* sp.

5. การตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์ม จากการนำสารละลายเจือจางของหมักกะตอยแห้ง มาทำการตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์มด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl sulphat-tryptose broth (LST) และนำไปป่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากการทดลองไม่พบการเกิดฟองก๊าซภายในหลอดดักก๊าซ และเมื่อนำไปตรวจยืนยันผลอีกครั้ง โดยใช้ loop ถ่ายเชื้อจากชุดอาหาร Lauryl sulphat-tryptose broth (LST) ใส่ลงในชุดอาหาร Brilliant green lactose bile broth (BGLB) ที่มีหลอดดักก๊าซ และนำไปป่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาตรวจสอบไม่พบการเกิดฟองก๊าซในหลอดดักก๊าซจากการทดสอบพบว่าปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มมีค่า < 2MPN/g

สรุปผลการทดลองและอภิปรายผล

จากการหาค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นของหมักกะตอยแห้งจำนวน 33 ตัวอย่าง พบว่าปริมาณค่าความชื้นในหมักกะตอยแห้ง โดยวิธีการวัดค่าความชื้น (AOAC. 1990) ปริมาณ

ค่าความชื้นที่วัดได้ถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ใกล้เคียงกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.311/2547)ผลิตภัณฑ์อาหารแห้ง เช่น ปลาหมึกแห้ง กำหนดให้ค่าความชื้นไม่เกินร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก นอกจากนี้ยังเป็นอาหารที่มีความชื้นและวอเตอร์แอกทีวิตีต่ำความเสี่ยงจากการเกิดอาหารเป็นพิษจากแบคทีเรียชนิดนี้ในอาหารประเภทนี้จึงมีน้อยอย่างไรก็ตาม หากทำให้ผลิตภัณฑ์อยู่ในสภาวะเหมาะสมเช่นมีความชื้นสูงขึ้นจนทำให้สปอร์ *Bacillus* spp. รวมทั้ง *B. cereus* งอกและเซลล์เจริญเพิ่มจำนวนขึ้นจะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์อาหารชนิดนี้เสื่อมเสียหรือไม่ปลอดภัยต่อการบริโภคได้ ปริมาณจุลินทรีย์รวมในหมักกะตอยแห้งตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2556 พบว่ามีปริมาณการปนเปื้อนอยู่ระหว่าง $1.8 \times 10^3 - 7.6 \times 10^9$ CFU/g ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนปลาหมึกแห้ง (มผช.311/2547) กำหนดเกณฑ์การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ต้องไม่เกิน 1×10^5 CFU/g. ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของสุภัททิติ นิมรัตน์ และคณะ (2553 : 509-519) พบว่ามีแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์

หมึกแห้งที่สำรวจในจังหวัดชลบุรี ซึ่งมีปริมาณเชื้อปนเปื้อนสูงถึง 1.970.16x10⁹ CFU/g จากการตรวจหาปริมาณเชื้อราจากตัวอย่างหมึกกะตอย 33 ตัวอย่าง พบจำนวน 37 ไอโซเลทเมื่อนำมาเพาะระดับสกุลของเชื้อราพบเชื้อจำนวน 4 ชนิดคือ *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Curvularia sp.* และ *Rhizopus sp.* นอกจากนี้เมื่อนำหมึกกะตอยแห้งไปตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์มในชุดอาหาร Lauryl sulphatetryptose broth (LST) พบว่าในตัวอย่างทั้งหมดไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ซึ่งส่วนใหญ่เป็นราที่สร้างสปอร์ โดยมักพบการปนเปื้อนในอากาศ ซึ่งมักปนเปื้อนได้ง่ายในอาหารที่ไม่มีภาชนะปิด (สมุณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) นั่นคือการตรวจไม่สอดคล้องกับการศึกษาของศิริโฉม พุงแก้ว และกิตติรัตน์ วงษ์อินทร์ (2550) ทำการศึกษาเกี่ยวกับคุณภาพทางจุลชีววิทยาของหมึกแห้งปรุงรสพร้อมบริโภคชนิดแบ่งจำหน่าย จากภาชนะบรรจุขนาดใหญ่ในตลาดหนองมนจังหวัดชลบุรีจำนวน 75 ตัวอย่าง ประกอบด้วย หมึกบดอบกรอบ 15 ตัวอย่าง หมึกบดอบชนิดไม่เผ็ด 30 ตัวอย่าง และหมึกบดอบชนิดเผ็ดและไม่เผ็ด พบว่าหมึกบดอบกรอบมีแบคทีเรียเฉลี่ย 2.0x10⁶-1.4x10⁷ CFU/g และพบว่าทุกตัวอย่างมี *Escherichia coli* น้อยกว่า 3 MPN/g และพบ *Staphylococcus aureus* น้อยกว่า 10 CFU/g สำหรับ *Salmonella* นั้นตรวจไม่พบในทุกตัวอย่างแบคทีเรียที่พบมากในหมึกบดปรุงรสทุกชนิดได้แก่สกุล *Bacillus* รองลงมาคือ *Staphylococcus* และ *Acinetobacter* ตามลำดับสำหรับเชื้อราพบสกุล *Aspergillus* และ *Penicillium* มากที่สุดในตัวอย่างทุกประเภท

ข้อเสนอแนะ

ในการสำรวจร้านค้าที่ขายหมึกกะตอยแห้งจากตลาดต่างๆ ที่ศึกษานั้นภาชนะที่ใช้ใส่ปลาหมึกแห้งคือกล่องหรือลังกระดาษ และบริเวณตลาดพื้นทางเดินขึ้นและไม่สะอาด ตลอดจนการเก็บก็เพียงแค่นำผ้าใยฝ้ายใหญ่มาคลุมไว้เท่านั้น ทางผู้วิจัยจึงเห็นว่าควรเพิ่มตรวจหาแหล่งการผลิตในขั้นตอนต่างๆ ระหว่างรอส่งขายหรือบริเวณร้านแต่ละร้าน ตลอดจนการเก็บรักษาทุกขั้นตอน นำมาเปรียบเทียบกับปริมาณจุลินทรีย์รวมและเชื้อรา

เอกสารอ้างอิง

คณะอุตสาหกรรมเกษตรมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (2553). **บทบาทของจุลินทรีย์ในอาหาร**. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://www.agro.cmu.ac.th/e_books/602122/E-learning. [5 มีนาคม 2556].

สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม. (2547). ที่ 311/2547 **มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนปลาหมึกแห้ง**.

สำนักกระบาดวิทยา. (2552). [ออนไลน์] แหล่งที่มา : www.boe.moph.go.th/.../Annual%202552/.../3752_FoodPoisoning.doc [1 เมษายน 2556].

สุบัณฑิต นิมรัตน์, ปรียพร ทองเนียม และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2553). “แบคทีเรียกลุ่มทนเค็มและแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี ในผลิตภัณฑ์หมึกแห้งที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี ประเทศไทย” **วารสารวิทยาศาสตร์ มข.** 38(4) : 509-519.

สมุณฑาวัฒนสินธุ์. (2545). **จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในอาหาร**. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (Food Microbiology). กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

เสาวนิตย์ ขอบบุญ. (2550). **การจำแนกราสั้นสายที่พบในอาหารและอากาศ**. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ ภาพพิมพ์. อนุเทพ ภาสุระ. (2541). “การศึกษาเชื้อราปนเปื้อนสายพันธุ์ที่สร้างสารอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้ง และการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ที่ปนเปื้อนโดยใช้สารกันเสียบางชนิด”. **วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา.** 6 (1) : 11-21.

A.O.A.C. 1990. **Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist.** Arlington, Virginia.

BAM, (2001). **USA Food and Drug Administration.** [online]. Available at <http://www.cfsan.fda.gov/?ebam/> Retried on 20 December, 2013.

Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C. & Filtenborg O. (2002). **Introduction to food and airborne fungi.** Wageningen: Ponsen&Looyen.