สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของส่วนผสมอาหารต่อการต้านทานความร้อน ของ *Vibrio parahaemolyticus* ในอาหารทะเล

นาย วรรธนนท์ หาเพิ่มพูล
นาย สิทธิโชค ศิริศรชัย

ลง.
วว
๒๕๕๑
หมวดหมู่.....
เลขทะเบียน 83761
วัน,เดือน,ปี 15 ก.ย. 2551
b 11983486
i.....

โครงงานพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Influence of food ingredients on thermal resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood

Mr. Watthanon Hapermpool

Mr. Sittichok Sirisornchai

Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Bachelor of Science Department of Applied Biology Programme of Industrial Microbiology Faculty of Science King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง ผลของส่วนผสมอาหารต่อการต้านทานความร้อนของ *Vibrio parahaemolyticus* ในอาหารทะเล

นักศึกษา นายวรรธนนท์ หาเพิ่มพูล

นายสิทธิโชค ศิริศรชัย

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา 2550

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง	
กรรมการ	ผศ. ลินจง สุขลำภู	
กรรมการ	รศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ	

.....

(รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง ผลของส่วนผสมอาหารต่อการต้านทานความร้อน
ของ *Vibrio parahaemolyticus* ในอาหารทะเล

นักศึกษา นายวรรธนนท์ หาเพิ่มพูล
นายสิทธิโชค ศิริศรชัย

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา 2550

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเลสดจำนวน 5 ชนิดได้แก่ กุ้ง ปลา ปลาหมึก หอยนางรม และหอยแมลงภู่ พบว่าปลากะพงขาวมีปริมาณไขมัน โปรตีน ของแข็งทั้งหมด และปริมาณโซเดียมคลอไรด์มากที่สุดคือ มีปริมาณเฉลี่ยร้อยละ 2.96, 21.50, 23.96 และ 2.96 ตามลำดับ ขณะที่กุ้งมีปริมาณเถ้ามากที่สุดคือร้อยละ 3.61 หอยนางรมมีปริมาณ ไขมัน เถ้า และโซเดียมคลอไรด์ต่ำที่สุดคือร้อยละ 0.65, 0.75 และ 0.12 ตามลำดับ และในหอยแมลงภู่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดต่ำสุดคือร้อยละ 10.95

ในการศึกษาผลของการใช้ความร้อนในการทำลายเชื้อ *V. parahaemolyticus* SH1 ในกุ้ง *V. parahaemolyticus* GS1 ในปลา และ *V. parahaemolyticus* MS2 ในปลาหมึก โดยหาค่า Decimal reduction time (D value) ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส พบว่าค่า $D_{55\,^{\circ}C}$ ในกุ้งมีค่าสูงที่สุด 125.02 วินาที ตามด้วย $D_{55\,^{\circ}C}$ ในปลาและปลาหมึกซึ่งมีค่าเท่ากับ 111.76 และ 107.32 วินาที ตามลำดับ ดังนั้นจึงได้ทำการเลือกเชื้อ *V. parahaemolyticus* SH1 มาศึกษาผลของพริก กระเทียม และเกลือต่อการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์นี้ในกุ้งสดพบว่าค่า $D_{55\,^{\circ}C}$ ของกุ้งสดผสมพริกมีค่าสูงที่สุดคือ 256.50 วินาที ซึ่งมีค่ามากกว่ากุ้งสดชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารใดๆ (122.12 วินาที) แต่พบว่าในกุ้งผสมกระเทียมและกุ้งผสมเกลือมีค่า $D_{55\,^{\circ}C}$ ของ *V. parahaemolyticus* น้อยกว่าในกุ้งชุดควบคุมคือ 87.83 และ 94.80 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title Influence of food ingredients on thermal resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood

Name Mr. Watthanon Hapermpool

Mr. Sittichok Sirisornchai

Department Applied Biology

Programe Industrial Microbiology

Academic Year 2007

Special Project Advisor Assoc. Prof. Dr. Suree Nanasombat

ABSTRACT

Chemical composition of fresh seafoods such as shrimp, fish, squid, oyster and mussel was analyzed. Fish had the highest content of lipid, protein, total solid and sodium chloride (2.96%, 21.50%, 23.69% and 2.96%, respectively), while shrimp contained the highest amount of ash (3.61%). Among all seafoods analyzed, oyster showed the lowest amount of lipid, ash, and sodium chloride (0.65%, 0.75% and 0.12%, respectively), and mussel had the lowest amount of total solid (10.95%).

Thermal inactivation of *V. parahaemolyticus* SH1 in shrimp, *V. parahaemolyticus* GS1 in fish and *V. parahaemolyticus* MS2 in squid was investigated by determining the decimal reduction time (D value) at 55 °C. $D_{55\,^{\circ}C}$ of *V. parahaemolyticus* in shrimp was the highest (125.02 sec.), followed by those in fish and squid which were 111.76 and 107.32 sec., respectively. Therefore, *V. parahaemolyticus* SH1 was selected to determine the effect of red chilli, garlic and sodium chloride on its thermal resistance in shrimp. The results showed that $D_{55^{\circ}C}$ of *V. parahaemolyticus* added with chilli (256.50 sec.) was higher than control, shrimp without any food ingredient (122.12 sec.). $D_{55^{\circ}C}$ of *V. parahaemolyticus* SH1 in shrimp added with garlic was 87.83 sec., whereas that in shrimp added with sodium chloride was 94.80 sec.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาวิชาโครงงานพิเศษ ในหัวข้อเรื่องผลของส่วนผสมอาหารต่อการต้านทานความร้อนของ *Vibrio parahaemolyticus* ในอาหารทะเล

โครงงานพิเศษนี้ไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปด้วยดีหากไม่ได้รับการช่วยเหลือจากบุคคลดังต่อไปนี้

ทางผู้จัดทำขอขอบพระคุณ รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ ที่ให้ความรู้และคำแนะนำต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการทดลอง ข้อเสนอแนะ การตอบข้อซักถามที่เกิดขึ้นในการทำการทดลอง รวมทั้งกำลังใจ และข้อคิดดีๆจนกระทั่งโครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบพระคุณ รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง และ ผศ.ลินจง สุขลำภู ที่ให้ความรู้และคำแนะนำต่าง ๆ เกี่ยวกับโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมืออุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบพระคุณพี่ๆ ปริญญาโทและเพื่อนๆ ทุกคน ที่ค่อยให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในเรื่องต่างๆ ทำให้การทำโครงงานพิเศษเป็นไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณบิดา-มารดาของผู้จัดทำที่เป็นกำลังใจและสนับสนุนกำลังทรัพย์ในการทำโครงงานพิเศษนี้

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานที่จัดทำขึ้นฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับโครงงานพิเศษนี้ หากมีข้อผิดพลาดประการใด ผู้จัดทำขออภัย ณ ที่นี้ด้วย

วรรธนนท์ หาเพิ่มพูล
สิทธิโชค ศิริศรชัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ข

กิตติกรรมประกาศ ค

สารบัญ ง

สารบัญตาราง ฉ

สารบัญรูป ช

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ 1

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ 2

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

1.5 ขั้นตอนการดำเนินงาน 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ 4

2.1 เชื้อจุลินทรีย์ *Vibrio parahaemolyticus* 4

2.1.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา 4

2.1.2 แหล่งที่มาของเชื้อ *V. parahaemolyticus* 5

2.1.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *V. parahaemolyticus* 7

2.1.4 การติดเชื้อและอาการของโรค 8

2.1.5 การเกิดโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *V. parahaemolyticus* 8

2.2 การควบคุมจุลินทรีย์ 13

2.2.1 การควบคุมจุลินทรีย์ด้วยความร้อน 13

2.2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการต้านทานความร้อน 16

2.2.3 การควบคุมจุลินทรีย์โดยสารยับยั้งที่มีอยู่ตามธรรมชาติในพืช 21

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย 31

3.1 อุปกรณ์ 31

3.2 การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเลสด 32

3.3 การหาค่า Decimal reduction time (D value) ของ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลสด 35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4 การศึกษาผลของพริก กระเทียม และเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการต้านทานความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลสด 37

บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปรายผลการทดลอง 39

4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเล 39

4.2 การศึกษาการต้านทานความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในกุ้ง ปลาหมึก และปลาสด 40

4.3 ผลของส่วนผสมอาหารต่อการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* 42

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 44

เอกสารอ้างอิง 46

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี 50

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ผลการทดลองหาค่า D value 56

ภาคผนวก ค สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ สารละลาย และวิธีเตรียม 64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 จำนวนผู้ป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษ จำแนกตามชนิดของเชื้อก่อโรค ประเทศไทย ปี พ.ศ. 2539 – 2549	12
2.2 การต้านทานความร้อนค่า D value ของแบคทีเรียก่อโรค	16
2.3 พืช และส่วนประกอบหลักของสารต้านจุลินทรีย์	24
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเล	39
4.2 ค่า Decimal reduction time ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ($D_{55\,^{\circ}C}$) ของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้ง ปลาหมึก และปลาสด	41
4.3 ผลของเครื่องเทศ และเกลือโซเดียมคลอไรด์ ต่อการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* SH1	43
ก.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด (3 ซ้ำ)	51
ก.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (3 ซ้ำ)	52
ก.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (3 ซ้ำ)	53
ก.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (3 ซ้ำ)	54
ก.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (3 ซ้ำ)	55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ลักษณะเซลล์ รูปท่อนตรงหรือโค้ง มีแฟลกเจลลาที่ปลายขั้วข้างใดข้างหนึ่ง	4
2.2 ผลติดสีแกรมลบ สีแดงที่ได้จากการย้อมแกรม	5
2.3 โคโลนีที่ถูกแยกออกมาบนอาหาร TCBS สำหรับตรวจเชื้อ *V. parahaemolyticus*	6
2.4 ผลของพีเอชต่อการต้านทานความร้อนของสปอร์แบคทีเรีย	18
2.5 ผลของน้ำตาลต่อการต้านทานความร้อนของสปอร์แบคทีเรีย	19
2.6 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีในพืช	25
2.7 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีในพืช(ต่อ)	26
ข.1 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* SH1 ในกุ้งแชบ๊วย และการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ($D_{55\,^{\circ}C}$): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 125.02 วินาที	57
ข.2 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* GS1 ในปลากะพงขาวและการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ($D_{55\,^{\circ}C}$): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 115.70 วินาที	58
ข.3 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* MS2 ในปลาหมึกกล้วย และการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ($D_{55\,^{\circ}C}$): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 107.32 วินาที	59
ข.4 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งที่ไม่ได้เติมส่วนผสมของอาหาร (ชุดควบคุม) และการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ($D_{55\,^{\circ}C}$): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 112.12 วินาที	60
ข.5 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งผสมพริกและการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ($D_{55\,^{\circ}C}$): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 256.5 วินาที	61
ข.6 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งผสมกระเทียมและการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ($D_{55\,^{\circ}C}$): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 87.83 วินาที	62
ข.7 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งผสมเกลือและการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ($D_{55\,^{\circ}C}$): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 94.8 วินาที	63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

เชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่ชอบเจริญในสภาพที่มีความเข้มข้นของเกลือ มีลักษณะเป็นรูปท่อนตรง หรือโค้ง ไม่สร้างสปอร์ มีแฟลกเจลลาเพียงเส้นเดียวอยู่ที่ขั้วเซลล์ข้างใดข้างหนึ่งของเซลล์ สามารถเคลื่อนที่ได้เมื่อเจริญอยู่ในของเหลว (Baumann และ Schubert, 1984) พบได้ในสิ่งแวดล้อมในทะเล การพบเชื้อชนิดนี้เกี่ยวข้องกับอุณหภูมิของน้ำทะเล โดยจะพบเมื่ออุณหภูมิของน้ำทะเลเพิ่มขึ้นถึง 15 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า (Su และ Liu, 2007) จุลินทรีย์ชนิดนี้เป็นสาเหตุให้เกิดโรคทางเดินอาหารจากการบริโภคอาหารทะเลสดหรือผ่านการปรุงที่ไม่เหมาะสมที่มีเชื้อดังกล่าวปนเปื้อนเข้าไป โดยพบการระบาดครั้งแรกในปี ค.ศ. 1951 จากนั้นมีการรายงานการระบาดของโรคกันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะประเทศในแถบทวีปเอเชีย ซึ่งประชาชนบริโภคอาหารทะเลกันบ่อยครั้งในชีวิตประจำวัน ในประเทศไต้หวันและญี่ปุ่น พบว่าเชื้อดังกล่าวเป็นเชื้อโรคที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษมากที่สุดเป็นอันดับ 1 (Lin และคณะ, 2004) โดยผู้ที่บริโภคอาหารทะเลที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* เข้าไปจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดศีรษะ ปวดท้อง มีไข้หนาวสั่น และถ่ายอุจจาระเป็นน้ำ เชื้อ *V. parahaemolyticus* โดยปกติแล้วจะพบอยู่ในทะเลโดยสามารถคัดแยกได้จากอาหารทะเลหลายชนิด ได้แก่ ปลาค็อต (codfish) ปลาซาดีน (sardine) ปลาแมคคาเรล (mackerel) ปลาลิ้นหมา (flounder) ปลาหมึก (squid) กุ้ง (shrimp) ปู (crab) หอยเซลล์ (scallop) และหอยนางรม (oyster) (Liston, 1990) จะเห็นได้ว่าสามารถพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* นั้นปนเปื้อนอยู่ในอาหารทะเลหลายชนิด ดังนั้นการที่เราบริโภคอาหารทะเลโดยที่ไม่ผ่านกระบวนการทำลายเชื้อจุลินทรีย์อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้

การใช้ความร้อนในการทำลายจุลินทรีย์ถือเป็นวิธีการหนึ่งที่ได้รับความนิยมและสะดวกที่สุด ความร้อนมีผลต่อการทำลายเซลล์ของจุลินทรีย์โดย Banwart (1989) ได้กล่าวว่าความร้อนมีผลทำให้โปรตีนภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เสียสภาพหรือตกตะกอนทำให้ DNA (deoxy ribonucleic acid) แตกสลายและมีผลทำให้ชั้นเปปติโดไกลแคนขาดความแข็งแรง ซึ่งอาจจะเพียงพอที่จะป้องกันการเพิ่มจำนวนเซลล์ในสภาพที่ให้ความร้อน นอกจากนี้ผลจากแรงดันออสโมติก ทำให้เซลล์ของจุลินทรีย์เกิดรอยแยก ดังนั้นตราบใดที่เซลล์ของจุลินทรีย์ยังได้รับความร้อนอยู่องค์ประกอบภายในเซลล์จะหลุดออกมาตามรอยแยกเซลล์ จุลินทรีย์จะถูกทำลายในที่สุด (Banwart, 1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ในสภาพแวดล้อมหรืออาหารที่แตกต่างกัน ทำให้ต้องคำนึงถึงการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ที่เปลี่ยนแปลงไปจากผลของปัจจัยต่างๆ ซึ่งปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์มีหลายชนิดได้แก่ ประเภทของการให้ความร้อน ลักษณะของเซลล์ รวมทั้งสภาพแวดล้อมในการเจริญและอายุของจุลินทรีย์ มีรายงานว่า ค่าการต้านทานความร้อนของ *Bacillus licheniformis* จะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า เมื่อมีการเติมเกลือร้อยละ 4 ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Banwart, 1989) นอกจากการที่อาหารมีส่วนผสมของเครื่องเทศ ก็มีผลต่อการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์เช่นเดียวกัน Kim และ Ryeom (1979) ได้รายงานว่าสารแคปไซซิน (capsaicin) ในพริกขี้หนูของเกาหลี (Korean hot pepper) มีผลต่อต้านทานแบคทีเรียได้แก่ *Bacillus subtilis, Bacillus cereus* และ *Sarcina lutea* ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าส่วนผสมอาหารที่เติมลงไปอาจมีผลต่อการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหารนั้น ซึ่งเป็นเรื่องที่น่าสนใจที่จะศึกษาผลของเครื่องเทศเช่น พริก และกระเทียม รวมทั้งโซเดียมคลอไรด์ต่อการต้านทานความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลเพื่อจะได้ทราบถึงอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการให้ความร้อนแก่อาหารทะเลเพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากยิ่งขึ้น

1.2วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเลสด

1.2.2 เพื่อศึกษาผลการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลสด ได้แก่ กุ้ง ปลาหมึก ปลา

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของพริก กระเทียม และเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus*

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเลและศึกษาผลของพริก กระเทียม และเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus*

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทำให้ทราบถึงปริมาณและองค์ประกอบทางเคมีในอาหารทะเลสด

1.4.2 ทำให้ทราบถึงระยะเวลาที่ทำให้เชื้อ *V. parahaemolyticus* ถูกทำลายร้อยละ 90 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

1.4.3 ทำให้ทราบถึงผลของพริก กระเทียม และเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการทนความร้อนของ *V. parahaemolyticus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 ขั้นตอนการดำเนินงาน

1.5.1 วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเลสดได้แก่ กุ้ง ปลา ปลาหมึก และหอยนางรม ชนิดละ 3 ตัวอย่าง องค์ประกอบทางเคมีที่วิเคราะห์ได้แก่ จำนวนของแข็งทั้งหมด (total solid) โปรตีน ความชื้น เถ้า ปริมาณเกลือคลอไรด์ และไขมัน โดยใช้วิธีการของ AOAC (2000) และ Kirk และ Sawyer (1991)

1.5.2 วิเคราะห์หาค่า D value ของ *V. parahaemolyticus* ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ในอาหารทะเลสดได้แก่ กุ้ง ปลาหมึก ปลา

1.5.3 วิเคราะห์หาค่า D value ของ *V. parahaemolyticus* ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ในอาหารทะเลสดที่เติมส่วนผสมของอาหารซึ่งได้แก่ พริก กระเทียม และเกลือโซเดียมคลอไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

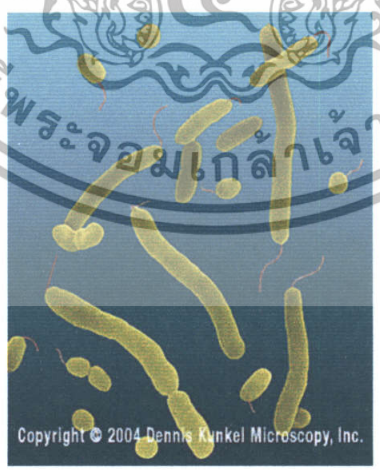
บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 เชื้อจุลินทรีย์ *Vibrio parahaemolyticus*

2.1.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

V. parahaemolyticus เป็นจุลินทรีย์ที่ชอบเกลือ (halophillic) อาศัยอยู่ตามชายฝั่งทะเล น้ำกร่อย หรือที่เป็นบริเวณสามเหลี่ยมปากแม่น้ำ (Boyd และคณะ, 1991) พบและถูกแยกเชื้อครั้งแรกจากอุจาระของผู้ป่วยในปี 1950 จากผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษที่ประเทศญี่ปุ่น เดิมเรียกเชื้อนี้ว่า *Pasteurella parahaemolyticus* สำหรับลักษณะของเชื้อ *V. parahaemolyticus* จะเป็นลักษณะรูปท่อนตรง หรือโค้ง เซลล์ย้อมติดสีแกรมลบ ไม่สร้างแคปซูลและสปอร์ ส่วนใหญ่มีแฟลกเจลลาที่ปลายข้างหนึ่งของเซลล์ ส่วนใหญ่สร้างเอนไซม์ออกซิเดส และคะตะเลสได้ หมักกลูโครสแต่ไม่เกิดแก๊ส

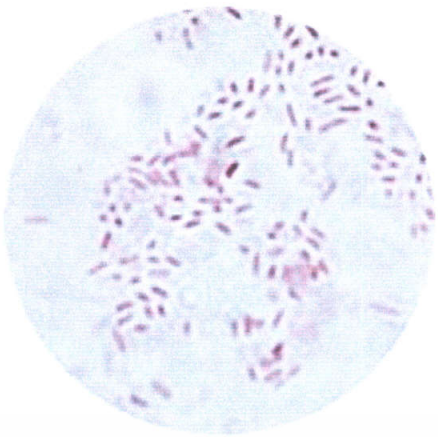
อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ระหว่าง 30 ถึง 35 องศาเซลเซียส ช่วงอุณหภูมิในการเติบโตอยู่ที่ 10 ถึง 44 องศาเซลเซียส ช่วงพีเอชในการเติบโตอยู่ระหว่าง 6 ถึง 9 เป็นแบคทีเรียจำพวก marine microbe ต้องการเกลืออย่างน้อยที่สุดร้อยละ 0.5 เพื่อรักษาแรงดัน osmotic ภายในเซลล์ เจริญได้ดีในความเข้มข้นของเกลือประมาณร้อยละ 1 ถึง 3 จะเจริญช้าลงที่ความเข้มข้นของเกลือประมาณร้อยละ 5 และสามารถเติบโตได้ที่มีเกลือร้อยละ 7



รูปที่ 2.1 ลักษณะเซลล์รูปท่อนตรงหรือโค้ง มีแฟลกเจลลาที่ปลายขั้วข้างใดข้างหนึ่ง

ที่มา : http://pathmicro.med.sc.edu/fox/vibrio-para-dk2.jpg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 ผลติดสีแกรมลบ สีแดงที่ได้จากการย้อมแกรม

ที่มา : http://www.hannachile.com/info/consejos/img/2005/01/vibrio-parahemolitico.jpg

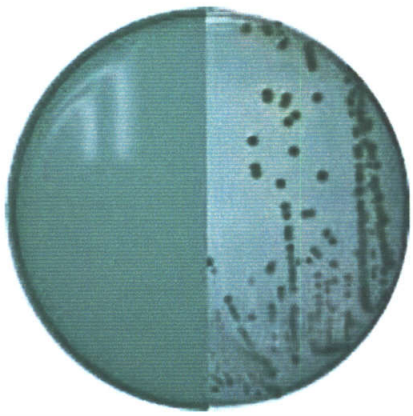
การแบ่ง serotype ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในปัจจุบันใช้ระบบการแบ่งตามชนิดของ O-antigen ซึ่งมี 13 ชนิด และ K-antigen ปัจจุบันพบ 71 ชนิด serotype ของเชื้อต้องบอกทั้งชนิดของ O-antigen (แอนติเจนที่ผนังเซลล์) และ K-antigen (แอนติเจนที่แคปซูล) ยกตัวอย่างของ serotype ที่พบก่อโรคในระบบทางเดินอาหารอยู่บ่อยๆ เช่น serotype O3:K6 ซึ่งพบระบาดอยู่ทั่วไปทั่วโลกพบการระบาดบ่อยครั้งในประเทศญี่ปุ่น เกาหลี ไต้หวัน แถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมถึงประเทศสหรัฐอเมริกา

2.1.2 แหล่งที่มาของเชื้อ *V. parahaemolyticus*

2.1.2.1 ที่มาของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อ *V. parahaemolyticus* ทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองนี้ (สายพันธุ์ SH1 GS1 และ MS2) ได้จากการคัดแยกเชื้อจากตัวอย่างอาหารทะเลชนิดต่างๆ ในกรุงเทพมหานครด้วยวิธี Most probable number แล้วจึงแยกโคโลนีต้องสงสัยลงในอาหารเชี้ยงเชื้อ TCBS (selective media) ได้สันฐานวิทยาเป็นสีเขียว กลม ทึบ เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีประมาณ 0.2 ถึง 0.4 เซนติเมตร จากนั้นนำมาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีอื่นๆ เพื่อแยกสปีชีส์ของเชื้อที่ได้จากการทดลอง โดยเชื้อที่คัดแยกได้จากกุ้งสายพันธุ์ SH1 มีคุณสมบัติทางชีวเคมีคล้ายคลึงกับคุณสมบัติของเชื้อ *V. parahaemolyticus* มากที่สุดคือร้อยละ 99.9 สำหรับอีกสองสายพันธุ์ที่เหลือ สายพันธุ์ GS 1 แยกได้จากปลา และสายพันธุ์ MS2 แยกได้จากปลาหมึก (นวรัตน์ และ ประทุม, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 โคโลนีที่ถูกแยกออกมาบนอาหาร TCBS สำหรับตรวจเชื้อ *V. parahaemolyticus*

ที่มา : http://www.city.niigata.jp/info/eisei_ken/image/511bi1.jpg

2.1.2.2 การแพร่กระจายในสิ่งแวดล้อม

จากการตรวจวัดคุณภาพน้ำทะเลชายฝั่งบริเวณอ่าวไทยและฝั่งทะเลอันดามัน (23 จังหวัด) ในปี 2544 มีการเพิ่มการตรวจวัดเชื้อ *V. parahaemolyticus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษโดยพบว่า แหล่งเลี้ยงหอยที่สำคัญหลายแหล่งมีปริมาณแบคทีเรียชนิดนี้สูง สอดคล้องกับการศึกษาของกรมประมงระหว่างปี 2539 ถึง 2541 ที่พบแบคทีเรียชนิดนี้ปนเปื้อนไปในหอยนางรมที่เลี้ยงบริเวณอ่าวบ้านดอน จังหวัดสุราษฎร์ธานี สูงเกินมาตรฐานอาหารทะเลสดพร้อมบริโภคของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (มีค่าไม่เกิน 100 Colony Forming Unit; CFU ต่อกรัม) การตรวจวัดจุลินทรีย์ชนิด *V. parahaemolyticus* ในอ่าวไทยฝั่งตะวันออกบริเวณอ่าวชลบุรีและอ่างศิลาพบว่า มีค่าอยู่ในช่วง 20 ถึง 460 และ 10 ถึง 145 CFU ต่อมิลลิลิตรตามลำดับจึงอาจมีความเสี่ยงที่จะทำให้ผู้บริโภคหอยนางรมสดเกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ ในขณะที่อ่าวไทยฝั่งตะวันตกพบว่าคุณภาพน้ำทะเลชายฝั่งบริเวณแหล่งเลี้ยงหอยที่สำคัญๆ (ปากคลองบ้านบางตะบูน บ้านแหลม อ่าวบ้านดอน) มีปริมาณ *V. parahaemolyticus* สูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณอ่าวบ้านดอนซึ่งเป็นแหล่งเลี้ยงหอยนางรมมีปริมาณสูงถึง 300 CFU ต่อมิลลิลิตร การที่มีการตรวจพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ปริมาณมากในอาหารทะเลสดนั้นเนื่องจากเชื้อนี้มีถิ่นอาศัยอยู่ในชายฝั่งทะเลแถบร้อนและในเขตร้อนโดยจะอยู่ในแพลงตอน เมื่อสัตว์ทะเลกินแพลงตอนที่มีเชื้อเข้าไป จึงทำให้เชื้อแพร่เข้าสู่สัตว์ด้วย นอกจากนี้เชื้อยังอาจปะปนออกมากับสิ่งขับถ่ายของแพลงตอนทำให้เชื้อแพร่กระจายอยู่ในน้ำทะเล ซึ่งก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เชื้อแพร่สู่อาหารทะเลได้ การแพร่กระจายของเชื้อมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิของน้ำทะเล ในช่วงฤดูหนาวอุณหภูมิของน้ำจะต่ำลงเชื้อสามารถอาศัยในตะกอนใต้พื้นน้ำ เมื่อถึงฤดูร้อนอุณหภูมิของน้ำสูงขึ้นเชื้อจากตะกอนใต้พื้นน้ำแพร่กระจายเข้าสู่แพลงตอนสัตว์ (zooplankton) เชื้อนี้สามารถย่อยไคติน (เป็นส่วนประกอบในชั้นเปลือกของแพลงตอนสัตว์) เพื่อใช้ในการเจริญเพิ่มจำนวนในฤดูร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *Vibrio parahaemolyticus*

2.1.3.1 สารเจือปนในอาหาร

สารเจือปนในอาหารหลายชนิดที่มีฤทธิ์ต้านทานการเจริญของแบคทีเรียมีผลต่อการยับยั้ง *V. parahaemolyticus* เช่น โพแทสเซียมซอร์เบท (potassium sorbate) โมโนลอริน (monolaurin) โมโนคาพริน (monocsprin) โซเดียมเบนโซเอท (sodium banzoate) โพรพิล-พาร่า-ไฮดรอกซีเบนโซเอท (propyl-p-hydroxyl-benzoate) การเติมสารเจือปนที่มีฤทธิ์ยับยั้งลงในเนื้อบดมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย และทำให้มีจำนวนเซลล์ต่ำกว่าตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารเจือปนดังกล่าว สารเจือปนนี้ยังอาจทำให้ *V. parahaemolyticus* มีการต้านทานความร้อนเพิ่มขึ้น

2.1.3.2 สารปฏิชีวนะ

V. parahaemolyticus มีความไวต่อคลอแรมฟีนิคอล (chloramphenicol) เทตราไซคลิน (tetracyclin) แอซทรีโอนัม (aztreonam) อะมิโนไกลโคไซด์ (aminoglycosides) เซฟราโรสปอริน (third-generation cephalosporins) อิมิพีแนม (imipenem) และควิโนโลน (quinolones) สำหรับเพนนิซิลลิน (penicillin) และเซฟราโรสปอรินชนิดเก่าไม่มีผลต่อเชื้อ *V. parahaemolyticus* อย่างไรก็ตาม *V. parahaemolyticus* จะถูกทำลายได้ง่ายเมื่อใช้ ซัลแบคแทม (sulbactam) ร่วมกับแอมพิซิลิน (ampicillin) ควิโนโลน (quinolones) ยาปฏิชีวนะที่มีผลในการต้านทานต่อเชื้อ *V. parahaemolyticus* มากที่สุด ความเข้มข้นต่ำสุดของซิโพรฟือกซาซิน (ciprofloxacin) ในการยับยั้งเชื้อนี้คือ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และการใช้โอฟือกซาซิน (ofloxacin) นอร์ฟือกซาซิน (norgloxacin) อินอร์ซาซิน (enoxacin) และพีฟือกซาซิน (pefloxacin) ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน (Schultz และ Smith, 1994) ในการรักษาการติดเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้ไม่มีความจำเป็นต้องทานยาปฏิชีวนะ ยกเว้นบางกรณีที่จะมีการจ่ายยาให้ในผู้ใหญ่ มียาปฏิชีวนะหลายชนิดที่มีการอนุญาตให้ใช้เช่น tetracycline 500 มก. วันละ 4 ครั้ง นาน 3 วัน doxycycline 100 มก. วันละ 2 ครั้ง นาน 3 วัน norfloxacin, 400 มก. วันละ 2 ครั้ง นาน 3 วัน ofloxacin[2] 300 มก. วันละ 2 ครั้ง นาน 3 วัน ciprofloxacin[2] 500 มก. วันละ 2 ครั้ง นาน 3 วัน gentamicin[3] 80 มก. วันละ 2 ครั้ง นาน 5 ถึง 7 วัน cefotaxime[3] 1 ก. วันละ 4 ครั้ง นาน 5 ถึง 7 วัน

2.1.3.3 ปัจจัยทางชีวภาพ

ปัจจัยทางชีวภาพที่ส่งผลต่อการอยู่รอดของเชื้อ *V. parahaemolyticus* มีหลายปัจจัยด้วยกัน แบคเทอริโอฟาจ์กบางชนิดสามารถทำลาย *V. parahaemolyticus* ได้ การเพิ่มขึ้นของปริมาณฟาจ์กนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของน้ำ และปริมาณเชื้อ รวมทั้งการถูกบุกรุกโดยฟาจ์กในขณะที่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการกระจายเชื้อ *Pseudomonas* species ในหอยนางรมอาจมีผลในการยับยั้ง *V. parahaemolyticus* สำหรับการยับยั้งพบมากในสายพันธุ์ที่ไม่เกิดปฏิกิริยาคานากว่า สาเหตุของการยับยั้งมาจาก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดจาก *Pseudomonas* เชื้อ *Bdellovibrio* เป็นปรสิตของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ซึ่งมีอยู่ตามปากแม่น้ำ ผลของปรสิตอาจมีบทบาทต่อการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แพร่กระจายเชื้อในสภาพแวดล้อมที่ต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อสายพันธุ์ที่ก่อโรค (Schultz และ Smith, 1994)

2.1.3.4 ปัจจัยทางกายภาพ

ปัจจัยทางกายภาพมีหลายปัจจัยที่สามารถควบคุมการเจริญของ *V. parahaemolyticus* ผลของอุณหภูมิไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ แสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) รังสี และสภาพความดัน

2.1.4 การติดเชื้อและอาการของโรค

เกิดจากการกินอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไปโดยเฉพาะอาหารทะเลดิบที่ให้ความร้อนไม่เพียงพอเช่น กุ้ง ปู ปลา และหอย บางครั้งพบในอาหารที่ปรุงสุกแล้วแต่มีการปนเปื้อนภายหลัง (post cooking contaminate) จำนวนเชื้อต้องมีมากพอที่ตั้งแต่ 10^6 ถึง 10^9 ตัวต่อกรัม จึงสามารถทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ สำหรับเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ซึ่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้จัดทำขึ้นเพื่อใช้สำหรับอาหารทั่วไปที่ไม่ใช่อาหารควบคุมได้มีการกำหนดให้พบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในอาหารที่ตรวจได้ต้องน้อยว่า 200 ยังมีรายงานการติดเชื้อชนิดนี้เข้าในทางอื่นๆ นอกเหนือจากทางเดินอาหารซึ่งเป็นทางที่เกิดขึ้นอยู่เป็นประจำอยู่แล้ว โดยพบว่าในบางรายติดเชื้อเข้าทางหูและบาดแผลได้อีกด้วย เชื้อดังกล่าวนี้จะเพิ่มจำนวนเป็นเท่าตัวทุกๆ 10 ถึง 15 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อเข้าสู่ร่างกายเชื้อจะทวีจำนวนขึ้นในลำไส้ เชื้อชนิดนี้มีระยะฟักตัว 4 ถึง 96 ชั่วโมงหลังจากได้รับเชื้อเข้าทางปากแต่โดยส่วนใหญ่แล้วอาการจะเกิดประมาณ 15 ชั่วโมงหลังจากได้รับเชื้อ ขึ้นอยู่กับความเป็นกรดหรือด่างภายในระบบทางเดินอาหาร มีการทดลองถึงการใช้ยาลดกรดในกระเพาะอาหาร (antacid) ซึ่งส่งผลต่ออัตราการอยู่รอดในสภาพความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นของเชื้อ *V. vulnificus* ผู้ป่วยจะแสดงอาการเมื่อเชื้อรอดชีวิตไปอยู่ที่ลำไส้เล็ก ตัวเชื้อจะเข้าไปยึดเกาะและไชเข้าเนื้อเยื่อของลำไส้ แล้วปล่อยสารพิษโดยยังไม่สามารถระบุชนิดของสารพิษได้ เชื้อชนิดนี้จะทำให้เกิดอาการของโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ เกิดอาการท้องเสีย เป็นตะคริวในช่องท้อง มีอาการคลื่นเหียน วิงเวียน อาเจียน ปวดหัว มีไข้และหนาวสั่น อาการป่วยค่อนข้างจะบางเบาหรืออยู่เพียงระดับกลางๆ ทั้งนี้ความรุนแรงของโรคก็จะขึ้นอยู่กับสภาพร่างกายของแต่ละคน แต่ก็มีบางรายที่จะต้องเข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาล อาการท้องเสียที่เกิดขึ้นนั้นมักจะหยุดไปได้เองภายใน 2 ถึง 5 วัน มีผู้ป่วยเพียงบางรายเท่านั้นที่มีอาการรุนแรงต้องส่งเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลหรือต้องให้ยาปฏิชีวนะ

2.1.5 การเกิดโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *V. parahaemolyticus*

การก่อโรคของเชื้อ *V. parahaemolyticus* จะพิจารณาจากการที่เชื้อสายพันธุ์นั้นๆ สร้าง thermostable direct haemolysin (TDH) ซึ่งเป็นสารพิษที่ทนความร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสได้นาน 10 นาที สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงโดยไม่ต้องใช้ lecithin เป็น pore-forming หรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

thermostable direct haemolysin-related haemolysin (TrH) ผลของสารพิษทำให้เกิดรูบนผนังเซลล์เม็ดเลือดแดงทำให้เซลล์แตก ยังมีผลของ Hemolysin ชนิดอื่นๆ เช่น lecithin-dependent hemolysin (ยีน LDH) ไม่ทนความร้อนและ phosphate regulated hemolysin ที่ทนความร้อน

2.1.5.1 การเกิดโรคอาหารเป็นพิษในเอเชีย

เชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้มีการบันทึกว่าเป็นต้นเหตุของการเกิดโรคทางเดินอาหารเป็นครั้งแรกในจังหวัดโอซาก้า ประเทศญี่ปุ่นในปี ค.ศ. 1951 ซึ่งสาเหตุหลักของการเกิดโรคระบาดเกิดจากการบริโภคชิราสุ (shirasu) ซึ่งเป็นอาหารทะเลตากแห้ง โดยมีผู้ป่วยถึง 272 คนและมีผู้เสียชีวิต 20 ราย (Fujino และ คณะ, 1953) หลังจากนั้นมีการรายงานถึงเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่เป็นสาเหตุของการเกิดอาหารเป็นพิษถึงร้อยละ 20 ถึง 30 ของจำนวนผู้ที่ป่วยโรคอาหารเป็นพิษทั้งหมดในประเทศญี่ปุ่น สายพันธุ์ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่พบเป็นหลักก่อโรคมากที่สุดคือ Strains O3:K6 จะพบได้ทั่วไปในชายฝั่งทะเลแถบเอเชีย พบมากในแถบประเทศ ไต้หวัน เกาหลี ญี่ปุ่น และกลุ่มประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมทั้งสามารถพบได้ในประเทศอเมริกา จัดได้ว่า O3:K6 นี้เป็น pandemic strain และเป็นสายพันธุ์ที่มาจากต้นตอเดียวกัน (same clone) แต่เป็น new clone เมื่อเปรียบเทียบกับ O3: K6 ที่พบก่อนปี พ.ศ.2539 และก่อโรคประปราย เชื้อ *V. parahaemolyticus* นี้เป็นสาเหตุหลักของการเกิดอาหารเป็นพิษในประเทศญี่ปุ่นมาตลอดตั้งแต่ในอดีต ที่ Calcutta ประเทศอินเดียในปี พ.ศ. 1996 เกิดการระบาดใหญ่ (pandemic) ของสายพันธุ์ (serotype) O3:K6 ผลการระบาดในระหว่างปี 1996 และปี 1998 (จำนวน 1710 ครั้งของการเกิดโรคมีจำนวนผู้ป่วย 24, 373 คน) และคิดเป็นร้อยละ 69 ของของจำนวนผู้ติดเชื้อจากการระบาดของแบคทีเรียที่ก่อโรคอาหารเป็นพิษทั้งหมดที่พบในประเทศไต้หวันระหว่างปี 1981 และ 2003 (ผู้ป่วย1028 คนจากทั้งหมด 1495 คน) และคิดเป็นร้อยละ 31.1 จากการเกิดโรคระบาดจากโรคอาหารเป็นพิษทั้งหมด 5,770 กรณีในประเทศจีนระหว่างปี 1991 และ 2001 (Su และ Liu, 2007)

2.1.5.2 การเกิดโรคอาหารเป็นพิษในยุโรป

มีการแพร่ระบาดของ *V. parahaemolyticus* น้อยมากในแถบยุโรป ซึ่งตรงกันข้ามกับประเทศในแถบเอเชีย แต่อย่างไรก็ตามมีการระบาดขึ้นเป็นระยะๆ ในหลายประเทศเช่น ประเทศสเปนและฝรั่งเศส ในปี 1989 มีรายงานว่าในประเทศสเปนมีการเกิดโรคทางเดินอาหาร 8 กรณีจากการบริโภคปลาและหอย ในปี 1999 ที่ Galicia ประเทศสเปนมีการระบาดเกิดขึ้นโดยมีผู้ป่วย 64 ราย ซึ่งบริโภคหอยนางรมดิบ ในปี 1997 ในประเทศฝรั่งเศสมีการระบาดอย่างหนักโดยมีผู้ป่วย 44 ราย ซึ่งเป็นผลจากการบริโภคกุ้งที่นำเข้าจากเอเชีย ในเดือนกรกฎาคม 2004 ที่ประเทศสเปนมีรายงานการระบาดที่เกิดจากเชื้อ *V. parahaemolyticus* โดยมีผู้ป่วย 80 ราย ซึ่งเป็นแขกในงานแต่งงานที่ภัตตาคารแห่งหนึ่ง แล้วยังพบการระบาดจากการบริโภคปูต้มที่ผ่านการผลิตมาอย่างไม่ถูกสุขลักษณะ (Su และ Liu, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5.3 การเกิดโรคอาหารเป็นพิษในอเมริกา

V. parahaemolyticus จำแนกได้เป็นครั้งแรกจากการระบาดที่ประเทศอเมริกาในปี 1971 หลังจากเกิดการระบาดขของเชื้อ 3 ครั้ง มีผู้ป่วยทั้งหมด 425 กรณี ของการเกิดโรคทางเดินอาหารที่เกิดจากการบริโภคปูที่ผ่านการผลิตมาอย่างไม่เหมาะสมในรัฐ Maryland หลังจากนั้นมีรายงานจากชายฝั่งทะเลของอเมริกาอีกหลายแห่งถึงการระบาดของเชื้อ *V. parahaemolyticus* อีกเป็นระยะๆ ซึ่งเกิดจากการบริโภคหอยดิบหรืออาหารทะเลที่ผ่านความร้อนไม่เพียงพอ ในระหว่างปี 1973 และปี 1998 มีการรายงานของ CDC ว่าเกิดการระบาดที่เป็นผลมาจาก *V. parahaemolyticus* ประมาณ 40 ครั้ง ในจำนวนนี้มีการระบาดหลักๆ 4 ครั้ง จากการเกิดโรคมากกว่า 700 กรณี ซึ่งเกิดจากการบริโภคหอยนางรมดิบในด้านตะวันตกเฉียงใต้ของมหาสมุทรแปซิฟิก (Oregon, Washington, California และ British Columbia of Canada) ในปี 1998 มีการระบาด 2 ครั้งใน Washington (43 กรณี) และ Texas (416 กรณี) ซึ่งสาเหตุเกิดจากการบริโภคหอยนางรมดิบ นอกจากนี้ยังพบว่ามีการระบาดของ *V. parahaemolyticus* ที่ไม่ส่งผลรุนแรงอีกถึง 8 กรณี โดยเป็นรายงานใน Connecticut, New Jersey และ New York ระหว่างเดือนกรกฎาคมและในเดือนกันยายนปี 1998 ซึ่งเกิดจากการบริโภคหอยนางรม และหอยสองฝาที่เก็บจาก Long Island Sound จากสถิติจะพบการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษกว่าร้อยละ 80 ของกรณีทั้งหมดในระหว่างเดือนเมษายนถึงเดือนตุลาคม สำหรับใน New York มีการรายงานของการระบาดในเรือท่องเที่ยวใน Alaska จากการบริโภคหอยนางรมดิบที่ผลิตใน Alaska ช่วงฤดูร้อนในปี 2004 เมื่อไม่นานมานี้มีการเกิดโรคระบาดจาก *V. parahaemolyticus* 177 กรณีในช่วงฤดูร้อนปี 2006 โดยเกิดจากการปนเปื้อนของ *V. parahaemolyticus* ในหอยนางรมที่เก็บจาก Washington และ British Columbia การเกิดโรคระบาดเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในหอยนางรมซึ่งเกี่ยวกับความปลอดภัยต่อการบริโภคอาหารในอเมริกา

2.1.5.4 การวิเคราะห์จุลินทรีย์ก่อโรคในประเทศไทย

จากการทบทวนวรรณกรรมและข้อมูลจากกองระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุขในอดีตเป็นข้อมูลในช่วง 10 ปี (ตั้งแต่ปี พ.ศ.2527 ถึง 2537) ผลการวิเคราะห์จากรายงานการสอบสวนโรคอาหารเป็นพิษ กองระบาดวิทยาจำนวน 190 ครั้ง มีผู้ป่วยทั้งสิ้น 9,830 ราย ตาย 51 ราย เมื่อวิเคราะห์ถึงสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษดังกล่าวพบว่า เกิดจากการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย 104 ครั้ง (ร้อยละ 54.7) การปนเปื้อนสารเคมี 23 ครั้ง (ร้อยละ 12.1) พิษจากพืช 23 ครั้ง (ร้อยละ 12.1) พิษจากสัตว์ 4 ครั้ง (ร้อยละ 2.1) ไม่ทราบสาเหตุ 36 ครั้ง (ร้อยละ 19.0) จากจำนวนครั้งของการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อแบคทีเรียนั้นพบว่า เชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็นสาเหตุของโรคสูงสุด 32 ครั้ง (ร้อยละ 20.7) รองลงมาคือเชื้อ *Salmonella* species บันทึกการระบาด 22 ครั้ง (ร้อยละ 14.3) และ *V. parahaemolyticus* จำนวน 14 ครั้ง (ร้อยละ 9.0) ซึ่งหากนับตามจำนวนการบันทึกผู้ป่วย จะมีผู้ป่วยจากเชื้อ *S. aureus* มากเป็นอันดับหนึ่งจำนวน 2202 คน แต่ไม่พบรายงานผู้เสียชีวิตจากการติดเชื้อนี้ รองลงมาคือเชื้อ *V. parahaemolyticus* จำนวน 2161 คน มีรายงานถึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้เสียชีวิตจากเชื้อนี้ 2 คน และเชื้อ *Salmonella* พบผู้ติดเชื้อนี้ 1386 คน มีบันทึกผู้เสียชีวิต 1 คน สำหรับแหล่งปนเปื้อนมีการบันทึกว่าเกิดจากการบริโภคอาหารที่มีส่วนประกอบของอาหารทะเล แต่มีบางกรณีเกิดจากการบริโภคอาหารประเภทอื่นเช่น ขนมเม็ดขนุน แกงเผ็ดปลาดุก เนื้อวัว ลาบเลือดหมู และขนมต้ม ซึ่งคาดว่าอาจเกิดจากการปนเปื้อนข้ามจากอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อเครื่องครัว หรือจากตัวผู้ประกอบอาหารเอง (ศรีสิทธิ์ และคณะ, 2541) ข้อมูลจากศูนย์เฝ้าระวังการดื้อยาของเชื้อต่อต้านจุลชีพ สำนักระบาดวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขในปี พ.ศ. 2549 ได้รับรายงานผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษจากเครือข่ายทั้งในและนอกกระทรวงสาธารณสุขรวมทั้งสิ้น 135,563 ราย อัตราป่วย 216.47 ต่อประชากรแสนคน แนวโน้มของการป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา มีอัตราเพิ่มขึ้นจาก 168.46 ต่อประชากรแสนคน ในปี พ.ศ. 2540 เป็น 216.47 ต่อประชากรแสนคน ในปี พ.ศ. 2549 ผลการตรวจชนิดเชื้อก่อโรคจากการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาพบผู้ป่วยจากเชื้อ *V. parahaemolyticus* มากที่สุดถึง 1,471 ราย เชื้อ *Salmonella* ถูกพบเป็นอันดับสองมีผู้ป่วย 302 ราย เชื้อ *Clostridium botulinum* พบผู้ป่วย 148 ราย เชื้อ *Staphylococcus* พบผู้ป่วย 76 ราย และการเกิดโรคอาหารเป็นพิษที่ไม่ได้ระบุชนิดของเชื้อก่อโรค 133,556 ราย (คิดเป็นร้อยละ 98.52) จากข้อมูลการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษที่เก็บรวบรวมตลอด 10 ปีที่ผ่านมา ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2539 ถึง 2549 พบว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* ถูกพบว่ากลายเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารมากเป็นอันดับหนึ่งแทนที่เชื้อ *Staphylococcus* ที่มีการบันทึกถึงระบาดลดลงเป็นอย่างมาก สำหรับเชื้อ *Salmonella* ถูกพบระบาดเป็นอันดับสองตลอด 4 ปีหลังสุด (พ.ศ. 2546 ถึง 2549) การระบาดของเชื้อ *Staphylococcus* ที่มีการรายงานลดลงจากในอดีตอย่างมาก สำหรับเชื้อนี้มักจะพบจากการปนเปื้อนในอาหารที่ปรุงอย่างไม่ถูกสุขลักษณะหรือจากการปนเปื้อนของผู้บริโภคเอง สำหรับเชื้อ *C. botulinum* และ *C. perfringens* ถูกพบประปราย โดยเฉพาะเชื้อ *C. botulinum* ที่มักพบเป็นข่าวจากการรับประทานหน่อไม้ปี๊บที่มีการปนเปื้อนเชื้อ ซึ่งอันตรายจากความรุนแรงของ *C. botulinum* อาจทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ในเวลา 24 ชั่วโมง แต่ทั้งนี้ข้อมูลทางสถิติของการเกิดโรคจากเชื้อต่างๆ อาจมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมากหากทำการวินิจฉัยถึงสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษที่ไม่ได้ระบุชนิดของเชื้อก่อโรค ซึ่งบันทึกในปี พ.ศ. 2549 สูงถึงร้อยละ 98.52 ของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดขึ้น สิ่งนี้เป็นข้อมูลที่บ่งบอกถึงความสามารถในการวินิจฉัยโรคของเจ้าหน้าที่ ที่ควรเพิ่มขีดความสามารถให้สามารถระบุสาเหตุที่เกิดโรคให้ได้ไม่น้อยกว่าร้อยละ 50

จากการทบทวนการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษที่เก็บรวบรวมตลอด 127 เหตุการณ์ สามารถระบุอาหารที่สงสัยหรือแหล่งโรคที่น่าจะเป็นสาเหตุของการป่วยได้ 93 เหตุการณ์ จำแนกเป็นสาเหตุที่เกิดจากอาหารทะเลอาหารทะเล รวมทั้งสิ้น 7 เหตุการณ์ เป็น กุ้งกระทะ 1 เหตุการณ์ ข้าวผัดปู 2 เหตุการณ์ หอยแมลงภู่อบ 1 เหตุการณ์ ปูนึ่ง 1 เหตุการณ์ กุ้งนึ่ง 1 เหตุการณ์ หอยแมลงภู่นึ่ง และหอยแครง 1 เหตุการณ์ ได้มีการรายงานผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษร่วมรับประทานอาหารมื้อกลางวันในวันที่ 10 มีนาคม พ.ศ. 2549 ที่งานทำบุญ 100 วัน จัดเลี้ยงแบบโต๊ะจีนป่วยด้วยอาการปวดท้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คลื่นไส้ อาเจียน และถ่ายเหลว มีผู้ป่วย 25 ราย ได้เก็บตัวอย่างอุจจาระผู้ป่วย 10 ตัวอย่างส่งตรวจเพาะเชื้อที่โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ ผลพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* จากผู้ป่วย 4 ราย อาหารที่น่าสงสัยในขณะนี้คือ อาหารทะเลที่นำมาทำโป๊ะแตก สำหรับรายงานพบผู้ป่วยอาหารเป็นพิษที่โรงเรียนในอำเภอกำแพงแสนมีผู้ที่มีอาการตามนิยามอาหารของโรคทั้งหมด 282 คน โดยอาหารที่เป็นสาเหตุเกิดจากเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในวัตถุดิบที่ใช้ทำต้มยำทะเล ซึ่งเป็นอาหารมื้อเที่ยงของวันที่ 11 กรกฎาคม 2550 จะสังเกตุเห็นได้ว่าแหล่งที่มีการบันทึกการเกิดโรคอาหารเป็นพิษจากการรับประทานอาหารทะเลมักพบการรายงานบ่อยๆ ทางภาคเหนือและภาคอีสาน ซึ่งอาจเป็นผลจากการเก็บรักษาหรือคุณภาพของแหล่งเพาะเลี้ยงนั้นๆ การที่อาหารทะเลถูกลำเลียงส่งถึงผู้บริโภคอาจใช้เวลานานจนกระทั่งทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมีการเพิ่มปริมาณมากขึ้นหรือ ปนเปื้อนสู่อาหารอื่นๆที่อยู่ใกล้เคียงกันจากการสัมผัสของผู้ขนส่ง หากเชื้อนี้สามารถทนสภาพที่ไม่เหมาะสมอยู่ได้ก็จะทำให้มีโอกาสเพิ่มจำนวนเชื้อให้อยู่ในปริมาณที่สามารถก่อโรคได้เมื่อผ่านการปรุงอาหารที่ใช้ความร้อนไม่เพียงพอต่อการทำลายเชื้อ

ตารางที่ 2.1 จำนวนผู้ป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษ จำแนกตามชนิดของเชื้อก่อโรค ประเทศไทย ปี พ.ศ. 2539 – 2549

ปี พ.ศ.	รวม (คน)	*V. parahaemo-lyticus*	*Salmonella* spp.	*Staphylococcus*	*Clostridium botulinum*	*Clostridium perfringens*
2549	135,563	1,471	302	76	148	10
2548	140,949	533	219	61	0	13
2547	154,678	613	321	40	27	16
2546	131,561	424	350	28	30	11
2545	136,891	125	13	6	0	17
2544	138,795	624	323	73	17	15
2543	130,777	381	125	155	3	3
2542	110,291	187	48	87	1	1
2541	115,142	2,879	1,736	422	128	104
2540	102,454	2,741	1,532	572	46	113
2539	82,281	2,337	1,311	167	66	73

ที่มา: ระบบเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การควบคุมจุลินทรีย์

2.2.1 การควบคุมจุลินทรีย์ด้วยความร้อน

2.2.1.1 ผลของความร้อนต่อเซลล์ของจุลินทรีย์

ถึงแม้ว่าใช้ความร้อนกันมาแล้วในการสเตอริไลส์แต่ก็ยังไม่มีการศึกษาอย่างละเอียดถึงผลของความร้อนในการทำให้จุลินทรีย์ตาย มีผู้แนะนำว่าอาจเป็นไปได้ที่ความร้อนมีผลทำให้โปรตีนภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เสียสภาพหรือตกตะกอนทำให้ DNA (deoxy ribonucleic acid) แตกสลายและทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ (Banwart, 1989)

การเสียสภาพหรือตกตะกอนของโปรตีนมีผลต่อการหายใจระดับเซลล์และการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ ซึ่งจะทำให้เซลล์ของจุลินทรีย์ถูกทำลาย ในช่วงอุณหภูมิ 50 ถึง 60 องศาเซลเซียส การไหลออกของสารประกอบภายในเซลล์ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นตัวบ่งบอกว่าผนังกั้นเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ถูกทำลาย อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิสูงจุลินทรีย์จะตายก่อนที่สารประกอบภายในเซลล์จะไหลออกนอกเซลล์ มีรายงานว่าความร้อนมีผลทำลายโปรตีนในเยื่อหุ้มเซลล์ของ *E. coli* และมีผลทำให้ชั้น peptidoglycan ขาดความแข็งแรง ซึ่งอาจจะเพียงพอที่ป้องกันการเพิ่มจำนวนของเซลล์ในสภาพที่ให้ความร้อน นอกจากนี้ผลจากการบาดเจ็บของเซลล์จากแรงดันออสโมติกภายในทำให้เกิดรอยแตกที่ผนังเซลล์ในบริเวณที่ขาดความแข็งแรงของเซลล์ตราบใดที่ยังได้รับความร้อนอยู่องค์ประกอบภายในเซลล์จะหลุดออกมาตามรอยแยกของเซลล์อาจจะสันนิฐานได้ว่าการถูกทำลายของเซลล์ด้วยอุณหภูมิมีผลต่อการบาดเจ็บของเซลล์ที่ไม่ทำให้ถึงตาย (sublethal injury) แต่ถ้าพบว่าจุลินทรีย์ถูกทำลายที่อุณหภูมิที่สูงก่อนที่จะมีการเกิดรอยแตกในชั้นผนังเซลล์แสดงว่าอาจมีกลไกการถูกทำลายแบบอื่นเกิดขึ้นและมีรายงานว่าจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถสร้างสปอร์ได้เช่น *E. coli* การถูกทำลายของ RNA มีความเกี่ยวพันกับการตายของเซลล์ที่ถูกชักนำโดยความร้อน การให้ความร้อนกับ *E. coli* เป็นสาเหตุให้บางส่วนของเยื่อหุ้มชั้นนอกหลุดออก (Banwart, 1989)

การให้ความร้อนกับสปอร์ที่ 70 ถึง 100 องศาเซลเซียส มีผลทำให้สูญเสียกรดไดพิโคลินิก (dipicolinic acid; DPA) โปรตีนและองค์ประกอบของเซลล์อื่นๆ สิ่งนี้เป็นตัวบ่งชี้ว่าเปลือกหุ้มสปอร์ถูกทำลาย อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าการถูกทำลายของสปอร์ที่เกิดขึ้นเร็วกว่าการที่ปล่อยสาร DPA ออกมา (Banwart, 1989)

การที่สปอร์ถูกทำลายนั้นก็เนื่องมาจากการที่สปอร์ไม่สามารถงอกได้หรือไม่สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนเซลล์ให้มากขึ้นได้หลังจากที่สปอร์งอก มีรายงานว่าสาเหตุหลักที่ทำให้สปอร์ถูกทำลายโดยความร้อนนั้นเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงปัจจัยทางกายภาพและเคมี ซึ่งไปรบกวนการดูดน้ำของสปอร์ไปสู่ใจกลางของสปอร์ในระหว่างการงอก สำหรับการค้นคว้าวิจัยอื่นๆ พบว่าการทำลายฟาจ (phage) หรือไวรัสโดยใช้ความร้อนนั้นโปรตีนจะถูกทำให้เกิดการจับตัวเป็นก้อน (coagulation) โดยความร้อน ซึ่งการจับก้อนของโปรตีนกรณีนี้ไม่ใช่สาเหตุหลักในการทำลายจุลินทรีย์มีความสำคัญในการทำลายจุลินทรีย์ด้วยความร้อน (Banwart, 1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.2 การต้านทานความร้อน

การใช้ความร้อนเป็นวิธีที่ใช้กันทั่วไปในขั้นตอนการปรุงสุกของอาหารหรือลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในการแปรรูปในระดับอุตสาหกรรม ผลกระทบหากการให้ความร้อนในกระบวนการไม่เพียงพอคือ การอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งถ้าหากเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคหรือสร้างสารพิษก็จะส่งผลต่อผู้บริโภคได้ เชื้อ *V. parahaemolyticus* ถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน อุณหภูมิสูงสุดในการเจริญจะอยู่ที่ประมาณ 42 ถึง 44 องศาเซลเซียส การเก็บอาหารไว้ในอุณหภูมิสูงกว่า 65 องศาเซลเซียสก็จะทำลายเชื้อนี้ได้ ได้มีการบันทึกว่าถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในเวลา 15 นาที จากผลการทดลองการหาค่า D value ในจุลินทรีย์ชนิดนี้ที่อุณหภูมิ เท่ากับ 65, 75, 85 และ 95 องศาเซลเซียส จะพบว่าค่า D value จะลดลงตามอุณหภูมิของความร้อนที่เพิ่มขึ้น (นวรัตน์ และประทุม, 2549) อาจเป็นผลเนื่องมากจากความร้อนทำให้โปรตีนเสียสภาพและเกิดการตกตะกอนของโปรตีน มีรายงานว่าการให้ความร้อนทำให้เกิดการรั่วขององค์ประกอบเซลล์สู่อาหารเลี้ยงเชื้อ (Russell และ Harries, 1967) เช่นเดียวกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียสมีผลทำให้เกิดการรั่วขององค์ประกอบเซลล์สู่อาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งชี้ให้เห็นว่าเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำให้เสียหาย แต่ถ้าหากอุณหภูมิถูกทำให้สูงขึ้นอีกเซลล์จะตายก่อนที่จะเกิดการรั่วขององค์ประกอบภายในเซลล์

การบ่งบอกถึงการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์อาจถูกบ่งบอกได้ด้วยค่า D value ซึ่งมีปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ ปัจจัยดังกล่าวได้แก่ น้ำ ไขมัน ปริมาณเกลือ คาร์โบไฮเดตร โปรตีน ปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ อายุของเซลล์ อุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญ สารยับยั้งการเจริญ เวลา อุณหภูมิ ชนิดของเซลล์จุลินทรีย์และการเจริญในอาหารที่ชักนำในการสร้างสปอร์ (Banwart, 1989; Jay และคณะ, 2005) จากการทดลองพบว่า *V. parahaemolyticus* ในปลาหมึกมีค่า D value ที่แต่ละอุณหภูมิของการให้ความร้อนสูงที่สุด รองลงมาคือ กุ้ง และปลาตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า *V. parahaemolyticus* ในปลาหมึกมีการต้านทานความร้อนได้ทีที่สุด ทั้งนี้คาดว่าอาจจะเนื่องมาจากสาเหตุต่างๆ ได้แก่ พีเอชหรือองค์ประกอบของกรดไขมัน โดยมีการรายงานว่าถ้าจุลินทรีย์เจริญอยู่ในสภาพที่มีพีเอชต่ำจะทำให้จุลินทรีย์มีการต้านทานความร้อนได้ดี และพบว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* ทนต่อความร้อนที่พีเอช 5.5 ถึง 6.5 ได้ดีกว่าที่พีเอช 7.0 ถึง 8.0 ที่ระดับอุณหภูมิเดียวกัน (Jay และคณะ, 2005) โดยทั่วไปเนื้อปลาหมึกจะมีพีเอชอยู่ในช่วง 4.8 ถึง 6.5 ซึ่งต่ำกว่ากุ้งและปลาที่มีพีเอชอยู่ในช่วง 6.8 ถึง 7.0 และ 6.6 ถึง 6.8 ตามลำดับ (Jay และคณะ, 2005) จึงทำให้พบว่าผลของการทนต่อความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในปลาหมึกมากกว่ากุ้งและปลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.3 ค่า Decimal reduction time

ค่า Decimal reduction time หรือ D value คือเวลาที่ใช้ ณ อุณหภูมิหนึ่งที่จะทำลายจุลินทรีย์ให้ลดลงไปทั้งหมดร้อยละ 90 ของจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นทั้งหมด หรือเวลาที่ใช้ในการทำลายจุลินทรีย์ให้ลดลง 1 log cycle โดยจะแสดงในรูป $D_T = t$ เมื่อ T คืออุณหภูมิที่ใช้ในการให้ความร้อน (องศาเซลเซียส หรือ องศาฟาเรนไฮต์) และ t คือเวลา (นาที) ที่ใช้ในการทำให้จำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ลดลง 1 log cycle ดังนั้นค่า D value เป็นค่าที่แสดงถึงความไวต่อความร้อนของเชื้อ (heat sentivity) หรือความต้านทานต่อความร้อน (heat resistance) ของจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถคำนวณหาค่า D value ได้จากสมการนี้

$$D_T = \frac{t}{\log a - \log b}$$

จากสมการ a คือจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์เริ่มต้น และ b คือจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตหลังจากได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ T (องศาเซลเซียส หรือ องศาฟาเรนไฮต์) เป็นเวลา t นาที เมื่อความแตกต่างระหว่าง a กับ b เป็น 1 log cycle ดังนั้น log ลบกับ log b จะมีค่าเท่ากับ 1 ดังนั้นค่า D value จึงเท่ากับ t ถ้าค่า D_{121} ของเชื้อชนิดหนึ่งเท่ากับ 1 นาที หมายถึงจำนวนเซลล์ร้อยละ 90 ของจำนวนเซลล์เริ่มต้นถูกทำลายภายใน 1 นาทีที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส

อีกวิธีการหนึ่งที่สามารถหาค่า D value ได้โดยการเขียนกราฟการรอดชีวิตของเซลล์แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log ของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตหลังจากให้ความร้อนที่อุณหภูมิ T กับระยะเวลาที่ให้ความร้อนในอุดมคติ กราฟที่ได้จะเป็นกราฟเส้นตรง สามารถที่จะประมาณค่า –log ของจำนวนเซลล์เพื่อที่จะให้จำนวนเซลล์เหลือรอดน้อยมากๆ เช่นเหลือเซลล์หรือสปอร์รอดชีวิตเพียง 1 เซลล์หรือ 1 สปอร์เท่านั้นในอาหาร 10 กรัม หรือ 100 กรัม ดังนั้นจึงสามารถใช้กราฟนี้ออกแบบตัวแปรสำหรับกระบวนการให้ความร้อนเพื่อให้เหลือปริมาณเซลล์ของจุลินทรีย์ต่ำที่สุดในอาหาร

ค่า D value ไม่ใช่ค่าคงที่แต่จะผันแปรขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ หลายชนิดได้แก่ ชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ สภาพการเจริญของจุลินทรีย์ การปรับตัวของจุลินทรีย์ต่อความร้อน การเกาะติดของจุลินทรีย์กับผิวของสิ่งของและลักษณะทางกายภาพและเคมีในอาหารที่ใช้เลี้ยงจุลินทรีย์ ปัจจัยทั้งหมดและปัจจัยอื่นๆเหล่านี้มักมีผลกระทบต่อการทนความร้อนที่ดีขึ้นของจุลินทรีย์ แต่สารบางชนิดเช่น พอลิฟอสเฟต ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ และสารพวกแบคเทอริโอซินทำให้เชื้อบางชนิดเช่น *Salmonella* ไวต่อการถูกทำลายด้วยความร้อนมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 การต้านทานความร้อนค่า D value ของแบคทีเรียก่อโรค

แบคทีเรียก่อโรค	การต้านทานความร้อน
C. botulinum	
ชนิด A, B, F	D_{121} (สปอร์) = 0.1 - 0.25 นาที
	D_{119} (สปอร์) = 7.44 นาที ในผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันสูง
ชนิด B, E, F	D_{100} (สปอร์) = 0.1 นาที
	$D_{82.2}$ (สปอร์) = 0.5 - 2.0 นาที
	D_{80} (สปอร์) = 4.5 - 10.5 นาที ในผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันสูง
V. parahaemolyticus	D_{60} = 0.71 นาที
V. vulnificus	D_{50} = 1.15 นาที (บัฟเฟอร์); 0.66 นาที (หอยนางรม)
Plesiomonas shigelloides	เซลล์ทั้งหมดตายที่หลังจากได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
Aeromonas spp.(เคลื่อนที่ได้)	D_{55} = 0.17 นาที
Listeria monocytogenes	D_{60} = 2.4 - 16.7 นาที ในผลิตภัณฑ์เนื้อ; 1.95 - 4.48 นาที ในปลา
Bacillus cereus	D_{121} (สปอร์) = 0.03 - 2.35 นาที (บัฟเฟอร์)
	D_{95} (สปอร์) = 3.0 - 19 นาที (นม)
C. perfringens	D_{90} (สปอร์) = 0.015 - 4.93 นาที (บัฟเฟอร์)
	D_{100} (สปอร์) = 0.31-13.0 นาที (อาหารเหลว)

ที่มา: Huss (1994)

2.2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการต้านทานความร้อน

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการต้านทานความร้อนของเชื้อจุลินทรีย์มีหลายชนิด ประเภทของการให้ความร้อน ลักษณะของเซลล์ รวมทั้งสภาพแวดล้อมในการเจริญและอายุของเชื้อจุลินทรีย์ อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการตรวจหาจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ที่อยู่รอด

2.2.2.1 ชนิดของเซลล์

การที่จุลินทรีย์อยู่ในสภาพที่เป็นสปอร์จะมีการต้านทานความร้อนได้ดีกว่าเซลล์ปกติ โดยทั่วไปจะทนมากกว่าประมาณ 10^4 ถึง 10^5 เท่า ถึงแม้ว่าจะมีหลายทฤษฎีที่อธิบายความสามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการต้านทานความร้อนที่สูงของสปอร์ กลไกการต้านความร้อนของสปอร์ยังคงเป็นที่คาดเดากันอยู่ วิธีการสร้างสปอร์จะมีผลต่อการต้านทานความร้อน แอสโคสปอร์ของยีสต์จะมีการต้านทานความร้อนมากกว่าเซลล์ยีสต์ที่อยู่ในสภาพเซลล์ปกติถึง 30 ถึง 350 เท่า (Banwart, 1989)

2.2.2.2 การเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำให้จุลินทรีย์สร้างสปอร์

มีรายงานว่าไอออนของแคลเซียมและแมกนีเซียมในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถเพิ่มการต้านทานความร้อนให้กับสปอร์ และยังไม่สามารถยืนยันความเกี่ยวข้องกันของ monovalent ไอออนในการเพิ่มคุณสมบัติการทนความร้อนของสปอร์และพบว่าไอออนของแมงกานีสในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Bacillus stearothermophilus* ไม่ช่วยเพิ่มการต้านทานความร้อนให้กับสปอร์ของจุลินทรีย์ (Banwart, 1989)

ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการต้านทานความร้อนของสปอร์ ชนิดของเปปโตน แหล่งคาร์บอนและกรดไขมันในอาหารเลี้ยงเชื้อก็มีอิทธิพลต่อการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ สปอร์ที่เจริญในอาหาร cooked meat มีการต้านทานความร้อนได้ดีกว่าสปอร์ที่เจริญในอาหาร raw meat มีรายงานว่า โคนิเดียของ *Aspergillus* ที่สร้างขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณโปรตีนต่ำและมีปริมาณกูลโคสสูงมีการต้านความร้อนดีกว่าในอาหารที่มีปริมาณโปรตีนต่ำและมีปริมาณกูลโคสต่ำ และยังมีรายงานว่า แคดเมียมในอาหารเลี้ยงเชื้อช่วยชักนำให้เชื้อ *E.coli* มีการต้านทานต่อความร้อนเพิ่มขึ้น (Banwart, 1989)

2.2.2.3 อุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญของจุลินทรีย์

สปอร์ที่สร้างที่อุณหภูมิสูงโดยทั่วไปแล้วจะมีการต้านทานความร้อนมากกว่าสปอร์ที่สร้างที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นสปอร์ที่สร้างจุลินทรีย์ชอบความร้อน (thermophiles) จึงมีแนวโน้มที่จะมีการต้านทานความร้อนได้มากกว่าสปอร์ที่ถูกสร้างโดย mesophiles หรือ psychrophiles ถึงแม้ว่าการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์จะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับอุณหภูมิของการเจริญและการสร้างสปอร์ของจุลินทรีย์แต่ก็ยังมีข้อจำกัดบางอย่าง ฟาจกระทำตัวคล้ายคลึงกับสปอร์ ไวรัสที่เพิ่มจำนวนที่อุณหภูมิสูงขึ้นจะมีความคงตัวต่อความร้อนได้ดี (Banwart, 1989)

2.2.2.4 อายุของเซลล์

เซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีอายุน้อยและอยู่ในระยะเจริญเติบโตจะมีความไวต่อสภาพเครียดต่างๆมากกว่าเซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีอายุมากกว่าหรือเซลล์ที่เจริญเต็มที่แล้ว สปอร์ของจุลินทรีย์ที่มีอายุน้อยต้านทานความร้อนได้น้อยกว่าสปอร์ที่มีอายุมาก (Banwart, 1989)

2.2.2.5 Suspending Medium

ลักษณะทางเคมีและกายภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีการเจริญของจุลินทรีย์อยู่เมื่อได้รับความร้อนจะมีผลต่อการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ ปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์นั้นได้แก่ ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ไขมัน โปรตีน และการมีตัวถูกละลายชนิดต่างๆ

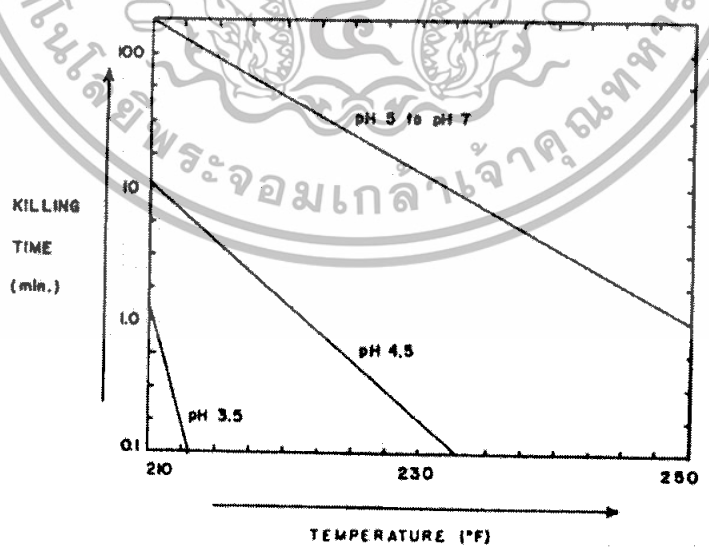
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
83761

เนื่องจากอาหารมีความหลากหลายของลักษณะทางเคมีและกายภาพ การที่จุลินทรีย์ชนิดเดียวกันมีการต้านทานความร้อนที่ต่างกันเมื่อเจริญอยู่ในอาหารที่มีลักษณะทางเคมีและกายภาพที่แตกต่างกัน ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสค่า D value ของสปอร์ *Bacillus licheniformis* เพิ่มขึ้นเกือบ 2 เท่า เมื่อเติมเกลือลงไปร้อยละ 4 การเปรียบเทียบการเติมเกลือลงไปในอาหารบางชนิดเพิ่มการต้านทานความร้อน ในขณะที่อาหารบางชนิดเกลืออาจไปลดการต้านทานความร้อนของเชื้อ และมีรายงานว่า เพคตินในน้ำมะเขือเทศช่วยป้องกัน *Lactobacillus fermentum* จากความร้อน (Banwart, 1989)

2.2.2.6 ผลของพีเอช

โดยทั่วไปจุลิทรีย์จะต้านทานความร้อนได้ดี เมื่อเจริญอยู่ในอาหารที่มีค่าพีเอชใกล้ 7.0 มากกว่าการเจริญในอาหารที่มีค่าพีเอชสูงกว่า 8.0 หรือต่ำกว่า 6.0 ดังรูปที่ 2.4

จากข้อดีของการที่เชื้อมีการต้านทานความร้อนได้ต่ำในอาหารที่เป็นกรด (พีเอชต่ำ) จึงได้เติมกรดลงในอาการบางชนิดก่อนการแปรรูปอาหาร เช่นในน้ำมะเขือเทศจะเติมกรดลงไปเพื่อให้มีค่าพีเอชอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ ที่ระดับพีเอช 3.9 น้ำมะเขือเทศสามารถผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 34 นาที ในการทำลายสปอร์ แต่ที่พีเอช 4.8 ต้องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 110 นาที ผลในการถนอมอาหารของค่าพีเอชต่ำบางส่วนอาจมีสาเหตุมาจาก การทำลายเซลล์หรือสปอร์ของจุลินทรีย์ด้วยสภาพที่ทำให้จุลินทรีย์บาดเจ็บแต่ไม่ตายและบางส่วนอาจมีผลมาจากการที่เซลล์ที่ถูกทำลายทำให้ไม่สามารถเจริญที่ได้ที่พีเอชต่ำ (Banwart, 1989)



รูปที่ 2.4 ผลของพีเอชต่อการต้านทานความร้อนของสปอร์แบคทีเรีย

ที่มา: Banwart(1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2.7 ปริมาณน้ำอิสระ (Water activity; a_w)

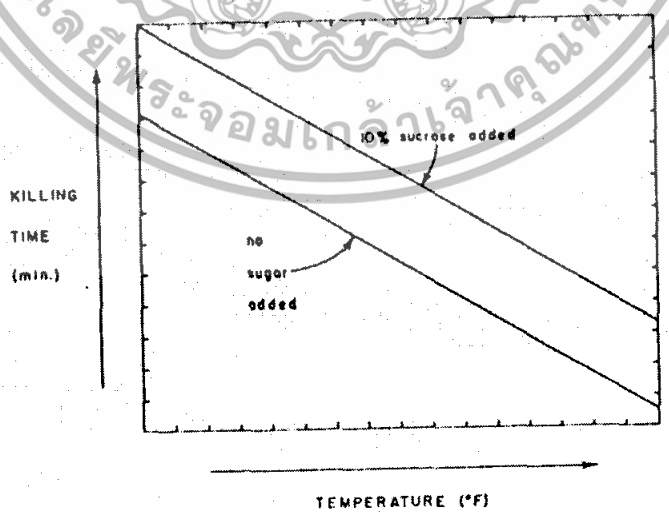
ปริมาณน้ำอิสระของ suspending medium ที่จุลินทรีย์ได้รับความร้อนมีผลต่อการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ โดยทั่วไปแล้วจุลินทรีย์จะไวต่อความร้อนในอาหารที่มีค่า a_w สูง ในอาหารที่มีค่า a_w ต่ำ ผลของการให้ความร้อนจะมีลักษณะคล้ายกับการใช้ความร้อนแห้ง

ผลของการใช้ความร้อนกับจุลินทรีย์ประการหนึ่งก็คือจะทำให้เกิดการจับก้อนของโปรตีน ค่า a_w สูงจะทำให้เกิดการจับก้อนของโปรตีนได้มากกว่าที่ค่า a_w ต่ำกว่า จากการรายงานพบว่า *Salmonella anatum* และ *Staphylococcus aureus* มีค่าการต้านทานความร้อนสูงสุดที่ค่า a_w อยู่ในช่วง 0.75 ถึง 0.80 และถ้าค่า a_w ลดลงจาก 0.4 ไป 0 ค่าการต้านทานความร้อนของสปอร์ก็จะลดลง

การปรับค่า a_w ส่วนใหญ่จะทำได้โดยการเติมเกลือคาร์โบไฮเดรตหรือสารละลายอื่น ซึ่งสารดังกล่าวเหล่านี้มีอิทธิพลต่อการต้านทานความร้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นผลของการต้านทานความร้อนที่เกิดจากการเติมสารต่างๆลงในอาหาร อาจมีสาเหตุมาจากการลดลงของ a_w หรืออาจมาจากทั้ง 2 สาเหตุ เมื่อให้ความร้อน *Salmonella* ในสารละลายของน้ำตาลและ polyols พบว่าไม่มีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องโดยตรงกันระหว่างการต้านทานความร้อนกับค่า a_w

2.2.2.8 คาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตมีอิทธิพลต่อการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ดังรูปที่ 2.5 ความสามารถในการทนความร้อนของสปอร์ *C. botulinum* มีความสัมพันธ์โดยตรงกับความเข้มข้นของซูโครสในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อความเข้มข้นของซูโครสเพิ่มขึ้นในอาหารการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ก็จะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย



รูปที่ 2.5 ผลของน้ำตาลต่อการต้านทานความร้อนของสปอร์แบคทีเรีย

ที่มา: Banwart(1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การป้องกันเซลล์จากความร้อนโดยซูโครสอาจจะมีสาเหตุเนื่องมาจากการลดลงของค่าปริมาณน้ำอิสระ (water activity, a_w) ในอาหารล้อมรอบเซลล์จุลินทรีย์ ในขณะที่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์มีการสูญเสียน้ำออกสู่ภายนอกเซลล์ มีรายงานว่าระดับความสามารถในการป้องกันเซลล์ของจุลินทรีย์จากตัวถูกละลาย (solute) เกี่ยวข้องกับการหดตัวของเซลล์ (plasmolysis) นอกจากนี้ Corry (1974) ยังได้ทำการศึกษาการต้านทานความร้อนของเชื้อ *Saccharomyces rouxii* และเชื้อ *Schizosaccharomyces pombe* ในสารละลายน้ำตาลและ polyols โดยพบว่า การต้านทานความร้อนจะมีประสิทธิภาพสูงสุดในน้ำตาลซูโครสและมีประสิทธิภาพต่ำในซอร์บิทอล (sorbital) และน้อยที่สุดในสารละลายของกลูโคส ฟรุกโตส หรือกลีเซอรอล เช่นเดียวกับผลการวิจัยที่พบว่าเชื้อ *S. cerevisiae* ในซูโครสมีการต้านทานความร้อนสูงกว่าการที่เชื้อดังกล่าวอยู่ในฟรุกโตสหรือกลูโคส ซูโครสช่วยเพิ่มการต้านความร้อนให้กับสปอร์ของ *S. cerevisiae* แต่แอลกอฮอล์จะช่วยลดการต้านทานความร้อนและซูโครสยังเป็นตัวป้องกันความร้อนให้กับแบคทีเรียหลายชนิด และการมีคาร์โบไฮเดรตที่สูงเช่น แป้งและเพคตินจะเป็นตัวที่ช่วยป้องกันสปอร์และเซลล์ของจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มการต้านทานความร้อน (Banwart, 1989)

2.2.2.9 โปรตีน

โปรตีนจะช่วยป้องกันจุลินทรีย์จากการถูกทำลายด้วยความร้อน เปปโตน ยีสต์เอ็กซ์แทรกซ์และอัลบูมิน สามารถป้องกันความร้อนให้จุลินทรีย์ได้ จากรายงานพบว่าเมื่อเนื้อวัวบดผสมกับโปรตีนถั่วเหลืองร้อยละ 30 พบว่าจะทำให้การต้านทานความร้อนของ *Salmonella* เพิ่มขึ้น (Banwart, 1989)

2.2.2.10 สารยับยั้งจุลินทรีย์

สารยับยั้งจุลินทรีย์หลายชนิดมีแนวโน้มช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์โดยความร้อนตัวอย่างเช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ใช้ร่วมกับการให้ความร้อนในกระบวนการพาสเจอไรซ์ของไข่ขาว

การเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในผลไม้หรือผลิตภัณฑ์ผลไม้แปรรูปมีแนวโน้มช่วยลดการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ลง ผลของประสิทธิภาพในการลดการต้านทานความร้อนของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในยีสต์นั้นมีผลน้อยกว่าในแบคทีเรียเนื่องจากยีสต์มีคุณสมบัติในการทนต่อซัลเฟอร์ไดออกไซด์

2.2.2.11 ไขมัน

จุลินทรีย์ที่แขวนลอยอยู่ในไขมันหรือในน้ำมันจะถูกทำลายได้ยากกว่าจุลินทรีย์ที่แขวนลอยในน้ำเนื่องจากน้ำมันมีประสิทธิภาพในการนำความร้อนต่ำรวมทั้งยังมีปริมาณความชื้นที่น้อย ดังนั้นจุลินทรีย์ที่แขวนลอยในไขมันจึงมีการต้านทานความร้อนได้ดีกว่าในน้ำ การใช้ความร้อนทำลายจุลินทรีย์ในไขมันนั้นคลายคลึงกับการใช้ความร้อนแห้งในกระบวนการสเตอริไรส์ การเพิ่มขึ้นของปริมาณไขมันในชิ้นเนื้อช่วยเพิ่มค่าการต้านทานความร้อนของ polivirus การป้องกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความร้อนของเชื้อไวรัสชนิดนี้จะเห็นได้ชัดเจนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส มากกว่าที่ 50 องศาเซลเซียส

2.2.3 การควบคุมจุลินทรีย์โดยสารยับยั้งที่มีอยู่ตามธรรมชาติในพืช

เครื่องเทศ (spice) และสมุนไพร (herb) มีความคล้ายคลึงและมักถูกเรียกรวมกันอยู่เสมอ เครื่องเทศหมายถึงผลผลิตของพืชที่มีกลิ่นหอมฉุนและเผ็ดร้อนอาจเป็นผล ดอก เปลือกไม้ ลำต้น เมล็ดหรือรากของพืช เป็นพืชที่ปลูกในเขตร้อนคือแถบเส้นศูนย์สูตรหรือใต้เส้นศูนย์สูตรสามารถใช้ในการปรุงรสอาหาร ถนอมอาหาร หรือใช้ในทางยา ส่วนพืชสมุนไพรหมายถึงพืชที่ใช้ทำเป็นเครื่องยาซึ่งหาได้ตามพื้นเมืองโดยทั่วไปสมุนไพรมักจะมีกลิ่นอ่อนกว่าเครื่องเทศ สมาคมการค้าเครื่องเทศของอเมริกา (American Spice Trade Association) ได้ให้คำจำกัดความของเครื่องเทศว่าเป็นผลิตผลแห้งของพืช ที่ใช้สำหรับปรุงรสอาหาร คำจำกัดความนี้จึงหมายถึงพืชจำนวนหลายชนิด รวมทั้งพืชสมุนไพร และ dehydrated vegetable หรือผักที่ถูกทำให้แห้งโดยกรรมวิธีกำจัดน้ำออก และใช้เป็นเครื่องปรุงรส คำว่าเครื่องเทศเป็นศัพท์ที่เกี่ยวข้องกับการประกอบอาหาร ไม่ใช่ศัพท์เทคนิคทางด้านพฤกษาศาสตร์ เนื่องจากเครื่องเทศเป็นคำศัพท์ทั่วไปที่เกี่ยวกับส่วนของพืชที่อาจได้จากไม้พุ่ม ไม้เถา ต้นไม้ หรือจากราก ดอก เมล็ดและผล ของพืชผักที่สามารถใช้ในการปรุงรสอาหารอาจใช้แต่งรสในขั้นการเตรียมอาหารหรือใช้ปรุงรสในขณะรับประทานอาหารก็ได้ (รุ่งรัตน์, 2540)

พืชเครื่องเทศและสมุนไพรแต่ละชนิดมีรสและกลิ่นหอมเฉพาะเนื่องจากมีน้ำมันหอมระเหย (aromatic plant) ส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มเทอร์ปีนส์ (terpenes) และเป็นสารเคมีที่อยู่ในพืชมักจะกระจายอยู่ตามส่วนต่างๆ ของพืช ส่วนใหญ่พบในใบ ดอก และผล โดยอยู่ในเซลล์พิเศษหรือต่อมต่างๆ น้ำมันหอมระเหยไม่ใช่สารที่มีความจำเป็นต่อขบวนการแมเทบอลิซึ่มขั้นพื้นฐานของพืช ดังเช่น น้ำตาล โปรตีน กรดอะมิโน หรือกรดนิวคลีอิค แต่น้ำมันหอมระเหยก็มีประโยชน์หลายประการเช่น กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยในดอกไม้สามารถดึงดูดแมลงให้ช่วยในการผสมเกสรดอกไม้ สามารถป้องกันแมลงประเภทกินพืชรวมทั้งต้านแบคทีเรียและเชื้อราจึงช่วยถนอมอาหารไม่ให้เน่าเสียจากการทำลายของแบคทีเรียและเชื้อราได้ กลิ่นหอมในน้ำมันหอมระเหยช่วยเพิ่มรสอาหาร กระตุ้นความอยากอาหาร และช่วยย่อยอาหารเช่น สารแคปไซซินในพริกออกฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหาร กระตุ้นการหลั่งน้ำลายและการหลั่งสารในกระเพาะอาหารเป็นต้น

ไม่มีใครทราบว่ามนุษย์เริ่มใช้เครื่องเทศในการปรุงรสอาหารมาตั้งแต่เมื่อไร แต่มีหลักฐานบันทึกว่าได้มีการใช้หัวหอม กระเทียม เมื่อกว่า 1600 ปี ก่อนคริสตศักราช ชาวอียิปต์โบราณใช้เครื่องเทศจำพวกอบเชยเพื่อให้เกิดควันหอมในพิธีกรรมทางศาสนา และใช้เครื่องเทศหลายชนิดในการอาบยาศพเพื่อรักษาศพไม่ให้เน่าเปื่อย รวมทั้งใช้เป็นเครื่องสำอาง ในยุคกลางชาวกรีกและโรมันโบราณรู้จักการใช้พริกไทยดำ พริกไทยขาว ขิง และเครื่องเทศชนิดอื่นๆ ในการปรุงอาหาร สมัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จักรวรรดิโรมัน นอกจากใช้เครื่องเทศเป็นเครื่องหอมและทางยาแล้ว ยังใช้เครื่องเทศในการปรุงอาหาร มีการซื้อขายเครื่องเทศกันมากในตลาดยุโรปขณะนั้น โดยการค้าส่วนใหญ่อยู่ในมือของพ่อค้าชาวอาหรับ เนื่องจากชาวยุโรปไม่สามารถติดต่อโดยตรงกับหมู่เกาะที่ปลูกเครื่องเทศ จึงเป็นแรงกระตุ้นให้ชาวยุโรปเริ่มการเดินทางสำรวจทางทะเล เพื่อเสาะแสวงหาแหล่งปลูกเครื่องเทศ ทำให้เกิดยุคสมัยล่าอาณานิคม และเป็นผลทำให้มีการพบโลกใหม่หรือสหรัฐอเมริกาในปัจจุบัน เครื่องเทศจากแหล่งที่ค้นพบก็ได้ถูกนำไปสู่ยุโรปและแพร่หลายไปทั่วโลก (นิจศิริ, 2542) ทุกวันนี้สามารถพบหาเครื่องเทศหลากหลายชนิดได้ทั่วไปในซุปเปอร์มาร์เก็ตในประเทศยุโรปและสหรัฐอเมริกา และเครื่องเทศยังสามารถใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารยุโรปได้หลายชนิดพบว่าคนอเมริกันบริโภคเครื่องเทศเฉลี่ยประมาณรายละ 1 กิโลกรัมต่อปี ในประเทศไทยแม้มีการใช้เครื่องเทศกันอย่างกว้างขวาง แต่ยังไม่มีสถิติข้อมูลการบริโภคเครื่องเทศของคนไทย

ประโยชน์ของเครื่องเทศคือ ช่วยทำให้อาหารมีกลิ่นและรสดีขึ้น ช่วยเพิ่มสีสันและทำให้อาหารถูกปากยิ่งขึ้น การปรุงอาหารด้วยเครื่องเทศจึงเป็นวิธีที่รวดเร็วทำให้ได้อาหารหลากหลายมากขึ้น มนุษย์รู้จักใช้เครื่องเทศในการรักษาถนอมอาหารมาเป็นพันๆ ปีก่อนถึงยุคปัจจุบัน เนื่องจากเครื่องเทศมีคุณสมบัติสามารถต้านจุลินทรีย์จึงยับยั้งแบคทีเรีย เชื้อรา และยีสต์ที่มีอยู่ในอาหาร ซึ่งอาจทำให้อาหารเป็นพิษหรือเกิดโรค จากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่ากระเทียม หัวหอม และโอรีกาโน เป็นเครื่องเทศที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่อยู่ในอาหารทดสอบได้ดีมาก นอกจากนี้เครื่องเทศและสมุนไพรยังมีสรรพคุณทางยาสามารถรักษาโรคได้กว้างขวาง เช่น โรคท้องเสีย นิ่วในไต โรคไขข้ออักเสบ ความดันโลหิตสูงเป็นต้น สามารถเป็นสารต้านไวรัส สารกระตุ้นสมอง ช่วยย่อยอาหาร และปรับขบวนการเผาผลาญอาหารในร่างกาย ช่วยชะลอการเป็นโรคจากการเสื่อมของเซลล์เช่น โรคเบาหวานและมะเร็ง เนื่องจากเครื่องเทศและสมุนไพรเป็นแหล่งรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ พฤกษเคมีในเครื่องเทศสามารถช่วยลดการสร้างอนุมูลอิสระในร่างกายซึ่งสารอนุมูลอิสระอาจทำให้เกิดโรคมะเร็งหรือทำให้เซลล์เสื่อมได้ เครื่องเทศและสมุนไพรชนิดสดมักจะมีสารต้านอนุมูลอิสระปริมาณสูงกว่าเครื่องเทศชนิดแห้ง ส่วนที่เป็นใบสีเขียวมักมีสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าส่วนอื่นๆ ของพืชเนื่องจากใบเป็นแหล่งผลิตก๊าซออกซิเจนของพืช

ปริมาณเครื่องเทศที่ใส่ในตำรับอาหารต้องมีมากเพียงพอที่จะให้เกิดผลในการต้านจุลินทรีย์ และต้องให้แน่ใจว่าการหุงต้มอาหารจะไม่ทำลายประสิทธิภาพของสารพฤกษเคมีที่มีอยู่ในเครื่องเทศนั้น ทั้งนี้สารพฤกษเคมีส่วนใหญ่จะทนต่อความร้อนได้เช่น กระเทียม ขิง พริก หัวหอม จึงสามารถเติมลงในอาหารเมื่อแรกเริ่มประกอบอาหาร ส่วนเครื่องเทศบางชนิดที่ไม่ทนต่อความร้อนเช่น ใบผักชี จะต้องเติมเมื่ออาหารใกล้สุกหรือใช้เป็นสารปรุงรสขณะรับประทาน เนื่องจากกลิ่นและรสของเครื่องเทศจะถูกทำลายโดยความร้อน เครื่องเทศหลายชนิดเมื่อใช้ผสมกับเครื่องเทศอีกชนิดหนึ่งจะสามารถเสริมฤทธิ์และออกฤทธิ์ต้านจุลชีพได้ดีกว่าเมื่อใช้เครื่องเทศนั้นเพียงชนิดเดียว ตัวอย่างของเครื่องเทศที่เป็นสารเพิ่มฤทธิ์ได้แก่ พริกไทยและน้ำมะนาว เนื่องจากกรดซิตริกใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำมะนาวมีพีเอชต่ำทำให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแตกจึงทำให้เครื่องเทศชนิดอื่นสามารถออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดีขึ้น ส่วนพริกไทยมีคุณสมบัติทำให้อัตราการดูดซึมของสารพิษเข้าสู่เซลล์จุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจึงช่วยเสริมฤทธิ์เครื่องเทศอีกชนิดในการต้านจุลินทรีย์ได้ อาหารในประเทศเขตร้อนมักจะใส่เครื่องเทศมากกว่าอาหารในเขตอบอุ่น ทั้งนี้เนื่องจากอาหารในประเทศเขตร้อน โดยเฉพาะอาหารประเภทเนื้อมักจะเน่าเสียเร็วหากไม่ได้แช่เย็นจึงจำเป็นต้องใส่เครื่องเทศเพื่อให้เป็นสารต้านแบคทีเรีย พบว่าชนิดของเครื่องเทศที่ใช้มักมีจำนวนแปรผันตามอุณหภูมิของอากาศ ถ้าอุณหภูมิสูงนิยมใช้เครื่องเทศมากชนิดกว่าเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า ดังนั้นประเทศที่มีอุณหภูมิอากาศสูงกว่าจึงมักใช้เครื่องเทศมากชนิดกว่า เพื่อให้สามารถมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้มากขึ้น (รุ่งรัตน์, 2540)

แหล่งของสารต้านจุลินทรีย์ตามธรรมชาติที่พบในพืชผัก สมุนไพรและเครื่องเทศ รวมทั้งน้ำมันหอมระเหย (essential oil) และสารประกอบต่างๆ มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา อย่างไรก็ตามสารต้านจุลินทรีย์ในพืชเป็นสารมีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยที่พบได้หลายส่วนตามชนิดของพืชเช่น ในส่วนใบ (rosemary, sage) ส่วนของดอกและช่อดอก (กานพลู) หัว (กระเทียม, หัวหอม) ราก (asafoetida) ผล (พริกไทย, กระวาน) หรือจากส่วนประกอบอื่นๆ ของพืช จากตารางที่ 2.3 แสดงให้เห็นถึงพืชทั่วไป สมุนไพร และเครื่องเทศ ซึ่งเป็นแหล่งของสารยับยั้งจุลินทรีย์ สารประกอบเหล่านี้อาจทำลายตัวเซลล์ของจุลินทรีย์หรืออาจยับยั้งการสร้างสารแมเทบอไลซ์บางชนิดเช่น สารพิษจากเชื้อรา (Vigil และคณะ, 2005)

องค์ประกอบหลักที่มีคุณสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์ที่พบในพืช สมุนไพร และเครื่องเทศ ได้แก่ กลุ่มของสารประกอบฟีโนลิก (phenolic compound) เทอร์พีน (terpenes) อะลิฟาติกแอลกอฮอล์ (aliphatic alcohols) อัลดีไฮด์ (aldehyde) คีโตน (ketone) กรดไขมัน และ ไอโซฟลาโวนอยด์ (isoflavonoids) น้ำมันหอมระเหยจะแสดงผลของกิจกรรมตามชนิดขององค์ประกอบเคมีและความเข้มข้นของปริมาณน้ำมันหอมระเหย ได้มีผู้กล่าวถึงโครงสร้างอนุพันธุ์ของสารประกอบฟีนอลในน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากเครื่องเทศว่าเป็นสารประกอบหลักที่มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ มีรายงานว่า ยูกลีนอล (eugenol) คาวาคลอ (carvacrol) ไทมอล (thymol) และวานิลิน (vanillin) เป็นสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหย และยังมีรายงานว่าอะลิฟาติกแอลกอฮอล์ และสารประกอบฟีนอลิกสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้โดย Farag และคณะ (1989) ทั้งนี้ได้แสดงข้อมูลโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีในพืชแต่ละชนิดถูกแสดงอยู่ในรูปที่ 2.6 และรูปที่ 2.7

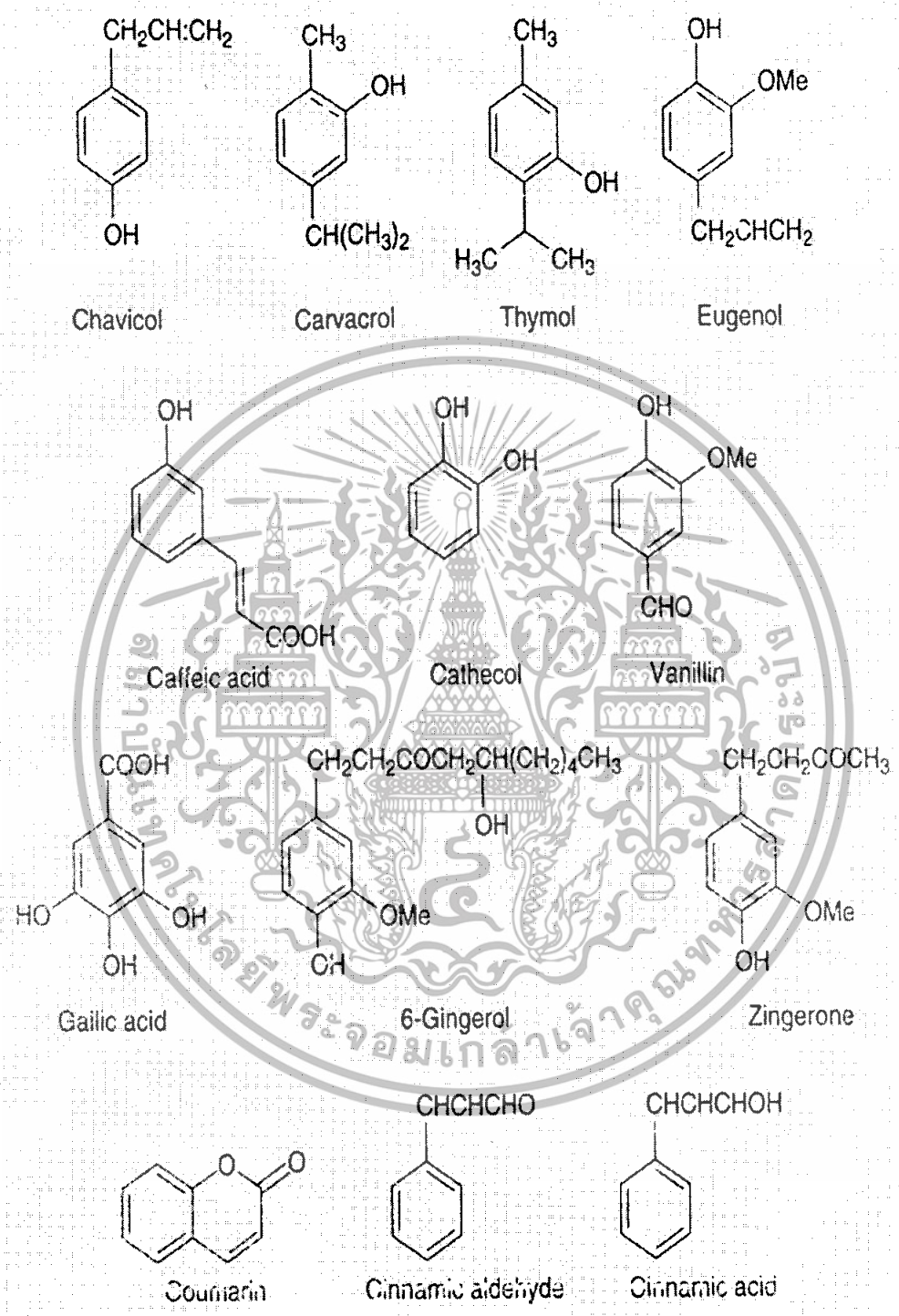
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 พืชและสารประกอบหลักของสารต้านจุลินทรีย์

ชนิดของพืช (ชื่อทางวิทยาศาสตร์)	สารประกอบหลักที่มีในพืช
ออลสไปซ์ (Allspice, *Pimenta dioica*)	Eugenol, methyl ether cineol
โหระพา (Basil, *Ocimum basilicum*)	d-linalool, methyl chavicol, eugenol, cineol, geraniol
พริกไทยดำ (Black pepper, *Pipper nigrum*)	Monoterpenes, sesquiterpenes
เบ (Bay, *Laurus nobilis*)	Cineol, l-linalool, eugenol, geraniol
เมล็ดคาราเวย์ (Caraway seed, *Carum carvi*)	Carvone, limonene
เมล็ดขึ้นช่าย (Celery seed, *Apium graveolens*)	d-limonene
อบเชย (Cinnamon, *Cinnamomum zeylanicum*)	Cinnamic aldehyde, l-linalool, p-cymeme, eugenol
กานพลู (Clove, *Syzygium aromaticum*)	Eugenol, cariofilene
ผักชี (Coriander, *Coriandum sativum*)	d-linalool, d-αpinene, β-pinene
ยี่หร่า (Cumin, *Cuminum cyminum*)	Cuminaldehyde, p-cymenel
ฟันเนล (Fennel, *Foeniculum vulgare*)	Anthole
กระเทียม (Garlic, *Allium sativum*)	Diallyl disulfide, diethyl sulfide, diallyl trisulfide , allicin
ตะไคร้ (Lemongrass, *Cymbopogon citratus*)	Citral, geraniol
มาโจแรม (Majoram, *Origanum majorana*)	Linalool, cineol, methyl chavicol, eugenol, terpinineol
มัสตาร์ท (*Brassica hirta, B. Juncea, B. nigra*)	Allyl-isothiocyanate
หอม (Onion, *Allium cepa*)	d-n-propyl disulfide, methyl-n-propyl disulfide
ออลิกาโน (Oregano, *Origanum vulgare*)	Thymol, carvacrol, α-pinene, p-cymene
ผักชีฝรั่ง (Parsley, *Petroselinum crispum*)	α-pinene, fenol-eter-apiol
โรสแมรี่ (Rosemary, *Rosmarinus officinalis*)	Borneol, cineol, camphor, α-pinene, bornyl acetate
เซจ (Sage, *Salvia officinalis*)	Thujone, cineol, borneol, thymol, eugenol
ทารากอน (Tarragon, *Artemisia dracunculus*)	Methyl chavicol, anethole
ไทม์ (Thyme, *Thymus vulgaris*)	Thymol, carvacrol, l-linalool, geraniol, p-cymene
วนิลลา (*Vanilla planifolia, V. pompona, V. tahilensis*)	Vanillin, vanillic, p-hydroxbenzoic. p-coumaric acids

ที่มา: Vigil และคณะ (2005)

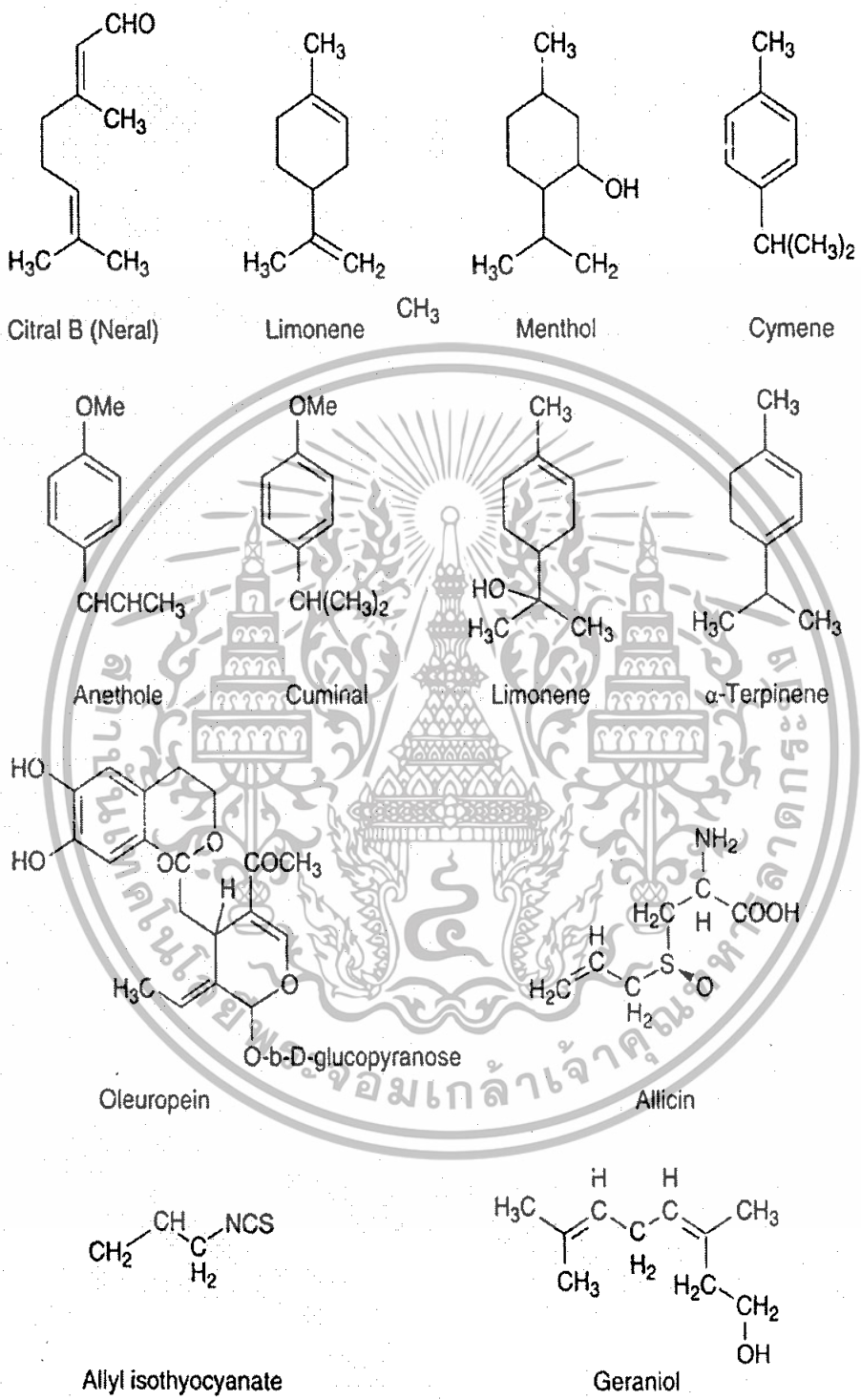
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีในพืช

ที่มา : Vigil และคณะ (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีในพืช(ต่อ)

ที่มา : Vigil และคณะ (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3.1 การยับยั้งจุลินทรีย์โดยสารยับยั้งในกระเทียม

กระเทียมเป็นทั้งพืชเครื่องเทศและพืชสมุนไพร ในประเทศไทยมีการเรียกชื่อต่างออกไปตามแต่ละท้องถิ่น ภาคเหนือเรียก หอมเทียม ภาคใต้จะเรียกว่า เทียมหรือหัวเทียม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Allium sativum* Linn. อยู่ในวงศ์ Alliaceae สารที่พบในกระเทียมนั้นมีหลายชนิดเช่น allicin, coumarins, allyl propyl disulphide, diallyl disulphide, peroxidase และ myrosinase มีรายงานถึงการยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษของจุลินทรีย์หลายชนิดเช่น *Bacillus cereus, Clostridium botulinum, E. coli, Lactobacillus plantarum, Salmonella, Shigella* และ *Staphylococcus aureus* และยังมีผลกระทบต่อเชื้อราอีกหลายชนิดเช่น *Aspergillus flavus, A. parasiticus, Candida albicans* และสปีชีส์ของ *Cryptococcus, Rhodotorules, Saccharomyces* และ *Trichosporum* (Davidson และ Zivanovic, 2005) สำหรับ *Vibrio parahaemolyticus* ได้มีการศึกษาผลของกระเทียมต่อการยับยั้งการเจริญของ *V. parahaemolyticus* พบว่ากระเทียมความเข้มข้นร้อยละ 2.5 สามารถยับยั้งการเจริญของ *V. parahaemolyticus* ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและ 5 องศาเซลเซียสได้ (Yano และคณะ, 2006) Cavallito และ Bailey (1985) เป็นคนแรกที่อธิบายว่ากิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ในกระเทียมเป็นผลมาจากอัลลิซิน (allicin) ที่มีอยู่ในกระเทียม สารอัลลิซินนี้สร้างขึ้นจากกิจกรรมของเอนไซม์อัลลิเนส (allinase) กับสารตั้งต้น alliin [s-(2 propyrly)-L- cysteine sulfoxide] ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นต่อเมื่อเซลล์ของกระเทียมถูกทำลายปลดปล่อยเอนไซม์ออกมากระทำต่อสารตั้งต้น (Yano และคณะ, 2006) ผลการยับยั้งจุลินทรีย์โดยอัลลิซินนั้นเนื่องจากการกระทำของอัลลิซินกับเอนไซม์ชนิดที่สำคัญของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วยไทออล (thiol-containing enzyme) นอกจากนี้อัลลิซินยังสามารถยับยั้งเอนไซม์ชนิดอื่นของแบคทีเรียเช่น เอนไซม์อะซิเตทไคเนส (acetate kinase) และมีผลกับเอนไซม์ฟอสโฟทรานอซิทิลโคเอซินทิเทส (phosphotransacetyl-CoA synthetase) (Ankri และ Mirelman, 1999) Vuddhakul และคณะ (2007) ได้ทำการทดลองพบว่ากระเทียมมีผลการยับยั้งการเจริญของ *V. parahaemolyticus* จากการทดสอบโดยใช้วิธีการแพร่บนอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าสารสกัดจากกระเทียมสามารถยับยั้ง *V. parahaemolyticus* ได้โดยทำให้เกิดโซนการยับยั้ง 11.6 ± 0.5 มิลลิเมตร

2.2.3.2 การยับยั้งจุลินทรีย์โดยสารยับยั้งในพริก

พริก เป็นพืชที่อยู่ในสกุล *Capsicum* อยู่ในวงศ์ Solanaceae มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกาเขตร้อนและหมู่เกาอินเดียตะวันตกเป็นอาหารของชาวถิ่นนั้นมามากกว่า 5,000 ปีก่อนคริสต์ศักราช ได้แพร่ขยายเข้าไปสู่ยุโรปและทวีปเอเชียและกลายเป็นอาหารของท้องถิ่นนั้นอย่างรวดเร็ว พริกปลูกในประเทศเขตร้อนได้แก่ อินเดีย จีน เกาหลี เวียดนาม ปากีสถาน ไทย ญี่ปุ่น ไนจีเรีย เคนย่า อูกันดา เม็กซิโก และสหรัฐอเมริกาเป็นต้น พริกเป็นไม้พุ่มขนาดเล็กปลูกได้ทั่วไปทุกภูมิภาคในประเทศไทย พันธุ์พริกที่ปลูกมีหลายชนิดได้แก่ พริกขี้หนูใหญ่ พริกขี้หนูสวน พริกชี้ฟ้า พริกยักษ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และพริกหยวก ผลพริกจึงมีขนาด รูปร่างและสีแตกต่าง เก็บเกี่ยวได้ตั้งแต่ผลที่ห่ามไปจนถึงผลสุก

พริกมีคุณค่าทางอาหารมาก อุดมด้วยวิตามินเอและวิตามินซีปริมาณสูงมาก มีเส้นใย แคลเซียม ฟอสฟอรัส และเหล็ก พริกเป็นส่วนประกอบอาหารประจำของคนไทยมาช้านานและเป็นส่วนประกอบอาหารของชนชาติต่างๆ จากสถิติการบริโภคพริกของชนชาติต่างๆ พบว่าคนเม็กซิกันบริโภคพริก 20 กรัมต่อคนต่อวัน คนไทย 5 กรัมต่อคนต่อวัน คนอินเดีย 2.5 กรัมต่อคนต่อวัน ส่วนคนอเมริกัน 1.5 มิลลิกรัมต่อคนต่อวัน เป็นต้น พริกสามารถบริโภคได้ทั้งสดหรือแปรรูปอาหาร สารสำคัญที่พบในพริกคือ แคปไซซิน (capsaicin) รสร้อนแรงของพริกเกิดจากแคปไซซิน ไดไฮโดรแคปไซซิน (dihydrocapsaicin) นอไดไฮโดรแคปไซซิน (nordihydrocapsaicin) โฮโมแคปไซซิน (homocapsaicin) และโฮโมไดไฮโดรแคปไซซิน (homodihydrocapsaicin) ที่มีอยู่ในต่อมน้ำมันบนแกนกลางในผลพริก ถ้าแยกเมล็ดพริกและเนื้อเยื่อแกนกลางออกจะสามารถลดความร้อนแรงของผลพริกได้ สารอื่นๆ ที่พบมี คาโรทีนอยด์ ซึ่งประกอบด้วย แคปแซนทีน (capsanthin) แคปซาลูบีน (capsarubin) คาโรทีน (carotene) ลูติโอลิน (luteolin) ฯลฯ ไขมัน โปรตีน วิตามินเอ และซีน้ำมันหอมระเหยปริมาณน้อยประกอบด้วยสารต่างๆ ถึง 125 ชนิด เช่น 4-methyl-l-pentyl-2-methyl butyrate, 3-methyl-l-pentyl-3-methyl butyrate และ isohexyl isocaproate แต่ก็ยังมีสารในพริกอีกหลายชนิดที่ยังไม่สามารถทดสอบได้ว่าเป็นสารชนิดใด มีการรายงานถึงผลของพริกต่อระบบร่างกายและอวัยวะต่างๆ คือพริกมีฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของระบบปลายประสาทพาราซิมพาเทติก (parasymphathetic) ในกล้ามเนื้อเรียบ และส่งผลให้ร่างกายมีเมแทบอลิซึมของน้ำตาลกลูโคสสูงขึ้น นอกจากนี้แคปไซซินยังมีผลต่อการทำงานของไมโตรคอนเดรียโดยจะยับยั้งการสร้างพลังงานในไมโตรคอนเดรีย แคปไซซินถึงแม้จะทำให้เจือจางมากๆ ก็ยังคงความเผ็ดอยู่ ความเผ็ดนี้ไม่ถูกทำลายด้วยด่างเหมือนกิงเจอรอล (gingerol) แต่ถูกทำลายด้วยออกซิไดซิ่งเอเจน (oxidizing agent) เช่น โพแทสเซียมไดโครเมท (potassium dichromate) หรือกับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (potassium permanganate) (นิจศิริ, 2542)

Dorantes และคณะ (2000) ได้ศึกษาผลของสารสกัดจากพริก (*Capsicum annum*) 3 สายพันธุ์ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Salmonella typimurium* และ *Bacillus cereus* พบว่าพริกสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทดสอบทั้งหมดได้โดย *L. monocytogenes* มีความไวต่อสารสกัดจากพริกมากที่สุด ตามด้วย *B. cereus, S. aureus* และ *S. typhimurium* ตามลำดับจากนั้นทำการทดสอบต่อถึงผลของสารสกัดที่ได้จากพริกซึ่งประกอบด้วยสารกลุ่มแคปไซซินอยด์ และสรุปได้ว่า cinnamic acid และ *m*-coumaric acid ในสารสกัดของพริกมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด Arora และ Kaur (1999) ได้ศึกษาผลของสารต้านจุลินทรีย์จากเครื่องเทศ พบว่าพริกเขียว (green chilli) ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3.3 การควบคุมจุลินทรีย์โดยเกลือโซเดียมคลอไรด์

โซเดียมคลอไรด์ หรือที่เรียกกันทั่วไปว่าเกลือ (salt, table salt หรือ rock salt) เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับชีวิตมนุษย์เนื่องจากเกลือช่วยเพิ่มรสชาติสามารถใช้ถนอมอาหารและผลิตอาหารหมักดองต่างๆ เช่นแตงกวาดอง เกลือยังมีประโยชน์ในการควบคุมจุลินทรีย์ ควบคุมกิจกรรมของยีสต์และควบคุมกิจกรรมการหมักของแบคทีเรียกรดแลคติก สำหรับการปรุงแต่งอาหารเกลือมีผลต่อการปรับปรุงรสชาติ สี และผลด้านประสาทสัมผัสในเนื้อสัตว์ ประโยชน์ของเกลือยังมีอีกมากมายเช่น ใช้ละลายหิมะบนถนนในฤดูหนาว ในอดีตมนุษย์รู้จักการใช้เกลือตั้งแต่สมัยเริ่มสร้างอารยธรรม เกลือมีความสำคัญในหลายๆ พื้นที่ของโลก ชาวกรีกโบราณใช้เกลือแลกเปลี่ยนเป็นสินค้า ภาษีเกลือเป็นรายได้หลักของประวัติศาสตร์ประเทศจีน เกลือก่อให้เกิดการปฏิวัติในฝรั่งเศส อังกฤษมีภาษีเกลือเป็นรายได้หลักของราชวงศ์และมีบทลงโทษสำหรับคนที่ลักลอบขนเกลือ (Ravishankar และ Juneja, 2000)

สารประกอบชนิดอื่นๆ ของเกลือโซเดียมที่มักใช้ในกระบวนการผลิตอาหารได้แก่ กลุ่มของโซเดียมแอสคอเบท (sodium ascorbate) โซเดียมเบนโซเอท (sodium benzoate) โซเดียมไบคาร์บอเนต (sodium bicarbonate) โซเดียมซิเตรท (sodium citrate) โซเดียมไนเตรท (sodium nitrate) โซเดียมไนไตรท์ (sodium nitrite) โซเดียมฟอสเฟต (sodium phosphate) และโซเดียมโพรไพโอเนท (sodium propionate) ได้มีการพยายามใช้เกลือชนิดอื่นแทนเกลือโซเดียมคลอไรด์ โดยเกลือโพแทสเซียมคลอไรด์ (potassium chloride) มีสมบัติใกล้เคียงกับโซเดียมคลอไรด์มากที่สุด โดยเฉพาะคุณสมบัติทางฟิสิกส์และคุณสมบัติในการทำหน้าที่ แต่มีข้อจำกัดคือ โพแทสเซียมคลอไรด์มีรสขมมาก แคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมคลอไรด์ก็มีรสขมมากเช่นกัน เกลือโซเดียมคลอไรด์ มีส่วนประกอบเป็น 2 ธาตุหลักคือ โซเดียมอิออน (Na^+) และคลอไรด์อิออน (Cl^-) บทบาทของโซเดียมคลอไรด์ในร่างกายของมนุษย์ทำหน้าที่รักษาปริมาณของเลือด รักษาแรงดันออสโมติกภายในเซลล์ รวมถึงการขนส่งกระแสประสาท (Ravishankar และ Juneja, 2000)

กิจกรรมการควบคุมจุลินทรีย์ของโซเดียมคลอไรด์มีทั้งทางตรงและทางอ้อมขึ้นอยู่กับจุดประสงค์ของการใช้และปริมาณที่เติมลงในอาหารซึ่งส่วนใหญ่จะใช้เติมในผลิตภัณฑ์อาหารเช่น เนื้อตากแห้ง และเนื้อรมควัน เมื่อเร็วๆ นี้มีการเติมโซเดียมคลอไรด์เพียงเล็กน้อยและมีการใช้เกลือร่วมกับสารถนอมอาหารชนิดอื่นเพื่อขัดขวางการเจริญของจุลินทรีย์ เกลือที่จะเติมลงในอาหารเพื่อให้สามารถป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์นั้นจะต้องเติมในปริมาณมาก สารละลายเกลือความเข้มข้นร้อยละ 16.54 ทำให้ค่ากิจกรรมน้ำในอาหาร (water activity) ลดลงเหลือ 0.90 ซึ่งจะทำให้อาหารมีรสชาติเค็มเกินไป ดังนั้นจึงมักใช้เกลือร่วมกับสารถนอมอาหารชนิดอื่นแต่บางกรณีอาจใช้เกลือเพื่อปรุงแต่งรสและทำหน้าที่บางประการ แต่ในอาหารหมักบางชนิดเกลือช่วยสกัดสารอาหารออกจากผัก ซึ่งในทางกลับกันจะมีผลให้แบคทีเรียกลุ่มแลคติกสามารถเจริญได้แต่จะมีผลยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสียและแบคทีเรียก่อโรคอื่นๆ เช่นแบคทีเรียในสปีชีส์ของ *Staphylococcus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในกรณีนี้อาจเรียกว่าเป็นผลของการยับยั้งจุลินทรีย์ทางอ้อม หรือบางกรณีเกิดจากการลดค่ากิจกรรมน้ำในอาหารโดยเกลือทำให้เกิด osmotic shock ในเซลล์แบคทีเรียเป็นผลให้เซลล์จุลินทรีย์ตายหรือปรับสภาพเข้าสู่ระยะพักตัว

มีรายงานถึงผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการต้านทานความร้อนและรังสีและการฟื้นคืนสภาพของสปอร์ *Bacillus* ที่บาดเจ็บ การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เป็นสาเหตุที่ทำให้การต้านทานความร้อนของ *B. stearothermophilus* ลดลง แต่ไม่มีผลต่อการต้านทานรังสีของจุลินทรีย์ชนิดเดียวกันได้ เช่นเดียวกับการต้านทานความร้อนและรังสีของ *Bacillus* ในสปีชีส์อื่น การมีโซเดียมคลอไรด์อยู่ในระหว่างการให้ความร้อนจะเพิ่มความไวของ *B. stearothermophilus* ต่อโซเดียมคลอไรด์ แต่ไม่ใช่กับสปีชีส์อื่น การเพิ่มปริมาณรังสี (radiation dose) จะช่วยเพิ่มความไวของ *B. stearothermophilus* ต่อโซเดียมคลอไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในขณะที่ให้ผลกระทบน้อยกว่าสปีชีส์อื่น เมื่อ *B. subtilis* อยู่ในสภาพที่มีเกลือไม่มากนักมาก่อนจะสามารถอยู่รอดได้เมื่อเผชิญสภาพที่มีเกลือเข้มข้นสูงที่จะเป็นพิษต่อเซลล์ ในระยะต่อมาการเผชิญกับความร้อนตัวอย่างฉับพลัน (mild heat shock) สามารถชักนำให้เกิดการป้องกันข้าม (cross-protection) ต่อการอยู่ในสภาพเครียดที่มีเกลือสูง (Ravishankar และ Juneja, 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

วัตถุดิบตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองได้แก่ กุ้งแชบ๊วย (*Penius merguiensis*) ปลาหมึกกล้วย (*Photololigo duvaucelii*) ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) หอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) และหอยนางรม (*Crassostrea belcheri*) พริกขี้หนูสด (*Capsicum annuum*) กระเทียม (*Allium sativum*) และเกลือโซเดียมคลอไรด์ จากตลาดสดอุดมผล เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

3.1.2 จุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองได้แก่เชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* สายพันธุ์ SH1 แยกได้จากกุ้งแชบ๊วยสด *V. parahaemolyticus* MS2 แยกได้จากปลาหมึกกล้วยสดและ *V. parahaemolyticus* GS1 ที่แยกได้จากปลากะพงขาวสดในกรุงเทพมหานคร (นวรัตน์ และ ประทุม, 2549)

3.1.3 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองได้แก่ โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) โพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_20$) กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 (NaOH) สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (0.1N HCl) ปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) กรดไนตริก (HNO_3) สารละลายซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (0.1M $AgNO_3$) สารละลายแอมโมเนียมไทโอไซยาเนตความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (0.1N NH_4SCN) สารละลายเฟอร์ริกอินดิเคเตอร์ ($FeNH_4(SO_4).12H_2O$)

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลองได้แก่ Tryptic soy broth (TSB, Difco), Tryptic soy agar (TSB, Difco) และ สารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1

3.1.4 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือที่ใช้ในการทดลองได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ (laminar air flow) เครื่องวัดอุณหภูมิของตัวอย่าง (thermocouple type T, testo 926) เครื่องชั่ง เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ตู้บ่มเพาะเชื้อ (incubator) เครื่องปั่นผสมตัวอย่างในหลอดทดลอง (vortex mixer)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครเวฟ เครื่องสกัดไขมัน soxhlet รุ่น B 810 บีกเกอร์สกัดไขมันขนาด 250 ml ทิมเบอร์ (thimble) ขนาด 33 x 88 มิลลิเมตร ท่อสายยาง ขวดรูปชมพู่ขนาด เครื่องตีป่นอาหาร (stomacher) เครื่องย่อยตัวอย่างอาหารสำหรับการวิเคราะห์โปรตีน (Tecator รุ่น Digestion system 6 1007 Digester) เครื่องกลั่นสำหรับการวิเคราะห์หาโปรตีน (Gerhardt รุ่น Vapodest 30) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (waterbath) ตู้อบ (hot air oven) จานเพาะเชื้อ เครื่องแก้วและอุปกรณ์ต่างๆ ที่จำเป็น

3.2. การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเลสด

สุ่มตัวอย่างอาหารทะเลสดทั้งหมด 5 ชนิดได้แก่กุ้งแชบ๊วย ปลากะพงขาว ปลาหมึกกล้วย หอยนางรม และหอยแมลงภู่ชนิดละ 3 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีได้แก่ ปริมาณของแข็งทั้งหมด ปริมาณเกลือคลอไรด์ ปริมาณไขมัน และปริมาณเถ้าวิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (2000) สำหรับปริมาณโปรตีนวิเคราะห์ตามวิธีของ Kirk และ Sawyer (1991)

3.2.1 การหาปริมาณของแข็งทั้งหมด (AOAC, 2000)

ก. ในอาหารทะเลทุกชนิดยกเว้นหอยนางรมดิบ

ชั่งทราย 2 กรัมใส่ในภาชนะโลหะเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 9 เซนติเมตร พร้อมแท่งแก้วปลายแบนยาวประมาณ 8 เซนติเมตรและฝาปิด อบแห้งในเตาอบที่มีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น (desicator) ชั่งน้ำหนักจากนั้นชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 9.5 ถึง 10.5 กรัมใส่ในภาชนะโลหะที่บรรจุทรายนั้น เติมน้ำ 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้แท่งแก้ว ให้ความร้อนจนเกือบแห้ง ทิ้งแท่งแก้วไว้ในภาชนะตัวอย่างนั้น จากนั้นนำไปให้ความร้อนเป็นเวลา 4 ชั่วโมงในตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วทำการชั่งน้ำหนัก

ข. ในหอยนางรมดิบ

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างให้อยู่ในระหว่าง 9.5 ถึง 10.5 กรัม ใส่ในภาชนะโลหะก้นแบนเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 9 เซนติเมตร พร้อมฝาปิด แล้วเกลี่ยตัวอย่างที่ก้นจานโลหะ จากนั้น ก) ระเหยในอ่างน้ำเดือดแล้วอบแห้ง 3 ชั่วโมงในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส หรือ ข) นำภาชนะใส่ตัวอย่างไปให้ความร้อนโดยตรงในเตาอบที่ตั้งอุณหภูมิให้ความร้อนไว้ล่วงหน้า อบแห้งที่ตู้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง เมื่ออบเสร็จแล้วปิดฝาปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก

3.2.2 การวิเคราะห์โปรตีน (Kirk และ Sawyer, 1991)

ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ลงในฟลาส์กสำหรับย่อยตัวอย่างเติมตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) ลงไป ซึ่งได้แก่ โพแทสเซียมซัลเฟต 15 กรัม และคอปเปอร์ซัลเฟต 0.5 กรัม และเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25 มิลลิลิตรเพื่อใช้สำหรับการย่อย ทำการย่อยในเครื่องย่อยตัวอย่างยี่ห้อ Tecator รุ่น Digestion system 6 1007 Digester อย่างน้อย 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นจากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไปในฟลาส์กสำหรับย่อยประมาณ 15 มิลลิลิตร พร้อมทั้งเติมเศษกระเบื้องเพื่อป้องกันการเดือดอย่างรุนแรงและเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ทำการกลั่นโดยใช้เครื่องกลั่นยี่ห้อ Gerhardt รุ่น Vapodest 30 โดยแอมโมเนียที่ได้จากการกลั่นตัวอย่างจะถูกเก็บในสารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ทำการไตเตรทสารละลายที่ได้จากการกลั่นตัวอย่างโดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ในส่วนของแบลงค์ (blank) เตรียมได้โดยใช้วิธีการเดียวกันกับการหาปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่าง แต่ไม่ต้องทำการใส่ตัวอย่างลงไป การคำนวณหาปริมาณโปรตีนได้จากคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนแล้วคูณกับค่าไนโตรเจนแฟกเตอร์ได้เป็นค่าโปรตีน

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน (total nitrogen)} = \frac{(A-B)\times C\times 0.014\times 100}{D}$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีน (crude protein)} = \text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน} \times 6.25$$

A = มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอลที่ใช้ในการไทเทรตกับตัวอย่าง

B = มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอลที่ใช้ในการไตเตรทกับแบลงค์

C = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก

D = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

3.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (AOAC, 2000)

1. สารเคมี

ปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether)

2. วิธีการสกัดไขมันด้วย Soxhlet method โดยใช้เครื่อง B-810

ชั่งสารตัวอย่างที่ต้องการสกัดหาไขมันแล้วใส่ลงในทิมเบอร์โดยใช้ปริมาณตามความเหมาะสมของไขมันที่มีอยู่ในอาหาร ปิดสารตัวอย่างในทิมเบอร์ด้วยสำลีหรือ glass wool อบตัวอย่างพร้อมทิมเบอร์เพื่อไล่ความชื้น จากนั้นนำใส่ในเครื่องสกัดไขมัน B-810 (ที่ผ่านการอุ่นเครื่องประมาณ 10 นาที) เปิดระบบน้ำหล่อเย็น ลดระดับคอนแดนเซอร์ (condenser) ให้เชื่อมลงบนบีกเกอร์และเริ่มการสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ใช้เวลาสกัดประมาณ 2 ชั่วโมงขึ้นอยู่กับปริมาณของสารตัวอย่างและชนิดของสารตัวอย่าง หลังจากการสกัดสมบูรณ์ยกวาวล์เก็บตัวทำละลายให้ตัวทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายไหลลงสู่ถังเก็บด้านหลังเครื่อง ทำการสกัดต่อไปจนตัวทำละลายที่อยู่ในบีกเกอร์ระเหยหมด แล้วนำบีกเกอร์ไปอบประมาณ 30 นาที ในตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส หลังจากอบเสร็จนำบีกเกอร์ใส่ในเดซิเคเตอร์ (desicator) ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำบีกเกอร์มาชั่งน้ำหนักและคำนวณหาเป็นเปอร์เซ็นต์ไขมัน

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมัน} = \frac{(B - A) \times 100}{C}$$

A = น้ำหนักของบีกเกอร์ก่อนทำการสกัด

B = น้ำหนักบีกเกอร์หลังทำการสกัด

C = น้ำหนักสารตัวอย่าง

3.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณเกลือคลอไรด์ (ในรูปของโซเดียมคลอไรด์) ในอาหารทะเล (AOAC, 2000)

1. สารเคมี

ก) สารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ (silvernitrate standard solution, $AgNO_3$) เตรียมได้จากการนำตัวอย่างผง (น้ำหนักโมเลกุล 169.87) มาละลายลงในน้ำที่ปราศจากธาตุหมู่ฮาโลเจน ทำการละลายในเครื่องแก้วผสมตัวอย่างแล้วเก็บไว้ในขวดสีชา

ข) โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride, NaCl)

ค) สารละลายมาตรฐานของแอมโมเนียมไทโอไซยาเนตที่มีความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (ammoniumthiocyanate standard solution, 0.1N NH_4SCN)

ง) สารละลายอินดิเคเตอร์มาตรฐาน (ferric indicator, $FeNH_4(SO_4).12H_2O$)

จ) กรดไนตริก (nitric acid, HNO_3)

2. วิธีการวิเคราะห์

ก) ในกรณีของตัวอย่างหอยนางรมชั่งน้ำหนักเนื้อหอยส่วนที่เป็นของเหลว หรือเนื้อหอยผสมกับส่วนที่เป็นของเหลวผสมกันมาปริมาณ 10 มิลลิลิตร ลงในฟลาส์กหรือบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร

ข) สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ปลาอื่นๆ ชั่งน้ำหนักตัวอย่างให้เหมาะสมขึ้นอยู่กับปริมาณของโซเดียมคลอไรด์ที่คาดว่าจะมีในอาหารนั้น

เติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ ที่ทราบปริมาตรลงในตัวอย่างที่ใส่ไว้ในฟลาส์กโดยเติมให้มากเกินพอที่จะตกตะกอนคลอไรด์ทั้งหมดในอาหารให้อยู่ในรูปของซิลเวอร์คลอไรด์ (AgCl) จากนั้นเติมกรดไนตริกลงไป 20 มิลลิลิตร นำไปต้มบนเครื่องให้ความร้อน (hot plate) จนกระทั่งของแข็งอื่นๆ ละลายยกเว้นซิลเวอร์คลอไรด์ (ใช้เวลาประมาณ 15 นาที) ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมน้ำลงไป 50 มิลลิลิตร พร้อมเฟอร์ริกอินดิเคเตอร์ 5 มิลลิลิตร แล้วไตเตรทกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายแอมโมเนียมไทโอไซยาเนตความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ทำการไตเตรทจนกระทั่งสารละลายมีสีน้ำตาลอ่อนอย่างถาวร นำปริมาณสารละลายแอมโมเนียมไทโอไซยาเนตที่ใช้ไปหักลบกับปริมาณสารละลายซิลเวอร์ไนเตรททั้งหมดที่เติมลงในตัวอย่าง ผลลัพธ์ที่ได้นำไปคำนวณเป็นปริมาณของคลอไรด์ในตัวอย่างในตัวอย่าง 10 กรัมนั้นสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทแต่ละมิลลิลิตรที่ใช้ไปจะเท่ากับปริมาณของเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.058

3.2.5 การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

อบครูซิเบิลในตู้อบที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรืออบจนได้น้ำหนักคงที่ ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น (desicator) และนำมาชั่งหาน้ำหนัก ชั่งตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ 3 - 5 กรัม ใส่ลงในครูซิเบิลบันทึกค่าน้ำหนักที่ได้ นำไปเผาในตู้เผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียสนาน 5 ชั่วโมง จนได้เถ้าสีเทาอ่อนหรือได้น้ำหนักคงที่ (สำหรับตัวอย่างที่เป็นของเหลว ให้นำไปทำให้แห้งโดยใช้ boiling water bath นานประมาณ 15 นาที แล้วนำไปเผาต่อในตู้เผา) นำออกจากตู้เผาปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น นำมาชั่งหาน้ำหนักและบันทึกค่าที่ได้

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้าทั้งหมด (ร้อยละ)} = \frac{(A-B) \times 100}{W}$$

กำหนดให้ A คือ น้ำหนักครูซิเบิล + ตัวอย่างหลังเผา (กรัม)

B คือ น้ำหนักครูซิเบิล (กรัม)

W คือ น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

3.3 การหาค่า Decimal reduction time (D value) ของ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลสด

การหาค่า D ของ *V. parahaemolyticus* SH 1 ในกุ้งแชบ๊วย *V. parahaemolyticus* MS2 ในปลาหมึกกล้วย และ *V. parahaemolyticus* GS1 ในปลากระพงขาว ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสทำได้ด้วยวิธีของ Penna และ Moraes (2001) ดังนี้

3.3.1 การเตรียมเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*

เชื้อ *V. parahaemolyticus* ลงในอาหารเหลว TSB ที่มีโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อมาปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยความเร็ว 3000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้งไป จากนั้นทำการล้างเซลล์ 2 ครั้งด้วยสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่มีโซเดียมคลอไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้อยละ 2 ในการล้างแต่ละครั้งจะใช้สารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่มีโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้งไป หลังจากล้างเซลล์แล้วทำไปเป็นสารแขวนลอยของเชื้อโดยเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2 แล้วผสมให้เข้ากันนำไปปรับความขุ่นให้เท่ากับความขุ่นของ Mc-Farland standard เบอร์ 3 หาปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตของ *V. parahaemolyticus* ในสารแขวนลอยเซลล์โดยใช้เทคนิค spread plate บนอาหาร TSA ที่มีโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวณโคโลนีและคำนวนการหาจำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) จะได้ความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 10^{10} CFU ต่อมิลลิลิตร

3.3.2 การเตรียมตัวอย่างอาหารทะเล

ทำการเตรียมตัวอย่างอาหารทะเลได้แก่ กุ้งแชบ๊วย ปลาหมึกกล้วย และปลากะพงขาวโดยทำความสะอาดแล้วนำไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที เพื่อทำให้ตัวอย่างอาหารทะเลปราศจากเชื้อเริ่มต้น จากนั้นนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบดเนื้อที่ปราศจากเชื้อ

3.3.3 การหาค่า Decimal reduction time (D value) ของ *V. parahaemolyticus* SH1 ในกุ้งแชบ๊วย *V. parahaemolyticus* MS2 ในปลาหมึกกล้วย และ *V. parahaemolyticus* GS1 ในปลากะพงขาว ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ทำการหาค่า D value ของ *V. parahaemolyticus* SH1 ในกุ้ง *V. parahaemolyticus* MS2 ในปลาหมึกกล้วย และ *V. parahaemolyticus* GS1 ในปลากะพงขาวที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส โดยนำตัวอย่างอาหารทะเลบดที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.2 มาชั่งด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ 11 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองปลอดเชื้อชนิดตัวอย่างละ 7 หลอด เติมสารแขวนลอยเซลล์ของ *V. parahaemolyticus* ที่เตรียมจากข้อ 3.3.1 ลงในหลอดตัวอย่างอาหารทะเลบดปริมาตร 20 ไมโครลิตรต่อหลอดจำนวนทั้งหมด 6 หลอด ต่ออาหารทะเล 1 ชนิด โดยแยกตัวอย่างหลอดที่ไม่มีการเติมเชื้อไว้เป็นหลอดควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นนำหลอดตัวอย่างอาหารทะเลทั้งหมดที่เติมเชื้อ *V. parahaemolyticus* แล้วไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำร้อนโดยในหลอดควบคุมอุณหภูมิจะใช้ thermocouple type T (testo 926) วัดอุณหภูมิของกึ่งกลางตัวอย่างอาหารภายในหลอด เริ่มจับเวลาเมื่ออุณหภูมิกึ่งกลางของตัวอย่างอาหารขึ้นถึงอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และเมื่อครบ 30 วินาทีดึงตัวอย่างอาหารทะเลแต่ละชนิด ชนิดละ 1 หลอดออกจากอ่างน้ำร้อนและจับเวลาต่อไป ทุกๆ 30 วินาที ดึงตัวอย่างออกมาทั้ง 3 ชนิดชนิดละ 1 หลอดเช่นเดียวกัน จนครบ 150 วินาที นำหลอดอาหารทะเลแต่ละหลอดที่ผ่านความร้อนรวมทั้งหลอดที่ไม่ได้ผ่านความร้อน (ให้ความร้อน 0 นาที) มาวิเคราะห์หาจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตด้วยเทคนิค spread plate บนอาหาร TSA ที่เติมโซเดียมคลอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไรด์ร้อยละ 2 นำผลที่ได้ไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตกับเวลาที่ให้ความร้อน คำนวนหาค่า $D_{55°C}$ จากนั้นทำการคัดเลือกอาหารทะเลชนิดที่มีค่า $D_{55°C}$ ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* มากที่สุด ซึ่งเป็นอาหารทะเลชนิดที่ *V. parahaemolyticus* ต้านทานความร้อนได้ดีที่สุดนำไปศึกษาผลของ พริก กระเทียม และโซเดียมคลอไรด์ ต่อการต้านทานความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลชนิดนั้นในขั้นต่อไป

3.4 การศึกษาผลของพริก กระเทียม และเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการต้านทานความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลสด

การทดลองในขั้นนี้ได้ศึกษาผลของส่วนผสมอาหารได้แก่ พริก กระเทียม และโซเดียมคลอไรด์ต่อการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลชนิดที่ต้านทานความร้อนได้ดีที่สุด ซึ่งคัดเลือกได้จากข้อ 3.3 โดยหาค่า $D_{55°C}$ ของ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลสดที่คัดเลือก ซึ่งนำมาผสมกับพริกขี้หนู กระเทียม และโซเดียมคลอไรด์แต่ละชนิดตามวิธีการของ Penna และ Moraes (2001)

3.4.1 การเตรียมเชื้อ *V. parahaemolyticus*

การเตรียมเชื้อ *V. parahaemolyticus* ทำได้โดยวิธีการเดียวกับข้อ 3.3.1

3.4.2 การเตรียมตัวอย่างอาหารทะเล และการเตรียมส่วนผสมของ พริกขี้หนู กระเทียม โซเดียมคลอไรด์

การเตรียมตัวอย่างอาหารทะเลสดชนิดที่คัดเลือกทำโดยวิธีการเดียวกับข้อ 3.3.2 การเตรียมส่วนผสมของ พริกขี้หนู กระเทียม และโซเดียมคลอไรด์ ทำได้โดยนำพริกขี้หนู กระเทียม ไปแช่ในแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95 เป็นเวลา 10 นาที (ยกเว้นโซเดียมคลอไรด์) นำส่วนผสมทั้ง 3 ชนิดไปผึ่งไว้ในตู้เขี่ยเชื้อโดยเปิดรังสียูวีทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำส่วนผสมทั้ง 3 ชนิดไปบดผสมกับตัวอย่างอาหารทะเลอีกครั้ง ในกรณีของพริกขี้หนูและกระเทียมผสมในอัตราส่วนร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ในส่วนของเกลือใส่ในอัตราส่วนร้อยละ 3

3.4.3 การหาค่า Decimal reduction time (D value) ของ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลที่ทำการผสม พริกขี้หนู กระเทียม และโซเดียมคลอไรด์

ในการศึกษาหาค่า $D_{55°C}$ ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลที่ผสมพริกขี้หนู อาหารทะเลผสมกระเทียมและอาหารทะเลผสมโซเดียมคลอไรด์ ทำได้โดยนำตัวอย่างอาหารทะเลที่ผสมส่วนผสมอาหารแต่ละชนิดมาชั่งด้วยเทคนิคปลอดเชื้อปริมาณ 11 กรัมใส่ในหลอดทดลองปลอดเชื้อชนิดละ 7 หลอด จากนั้นเติมสารแขวนลอยเซลล์ของ *V. parahaemolyticus* ที่เตรียมจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อ 3.4.1 ลงไปในหลอดตัวอย่างอาหารนั้นปริมาตร 20 ไมโครลิตรต่อหลอด จำนวนทั้งหมด 6 หลอดต่อส่วนผสมอาหาร 1 ชนิด โดยแยกตัวอย่างหลอดที่ไม่มีการเติมเชื้อไว้เป็นหลอดควบคุม อุณหภูมิ จากนั้นนำหลอดอาหารทะเลทั้งหมดที่ผสมกับส่วนผสมอาหารและทำการเติมเชื้อ *V. parahaemolyticus* แล้ว ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสในอ่างน้ำร้อนเพื่อหาค่า $D_{55^{\circ}C}$ ของ *V. parahaemolyticus* ที่เติมส่วนผสมอาหารชนิดต่างๆดังกล่าว ซึ่งทำโดยวิธีการเดียวกับข้อ 3.3.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและการอภิปรายผลการทดลอง

4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเล

ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเลสดจำนวน 5 ชนิดได้แก่ กุ้งแชบ๊วย ปลาหมึกกล้วย ปลากะพงขาว หอยแมลงภู่ และหอยนางรม ซึ่งพบว่าปลากะพงมีปริมาณไขมัน โปรตีน ของแข็งทั้งหมด และโซเดียมคลอไรด์มากที่สุดคือร้อยละ 2.96, 21.50, 23.96 และ 2.96 ตามลำดับ ในส่วนของปริมาณเถ้าพบว่า กุ้งแชบ๊วยมีปริมาณเถ้าโดยเฉลี่ยมากที่สุด คือร้อยละ 3.61 และพบว่าหอยนางรมมีปริมาณไขมัน เถ้า และโซเดียมคลอไรด์ ต่ำที่สุด คือร้อยละ 0.65, 0.75 และ 0.12 ตามลำดับ หอยแมลงภู่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดต่ำที่สุด คือร้อยละ 10.95 (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเล

ชนิดของอาหารทะเล	องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละ)[a] ± SD				
	ไขมัน	โปรตีน	ของแข็งทั้งหมด	เถ้า	NaCl
กุ้งแชบ๊วยสด	0.91 ± 0.01	19.08 ± 0.10	19.85 ± 0.77	3.61 ± 0.01	0.15 ± 0.01
ปลาหมึกกล้วยสด	0.89 ± 0.07	15.71 ± 0.52	14.79 ± 0.66	3.20 ± 0.03	0.27 ± 0.00
ปลากะพงขาวสด	2.96 ± 0.17	21.50 ± 0.81	23.96 ± 0.32	1.38 ± 0.06	2.96 ± 0.00
หอยแมลงภู่สด	1.26 ± 0.05	8.13 ± 0.03	10.95 ± 0.59	1.10 ± 0.05	0.42 ± 0.01
หอยนางรมสด	0.65 ± 0.19	9.10 ± 0.23	20.82 ± 0.85	0.75 ± 0.08	0.12 ± 0.00

[a] ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเลนั้นพบว่า ปลากะพงขาวมีปริมาณโปรตีน และไขมัน มากที่สุดในจำนวนชนิดของอาหารทะเลที่นำมาวิเคราะห์คือร้อยละ 21.50 และ 2.96 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณโปรตีนและไขมันที่แสดงในตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย กองโภชนาการอาหาร กระทรวงสาธารณสุข (2002) คือร้อยละ 20.40 และ 3.20 ตามลำดับ ซึ่งนอกจากจะมีปริมาณโปรตีนที่สูงแล้วยังมีปริมาณไขมันที่ต่ำกว่าเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบกับเนื้อสัตว์ อีกทั้งยังเป็นไขมันที่จำเป็นต่อร่างกายที่เรียกว่า กรดไลโนเลอิก ทำหน้าที่เผาผลาญไขมันที่เรียกว่าคลอเลสเทอรอลและไตรกลีเซอไรด์ให้อยู่ในระดับพอดีอยู่เสมอ ในส่วนของกุ้ง ปลาหมึก และหอยแมลงภู่ พบว่ามีปริมาณไขมันร้อยละ 0.91, 0.89 และ 1.26 ตามลำดับ และมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 19.08, 15.71 และ 8.13 ตามลำดับ พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับการรายงานของ McCance และ Widdowson (2002) ที่ได้ระบุว่าในกุ้งแชบ๊วย ปลาหมึกกล้วย และหอยแมลงภู่ มีปริมาณโปรตีนอยู่ที่ร้อยละ 20.80, 13.70 และ 16.70 ตามลำดับ ในขณะที่มีปริมาณไขมันอยู่ที่ 1.20, 1.50 และ 2.70 ตามลำดับ เมื่อเราพิจารณาจากตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบกับผลการรายงานการศึกษาของนักวิจัยที่ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทะเลชนิดเดียวกันพบว่าปริมาณองค์ประกอบทางเคมีบางชนิดไม่เท่ากันแต่มีแนวโน้มใกล้เคียงกัน ซึ่งสาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจจะเป็นเพราะว่าอาหารทะเลที่นำมาวิเคราะห์นั้นถึงแม้จะเป็นอาหารทะเลชนิดเดียวกันก็ตาม แต่อาจจะมาจากแหล่งที่อยู่อาศัยที่ต่างกันและยังมีปัจจัยทางด้านสภาพแวดล้อมของอาหารเข้ามาเกี่ยวข้อง รวมทั้งความสดของอาหารทะเลก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทะเลนั้นมีค่าที่แตกต่างกัน

4.2 การศึกษาการต้านทานความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในกุ้ง ปลาหมึก และปลาสด

จากการศึกษาหาความต้านทานความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสในอาหารทะเลได้แก่ กุ้งแชบ๊วย ปลาหมึกกล้วย ปลากะพงขาว พบว่าค่า $D_{55^{\circ}C}$ เฉลี่ยของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลที่มีค่าสูงสุดได้แก่กุ้งแชบ๊วยเท่ากับ 125.02 วินาที และค่า $D_{55^{\circ}C}$ เฉลี่ยต่ำสุดของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้แก่ในปลาหมึกเท่ากับ 107.32 วินาที ส่วนค่า $D_{55^{\circ}C}$ ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในปลากะพงขาวนั้นมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 111.76 วินาที (ตารางที่ 4.2) ซึ่งนั่นก็หมายความว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งมีความสามารถในการต้านทานความร้อนได้ดีที่สุด

จากการเพิ่มเวลาในการให้เชื้อ *V. parahaemolyticus* แต่ละสายพันธุ์สัมผัสกับความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส พบว่าเซลล์ของ *V. parahaemolyticus* ถูกทำลายทำให้มีจำนวนลดลง นำจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตกับเวลามาเขียนกราฟการรอดชีวิต จากกราฟนำมาหาค่า Decimal reduction time ($D_{55^{\circ}C}$) ของ *V. parahaemolyticus* แต่ละสายพันธุ์ในกุ้งแชบ๊วย ปลาหมึกกล้วย และปลากะพงสด โดยพบว่าค่า $D_{55^{\circ}C}$ ในกุ้งสดมีค่าสูงสุด (125.02 วินาที) แสดงว่า *V. parahaemolyticus* สามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้านทานความร้อนได้ดีในกุ้งสดจึงได้ทำการคัดเลือกกุ้งสดเพื่อนำมาศึกษาผลของส่วนผสมอาหารต่อการต้านทานความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในขั้นต่อไป

ตารางที่ 4.2 ค่า Decimal reduction time ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ($D_{55\,^{\circ}C}$) ของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้ง ปลาหมึก และปลาสด

ชนิดของอาหารทะเล	สายพันธุ์จุลินทรีย์	$D_{55\,^{\circ}C}$ (วินาที)[a] ± SD
กุ้งแชบ๊วยสด	*Vibrio parahaemolyticus* SH1	125.02 ± 4.52
ปลาหมึกกล้วย	*Vibrio parahaemolyticus* MS2	107.32 ± 5.47
ปลากะพงขาว	*Vibrio parahaemolyticus* GS1	111.76 ± 6.34

[a] ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

เมื่อพิจารณาจากองค์ประกอบทางเคมีของกุ้งแชบ๊วย พบว่ากุ้งมีปริมาณโปรตีนสูงซึ่งอาหารที่มีปริมาณโปรตีนสูงจะต้องใช้ความร้อนในปริมาณที่สูงกว่าอาหารที่มีปริมาณโปรตีนต่ำกว่าในการทำลายจุลินทรีย์ที่ให้ผลเท่ากัน (Jay และคณะ, 2005) อาหารที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบจะมีผลต่อการใช้ความร้อนในการทำลายจุลินทรีย์เนื่องจากโปรตีนเป็นตัวช่วยรับความร้อนในระบบ โดยที่โมเลกุลของโปรตีนจะช่วยถ่ายเทความร้อนและเป็นตัวกั้นความร้อนให้กับจุลินทรีย์ (Garbriel และ Ubana, 2007) ซึ่งทำให้ต้องใช้เวลาในการให้ความร้อนนานขึ้นในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ แต่เมื่อพิจารณาผลขององค์ประกอบทางเคมีจากตารางที่ 4.1 จะพบว่ากุ้งแชบ๊วยนั้นมีปริมาณโปรตีนเป็นลำดับที่ 2 รองจากปลากะพงขาว ทำให้ต้องพิจารณาปัจจัยอื่นที่มีผลในการส่งเสริมการต้านทานความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* และเมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางเคมีที่วิเคราะห์อีกปัจจัยที่น่าจะเป็นสาเหตุก็คือปริมาณเถ้า ซึ่งพบว่ากุ้งแชบ๊วยมีปริมาณเถ้าถึงร้อยละ 3.61 ในขณะที่ปลากะพงขาวมีปริมาณเถ้าเพียงร้อยละ 1.38 และนอกจากนี้ Jay และคณะ (2005) ได้กล่าวว่าอาหารทะเลในกลุ่มที่มีเปลือกหุ้ม (crustacean) มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตประมาณร้อยละ 0.5 แตกต่างจากปลาที่ไม่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบ ซึ่งการที่อาหารมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบนั้นจะช่วยป้องกันเซลล์ของจุลินทรีย์จากความร้อนโดยอาจจะมีสาเหตุมาจากการลดลงของค่าปริมาณน้ำอิสระ (water activity, a_w) ในอาหารที่ล้อมรอบเซลล์จุลินทรีย์มีการสูญเสียน้ำออกภายนอกเซลล์ (Banwart, 1989) ดังนั้นเราจะเห็นได้ว่าปริมาณโปรตีนไม่ได้เป็นปัจจัยเพียงอย่างเดียวที่มีส่วนทำให้เชื้อ *V. parahaemolyticus* มีความต้านทานต่อความร้อนมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลของส่วนผสมอาหารต่อการต้านทานความร้อนของ *Vibrio parahaemolyticus*

เมื่อทำการเติมส่วนผสมของอาหารได้แก่พริก กระเทียม และโซเดียมคลอไรด์ลงในตัวอย่างกุ้งแชบ๊วยสดที่มีเชื้อ *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ SH1 และหาค่า Decimal reduction time ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส พบว่าค่า $D_{55°C}$ มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างกุ้งแชบ๊วยที่ไม่มีการเติมส่วนผสมของอาหาร ค่า $D_{55°C}$ ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งแชบ๊วยสดที่มีส่วนผสมของพริกมีค่าเท่ากับ 256.50 วินาที ซึ่งมีค่ามากกว่าค่า $D_{55°C}$ ของ *V. parahaemolyticus* ในชุดควบคุมซึ่งเป็นกุ้งแชบ๊วยสดที่ไม่มีการเติมสารใดๆ (122.12 วินาที) สำหรับกุ้งแชบ๊วยสดที่ผสมเกลือโซเดียมคลอไรด์และกระเทียมพบว่ามีค่า $D_{55°C}$ ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ลดลงเมื่อถูกเปรียบเทียบกับชุดควบคุมคือ 94.80 และ 87.83 วินาที ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) ดังนั้นเชื้อ *V. parahaemolyticus* มีค่าการต้านทานความร้อนที่มากที่สุดในกุ้งแชบ๊วยสดที่เติมพริกรองลงมาคือกุ้งแชบ๊วยสดที่ไม่ได้เติมส่วนผสมอาหาร (ชุดควบคุม) ตามด้วยกุ้งแชบ๊วยสดที่เติมโซเดียมคลอไรด์และกุ้งแชบ๊วยสดที่เติมกระเทียม

จากการทดลอง เมื่อผสมส่วนผสมของอาหารต่างชนิดกันในตัวอย่างกุ้งสดที่มีการเติมเชื้อ *V. parahaemolyticus* มีผลทำให้ค่า $D_{55°C}$ ต่างกันซึ่งก็คือ ระยะเวลาที่ต่างกันในการทำให้เชื้อ *V. parahaemolyticus* ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส โดยมีจำนวนลดลงร้อยละ 90 ของจำนวนเซลล์เริ่มต้น

เมื่อตรวจนับจำนวนของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งแชบ๊วยสดผสมพริกหลังผ่านความร้อนตามระยะเวลาที่กำหนดไว้พบว่ามีจำนวนลดลง และเมื่อนำมาหาค่า $D_{55°C}$ พบว่าใช้เวลามากกว่ากุ้งแชบ๊วยสดที่ไม่ได้เติมส่วนผสม (ชุดควบคุม) อาจเนื่องจากสารบางชนิดที่อยู่ในพริกที่มีคุณสมบัติในการเพิ่มความต้านทานความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* สารสำคัญในพริกประกอบด้วยสารกลุ่มแคปไซซิน วิตามิน เอ และวิตามินซี และสารอื่นๆ ที่พบได้แก่ ลูติโอลิน แคปแซนทีน แคปซาลูบีน แคโรทีน ไขมันโปรตีน และน้ำมันหอมระเหย ซึ่งประกอบด้วยสารต่างๆ มากมายเช่น 4-methyl-l-pentyl-2-methyl butyrate และ 3-methyl-l-pentyl-3-methyl butyrate เป็นต้น (นิจศิริ, 2542; Dorantes และคณะ, 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลของเครื่องเทศ และเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ SH1

ชนิดของส่วนผสมอาหารที่เติมในกุ้งสด	$D_{55\,^{\circ}C}$ (วินาที)[a] ± SD
ชุดควบคุม (ไม่มีการเติมสารใดๆ)	122.12 ± 6.31
พริก	256.50 ± 9.19
กระเทียม	87.83 ± 4.36
เกลือโซเดียมคลอไรด์	94.80 ± 1.91

[a] ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 2 ซ้ำ

จากการทดลองปรากฏว่าค่า $D_{55^{\circ}C}$ ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ SH1 ในกุ้งแชบ๊วยผสมกระเทียมมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมแสดงถึงความสามารถในการเพิ่มการทำลาย *V. parahaemolyticus* จากการเพิ่มส่วนของผสมกระเทียมลงในตัวอย่างกุ้ง ผลที่ได้อาจเนื่องมาจากในกระเทียมมีสารชื่ออัลลิซิน (allisin) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (Ankri และ Mirelman, 1999) ซึ่งได้มีการบันทึกถึงผลของสารนี้ต่อการยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus* (Vuddhakul และคณะ, 2007) เมื่อนำเชื้อ *V. parahaemolyticus* ไปให้ความร้อนเป็นผลให้ส่วนประกอบของเซลล์และผนังเซลล์เสียหาย เมื่อรวมกับผลของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเทียมจึงอาจช่วยเสริมผลการยับยั้งและทำลายเซลล์ *V. parahaemolyticus* ได้เร็วกว่าการลดจำนวนโดยผ่านความร้อนเพียงอย่างเดียว

เชื้อ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งแชบ๊วยที่เติมโซเดียมคลอไรด์ แสดงผลของค่า $D_{55^{\circ}C}$ น้อยกว่าตัวอย่างในชุดควบคุมอาจเนื่องมาจากคุณสมบัติของโซเดียมคลอไรด์ที่ช่วยเสริมผลของกิจกรรมการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ มีผู้กล่าวถึงการมีโซเดียมคลอไรด์อยู่ในระหว่างการให้ความร้อนจะช่วยเพิ่มความไวของเชื้อ *B. stearothermophilus* ต่อโซเดียมคลอไรด์ (Ravishankar และ Juneja, 2000) แต่ว่าอาจเนื่องมาจากคุณสมบัติของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่เป็นแบคทีเรียทนเกลือ ผลกระทบของการยับยั้งของโซเดียมคลอไรด์จึงเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับอย่างกุ้งแชบ๊วยที่ผสมส่วนผสมของอาหารที่เป็นกระเทียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การตรวจหาองค์ประกอบทางเคมีในอาหารทะเลสดทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ กุ้งแชบ๊วย ปลากะพงขาว ปลาหมึกกล้วย หอยนางรม และหอยแมลงภู่ จากตลาดในกรุงเทพมหานครพบว่า ปลากะพงขาวมีโปรตีนมากที่สุดร้อยละ 21.5 รองลงมาเป็นกุ้งแชบ๊วย ปลาหมึกกล้วย หอยนางรม และหอยแมลงภู่ตามลำดับ ไขมันถูกพบมากที่สุดในปลากะพงขาวคิดเป็นร้อยละ 2.96 ถัดมาเป็นหอยแมลงภู่ กุ้งแชบ๊วยสด ปลาหมึกกล้วย และหอยนางรมตามลำดับ ปริมาณของแข็งทั้งหมดมีมากที่สุดในปลากะพงขาว คิดเป็นร้อยละ 23.96 รองลงมาเป็นหอยนางรมสด กุ้งแชบ๊วย ปลาหมึกกล้วย และหอยแมลงภู่ เถ้ามีมากที่สุดในกุ้ง คิดเป็นร้อยละ 3.61 รองลงมาเป็นปลาหมึกกล้วย ปลากะพงขาว หอยแมลงภู่ และหอยนางรมตามลำดับ และเกลือโซเดียมคลอไรด์พบมากที่สุดในปลากระพงขาว คิดเป็นร้อยละ 2.96 รองลงมาเป็นหอยแมลงภู่ ปลาหมึกกล้วย กุ้งแชบ๊วย และหอยนางรมตามลำดับ จากนั้นทำการเลือกตัวอย่าง กุ้งแชบ๊วย ปลากะพงขาว และปลาหมึกกล้วยมาใช้ในการศึกษาการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus*

V. parahaemolyticus เป็นจุลินทรีย์ก่อโรคในทางเดินอาหารที่มักพบในอาหารทะเล สำหรับอาหารทะเลมีผู้บริโภคอาหารทะเลดิบหรืออาหารทะเลที่ผ่านการทำสุกเพียงเล็กน้อยเป็นจำนวนมาก จึงได้ทำการศึกษาถึงผลของความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จากการทดลองได้ค่า $D_{55^{\circ}C}$ มากที่สุดใน *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ SH1 ในกุ้งแชบ๊วย ถัดมาเป็นสายพันธุ์ GS1 ในปลากะพงขาว และค่า $D_{55^{\circ}C}$ มีค่าน้อยที่สุดในสายพันธุ์ MS2 ในปลาหมึกกล้วย จากผลที่ปรากฏจึงเลือก *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ SH1 มาทดลองการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสร่วมกับส่วนผสมของอาหารได้แก่พริก กระเทียม และโซเดียมคลอไรด์ โดยเติมลงในกุ้งแชบ๊วยสด ตัวอย่างอาหารจะถูกทำให้เป็นเนื้อเดียวกันในเครื่องปั่นและบรรจุด้วยวิธีปลอดเชื้อ เมื่อนำไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสพบว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* กุ้งแชบ๊วยผสมพริกได้ค่า $D_{55^{\circ}C}$ เพิ่มขึ้นมากกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้ใส่ส่วนผสมของอาหาร ซึ่งแสดงถึงผลของพริกที่ช่วยเพิ่มการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* สำหรับเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งแชบ๊วยที่ผสมโซเดียมคลอไรด์และกุ้งแชบ๊วยที่ผสมกระเทียม พบว่ามีค่า $D_{55^{\circ}C}$ ลดลง ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสดงว่าโซเดียมคลอไรด์และกระเทียมช่วยส่งเสริมผลของความร้อนในการทำลายแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ทำให้เซลล์ของเชื้อบาดเจ็บและถูกทำลายได้เร็วขึ้น

ในการทดสอบนี้ได้ทำการทดสอบ พริก กระเทียม และโซเดียมคลอไรด์ ยังมีสารอื่นๆ อีกมากที่มีผลส่งเสริมและยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดนี้ อาจทำการศึกษาในจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในทางเดินอาหารชนิดอื่นๆ หรือทำการทดสอบกับสปอร์ของจุลินทรีย์ ซึ่งมักจะถูกทำลายได้เมื่อใช้ความร้อนสูง ผลของการใช้ความร้อนร่วมกันกับส่วนผสมของอาหารอาจช่วยลดอุณหภูมิของความร้อนที่ต้องใช้จริงเพื่อกำจัดสปอร์ และจุลินทรีย์ นอกจากนี้อาจพิจารณาถึงองค์ประกอบโดยละเอียดในอาหารต่างๆ ชนิดกัน เมื่อทำการทดลองใช้สารที่มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ หากมีการใช้สารเหล่านั้นร่วมกันมากกว่า 2 ชนิดขึ้นไป อาจมีผลทำให้จุลินทรีย์ต้านทานได้ดียิ่งขึ้นก็เป็นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

นิจศิริ เรืองรังษี. (2542). เครื่องเทศ. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นวรัตน์ โพธิราช และ ประทุม แสนมา. (2549). การแยกเชื้อและจำแนกชนิดของ *Vibrio parahaemolyticus* จากอาหารทะเลและการศึกษาการยับยั้งการเจริญด้วยความร้อน. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต. สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. (2540). พืชเครื่องเทศและสมุนไพร. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ โอเดียนสโตร์.

ศรีสิทธิ์ การุณยะวนิช, ปรีชา จึงสมานุกูล และ จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์. (2541). สุขลักษณะความปลอดภัยของอาหารพร้อมปรุงในซุปเปอร์มาร์เก็ต วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ฉบับที่ 3.

ศรีวรรณา หัทยานานนท์. (2548). สาระน่ารู้เกี่ยวกับเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*. ศูนย์ข้อมูลโรคติดเชื้อและพาหะนำโรค. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กระทรวงสาธารณสุข. กรุงเทพมหานคร.

สุรีย์ นานาสมบัติ. (2549). ปฏิบัติการจุลชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแปรรูปอาหาร. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์. คณะวิทยาศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร. กรุงเทพมหานคร.

Ankri, S., & Mirelman, D. (1999). Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbe and Infection, 2,* 125-129.

AOAC. (2000). *Official methods of analysis of AOAC international* (17th ed.). Garthersburg, Maryland: The Association of Official Analysis Chemists.

Arora, D. S., & Kaur, J. (1999). Antimicrobial activity of spice. *International Journal of Antimicrobial agents, 12,* 257-262.

Bang, W., & Drake, M.A. (2002). Resistance of cold and starvation stressed *Vibrio vulnificus* to heat and freeze–thaw exposure. *Journal of Food Protection, 65*, 975-980.

Bang, W., & Drake, M.A. (2005). Acid adaption of *Vibrio vulnificus* and subsequent impact on stress tolerance. *Food Microbiology, 22*, 301-309.

Banwart, G. J. (1989). *Basic food microbiology*. New York: Van Nostrand Reinhold.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Baumann, P., & Schubert, R. H. W. (1984). Family 2. Vibrionaceae. In N. R. Krieng, & J. G. Holt, *Bergey's manual of systematic bacteriology* (pp. 516-550). Baltimore: Williams & Wilkins.

Block, E. (1985). The chemistry of garlic and onion. *Scientific American, 252*, 94-99.

Boyd, R. F., & Hoerl, B. G. (1991). *Basic medical microbiology (4th ed.)*. Boston: Little. Brown and Company.

Cavallito, C. J., & Bailey, J. H. (1944). Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Physical properties and antibacterial action. *Journal of the American Chemical Society, 66*, 1950-1954.

Corry, J. E. L. (1974). The effect of sugars and polyols on the heat resistance of *Salmonella*. *Journal of Applied Bacteriology, 37*, 31-43.

Davidson, P. M., & Zivanovic, S. (2003). The use of natural antimicrobials. In P. Zeuthen, & L. Bøgh-Sørensn, *Food preservation technique* (pp. 5-29). Cornwall, England: TJ International Limited Padstow.

Dorantes, L., Colmenero, R., Hernandez, H., Mota, L., Jaramillo, M. E., Fernandez, E., & Solano, C. (2000). Inhibition of growth of some food borne pathogenic bacteria by *Capsicum annum* extract. *International of Food Microbiology, 57*, 125-128.

Farag, R. S., Daw, Z. Y., Hewedi, F. M., & El-Baroty, G. S. (1989). Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oil. *Journal of Food Protection, 52*, 665-667.

Fujino, T., Okuno, Y., Nakada, D., Aoyama, A., Fukai, K., Mukai, T. & Ueho, T. (1953). On the bacteriological examination of Shirasu-food poisoning. *Medical Journal of Osaka University, 4*, 219-304.

Gabrial, A. A., & Ubana, M. A. (2007). Decimal reduction times of *Salmonella* Typhimurium in *guinataang kuhol*: An indigenous Filipino dish. Department of Food Science and Nutrition, College of Home Economics, University of the Philippines, Diliman Quezon City, Philippines.

Gibson, A. M., & Robret, A. (1986). The effect of pH, water activity, sodium nitrite and storage temperature on the growth of enterophagogenic *Escherischia coli* and *Salmonella* in laboratory medium. *International Journal of Food Microbiology, 3*, 195-216.

Huss, H. H. (1994). *Assurance of seafood safety*. Rome: Food and Agriculture Organization's.

Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). *Modern food microbiology (7th ed.)*. New York: Springer Science+Business media, Inc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kim, K., & Ryeon, K. (1979). A study on content and antibacterial effects of capsaicin from Korean hot pepper. *Report of the National Institute of Health, 16,* 241-251.

Kirk, R. S., & Sawyer, R. (1991). *Pearson's composition and analysis of foods*. Singapore: Longman Singapore Publishers.

Lin, C., Yu, R. C., & Chou, C. C. (2004). Susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* to various environmental stresses after cold shock treatment. *International Journal of Food Microbiology, 92 (2)*, 207-215.

Liston, J. (1990). Microbial hazard of seafood consumption. *Food Technology, 44*, 56-62.

McCance, R. A., & Widdowson, E. M. (2002). *McCance and Widdowson's the composition of foods*. Cambridge: Royal Society of chemistry.

Ng, T. M., & Schaffner, D. W. (1997). Mathematical model for the effects of pH, temperature and sodium chloride on the growth of *Bacillus stearothermophilus* in salty carrots. *Applied and Environment Microbiology, 63*, 1237-1243.

Pagan, R., Manas, P., Raso, J., Javier, F., & Trepat, S. (1999). Heat resistance of *Yersinia enterocolitica* grown at different temperatures and heated in different media. *Food Microbiology, 47*, 59-66.

Penna, T. C. V., & Moraes, D. A. (2002). The influence of nisin on the thermal resistance of *Bacillus cereus*. *Journal of Food Protection, 65*, 415-418.

Ravishankar, S., & Jujena, J. K. (2000). Sodium chloride. In A. S. Naidu, *Natural food antimicrobial system* (pp. 705-724). USA: CRC Press.

Russell, A. D., & Harries, D. (1967). Some aspects of thermal injury in *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology, 15(2)*, 407-410.

Schultz, F. J., & Smith, J. L. (1994). *Foodborne disease handbook volume 1*. New York: Marcel Dekker, Inc.

Shelef, L. A. (1983). Antimicrobial effect of spice. *Journal of Food Safety, 6*, 14-29.

Singleton, P., & Sainsbury, D. (1988). *Dictionary of microbiology and molecular biology*. Singapore: John Wiley & Sons.

Su, Y. C., & Liu, C. (2007). *Vibrio paraheamolyticus* : A concern of seafood safety. *Food Microbiology, 24*, 549-558.

Vuddhakul, V., Bhoopong, P., Hayeebilan, F., & Subhadhirasakul, S. (2007). Inhibitory of thai condiments of pandemic strain of *Vibrio parahaemolyticus*. *Food Microbiology, 24*, 413-418.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Vigil, A. L., Palou, E., & Alzamora, S. M. (2005). Naturally occurring compound plant source. In P. M. Dewidson, J. N. Sofos, & A. L. Branen, *Antimicrobial in food (3rd ed.)* (pp. 429-451). New York: Taylor & Francis Group.

Yano, Y., Satomi, M., & Oikawa, H. (2006). Antimicrobial effect of spices and herb on *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Food Microbiology, 111*, 6-11.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
ผลการวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด (3 ซ้ำ)

ตัวอย่างอาหารทะเล	ซ้ำ	น้ำหนักมอยซ์เจอแคน(กรัม)	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	น้ำหนักมอยซ์เจอแคน+ตัวอย่างหลังอบ (กรัม)	ร้อยละของของแข็ง
กุ้งแชบ๊วย	1	18.1234	4.5001	18.9790	19.0130
	2	17.6233	4.5003	18.5467	20.5186
	3	16.7515	4.5081	17.6536	20.0111
	ค่าเฉลี่ย				19.8475
ปลาหมึกกล้วย	1	18.0859	4.8002	18.8202	15.2973
	2	17.7168	4.0048	18.4687	15.0236
	3	18.1055	5.0007	18.8073	14.0340
	ค่าเฉลี่ย				14.7850
ปลากะพงขาว	1	18.1016	3.0075	18.8325	24.3026
	2	17.1943	3.0083	17.9128	23.8839
	3	17.3935	3.0022	18.1045	23.6826
	ค่าเฉลี่ย				23.9564
หอยแมลงภู่	1	16.7434	2.7841	17.0621	11.4472
	2	18.0394	3.5416	18.4323	11.0939
	3	18.0635	2.5483	18.3259	10.2971
	ค่าเฉลี่ย				10.9461
หอยนางรม	1	18.1034	3.2123	18.7730	20.8449
	2	17.1959	3.3566	17.8656	19.9517
	3	17.3938	3.0437	18.0530	21.6579
	ค่าเฉลี่ย				20.8182

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (3 ซ้ำ)

ตัวอย่างอาหารทะเล	ซ้ำ	น้ำหนักครูซิเบิล (กรัม)	น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนักครูซิเบิล + ตัวอย่างหลังเผา (กรัม)	ร้อยละของเถ้า
กุ้งแชบ๊วย	1	23.4487	4.0001	23.5934	3.6174
	2	23.2831	4.3163	23.4382	3.5934
	3	24.0832	4.1784	24.2343	3.6162
	ค่าเฉลี่ย				3.6090
ปลาหมึกกล้วย	1	23.2830	4.2230	23.4183	3.2039
	2	24.0959	4.0293	24.2288	3.2239
	3	23.3136	4.2276	23.4473	3.1626
	ค่าเฉลี่ย				3.1968
ปลากะพงขาว	1	24.6577	4.2074	24.7147	1.3548
	2	33.0514	4.2318	33.1076	1.3280
	3	24.3522	4.2033	24.4132	1.4512
	ค่าเฉลี่ย				1.3779
หอยแมลงภู่	1	23.3656	4.2118	23.4142	1.1539
	2	23.6034	4.1259	23.6472	1.0616
	3	23.6432	4.1462	23.6887	1.0974
	ค่าเฉลี่ย				1.1043
หอยนางรม	1	22.9890	4.1080	23.0164	0.6678
	2	24.1010	4.1243	24.1353	0.8317
	3	23.2475	4.2101	23.2786	0.7387
	ค่าเฉลี่ย				0.7458

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (3 ซ้ำ)

ตัวอย่างอาหารทะเล	ซ้ำ	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	ปริมาณ HCl ที่ใช้(มิลลิลิตร)	ร้อยละของไนโตรเจนทั้งหมด	ร้อยละของโปรตีน
กุ้งแชบ๊วย	1	1.53	35.09	3.03	18.96
	2	1.55	35.85	3.06	19.13
	3	1.57	36.31	3.06	19.14
	ค่าเฉลี่ย				19.08
ปลาหมึกกล้วย	1	1.58	31.25	2.61	16.31
	2	1.53	28.89	2.48	15.51
	3	1.51	28.26	2.45	15.33
	ค่าเฉลี่ย				15.71
ปลากะพงขาว	1	1.49	37.55	3.33	20.83
	2	1.59	42.93	3.58	22.41
	3	1.50	38.52	3.40	21.27
	ค่าเฉลี่ย				21.50
หอยแมลงภู่	1	1.55	15.71	1.31	8.17
	2	1.52	15.47	1.30	8.10
	3	1.53	15.58	1.30	8.13
	ค่าเฉลี่ย				8.13
หอยนางรม	1	1.61	15.70	1.50	9.35
	2	1.57	17.62	1.44	9.02
	3	1.50	16.69	1.43	8.91
	ค่าเฉลี่ย				9.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (3 ซ้ำ)

ตัวอย่างอาหารทะเล	ซ้ำ	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	น้ำหนัก flask ก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนัก flask + ไขมัน หลังอบ (กรัม)	ร้อยละของไขมัน
กุ้งแชบ๊วย	1	4.02	100.83	100.87	0.91
	2	3.58	100.83	100.87	0.90
	3	3.35	100.16	100.19	0.91
	ค่าเฉลี่ย				0.91
ปลาหมึกกล้วย	1	1.96	100.83	100.85	0.81
	2	1.99	100.79	100.81	0.91
	3	1.89	100.86	100.87	0.95
	ค่าเฉลี่ย				0.89
ปลากะพงขาว	1	9.68	123.05	123.42	3.15
	2	10.02	121.19	121.53	2.82
	3	10.05	123.15	123.50	2.89
	ค่าเฉลี่ย				2.96
หอยแมลงภู่	1	0.57	100.84	100.85	1.28
	2	0.67	101.44	101.44	1.29
	3	0.67	101.24	101.24	1.20
	ค่าเฉลี่ย				1.26
หอยนางรม	1	2.84	102.56	102.58	0.57
	2	2.83	101.78	101.80	0.52
	3	2.77	100.83	100.86	0.88
	ค่าเฉลี่ย				0.65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (3 ซ้ำ)

ตัวอย่างอาหารทะเล	ซ้ำ	$AgNO_3$ ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	NH_4SCNที่ใช้ (มิลลิลิตร)	ส่วนต่าง	ร้อยละของ NaCl
กุ้งแชบ๊วย	1	15.00	12.51	2.50	0.15
	2	10.00	7.20	2.80	0.16
	3	10.00	7.40	2.60	0.15
	ค่าเฉลี่ย				0.15
ปลาหมึกกล้วย	1	30.00	25.48	4.52	0.26
	2	30.00	25.37	4.63	0.27
	3	30.00	25.40	4.60	0.27
	ค่าเฉลี่ย				0.27
ปลากะพงขาว	1	69.00	17.97	51.03	2.96
	2	65.00	13.97	51.03	2.96
	3	60.00	8.97	51.03	2.96
	ค่าเฉลี่ย				2.96
หอยแมลงภู่	1	30.00	22.70	7.30	0.42
	2	25.00	17.60	7.40	0.43
	3	12.00	4.80	7.20	0.42
	ค่าเฉลี่ย				0.42
หอยนางรม	1	36.00	34.00	2.00	0.12
	2	35.00	33.00	2.00	0.12
	3	35.00	33.00	2.00	0.12
	ค่าเฉลี่ย				0.12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

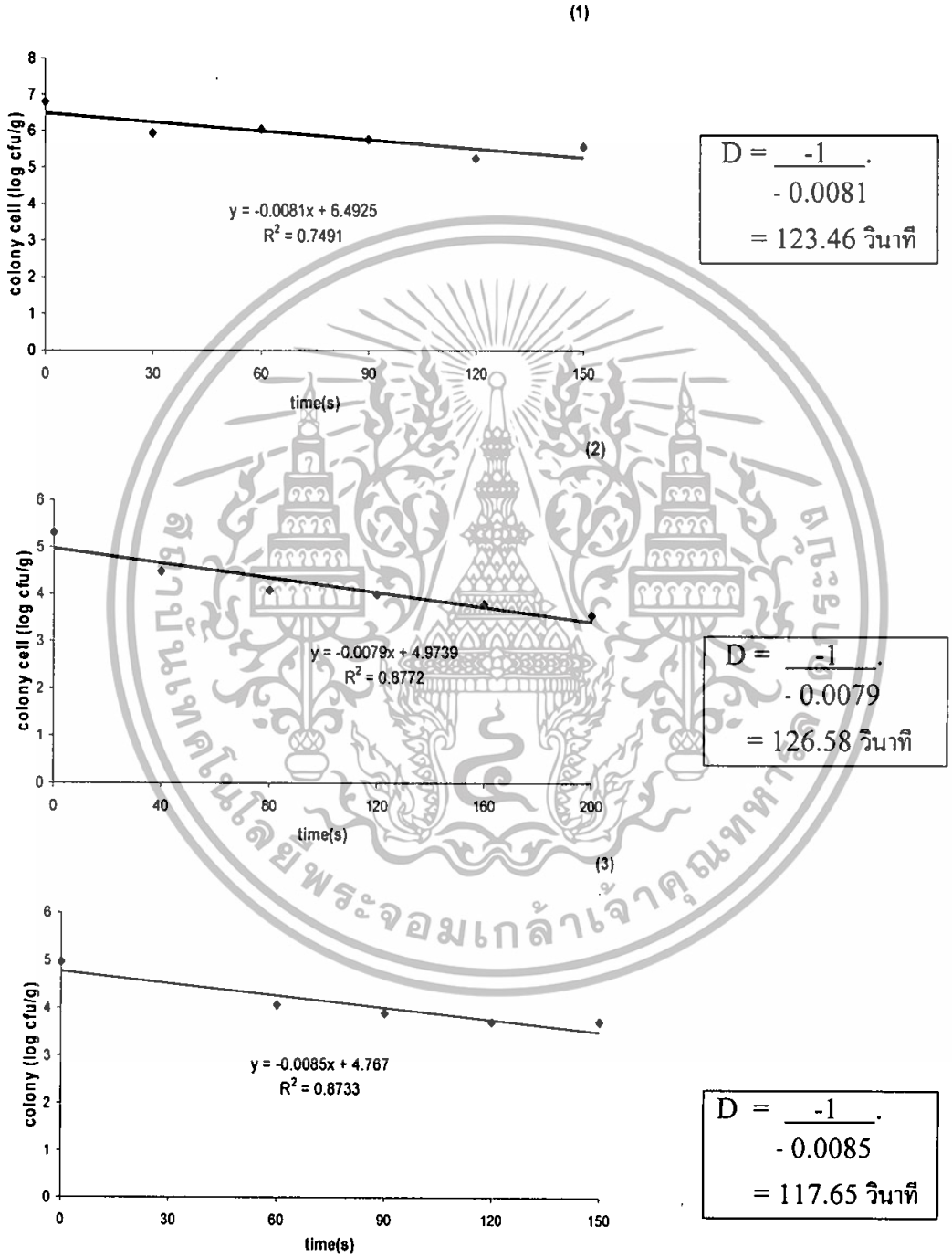
ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ผลการทดลองหาค่า D value

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

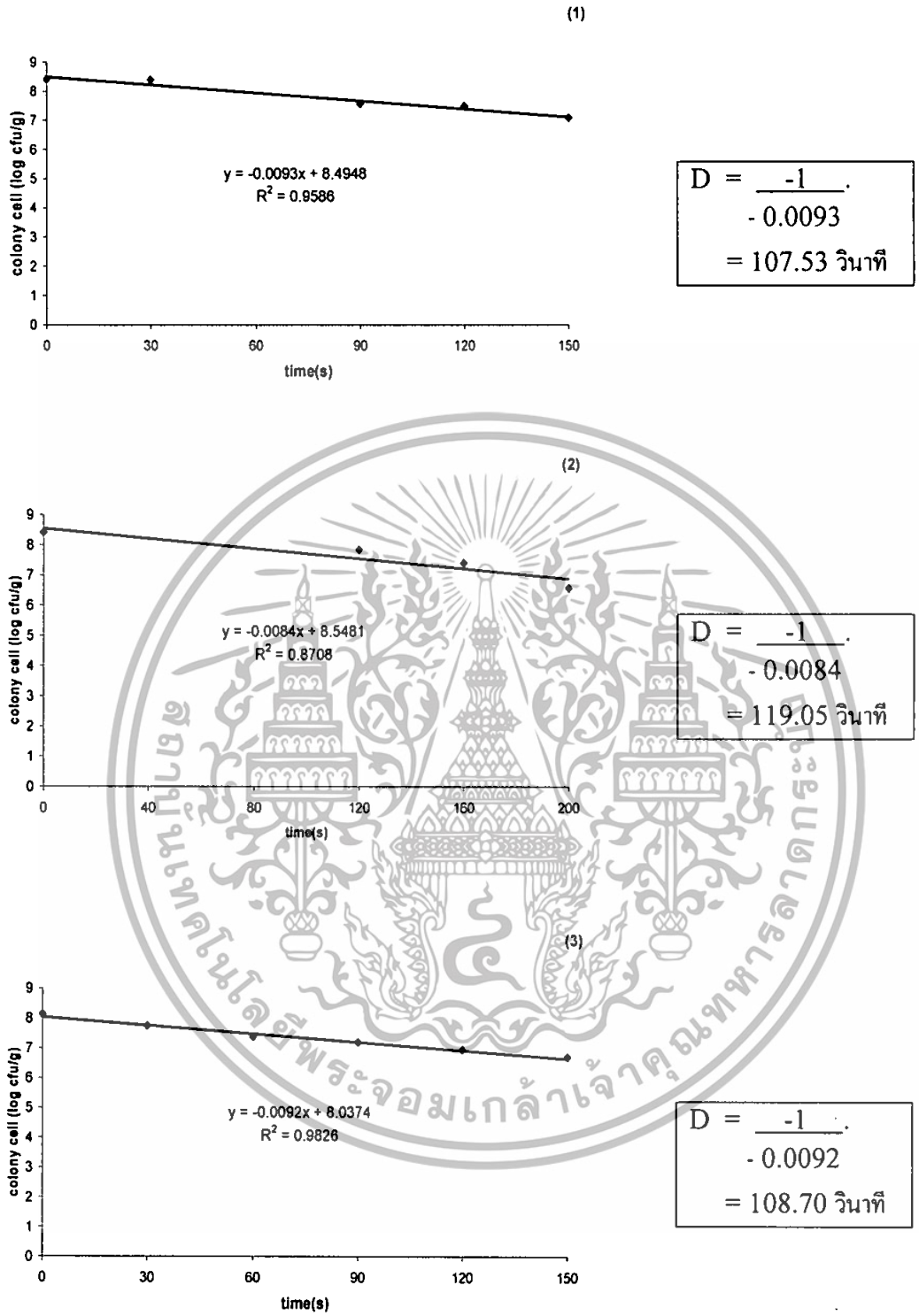
1. การศึกษาการต้านทานต่อความร้อนของเชื้อ *Vibio parahaemolyticus* ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ในตัวอย่างอาหารทะเล

1.1 ค่า decimal reduction time (D value) ของ *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ SH1 GS1 และ MS2 ในตัวอย่างกุ้งแชบ๊วย ปลากะพงขาว และปลาหมึกกล้วย ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส



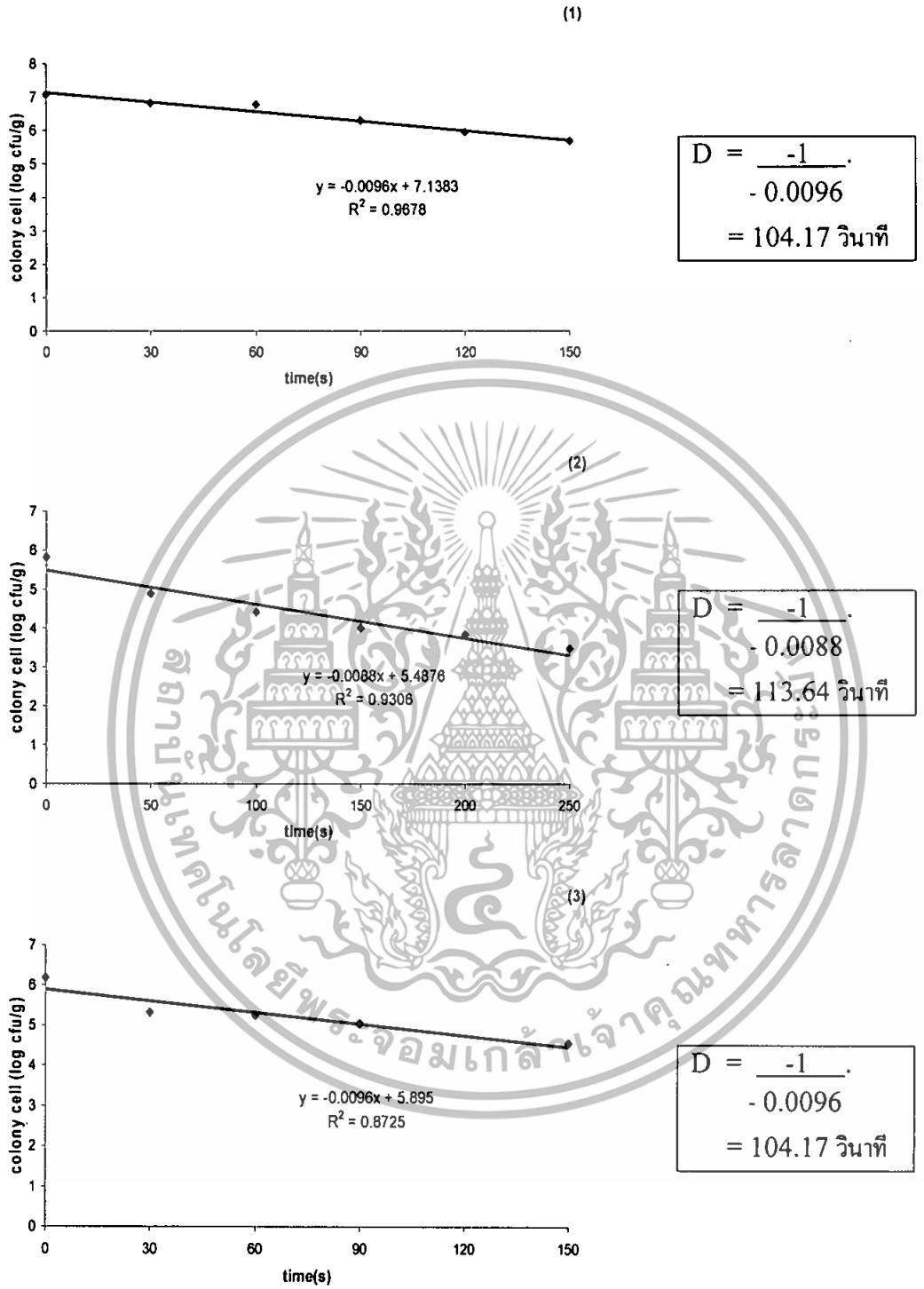
รูป ข.1 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* SH1 ในกุ้งแชบ๊วย และการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส (D_{55c}): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 125.02 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป ข.2 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* GS1 ในปลากะพงขาว และการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส (D_{55c}): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 111.76 วินาที

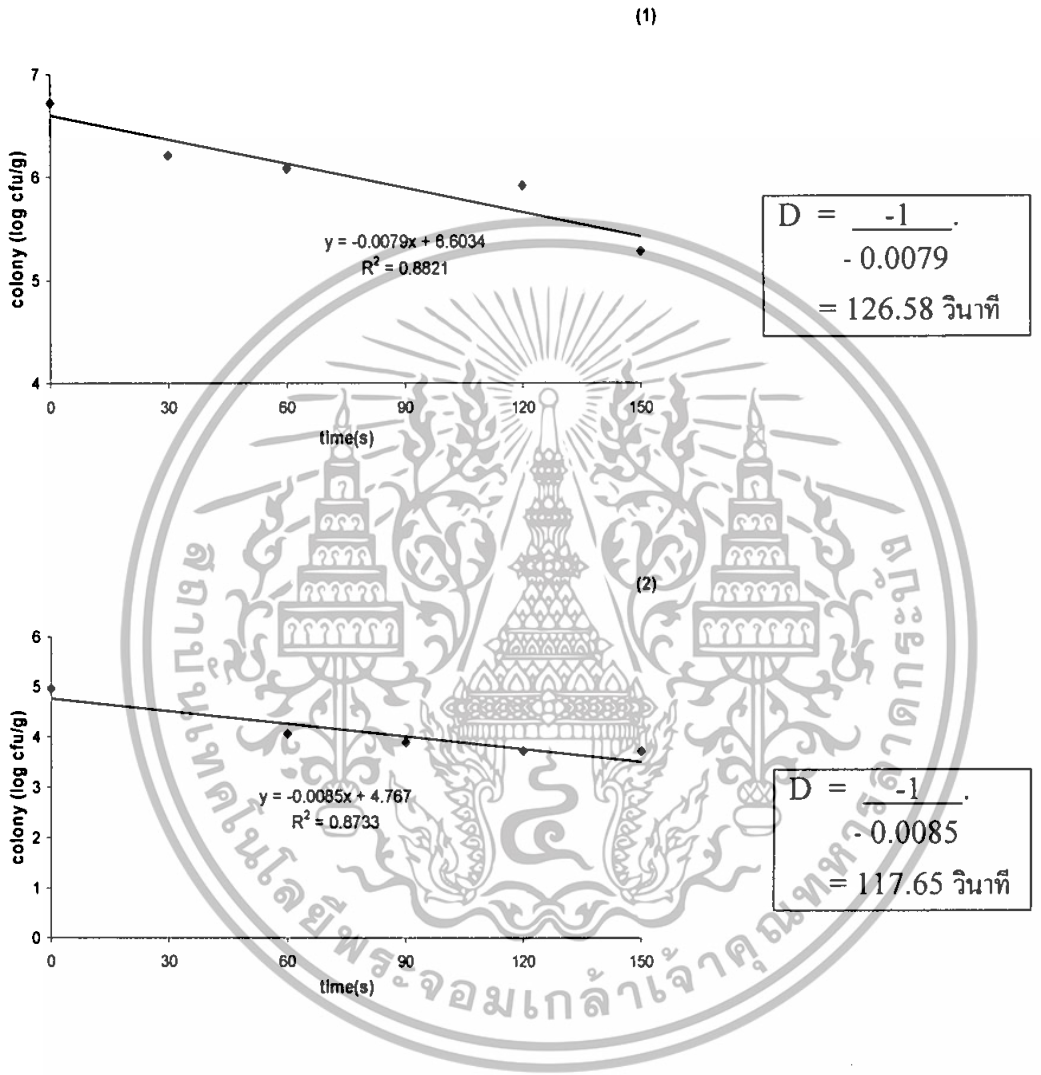
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป ข.3 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* MS2 ในปลาหมึกกล้วย และการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส (D_{55c}): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 107.32 วินาที

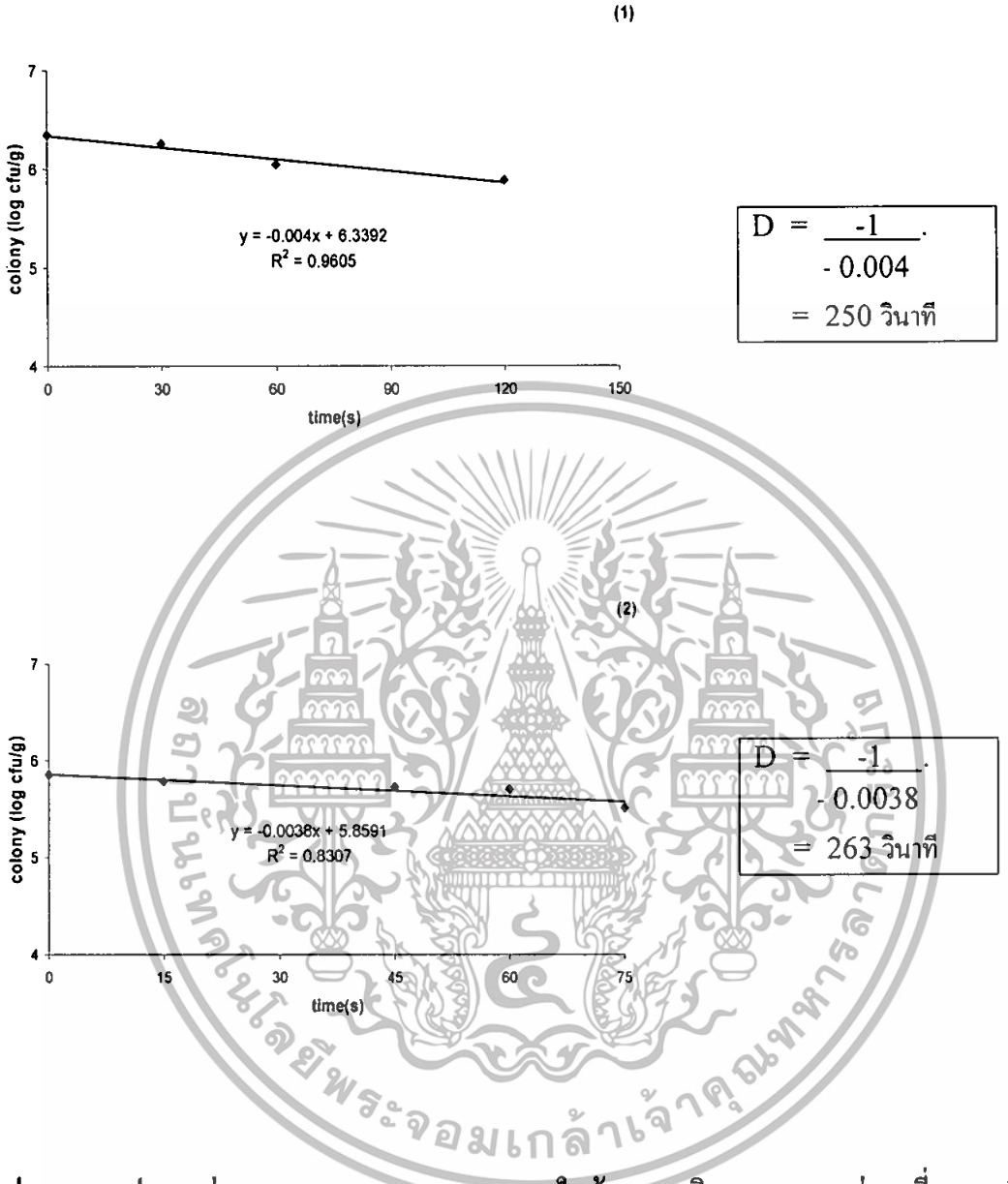
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ค่า decimal reduction time (D value) ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ SH1 ในตัวอย่างกุ้งผสมกับส่วนผสมอาหารเป็น พริก กระเทียม และเกลือ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส



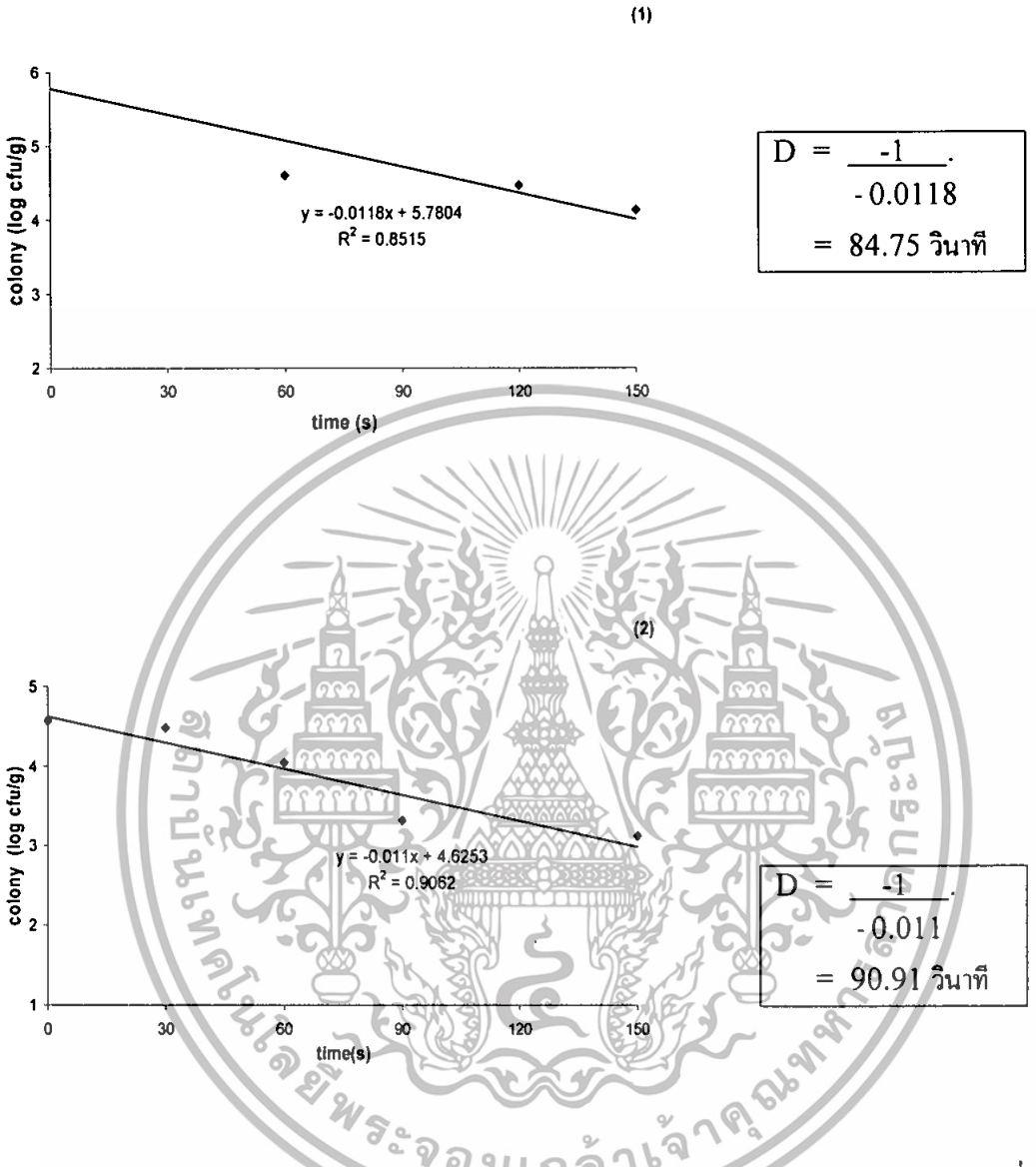
รูป ข.4 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งที่ไม่ได้เติมส่วนผสมของอาหาร (ชุดควบคุม) และการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส (D_{55c}): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 112.12 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



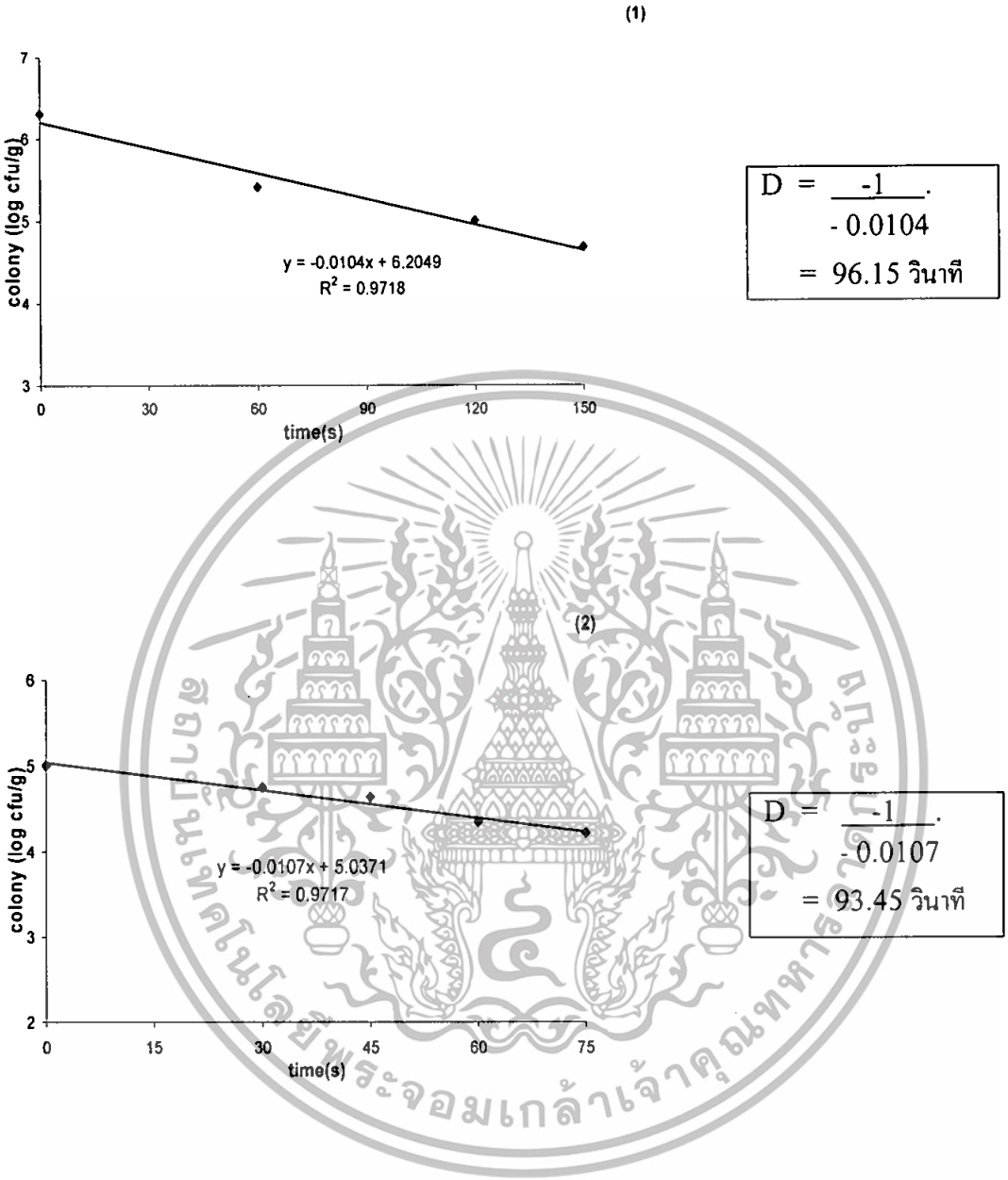
รูป ข.5 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งผสมพริก และการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส (D_{55c}): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 256.5 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป ข.6 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งผสมกระเทียม และการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส (D_{55c}): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 87.83 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป ข.7 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งผสมเกลือ และการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส (D_{55c}): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 94.8 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ สารละลาย และวิธีเตรียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Trypticase (Trtptic) Soy Agar

ส่วนประกอบ

Trypticase peptone	15	กรัม
Phytone peptone	5	กรัม
Sodium Chloride	5	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีเตรียม Trypticase (Trtptic) Soy Agar

ผสมส่วนผสมทุกชนิดในน้ำกลั่น ให้ความร้อนและคนจนวุ้นละลาย ต้ม 1 นาที แบ่งใส่ขวด นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 7.3 ±0.2 (หมายเหตุถ้าใช้กับ *Vibrio spp.* ซึ่งชอบเจริญในสภาพมีเกลือ ให้เติมโซเดียมคลอไรด์จนมีความเข้มข้นสุดท้ายเป็นร้อยละ 2 ถึง 3)

Peptone 0.1 % + 2% Sodium chloride

ส่วนประกอบ

Peptone	1	กรัม
Sodium chloride	20	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีเตรียม Peptone 0.1 % + 2% Sodium chloride

ผสมส่วนผสมทุกชนิดในน้ำกลั่น คนส่วนผสมทุกชนิดจนละลายเข้ากัน แบ่งใส่ขวดนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้