

**สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง**

ผลของส่วนผสมอาหารต่อการต้านทานความร้อน  
ของ *Vibrio parahaemolyticus* ในอาหารทะเล



นาย วรธนนท์      หาเพิ่มพุด  
นาย สิทธิโชค      ศิริตรชัย

๕๒๗.  
๖๖๖๖๖  
๖๖๖๖

เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน..... 83761  
วัน,เดือน,ปี..... 15 ก.ย. 2551

b. 11983486  
i.....

โครงการพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต  
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Influence of food ingredients on thermal resistance of**

***Vibrio parahaemolyticus* in seafood**



Mr. Watthanon Hapermpool

Mr. Sittichok Sirisorchai

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  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง ผลของส่วนผสมอาหารต่อการต้านทานความร้อนของ  
*Vibrio parahaemolyticus* ในอาหารทะเล

นักศึกษา นายวรรณนที หาเพิ่มพูล

นายสิทธิโชค ศิริสรชัย

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา 2550

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ.ดร. นवलพรรณ ณะระนอง	นवलพรรณ ณะระนอง
กรรมการ ผศ. ถิ่นจง สุขถำญ	ถิ่นจง สุขถำญ
กรรมการ รศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ	สุรีย์ นานาสมบัติ

.....

(รศ.ดร. นवलพรรณ ณะระนอง)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง	ผลของส่วนผสมอาหารต่อการต้านทานความร้อน ของ <i>Vibrio parahaemolyticus</i> ในอาหารทะเล
นักศึกษา	นายวรรณนัท หาเพิ่มพูล นายสิทธิโชค ศิริสรชัย
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา	2550
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ

### บทคัดย่อ

การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเลสดจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ กุ้ง ปลา ปลาหมึก หอยนางรม และหอยแมลงภู่ พบว่าปลากะพงขาวมีปริมาณไขมัน โปรตีน ของแข็ง ทั้งหมด และปริมาณ โซเดียมคลอไรด์มากที่สุดคือ มีปริมาณเฉลี่ยร้อยละ 2.96, 21.50, 23.96 และ 2.96 ตามลำดับ ขณะที่กุ้งมีปริมาณไขมันมากที่สุดคือร้อยละ 3.61 หอยนางรมมีปริมาณ ไขมัน ไขมัน เถ้า และ โซเดียมคลอไรด์ต่ำที่สุดคือร้อยละ 0.65, 0.75 และ 0.12 ตามลำดับ และในหอยแมลงภู่มี ปริมาณของแข็งทั้งหมดต่ำสุดคือร้อยละ 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  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  ในกุ้งมีค่าสูงที่สุด 125.02 วินาที ตามด้วย  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  ในปลาและปลาหมึกซึ่งมีค่าเท่ากับ 111.76 และ 107.32 วินาที ตามลำดับ ดังนั้นจึงได้ทำการเลือกเชื้อ *V. parahaemolyticus* SH1 มาศึกษาผลของพริก กระเทียม และเกลือต่อการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์นี้ในกุ้งสดพบว่าค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  ของกุ้งสดผสมพริกมีค่าสูงที่สุดคือ 256.50 วินาที ซึ่งมีค่ามากกว่ากุ้งสดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารใดๆ (122.12 วินาที) แต่พบว่าในกุ้งผสมกระเทียมและกุ้งผสมเกลือมีค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  ของ *V. parahaemolyticus* น้อยกว่าในกุ้งสดควบคุมคือ 87.83 และ 94.80 ตามลำดับ

**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

**Programme** 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.  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  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  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  of *V. parahaemolyticus* added with chilli (256.50 sec.) was higher than control, shrimp without any food ingredient (122.12 sec.).  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  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.

## กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาวิชาโครงการพิเศษ ในหัวข้อเรื่องผลของ ส่วนผสมอาหารต่อการต้านทานความร้อนของ *Vibrio parahaemolyticus* ในอาหารทะเล

โครงการพิเศษนี้ไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปด้วยดีหากไม่ได้รับการช่วยเหลือจากบุคคล ดังต่อไปนี้

ทางผู้จัดทำขอขอบพระคุณ รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ ที่ให้ความรู้และคำแนะนำต่าง ๆ ที่ เกี่ยวข้องกับการทดลอง ข้อเสนอแนะ การตอบข้อซักถามที่เกิดขึ้นในการทำทดลอง รวมทั้ง กำลังใจ และข้อคิดดีๆจนกระทั่งโครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบพระคุณ รศ.ดร. นवलพรรณ ณ ระนอง และ ผศ.ลินจง สุขคำภู ที่ให้ความรู้และคำแนะนำต่าง ๆ เกี่ยวกับ โครงการพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบพระคุณพี่ๆ ประิณญาโทและเพื่อนๆ ทุกคน ที่คอยให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในเรื่องต่างๆ ทำให้การทำโครงการพิเศษเป็นไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณบิดา-มารดาของผู้จัดทำที่เป็นกำลังใจและสนับสนุนกำลังใจทั้งใน การทำโครงการพิเศษนี้

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานที่จัดทำขึ้นฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้สนใจ ในงานที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับโครงการพิเศษนี้ หากมี ข้อผิดพลาดประการใด ผู้จัดทำขออภัย ณ ที่นี้ด้วย

วรรณนท์    หาเพิ่มพูล  
สิทธิโชค    ศิริสรชัย

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของ โครงการงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของ โครงการงานพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของ โครงการงานพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.5 ขั้นตอนการดำเนินงาน	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	4
2.1 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4
2.1.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	4
2.1.2 แหล่งที่มาของเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i>	5
2.1.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>V. parahaemolyticus</i>	7
2.1.4 การติดเชื่อและอาการของโรค	8
2.1.5 การเกิด โรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i>	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 <i>V. parahaemolyticus</i>	35

## ในอาหารทะเลสด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4 การศึกษาผลของพริก กระเทียม และเกลือ โซเดียมคลอไรด์ต่อการต้านทานความร้อนของเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> ในอาหารทะเลสด	37
บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปรายผลการทดลอง	39
4.1 การวิเคราะห์ห้อยค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเล	39
4.2 การศึกษาการต้านทานความร้อนของเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> ในกุ้ง ปลาหมึก และปลาสด	40
4.3 ผลของส่วนผสมอาหารต่อการต้านทานความร้อนของ <i>V. parahaemolyticus</i>	42
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	44
เอกสารอ้างอิง	46
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ห้อยค์ประกอบทางเคมี	50
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ผลการทดลองหาค่า D value	56
ภาคผนวก ค สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ สารละลาย และวิธีเตรียม	64

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 จำนวนผู้ป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษ จำแนกตามชนิดของเชื้อก่อโรค ประเทศไทย ปี พ.ศ. 2539 – 2549	12
2.2 การต้านทานความร้อนค่า D value ของแบคทีเรียก่อโรค	16
2.3 พีช และส่วนประกอบหลักของสารต้านจุลินทรีย์	24
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเล	39
4.2 ค่า Decimal reduction time ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ( $D_{55^{\circ}\text{C}}$ ) ของ <i>V. parahaemolyticus</i> ในกุ้ง ปลาหมึก และปลาสด	41
4.3 ผลของเครื่องเทศ และเกลือโซเดียมคลอไรด์ ต่อการต้านทาน ความร้อนของ <i>V. parahaemolyticus</i> 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  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป

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

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการพิเศษ

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

การใช้ความร้อนในการทำลายจุลินทรีย์ถือเป็นวิธีการหนึ่งที่ได้รับการนิยมนิยมและสะดวกที่สุด ความร้อนมีผลต่อการทำลายเซลล์ของจุลินทรีย์โดย Banwart (1989) ได้กล่าวว่าความร้อนมีผลทำให้โปรตีนภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เสียสภาพหรือตกตะกอนทำให้ DNA (deoxy ribonucleic acid) แตกสลายและมีผลทำให้ชั้นเปปติโดไกลแคนขาดความแข็งแรง ซึ่งอาจจะเพียงพอที่จะป้องกันการเพิ่มจำนวนเซลล์ในสภาพที่ให้ความร้อน นอกจากนี้ผลจากแรงดันออสโมติก ทำให้เซลล์ของจุลินทรีย์เกิดรอยแยก ดังนั้นตราบโคที่เซลล์ของจุลินทรีย์ยังได้รับความร้อนอยู่ องค์ประกอบภายในเซลล์จะหลุดออกมาตามรอยแยกเซลล์ จุลินทรีย์จะถูกทำลายในที่สุด (Banwart, 1989)

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

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

- 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 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

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 และเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.5 ขั้นตอนการดำเนินงาน

1.5.1 วิเคราะห์หาค่าองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเลสดได้แก่ กุ้ง ปลา ปลาหมึก และ หอยนางรม 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 และเกลือ โซเดียมคลอไรด์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและหลักการ

#### 2.1 เชื้อจุลินทรีย์ *Vibrio parahaemolyticus*

##### 2.1.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

*V. parahaemolyticus* เป็นจุลินทรีย์ที่ชอบเกลือ (halophilic) อาศัยอยู่ตามชายฝั่งทะเล น้ำกร่อย หรือที่เป็นบริเวณสามเหลี่ยมปากแม่น้ำ (Boyd และคณะ, 1991) พบและถูกแยกเชื้อครั้งแรกจากอุจจาระของผู้ป่วยในปี 1950 จากผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษที่ประเทศญี่ปุ่น เดิมเรียกเชื้อนี้ว่า *Pasteurella parahaemolyticus* สำหรับลักษณะของเชื้อ *V. parahaemolyticus* จะเป็นลักษณะรูปท่อนตรง หรือ โค้ง เซลล์ย้อมติดสีแกรมลบ ไม่สร้างแคปซูลและสปอร์ ส่วนใหญ่มีแฟลกเจลลาที่ปลายข้างหนึ่งของเซลล์ ส่วนใหญ่สร้างเอนไซม์ออกซิเดส และคะตะเลสได้ หมักกลูโคสแต่ไม่เกิดแก๊ส

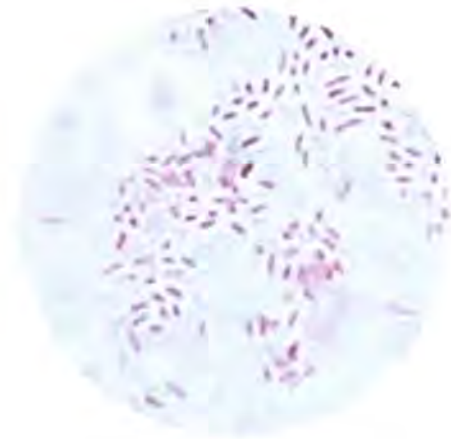
อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ระหว่าง 30 ถึง 35 องศาเซลเซียส ช่วงอุณหภูมิในการเติบโตอยู่ที่ 10 ถึง 44 องศาเซลเซียส ช่วงที่เอชในการเติบโตอยู่ระหว่าง 6 ถึง 9 เป็นแบคทีเรียจำพวก marine microbe ต้องการเกลืออย่างน้อยที่สุดร้อยละ 0.5 เพื่อรักษาแรงดัน osmotic ภายในเซลล์ เจริญได้ดีในความเข้มข้นของเกลือประมาณร้อยละ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



รูปที่ 2.1 ลักษณะเซลล์รูปท่อนตรงหรือโค้ง มีแฟลกเจลลาที่ปลายข้างใดข้างหนึ่ง

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



## รูปที่ 2.2 ผลดิสก์แกรมลบ สีแดงที่ได้จากการย้อมแกรม

ที่มา : <http://www.hannachile.com/info/consejos/img/2005/01/vibrio-parahaemolyticus.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 แล้วจึงแยกโคโลนีต้องสงสัยลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS (selective media) ได้พื้นฐานวิทยาเป็นสีเขียว 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 (นวรรณ์ และ ประทุม, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



### รูปที่ 2.3 โคโลนีที่ถูกแยกออกมาบนอาหาร TCBS สำหรับตรวจเชื้อ *V. parahaemolyticus*

ที่มา : [http://www.city.niigata.jp/info/eisei\\_ken/image/511bi1.jpg](http://www.city.niigata.jp/info/eisei_ken/image/511bi1.jpg)

#### 2.1.2.2 การแพร่กระจายในสิ่งแวดล้อม

จากการตรวจวัดคุณภาพน้ำทะเลชายฝั่งบริเวณอ่าวไทยและฝั่งทะเลอันดามัน (23 จังหวัด) ในปี 2544 มีการเพิ่มการตรวจวัดเชื้อ *V. parahaemolyticus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ โดยพบว่า แหล่งเลี้ยงหอยที่สำคัญหลายแหล่งมีปริมาณแบคทีเรียชนิดนี้สูง สอดคล้องกับการศึกษาของกรมประมงระหว่างปี 2539 ถึง 2541 ที่พบแบคทีเรียชนิดนี้เป็นเพื่อนไปในหอยนางรมที่เลี้ยงบริเวณอ่าวบ้านดอน 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* ปริมาณมากในอาหารทะเลสดนั้นเนื่องจากเชื้อมีถิ่นอาศัยอยู่ในชายฝั่งทะเลแถบร้อนและในเขตร้อน โดยจะอยู่ในแพลงตอน เมื่อสัตว์ทะเลกินแพลงตอนที่มีเชื้อเข้าไป จึงทำให้เชื้อแพร่เข้าสู่สัตว์ด้วย นอกจากนี้เชื้อยังอาจปะปนออกมากับสิ่งขับถ่ายของแพลงตอนทำให้เชื้อแพร่กระจายอยู่ในน้ำทะเล ซึ่งก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เชื้อแพร่สู่อาหารทะเลได้ การแพร่กระจายของเชื้อมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิของน้ำทะเล ในช่วงฤดูหนาวอุณหภูมิของน้ำจะต่ำลงเชื้อสามารถอาศัยในตะกอนใต้พื้นน้ำ เมื่อถึงฤดูร้อนอุณหภูมิของน้ำสูงขึ้นเชื้อจากตะกอนใต้พื้นน้ำแพร่กระจายเข้าสู่แพลงตอนสัตว์ (zooplankton) เชื้อนี้สามารถย่อยไคติน (เป็นส่วนประกอบในชั้นเปลือกของแพลงตอนสัตว์) เพื่อใช้

เอกสารนี้การเจริญเพิ่มจำนวนในฤดูร้อนใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.1.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *Vibrio parahaemolyticus*

#### 2.1.3.1 สารเจือปนในอาหาร

สารเจือปนในอาหารหลายชนิดที่มีฤทธิ์ต้านทานการเจริญของแบคทีเรียมีผลต่อการยับยั้ง *V. parahaemolyticus* เช่น โพแทสเซียมซอร์เบท (potassium sorbate) โมโนลอรีน (monolaurin) โมโนคาพรีน (monocaprin) โซเดียมเบนโซเอท (sodium benzoate) โพรพิล-พารา-ไฮดรอกซีเบนโซเอท (propyl-p-hydroxy-benzoate) การเติมสารเจือปนที่มีฤทธิ์ยับยั้งลงในเนื้ออบมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย และทำให้มีจำนวนเซลล์ต่ำกว่าตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารเจือปนดังกล่าว สารเจือปนนี้ยังอาจทำให้ *V. parahaemolyticus* มีการต้านทานความร้อนเพิ่มขึ้น

#### 2.1.3.2 สารปฏิชีวนะ

*V. parahaemolyticus* มีความไวต่อคลอแรมฟินิคอล (chloramphenicol) เทตราไซคลิน (tetracyclin) แอซทรีโอนัม (aztreonam) อะมิโนไกลโคไซด์ (aminoglycosides) เซฟทาโรสปอริน (third-generation cephalosporins) อิมิพีแนม (imipenem) และควิโนโลน (quinolones) สำหรับเพนนิซิลลิน (penicillin) และเซฟทาโรสปอรินชนิดเก่าไม่มีผลต่อเชื้อ *V. parahaemolyticus* อย่างไรก็ตาม *V. parahaemolyticus* จะถูกทำลายได้ง่ายเมื่อใช้ ซัลแบคแทม (sulbactam) ร่วมกับแอมพิซิลลิน (ampicillin) ควิโนโลน (quinolones) ยาปฏิชีวนะที่มีผลในการต้านทานต่อเชื้อ *V. parahaemolyticus* มากที่สุด ความเข้มข้นต่ำสุดของซิฟล็อกซาซิน (ciprofloxacin) ในการยับยั้งเชื้อนี้คือ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และการใช้โอฟล็อกซาซิน (ofloxacin) นอร์ฟล็อกซาซิน (norgloxacin) อีนอร์ซาซิน (enoxacin) และพีฟล็อกซาซิน (pefloxacin) ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน (Schultz และ Smith, 1994) ในการรักษาการติดเชื้ออุทกศาสตร์ชนิดนี้ไม่มีความจำเป็นต้องทานยาปฏิชีวนะ 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<sup>2</sup> 300 มก. วันละ 2 ครั้ง นาน 3 วัน ciprofloxacin<sup>2</sup> 500 มก. วันละ 2 ครั้ง นาน 3 วัน gentamicin<sup>3</sup> 80 มก. วันละ 2 ครั้ง นาน 5 ถึง 7 วัน cefotaxime<sup>3</sup> 1 ก. วันละ 4 ครั้ง นาน 5 ถึง 7 วัน

#### 2.1.3.3 ปัจจัยทางชีวภาพ

ปัจจัยทางชีวภาพที่ส่งผลต่อการอยู่รอดของเชื้อ *V. parahaemolyticus* มีหลายปัจจัยด้วยกัน แบคทีเรียโอฟาจบางชนิดสามารถทำลาย *V. parahaemolyticus* ได้ การเพิ่มขึ้นของปริมาณฟาจนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของน้ำ และปริมาณเชื้อ รวมทั้งการถูกบุกรุกโดยฟาจในขณะที่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการกระจายเชื้อ *Pseudomonas* species ในหอยนางรมอาจมีผลในการยับยั้ง *V. parahaemolyticus* สำหรับการยับยั้งพบมากในสายพันธุ์ที่ไม่เกิดปฏิกริยาคานากาว่า สาเหตุของการยับยั้งมาจาก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดจาก *Pseudomonas* เชื้อ *Bdellovibrio* เป็นปรสิตของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ซึ่งมีอยู่ตามปากแม่น้ำ ผลของปรสิตอาจมีบทบาทต่อการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แพร่กระจายเชื้อในสภาพแวดล้อมที่ต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อสายพันธุ์ที่ก่อโรค (Schultz และ Smith, 1994)

#### 2.1.3.4 ปัจจัยทางกายภาพ

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

#### 2.1.4 การติดเชื้อและอาการของโรค

เกิดจากการกินอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไปโดยเฉพาะอาหารทะเลดิบที่ทำให้ความร้อนไม่เพียงพอเช่น กุ้ง ปู ปลา และหอย บางครั้งพบในอาหารที่ปรุงสุกแล้วแต่มีการปนเปื้อนภายหลัง (post cooking contaminate) จำนวนเชื้อต้องมีมากพอที่ตั้งแต่  $10^6$  ถึง  $10^9$  ตัวต่อกรัม จึงสามารถทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ สำหรับเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ซึ่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้จัดทำขึ้นเพื่อใช้สำหรับอาหารทั่วไปที่ไม่ใช่อาหารควบคุมได้มีการกำหนดให้พบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในอาหารที่ตรวจได้ต้องน้อยกว่า 200 ยังมีรายงานการติดเชืชนิดนี้เข้าในทางอื่นๆ นอกเหนือจากทางเดินอาหารซึ่งเป็นทางที่เกิดขึ้นอยู่เป็นประจำอยู่แล้ว โดยพบว่าในบางรายติดเชื้อเข้าทางหูและบาดแผลได้อีกด้วย เชื้อดังกล่าวนี้จะเพิ่มจำนวนเป็นเท่าตัวทุกๆ 10 ถึง 15 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อเข้าสู่ร่างกายเชื้อจะทวีจำนวนขึ้นในลำไส้ เชื้อชนิดนี้มีระยะฟักตัว 4 ถึง 96 ชั่วโมงหลังจากได้รับเชื้อเข้าทางปากแต่โดยส่วนใหญ่แล้วอาการจะเกิดประมาณ 15 ชั่วโมงหลังจากได้รับเชื้อ ขึ้นอยู่กับความเป็นกรดหรือด่างภายในระบบทางเดินอาหาร มีการทดลองถึงการใช้ยาลดกรดในกระเพาะอาหาร (antacid) ซึ่งส่งผลต่ออัตราการรอดในสภาพความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นของเชื้อ *V. vulnificus* ผู้ป่วยจะแสดงอาการเมื่อเชื้อรอดชีวิตไปอยู่ที่ลำไส้เล็ก ตัวเชื้อจะเข้าไปยึดเกาะและไชเข้าเนื้อเยื่อของลำไส้ แล้วปล่อยสารพิษ โดยยังไม่สามารถระบุชนิดของสารพิษได้ 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 องศาเซลเซียส

ได้นาน 10 นาที สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงโดยไม่ต้องใช้ lecithin เป็น pore-forming หรือเอกสารเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญูาตไหนาไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

thermostable direct haemolysin-related haemolysin (TrH) ผลของสารพิษทำให้เกิดรูบนผนังเซลล์ เม็ดเลือดแดงทำให้เซลล์แตก 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* ที่พบเป็นหลักก่อโรคมามากที่สุดคือ Strains O3:K6 จะพบได้ทั่วไปในชายฝั่งทะเลแถบเอเชีย พบมากในแถบประเทศ ได้หวัน 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 ครั้งของการเกิดโรคมียังจำนวนผู้ป่วย 24,373 คน) และคิดเป็นร้อยละ 69 ของของจำนวนผู้ติดเชื้อจากการระบาดของแบคทีเรียที่ก่อโรคอาหารเป็นพิษทั้งหมดที่พบในประเทศได้หวันระหว่างปี 1981 และ 2003 (ผู้ป่วย 1028 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 ประเทศสเปนมีการระบาดเกิดขึ้น โดยมีผู้ป่วย 64 ราย ซึ่งบริโภคหอยนางรมดิบ ในปี 1997 ในประเทศฝรั่งเศสมีการระบาดอย่างหนัก โดยมีผู้ป่วย 44 ราย ซึ่งเป็นผลจากการบริโภคกุ้งที่นำเข้าจากเอเชีย ในเดือนกรกฎาคม 2004 ที่ประเทศสเปนมีรายงานการระบาดที่เกิดจากเชื้อ *V. parahaemolyticus* โดยมีผู้ป่วย 80 ราย ซึ่งเป็นแขกในงานแต่งงานที่ภัตตาคารแห่งหนึ่ง แล้วยังพบการระบาดจากการบริโภคปูต้มที่ผ่านการผลิตมาอย่างไม่ถูกสุขลักษณะ (Su และ Liu, 2007)

### 2.1.5.3 การเกิดโรคอาหารเป็นพิษในอเมริกา

*V. parahaemolyticus* จำแนกได้เป็นครั้งแรกจากการระบาดที่ประเทศอเมริกาในปี 1971 หลังจากเกิดการระบาดของเชื้อ 3 ครั้ง มีผู้ป่วยทั้งหมด 425 กรณี ของการเกิดโรคทางเดินอาหารที่เกิดจากการบริโภคปูที่ผ่านการผลิตมาอย่างไม่เหมาะสมในรัฐ Maryland หลังจากนั้นมียางานจากชายฝั่งทะเลของอเมริกาอีกหลายแห่งถึงการระบาดของเชื้อ *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 มีรายงานถึงเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้เสียชีวิตจากเชื้อนี้ 2 คน และเชื้อ *Salmonella* พบผู้ติดเชื้อนี้ 1386 คน มีบันทึกผู้เสียชีวิต 1 คน สำหรับแหล่งปนเปื้อนมีการบันทึกว่าเกิดจากการบริโภคอาหารที่มีส่วนประกอบของอาหารทะเล แต่มีบางกรณีเกิดจากการบริโภคอาหารประเภทอื่นเช่น ขนมเม็ดยนุน แกงเผ็ดปลาตุก เนื้อวัว ลาบ เลือดหมู และขนมต้ม ซึ่งคาดว่าอาจเกิดจากการปนเปื้อนข้ามจากอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ เครื่องครัว หรือจากตัวผู้ประกอบการเอง (ศรีสิทธิ์ และคณะ, 2541) ข้อมูลจากศูนย์เฝ้าระวังการ คือยาของเชื้อต่อต้านจุลชีพ สำนักระบาดวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขในปี พ.ศ. 2549 ได้รับรายงานผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อยีสต์ทั้งในและนอกกระทรวงสาธารณสุขรวมทั้งสิ้น 135,563 ราย อัตราป่วย 216.47 ต่อประชากรแสนคน แนวโน้มของการป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษ ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา มีอัตราเพิ่มขึ้นจาก 168.46 ต่อประชากรแสนคน ในปี พ.ศ. 2540 เป็น 216.47 ต่อประชากรแสนคน ในปี พ.ศ. 2549 ผลการตรวจชนิดเชื้อก่อโรคจากการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา พบผู้ป่วยจากเชื้อ *V. parahaemolyticus* มากที่สุดถึง 1,471 ราย เชื้อ *Salmonella* ถูกพบเป็นอันดับสองมี ผู้ป่วย 302 ราย เชื้อ *Clostridium botulinum* พบผู้ป่วย 148 ราย เชื้อ *Staphylococcus* พบผู้ป่วย 76 ราย และการ เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่ไม่ได้ระบุชนิดของเชื้อก่อโรค 133,556 ราย (คิดเป็นร้อยละ 98.52) จากข้อมูลการ ระบาดของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดขึ้นตลอด 10 ปีที่ผ่านมา ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2539 ถึง 2549 พบว่า เชื้อ *V. parahaemolyticus* ถูกพบว่ากลายเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารมากเป็น อันดับหนึ่งแทนที่เชื้อ *Staphylococcus* ที่มีการบันทึกถึงระดับลดลงเป็นอย่างมาก สำหรับเชื้อ *Salmonella* ถูกพบระบาดเป็นอันดับสองตลอด 4 ปีหลังสุด (พ.ศ. 2546 ถึง 2549) การระบาดของ เชื้อ *Staphylococcus* ที่มีการรายงานลดลงจากในอดีตอย่างมาก สำหรับเชื้อนี้มักจะพบจากการ ปนเปื้อนในอาหารที่ปรุงอย่างไม่ถูกสุขลักษณะหรือจากการปนเปื้อนของผู้บริโภคเอง สำหรับเชื้อ *C. botulinum* และ *C. perfringens* ถูกพบประปราย โดยเฉพาะเชื้อ *C. botulinum* ที่มักพบเป็นข่าว จากการรับประทานหน่อไม้ปิ้งที่มีการปนเปื้อนเชื้อ ซึ่งอันตรายจากความรุนแรงของ *C. botulinum* อาจทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ในเวลา 24 ชั่วโมง แต่ทั้งนี้ข้อมูลทางสถิติของการเกิดโรคจากเชื้อต่างๆ อาจมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมากหากทำการวินิจฉัยถึงสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษที่ไม่ได้ระบุชนิด ของเชื้อก่อโรค ซึ่งบันทึกในปี พ.ศ. 2549 สูงถึงร้อยละ 98.52 ของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษที่ เกิดขึ้น สิ่งนี้เป็นข้อมูลที่บ่งบอกถึงความสามารถในการวินิจฉัยโรคของเจ้าหน้าที่ ที่ควรเพิ่มขีด ความสามารถให้สามารถระบุสาเหตุที่เกิดโรคให้ได้ไม่น้อยกว่าร้อยละ 50

จากการทบทวนการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดขึ้นตลอด 127 เหตุการณ์ สามารถระบุอาหารที่สงสัยหรือแหล่งโรคที่น่าจะเป็นสาเหตุของการป่วยได้ 93 เหตุการณ์ จำแนกเป็น สาเหตุที่เกิดจากอาหารทะเลอาหารทะเล รวมทั้งสิ้น 7 เหตุการณ์ เป็น กุ้งกระทะเล 1 เหตุการณ์ ข้าวผัดปู 2 เหตุการณ์ หอยแมลงภู่ออบ 1 เหตุการณ์ ปูนึ่ง 1 เหตุการณ์ กุ้งนึ่ง 1 เหตุการณ์ หอยแมลงภู่นึ่ง และ หอยแครง 1 เหตุการณ์ ได้มีการรายงานผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษร่วมรับประทานอาหารมื้อกลางวัน ในวันที่ 10 มีนาคม พ.ศ. 2549 ที่งานทำบุญ 100 วัน จัดเลี้ยงแบบโต๊ะจีนป่วยด้วยอาการปวดท้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา 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 ซึ่งเป็นอาหารมือเที่ยงของวันที่ 11 กรกฎาคม 2550 จะสังเกตเห็นได้ว่าแหล่งที่มีการบันทึกการเกิดโรคอาหารเป็นพิษจากการรับประทานอาหารทะเลมักพบการรายงานบ่อยๆ ทางภาคเหนือและภาคอีสาน ซึ่งอาจเป็นผลจากการเก็บรักษาหรือคุณภาพของแหล่งเพาะเลี้ยงนั้นๆ การที่อาหารทะเลถูกลำเลียงส่งถึงผู้บริโภค อาจใช้เวลานานจนกระทั่งทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมีการเพิ่มปริมาณมากขึ้นหรือ ปนเปื้อนสู่อาหารอื่นๆ ที่อยู่ใกล้เคียงกันจากการสัมผัสของผู้ขนส่ง หากเชื้อนี้สามารถทนสภาพที่ไม่เหมาะสมอยู่ได้ก็จะทำให้มีโอกาสเพิ่มจำนวนเชื้อให้อยู่ในปริมาณที่สามารถก่อโรคได้เมื่อผ่านการปรุงอาหารที่ใช้ความร้อนไม่เพียงพอต่อการทำลายเชื้อ

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

ปี พ.ศ.	รวม (คน)	<i>V. parahaemo- lyticus</i>	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Clostridium botulinum</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
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 ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา 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 การไหลออกของสารประกอบภายในเซลล์ลงไปในการเลี้ยงเชื้อเป็นตัวบ่งบอกว่าผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ถูกทำลาย อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิสูงจุลินทรีย์จะตายก่อนที่สารประกอบภายในเซลล์จะไหลออกนอกเซลล์ มีรายงานว่าความร้อนมีผลทำลายโปรตีนในเยื่อหุ้มเซลล์ของ *E. coli* และมีผลทำให้ชั้น peptidoglycan ขาดความแข็งแรง ซึ่งอาจจะเพียงพอที่ป้องกันการเพิ่มจำนวนของเซลล์ในสภาพที่ให้ความร้อน นอกจากนี้ผลจากการบาดเจ็บของเซลล์จากแรงดันออสโมติกภายในทำให้เกิดรอยแตกที่ผนังเซลล์ในบริเวณที่ขาดความแข็งแรงของเซลล์ตราบโดที่ยังได้รับความร้อนอยู่องค์ประกอบภายในเซลล์จะหลุดออกมาตามรอยแยกของเซลล์อาจจะสันนิษฐานได้ว่าการถูกทำลายของเซลล์ด้วยอุณหภูมิมีผลต่อการบาดเจ็บของเซลล์ที่ไม่ทำให้ถึงตาย (sublethal injury) แต่ถ้าพบว่าจุลินทรีย์ถูกทำลายที่อุณหภูมิที่สูงก่อนที่จะมีการเกิดรอยแตกในชั้นผนังเซลล์แสดงว่าอาจมีกลไกการถูกทำลายแบบอื่นเกิดขึ้นและมีรายงานว่าจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถสร้างสปอร์ได้เช่น *E. coli* การถูกทำลายของ RNA มีความเกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์ที่ถูกชักนำโดยความร้อน การให้ความร้อนกับ *E. coli* เป็นสาเหตุให้บางส่วนของเยื่อหุ้มชั้นนอกหลุดออก (Banwart, 1989)

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

การที่สปอร์ถูกทำลายนั้นก็เนื่องมาจากการที่สปอร์ไม่สามารถงอกได้หรือไม่สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนเซลล์ให้มากขึ้นได้หลังจากที่สปอร์งอก มีรายงานว่าสาเหตุหลักที่ทำให้สปอร์ถูกทำลายโดยความร้อนนั้นเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงปัจจัยทางกายภาพและเคมี ซึ่งไปรบกวนการคูดน้ำของสปอร์ไปสู่ใจกลางของสปอร์ในระหว่างการงอก สำหรับการค้นคว้าวิจัยอื่นๆ พบว่าการทำลายฟาจ (phage) หรือไวรัสโดยให้ความร้อนนั้นโปรตีนจะถูกทำให้เกิดการจับตัวเป็นก้อน (coagulation) โดยความร้อน ซึ่งการจับก้อนของโปรตีนกรณีนี้ไม่ใช่สาเหตุหลักในการทำลายจุลินทรีย์มีความสำคัญในการทำลายจุลินทรีย์ด้วยความร้อน (Banwart, 1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.2.1.2 การต้านทานความร้อน

การใช้ความร้อนเป็นวิธีที่ใช้กันทั่วไปในขั้นตอนการปรุงสุกของอาหารหรือลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในการแปรรูปในระดับอุตสาหกรรม ผลกระทบหากการให้ความร้อนในกระบวนการไม่เพียงพอคือ การอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งถ้าหากเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคหรือสร้างสารพิษก็จะส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคได้ 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 (นวรรตน์ และ ประทุม, 2549) อาจเป็นผลเนื่องมาจากความร้อนทำให้โปรตีนเสียสภาพและเกิดการตกตะกอนของโปรตีน มีรายงานว่าทำให้ความร้อนทำให้เกิดการรั่วขององค์ประกอบเซลล์สู่อาหารเลี้ยงเชื้อ (Russell และ Harries, 1967) เช่นเดียวกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียสมีผลทำให้เกิดการรั่วขององค์ประกอบเซลล์สู่อาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งชี้ให้เห็นว่าเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำให้เสียหาย แต่ถ้าหากอุณหภูมิถูกทำให้สูงขึ้นอีกเซลล์จะตายก่อนที่จะเกิดการรั่วขององค์ประกอบภายในเซลล์

การบ่งบอกถึงการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์อาจถูกบ่งบอกได้ด้วยค่า D value ซึ่งมีปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ ปัจจัยดังกล่าวได้แก่ น้ำ ไขมัน ปริมาณเกลือ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ อายุของเซลล์ อุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญ สารยับยั้งการเจริญ เวลา อุณหภูมิ ชนิดของเซลล์จุลินทรีย์และการเจริญในอาหารที่ชักนำในการสร้างสปอร์ (Banwart, 1989; Jay และคณะ, 2005) จากการทดลองพบว่า *V. parahaemolyticus* ในปลาหมึกมีค่า D value ที่แต่ละอุณหภูมิของการให้ความร้อนสูงสุด รองลงมาคือ กุ้ง และปลา ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า *V. parahaemolyticus* ในปลาหมึกมีการต้านทานความร้อนได้ดีที่สุด 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* ในปลาหมึกมากกว่า กุ้งและปลา

### 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 sensitivity) 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  $\log a$  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 ดังนั้นจึงสามารถใช้กราฟนี้ ออกแบบตัวแปรสำหรับกระบวนการให้ความร้อนเพื่อให้เหลือปริมาณเซลล์ของจุลินทรีย์ต่ำที่สุดในอาหาร

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

## ตารางที่ 2.2 การต้านทานความร้อนค่า D value ของแบคทีเรียก่อโรค

แบคทีเรียก่อโรค	การต้านทานความร้อน
<i>C. botulinum</i>	
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
<i>V. parahaemolyticus</i>	$D_{60}$ = 0.71 นาที
<i>V. vulnificus</i>	$D_{50}$ = 1.15 นาที (บัพเฟอร์); 0.66 นาที (หอยนางรม)
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	เซลล์ทั้งหมดตายที่หลังจากได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
<i>Aeromonas</i> spp.(เกลือที่ได)	$D_{55}$ = 0.17 นาที
<i>Listeria monocytogenes</i>	$D_{60}$ = 2.4 - 16.7 นาที ในผลิตภัณฑ์เนื้อ; 1.95 - 4.48 นาที ในปลา
<i>Bacillus cereus</i>	$D_{121}$ (สปอร์) = 0.03 - 2.35 นาที (บัพเฟอร์) $D_{95}$ (สปอร์) = 3.0 - 19 นาที (นม)
<i>C. perfringens</i>	$D_{90}$ (สปอร์) = 0.015 - 4.93 นาที (บัพเฟอร์) $D_{100}$ (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  $10^7$  เท่า ถึงแม้ว่าจะมีหลายทฤษฎีที่อธิบายความสามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

2.2.2.2 การเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำให้จุลินทรีย์สร้างสปอร์

มีรายงานว่ ไอออนของแคลเซียมและแมกนีเซียมในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถเพิ่มการต้านทานความร้อนให้กับสปอร์ และยังไม่สามารถยืนยันความเกี่ยวข้องกันของ monovalent ไอออนในการเพิ่มคุณสมบัติการทนความร้อนของสปอร์และพบว่า ไอออนของแมกนีเซียในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Bacillus stearothermophilus* ไม่ช่วยเพิ่มการต้านทานความร้อนให้กับสปอร์ของจุลินทรีย์ (Banwart, 1989)

ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการต้านทานความร้อนของสปอร์ ชนิดของเปปโตนแหล่งคาร์บอนและกรดไขมันในอาหารเลี้ยงเชื้อก็มีอิทธิพลต่อการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์สปอร์ที่เจริญในอาหาร cooked meat มีการต้านทานความร้อนได้ดีกว่าสปอร์ที่เจริญในอาหาร raw meat มีรายงานว่ โคนิเดียของ *Aspergillus* ที่สร้างขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณโปรตีนต่ำและมีปริมาณกลูโคสสูงมีการต้านทานความร้อนดีกว่าในอาหารที่มีปริมาณโปรตีนต่ำและมีปริมาณกลูโคสต่ำ และยังมีรายงานว่ แคลเซียมในอาหารเลี้ยงเชื้อช่วยชักนำให้เชื้อ *E.coli* มีการต้านทานต่อความร้อนเพิ่มขึ้น (Banwart, 1989)

2.2.2.3 อุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญของจุลินทรีย์

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

2.2.2.4 อายุของเซลล์

เซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีอายุน้อยและอยู่ในระยะเจริญเติบโตจะมีความไวต่อสภาพเครียดต่างๆมากกว่าเซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีอายุมากกว่าหรือเซลล์ที่เจริญเต็มที่แล้ว สปอร์ของจุลินทรีย์ที่มีอายุน้อยต้านทานความร้อนได้น้อยกว่าสปอร์ที่มีอายุมาก (Banwart, 1989)

2.2.2.5 Suspending Medium

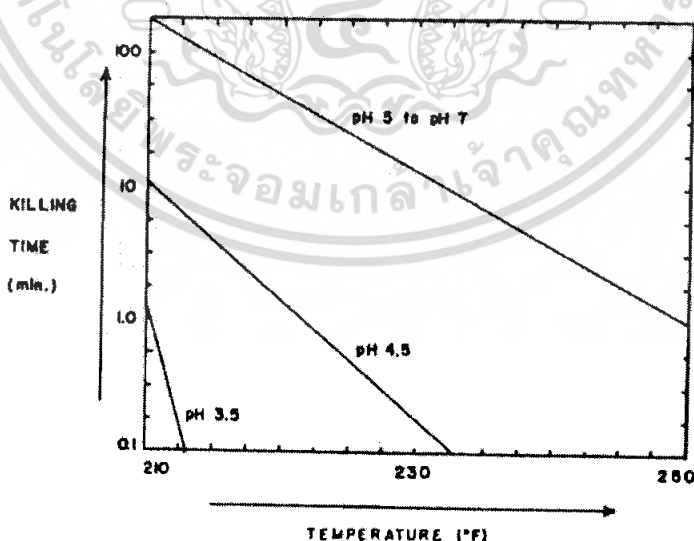
ลักษณะทางเคมีและกายภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีการเจริญของจุลินทรีย์อยู่เมื่อได้รับความร้อนจะมีผลต่อการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ ปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์นั้นได้แก่ ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณน้ำอิสระ ( $a_w$ ) ไขมัน โปรตีน และการมีตัวถูกละลายชนิดต่างๆ

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

โดยทั่วไปจุลินทรีย์จะต้านทานความร้อนได้ดี เมื่อเจริญอยู่ในอาหารที่มีค่าพีเอชใกล้เคียง 7.0 มากกว่าการเจริญในอาหารที่มีค่าพีเอชสูงกว่า 8.0 หรือต่ำกว่า 6.0 ดังรูปที่ 2.4

จากข้อดีของการที่เชื่อมีการต้านทานความร้อนได้ดีในอาหารที่เป็นกรด (พีเอชต่ำ) จึงได้เติมกรดลงในอาหารบางชนิดก่อนการแปรรูปอาหาร เช่นในน้ำมะเขือเทศจะเติมกรดลงไปเพื่อให้มีค่าพีเอชอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ ที่ระดับพีเอช 3.9 น้ำมะเขือเทศสามารถผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 34 นาที ในการทำลายสปอร์ แต่ที่พีเอช 4.8 ต้องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 110 นาที ผลในการถนอมอาหารของค่าพีเอชต่ำบางส่วนอาจมีสาเหตุมาจากการทำลายเซลล์หรือสปอร์ของจุลินทรีย์ด้วยสภาพที่ทำให้จุลินทรีย์บาดเจ็บแต่ไม่ตายและบางส่วนอาจมีผลมาจากการที่เซลล์ที่ถูกทำลายทำให้ไม่สามารถเจริญได้ที่ที่พีเอชต่ำ (Banwart, 1989)



รูปที่ 2.4 ผลของพีเอชต่อการต้านทานความร้อนของสปอร์แบคทีเรีย

ที่มา: Banwart(1989)

### 2.2.2.7 ปริมาณน้ำอิสระ (Water activity; $a_w$ )

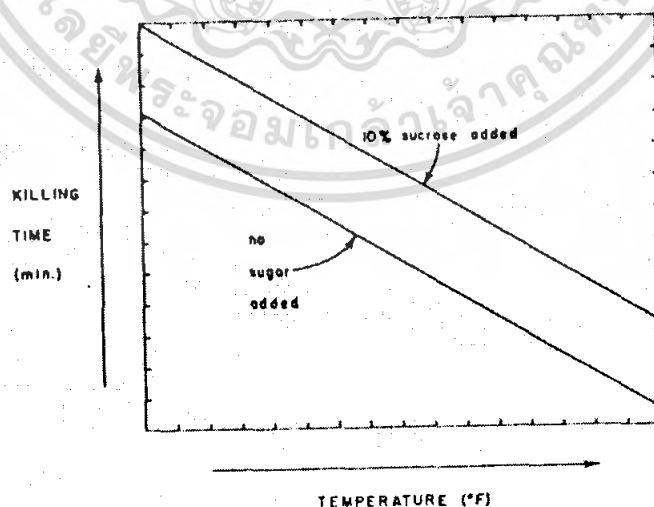
ปริมาณน้ำอิสระของ suspending medium ที่จุลินทรีย์ได้รับความร้อนมีผลต่อการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ โดยทั่วไปแล้วจุลินทรีย์จะไวต่อความร้อนในอาหารที่มีค่า  $a_w$  สูง ในอาหารที่มีค่า  $a_w$  ต่ำ ผลของการให้ความร้อนจะมีลักษณะคล้ายกับการใช้ความร้อนแห้ง

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 ดังนั้นผลของการต้านทานความร้อนที่เกิดจากการเติมสารต่างๆในอาหาร 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)

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

#### 2.2.2.9 โปรตีน

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

#### 2.2.2.10 สารยับยั้งจุลินทรีย์

สารยับยั้งจุลินทรีย์หลายชนิดมีแนวโน้มช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์โดยความร้อนตัวอย่างเช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ใช้ร่วมกับการให้ความร้อนในกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ของไข่ขาว

การเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในผลไม้หรือผลิตภัณฑ์ผลไม้แปรรูปมีแนวโน้มช่วยลดการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ลง ผลของประสิทธิภาพในการลดการต้านทานความร้อนของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในยีสต์นั้นมีผลน้อยกว่าในแบคทีเรียเนื่องจากยีสต์มีคุณสมบัติในการทนต่อซัลเฟอร์ไดออกไซด์

#### 2.2.2.11 ไขมัน

จุลินทรีย์ที่แขวนลอยอยู่ในไขมันหรือน้ำมันจะถูกทำลายได้ยากกว่าจุลินทรีย์ที่แขวนลอยในน้ำเนื่องจากน้ำมันมีประสิทธิภาพในการนำความร้อนต่ำรวมทั้งยังมีปริมาณความชื้นที่น้อย ดังนั้นจุลินทรีย์ที่แขวนลอยในไขมันจึงมีการต้านทานความร้อนได้ดีกว่าในน้ำ การให้ความร้อนทำลายจุลินทรีย์ในไขมันนั้นคล้ายคลึงกับการให้ความร้อนแห้งในกระบวนการสเตอริไรส์ การเพิ่มขึ้นของปริมาณไขมันในชั้นเนื้อช่วยเพิ่มค่าการต้านทานความร้อนของ polivirus การป้องกัน

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) ได้ให้คำจำกัดความของเครื่องเทศว่าเป็นผลผลิตแห้งของพืช ที่ใช้สำหรับปรุงรสอาหาร คำจำกัดความนี้จึงหมายถึงพืชจำนวนหลายชนิดรวมทั้งพืชสมุนไพร และ dehydrated vegetable หรือผักที่ถูกทำให้แห้งโดยกรรมวิธีกำจัดน้ำออกและใช้เป็นเครื่องปรุงรส คำว่าเครื่องเทศเป็นศัพท์ที่เกี่ยวข้องกับการประกอบอาหาร ไม่ใช่ศัพท์เทคนิคทางด้านพฤกษศาสตร์ เนื่องจากเครื่องเทศเป็นคำศัพท์ทั่วไปที่เกี่ยวกับส่วนของพืชที่อาจได้จากไม้พุ่ม ไม้เถา ต้นไม้ หรือจากราก ดอก เมล็ดและผล ของพืชผักที่สามารถใช้ในการปรุงรสอาหารอาจใช้แต่งรสในขั้นการเตรียมอาหารหรือใช้ปรุงรสในขณะที่รับประทานอาหารก็ได้ (รุ่งรัตน์, 2540)

พืชเครื่องเทศและสมุนไพรแต่ละชนิดมีรสและกลิ่นหอมเฉพาะเนื่องจากมีน้ำมันหอมระเหย (aromatic plant) ส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มเทอร์ปีนส์ (terpenes) และเป็นสารเคมีที่อยู่ในพืชมักจะกระจายอยู่ตามส่วนต่างๆ ของพืช ส่วนใหญ่พบในใบ ดอก และผล โดยอยู่ในเซลล์พิเศษหรือต่อมต่างๆ น้ำมันหอมระเหยไม่ใช่สารที่มีความจำเป็นต่อขบวนการเมแทบอลิซึมขั้นพื้นฐานของพืช ดังเช่น น้ำตาล โปรตีน กรดอะมิโน หรือกรดนิวคลีอิก แต่น้ำมันหอมระเหยก็มีประโยชน์หลายประการเช่น กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยในดอกไม้สามารถดึงดูดแมลงให้ช่วยในการผสมเกสร ดอกไม้ สามารถป้องกันแมลงประเภทกินพืชรวมทั้งด้านแบคทีเรียและเชื้อราจึงช่วยถนอมอาหารไม่ให้เน่าเสียจากการทำลายของแบคทีเรียและเชื้อราได้ กลิ่นหอมในน้ำมันหอมระเหยช่วยเพิ่มรสอาหาร กระตุ้นความอยากอาหาร และช่วยย่อยอาหารเช่น สารแคปไซซินในพริกออกฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหาร กระตุ้นการหลั่งน้ำลายและการหลั่งสารในกระเพาะอาหารเป็นต้น

ไม่มีใครทราบว่ามนุษย์เริ่มใช้เครื่องเทศในการปรุงรสอาหารมาตั้งแต่เมื่อไร แต่มีหลักฐานบันทึกว่าได้มีการใช้หัวหอม กระเทียม เมื่อกว่า 1600 ปี ก่อนคริสตศักราช ชาวอียิปต์โบราณใช้เครื่องเทศจำพวกอบเชยเพื่อให้เกิดกลิ่นหอมในพิธีกรรมทางศาสนา และใช้เครื่องเทศหลายชนิดในการอาบยาศพเพื่อรักษาศพไม่ให้เน่าเปื่อย รวมทั้งใช้เป็นเครื่องสำอาง ในยุคกลางชาวกรีกและโรมัน

โบราณรู้จักการใช้พริกไทยดำ พริกไทยขาว จิง และเครื่องเทศชนิดอื่นๆ ในการปรุงอาหาร สมัย  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จักรวรรดิโรมัน นอกจากใช้เครื่องเทศเป็นเครื่องหอมและทางยาแล้ว ยังใช้เครื่องเทศในการปรุงอาหาร มีการซื้อขายเครื่องเทศกันมากในตลาดยุโรปขณะนั้น โดยการค้าส่วนใหญ่อยู่ในมือของพ่อค้าชาวอาหรับ เนื่องจากชาวยุโรปไม่สามารถติดต่อโดยตรงกับหมู่เกาะที่ปลูกเครื่องเทศ จึงเป็นแรงกระตุ้นให้ชาวยุโรปเริ่มการเดินทางสำรวจทางทะเล เพื่อเสาะแสวงหาแหล่งปลูกเครื่องเทศ ทำให้เกิดยุคสมัยล่าอาณานิคม และเป็นผลทำให้มีการพบโลกใหม่หรือสหรัฐอเมริกาในปัจจุบัน เครื่องเทศจากแหล่งที่ค้นพบก็ได้ถูกนำไปสู่ยุโรปและแพร่หลายไปทั่วโลก (นิจสิริ, 2542) ทุกวันนี้สามารถพบหาเครื่องเทศหลากหลายชนิดได้ทั่วไปในซูเปอร์มาร์เก็ตในประเทศยุโรปและสหรัฐอเมริกา และเครื่องเทศยังสามารถใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารยุโรปได้หลายชนิดพบว่าคนอเมริกันบริโภคเครื่องเทศเฉลี่ยประมาณรายละ 1 กิโลกรัมต่อปี ในประเทศไทยแม้มีการใช้เครื่องเทศกันอย่างกว้างขวาง แต่ยังไม่มียุติข้อมูลการบริโภคเครื่องเทศของคนไทย

ประโยชน์ของเครื่องเทศคือ ช่วยทำให้อาหารมีกลิ่นและรสชาติขึ้น ช่วยเพิ่มสีส้มและทำให้อาหารถูกปากยิ่งขึ้น การปรุงอาหารด้วยเครื่องเทศจึงเป็นวิธีที่รวดเร็วทำให้ได้อาหารหลากหลายมากขึ้น มนุษย์รู้จักใช้เครื่องเทศในการรักษาถนอมอาหารมาเป็นพันๆ ปีก่อนถึงยุคปัจจุบัน เนื่องจากเครื่องเทศมีคุณสมบัติสามารถต้านจุลินทรีย์จึงยับยั้งแบคทีเรีย เชื้อรา และยีสต์ที่มีอยู่ในอาหาร ซึ่งอาจทำให้อาหารเป็นพิษหรือเกิดโรค จากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่ากระเทียม หัวหอม และ โอริกาโน เป็นเครื่องเทศที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่อยู่ในอาหารทดสอบได้ดีมาก นอกจากนี้เครื่องเทศและสมุนไพรยังมีสรรพคุณทางยาสามารถรักษาโรคได้กว้างขวาง เช่น โรคท้องเสีย นิวโมโต โรคไขข้ออักเสบ ความดันโลหิตสูงเป็นต้น สามารถเป็นสารต้านไวรัส สารกระตุ้นสมอง ช่วยย่อยอาหาร และปรับขบวนการเผาผลาญอาหารในร่างกาย ช่วยชะลอการเป็นโรคจากการเสื่อมของเซลล์เช่น โรคเบาหวานและมะเร็ง เนื่องจากเครื่องเทศและสมุนไพรเป็นแหล่งรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ พืชเคมีในเครื่องเทศสามารถช่วยลดการสร้างอนุมูลอิสระในร่างกายซึ่งสารอนุมูลอิสระอาจทำให้เกิดโรคมะเร็งหรือทำให้เซลล์เสื่อมได้ เครื่องเทศและสมุนไพรชนิดสดมักจะมีสารต้านอนุมูลอิสระปริมาณสูงกว่าเครื่องเทศชนิดแห้ง ส่วนที่เป็นใบสีเขียวมักมีสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าส่วนอื่นๆ ของพืชเนื่องจากใบเป็นแหล่งผลิตก๊าซออกซิเจนของพืช

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำมันหอมระเหยมีพีเอชต่ำทำให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแตกจึงทำให้เครื่องเทศชนิดอื่นสามารถออกฤทธิ์ด้านแบคทีเรียได้ดีขึ้น ส่วนพริกไทยมีคุณสมบัติทำให้อัตราการดูดซึมของสารพิษเข้าสู่เซลล์จุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจึงช่วยเสริมฤทธิ์เครื่องเทศอีกชนิดในการต้านจุลินทรีย์ได้ อาหารในประเทศเขตร้อนมักจะใส่เครื่องเทศมากกว่าอาหารในเขตอบอุ่น ทั้งนี้เนื่องจากอาหารในประเทศเขตร้อน โดยเฉพาะอาหารประเภทเนื้อมักจะเน่าเสียเร็วหากไม่ได้แช่เย็นจึงจำเป็นต้องใส่เครื่องเทศเพื่อให้เป็นสารต้านแบคทีเรีย พบว่าชนิดของเครื่องเทศที่ใช้มักมีจำนวนแปรผันตามอุณหภูมิของอากาศ ถ้าอุณหภูมิสูงนิยมใช้เครื่องเทศมากกว่าเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า ดังนั้นประเทศที่มีอุณหภูมิอากาศสูงกว่าจึงมักใช้เครื่องเทศมากกว่า เพื่อให้สามารถมีฤทธิ์ด้านแบคทีเรียได้มากขึ้น (รุ่งรัตน์, 2540)

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

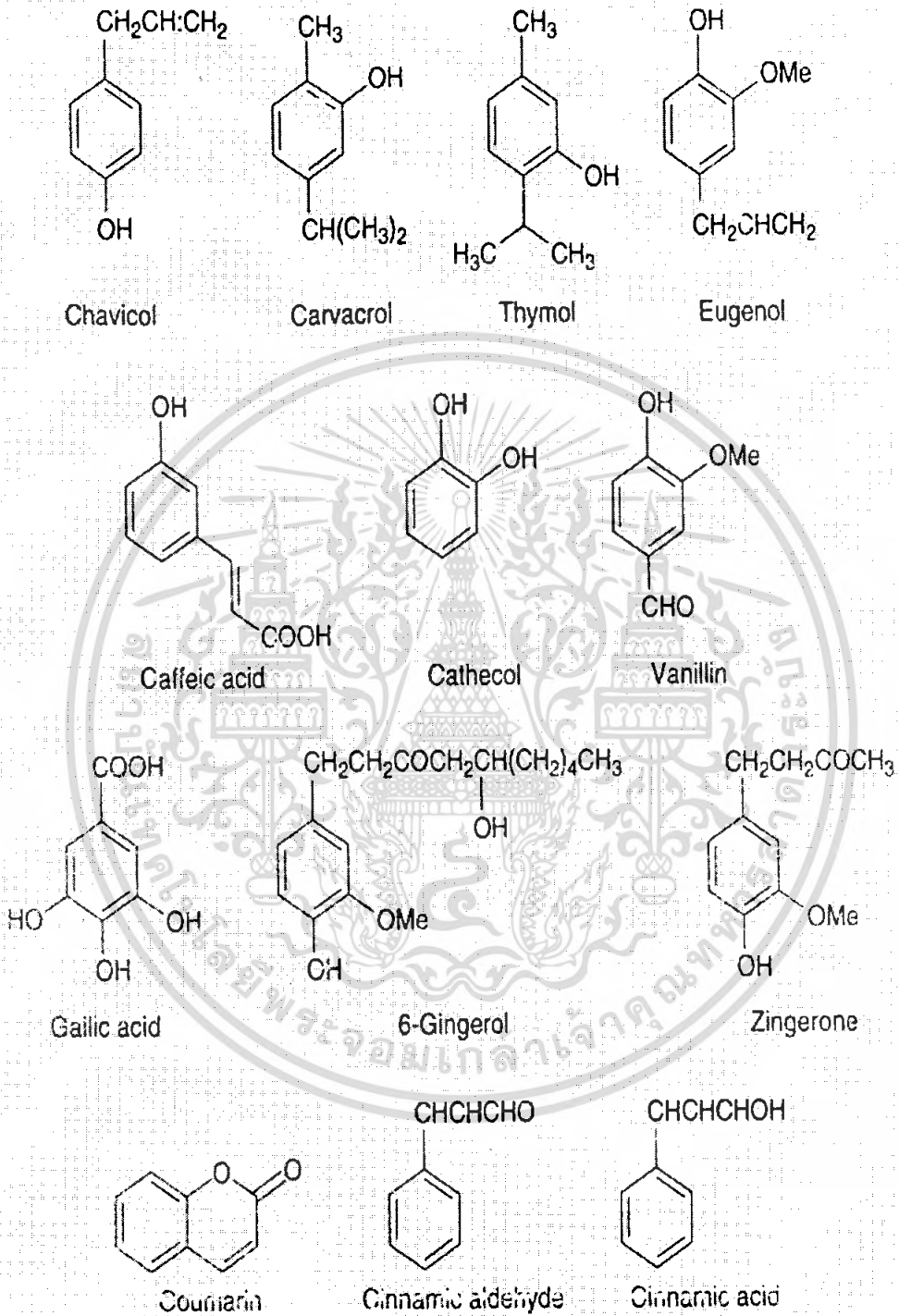
องค์ประกอบหลักที่มีคุณสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์ที่พบในพืช สมุนไพร และเครื่องเทศ ได้แก่ กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) เทอร์ปีน (terpenes) อะลิฟาติกแอลกอฮอล์ (aliphatic alcohols) อัลดีไฮด์ (aldehyde) คีโตน (ketone) กรดไขมัน และไอโซฟลาโวนอยด์ (isoflavonoids) น้ำมันหอมระเหยจะแสดงผลของกิจกรรมตามชนิดขององค์ประกอบเคมีและความเข้มข้นของปริมาณน้ำมันหอมระเหย ได้มีผู้กล่าวถึงโครงสร้างอนุพันธ์ของสารประกอบฟีนอลในน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากเครื่องเทศว่าเป็นสารประกอบหลักที่มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ มีรายงานว่า ยูจีนอล (eugenol) คาร์วาคโรล (carvacrol) ไทมอล (thymol) และวานิลลิน (vanillin) เป็นสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหย และยังมีรายงานว่าอะลิฟาติกแอลกอฮอล์และสารประกอบฟีนอลิกสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้โดย Farag และคณะ (1989) ทั้งนี้ได้แสดงข้อมูลโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีในพืชแต่ละชนิดถูกแสดงอยู่ในรูปที่ 2.6 และรูปที่ 2.7

### ตารางที่ 2.3 พืชและสารประกอบหลักของสารต้านจุลินทรีย์

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

ที่มา: Vigil และคณะ (2005)

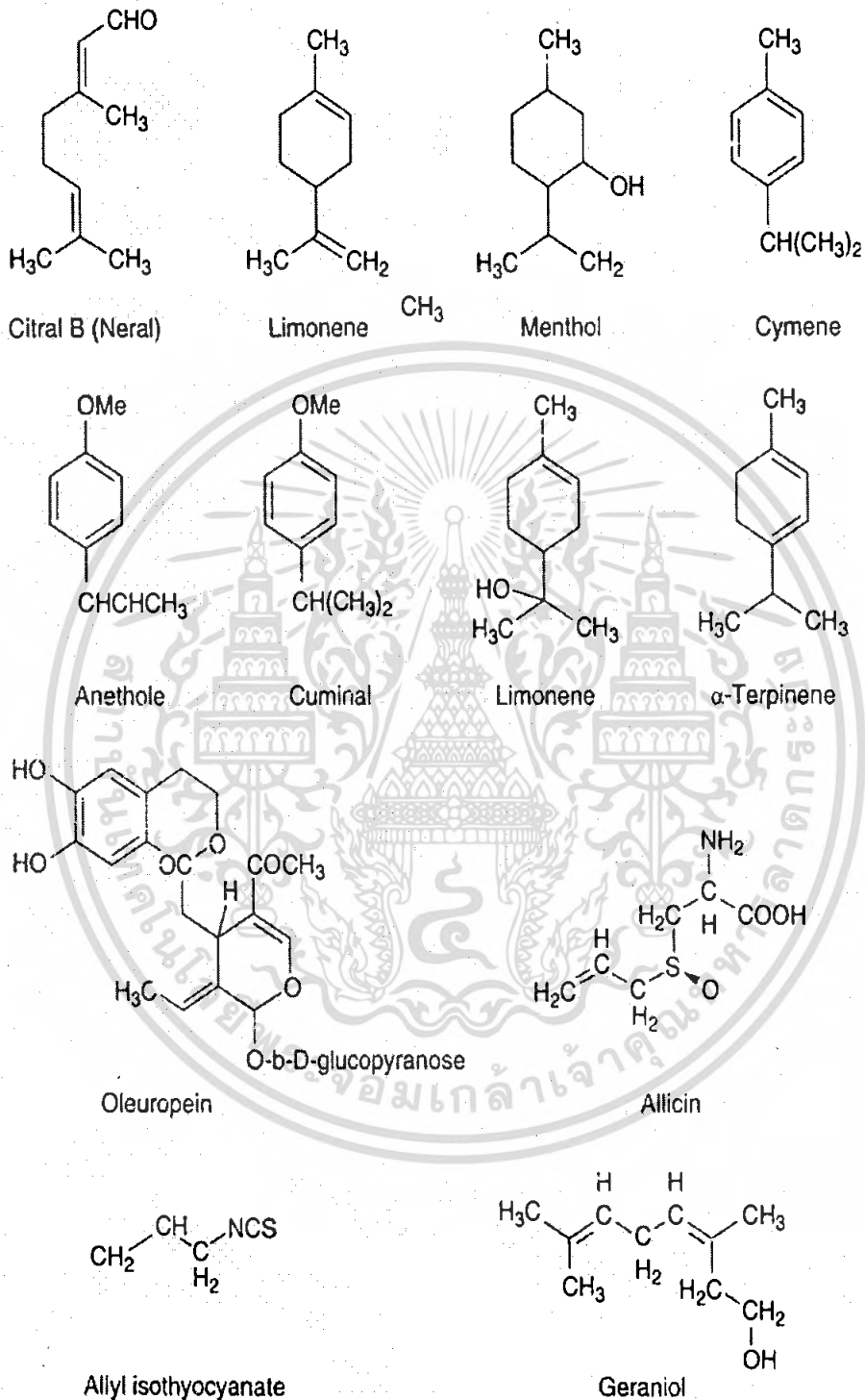
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีในพืช

ที่มา : Vigil และคณะ (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีในพืช(ต่อ)

ที่มา : Vigil และคณะ (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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 มีรายงานถึงการยับยั้งการเจริญและการสร้างสปอร์ของจุลินทรีย์หลายชนิดเช่น *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *E. coli*, *Lactobacillus plantarum*, *Salmonella*, *Shigella* และ *Staphylococcus aureus* และยังมีผลกระทบต่อเชื้อราอีกหลายชนิดเช่น *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *Candida albicans* และสปอร์ของ *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-propenyl)-L-cysteine sulfoxide] ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นต่อเมื่อเซลล์ของกระเทียมถูกทำลายปลดปล่อยเอนไซม์ออกมากระทำต่อสารตั้งต้น (Yano และคณะ, 2006) ผลการยับยั้งจุลินทรีย์โดยอัลลิซินนั้นเนื่องจากการกระทำของอัลลิซินกับเอนไซม์ชนิดที่สำคัญของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วยไทออล (thiol-containing enzyme) นอกจากนี้อัลลิซินยังสามารถยับยั้งเอนไซม์ชนิดอื่นของแบคทีเรียเช่น เอนไซม์อะซิเตทไคเนส (acetate kinase) และมีผลกับเอนไซม์ฟอสโฟทรานอซิทิล โคเอซินทิเทส (phosphotransacetyl-CoA synthetase) (Ankri และ Mirelman, 1999) Vuddhakul และคณะ (2007) ได้ทำการทดลองพบว่ากระเทียมมีผลการยับยั้งการเจริญของ *V. parahaemolyticus* จากการทดสอบโดยใช้วิธีการแพร่บนอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าสารสกัดจากกระเทียมสามารถยับยั้ง *V. parahaemolyticus* ได้โดยทำให้เกิดโซนการยับยั้ง  $11.6 \pm 0.5$  มิลลิเมตร

### 2.2.3.2 การยับยั้งจุลินทรีย์โดยสารยับยั้งในพริก

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และพริกหยวก ผลพริกจึงมีขนาด รูปร่างและสีแตกต่างกัน เก็บเกี่ยวได้ตั้งแต่ผลที่ห้ามไปจนถึงผลสุก พริกมีคุณค่าทางอาหารมาก อุดมด้วยวิตามินเอและวิตามินซีปริมาณสูงมาก มีเส้นใย แคลเซียม ฟอสฟอรัส และเหล็ก พริกเป็นส่วนประกอบอาหารประจำของคนไทยมาช้านานและเป็น ส่วนประกอบอาหารของชนชาติต่างๆ จากสถิติการบริโภคพริกของชนชาติต่างๆ พบว่าคนเม็กซิกัน บริโภคพริก 20 กรัมต่อคนต่อวัน คนไทย 5 กรัมต่อคนต่อวัน คนอินเดีย 2.5 กรัมต่อคนต่อวัน ส่วน คนอเมริกัน 1.5 มิลลิกรัมต่อคนต่อวัน เป็นต้น พริกสามารถบริโภคได้ทั้งสดหรือแปรรูปอาหาร สารสำคัญที่พบในพริกคือ แคปไซซิน (capsaicin) รสร้อนแรงของพริกเกิดจากแคปไซซิน ไดไฮโดรแคปไซซิน (dihydrocapsaicin) นอไดไฮโดรแคปไซซิน (nordihydrocapsaicin) โฮโมแคปไซซิน (homocapsaicin) และโฮโมไดไฮโดรแคปไซซิน (homodihydrocapsaicin) ที่มีอยู่ในต่อมน้ำมัน บนแกนกลางในผลพริก ถ้าแยกเมล็ดพริกและเนื้อเยื่อแกนกลางออกจะสามารถลดความร้อนแรง ของผลพริกได้ สารอื่นๆ ที่พบมี คาโรทีนอยด์ ซึ่งประกอบด้วย แคปแซนทีน (capsanthin) แคปซารูบิน (capsarubin) คาโรทีน (carotene) ลูทีโอลิน (luteolin) ฯลฯ ไขมัน โปรตีน วิตามินเอ และซี น้ำมันหอมระเหยปริมาณน้อยประกอบด้วยสารต่างๆ ถึง 125 ชนิด เช่น 4-methyl-1-pentyl-2-methyl butyrate, 3-methyl-1-pentyl-3-methyl butyrate และ isoheptyl isocaproate แต่ก็ยังมีสารในพริกอีก หลายชนิดที่ยังไม่สามารถทดสอบได้ว่าเป็นสารชนิดใด มีการรายงานถึงผลของพริกต่อระบบ ร่างกายและอวัยวะต่างๆ คือพริกมีฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของระบบปลายประสาทพาราซิมพาเทติก (parasympathetic) ในกล้ามเนื้อเรียบ และส่งผลให้ร่างกายมีเมแทบอลิซึมของน้ำตาลกลูโคส สูงขึ้น นอกจากนี้แคปไซซินยังมีผลต่อการทำงานของไมโทคอนเดรียโดยจะยับยั้งการสร้าง พลังงานในไมโทคอนเดรีย แคปไซซินถึงแม้จะทำให้เจ็บจางมากๆ ก็ยังคงความเผ็ดอยู่ ความเผ็ดนี้ ไม่ถูกทำลายด้วยด่างเหมือนกิงเจอร์อล (gingerol) แต่ถูกทำลายด้วยออกซิไดซิงเอเจน (oxidizing agent) เช่น โพแทสเซียมไดโครเมต (potassium dichromate) หรือกับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (potassium permanganate) (นิจศิริ, 2542)

Dorantes และคณะ (2000) ได้ศึกษาผลของสารสกัดจากพริก (*Capsicum annum*) 3 สาย พันธุ์ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* และ *Bacillus cereus* พบว่าพริกสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทดสอบทั้งหมด ได้โดย *L. monocytogenes* มีความไวต่อสารสกัดจากพริกมากที่สุด ตามด้วย *B. cereus*, *S. aureus* และ *S. typhimurium* ตามลำดับจากนั้นทำการทดสอบต่อถึงผลของสารสกัดที่ได้จากพริกซึ่ง ประกอบด้วยสารกลุ่มแคปไซซินอยด์ และสรุปได้ว่า cinnamic acid และ *m*-coumaric acid ในสาร สกัดของพริกมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด Arora และ Kaur (1999) ได้ศึกษาผลของสาร ด้านจุลินทรีย์จากเครื่องเทศ พบว่าพริกเขียว (green chilli) ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของยีสต์

### 2.2.3.3 การควบคุมจุลินทรีย์โดยเกลือโซเดียมคลอไรด์

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

สารประกอบชนิดอื่นๆ ของเกลือโซเดียมที่มักใช้ในกระบวนการผลิตอาหารได้แก่ กลุ่มของโซเดียมแอสคอเบต (sodium ascorbate) โซเดียมเบนโซเอต (sodium benzoate) โซเดียมไบคาร์บอเนต (sodium bicarbonate) โซเดียมซิเตรต (sodium citrate) โซเดียมไนเตรต (sodium nitrate) โซเดียมไนไตรท์ (sodium nitrite) โซเดียมฟอสเฟต (sodium phosphate) และโซเดียมโพรไพโอเนต (sodium propionate) ได้มีการพยายามใช้เกลือชนิดอื่นแทนเกลือโซเดียมคลอไรด์ โดยเกลือโพแทสเซียมคลอไรด์ (potassium chloride) มีสมบัติใกล้เคียงกับโซเดียมคลอไรด์มากที่สุด โดยเฉพาะคุณสมบัติทางฟิสิกส์และคุณสมบัติในการทำน้ำที่ แต่มีข้อจำกัดคือ โพแทสเซียมคลอไรด์มีรสขมมาก แคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมคลอไรด์ก็มีรสขมมากเช่นกัน เกลือโซเดียมคลอไรด์มีส่วนประกอบเป็น 2 ธาตุหลักคือ โซเดียมไอออน ( $\text{Na}^+$ ) และคลอไรด์ไอออน ( $\text{Cl}^-$ ) 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 ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในกรณีนี้อาจเรียกว่าเป็นผลของการยับยั้งจุลินทรีย์ทางอ้อม หรือบางกรณีเกิดจากการลดค่ากิจกรรมน้ำในอาหาร โดยเกลือทำให้เกิด 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)

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินการวิจัย

#### 3.1 อุปกรณ์

##### 3.1.1 วัสดุดิบ

วัสดุดิบตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองได้แก่ กุ้งแชบ๊วย (*Penius merguensis*) ปลาหมึกกล้วย (*Photololigo duvaucelii*) ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) หอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) และหอยนางรม (*Crassostrea belcheri*) พริกชี้หนูสด (*Capsicum annum*) กระเทียม (*Allium sativum*) และเกลือโซเดียมคลอไรด์ จากตลาดสดอุดมผล เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

##### 3.1.2 จุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองได้แก่เชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* สายพันธุ์ SH1 แยกได้จาก กุ้งแชบ๊วยสด *V. parahaemolyticus* MS2 แยกได้จากปลาหมึกกล้วยสดและ *V. parahaemolyticus* GS1 ที่แยกได้จากปลากะพงขาวสดในกรุงเทพมหานคร (นวรรตน์ และ ประทุม, 2549)

##### 3.1.3 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองได้แก่ โซเดียมคลอไรด์ ( $\text{NaCl}$ ) โพแทสเซียมซัลเฟต ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) คอปเปอร์ซัลเฟต ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) กรดซัลฟูริก ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 ( $\text{NaOH}$ ) สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (0.1N  $\text{HCl}$ ) ปีโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) กรดไนตริก ( $\text{HNO}_3$ ) สารละลายซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (0.1M  $\text{AgNO}_3$ ) สารละลายแอมโมเนียมไทโอไซยาเนตความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (0.1N  $\text{NH}_4\text{SCN}$ ) สารละลายเฟอร์ริกอินดิเคเตอร์ ( $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4) \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )

##### 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) หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ตู้บ่มเพาะเชื้อ (incubator) เครื่องปั่นผสมตัวอย่างในหลอดทดลอง (vortex mixer)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

### 3.2. การวิเคราะห์หาค่าประกอบทางเคมีของอาหารทะเลสด

สุ่มตัวอย่างอาหารทะเลสดทั้งหมด 5 ชนิดได้แก่กุ้งแช่เบียว ปลากระพงขาว ปลาหมึกกล้วย หอยนางรม และหอยแมลงภู่ชนิดละ 3 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์หาค่าประกอบทางเคมีได้แก่ 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 ออบแห้งในเตาอบที่มีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นใน โถดูดความชื้น (desicator) ชั่งน้ำหนักจากนั้นชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 9.5 ถึง 10.5 กรัมใส่ในภาชนะโลหะที่บรรจุทรายนั่น เติมน้ำ 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน โดยใช้แท่งแก้วให้ความร้อนจนเกือบแห้ง ทิ้งแท่งแก้วไว้ในภาชนะตัวอย่างนั้น จากนั้นนำไปให้ความร้อนเป็นเวลา 4 ชั่วโมงในตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ทิ้งให้เย็นใน โถดูดความชื้นแล้วทำการชั่งน้ำหนัก

ข. ในหอยนางรมดิบ

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

#### 3.2.2 การวิเคราะห์โปรตีน (Kirk และ Sawyer, 1991)

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25 มิลลิลิตรเพื่อใช้สำหรับการย่อย ทำการย่อยในเครื่องย่อยตัวอย่างยี่ห้อ Tecator รุ่น Digestion system 6 1007 Digester อย่างน้อย 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นจากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไปในฟลasks สำหรับย่อยประมาณ 15 มิลลิลิตร พร้อมทั้งเติมเศษกระเบื้องเพื่อป้องกันการเดือดอย่างรุนแรงและเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ทำการกลั่นโดยใช้เครื่องกลั่นยี่ห้อ Gerhardt รุ่น Vapodest 30 โดยแอมโมเนียที่ได้จากการกลั่นตัวอย่างจะถูกเก็บในสารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ทำการไตเตรทสารละลายที่ได้จากการกลั่นตัวอย่างโดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ในส่วนของเบลนค์ (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 นอร์มอลที่ใช้ในการไตเตรทกับเบลนค์
- 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 จากนั้นนำไปใส่ในเครื่องสกัดไขมัน B-810 (ที่ผ่านการอุ่นเครื่องประมาณ 10 นาที) เปิดระบบน้ำหล่อเย็น ลดระดับคอนเดนเซอร์ (condenser) ให้เชื่อมลงบนปีกเกอร์และเริ่มการสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ใช้เวลาสกัดประมาณ 2 ชั่วโมงขึ้นอยู่กับปริมาณของสารตัวอย่างและชนิดของสารตัวอย่าง หลังจากการสกัดสมบูรณ์ยกวาล์วเก็บตัวทำละลายให้ตัวทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

C

A = น้ำหนักของบีกเกอร์ก่อนทำการสกัด

B = น้ำหนักบีกเกอร์หลังทำการสกัด

C = น้ำหนักสารตัวอย่าง

### 3.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณเกลือคลอไรด์ (ในรูปของโซเดียมคลอไรด์) ในอาหารทะเล

(AOAC, 2000)

#### 1. สารเคมี

ก) สารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (silvernitrate standard solution,  $\text{AgNO}_3$ ) เตรียมได้จากการนำตัวอย่างผง (น้ำหนักโมเลกุล 169.87) มาละลายลงในน้ำที่ปราศจากธาตุหมู่ฮาโลเจน ทำการละลายในเครื่องแก้วผสมตัวอย่างแล้วเก็บไว้ในขวดสีชา

ข) โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride,  $\text{NaCl}$ )

ค) สารละลายมาตรฐานของแอมโมเนียมไทโอไซยาเนตที่มีความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (ammoniumthiocyanate standard solution, 0.1N  $\text{NH}_4\text{SCN}$ )

ง) สารละลายอินดิเคเตอร์มาตรฐาน (ferric indicator,  $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4) \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )

จ) กรดไนตริก (nitric acid,  $\text{HNO}_3$ )

#### 2. วิธีการวิเคราะห์

ก) ในกรณีของตัวอย่างหอยนางรมชั่งน้ำหนักเนื้อหอยส่วนที่เป็นของเหลว หรือเนื้อหอยผสมกับส่วนที่เป็นของเหลวผสมกันมาปริมาณ 10 มิลลิลิตร ลงในพลาสติกหรือบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร

ข) สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ปลาอื่นๆ ชั่งน้ำหนักตัวอย่างให้เหมาะสมขึ้นอยู่กับปริมาณของโซเดียมคลอไรด์ที่คาดว่าจะมีในอาหารนั้น

เติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ทราบปริมาตรลงในตัวอย่างที่ใส่ไว้ในพลาสติกโดยเติมให้มากเกินพอที่จะตกตะกอนคลอไรด์ทั้งหมดในอาหารให้อยู่ในรูปของซิลเวอร์คลอไรด์ ( $\text{AgCl}$ ) จากนั้นเติมกรดไนตริกลงไป 20 มิลลิลิตร นำไปต้มบนเครื่องให้ความร้อน (hot plate) จนกระทั่งของแข็งอื่นๆ ละลายยกเว้นซิลเวอร์คลอไรด์ (ใช้เวลาประมาณ 15 นาที) ทิ้งไว้

ให้เย็นแล้วเติมน้ำลงไป 50 มิลลิลิตร พร้อมเฟอร์ริกอินดิเคเตอร์ 5 มิลลิลิตร แล้วไตเตรทกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายแอมโมเนียมไทโอไซยาเนตความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ทำการไตเตรทจนกระทั่งสารละลายมีสีน้ำตาลอ่อนอย่างถาวร นำปริมาณสารละลายแอมโมเนียมไทโอไซยาเนตที่ใช้ไปหักลบกับปริมาณสารละลายซิลเวอร์ไนเตรททั้งหมดที่เติมลงในตัวอย่าง ผลลัพธ์ที่ได้นำไปคำนวณเป็นปริมาณของคลอไรด์ในตัวอย่างในตัวอย่าง 10 กรัม นั้นสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทแต่ละมิลลิลิตรที่ใช้ไปจะเท่ากับปริมาณของเกลือ โซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.058

### 3.2.5 การวิเคราะห์หาปริมาณถั่ว (AOAC, 2000)

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

การคำนวณ

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

กำหนดให้ A คือ น้ำหนักครุชชีเบล + ตัวอย่างหลังเผา (กรัม)  
B คือ น้ำหนักครุชชีเบล (กรัม)  
W คือ น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

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

การหาค่า D ของ *V. parahaemolyticus* SH 1 ในกุ้งแช่บ๊วย *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 ครั้งด้วยสารละลายเปปโตเนอความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่มีโซเดียมคลอไรด์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

### 3.3.2 การเตรียมตัวอย่างอาหารทะเล

ทำการเตรียมตัวอย่างอาหารทะเลได้แก่ กุ้งแช่เบียว ปลาหมึกกล้วย และปลากะพงขาวโดยทำความสะอาดแล้วนำไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้ตัวอย่างอาหารทะเลปราศจากเชื้อเริ่มต้น จากนั้นนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบดเนื้อที่ปราศจากเชื้อ

### 3.3.3 การหาค่า Decimal reduction time ( D value) ของ *V. parahaemolyticus* SH1 ในกุ้งแช่เบียว *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 ลงในหลอดตัวอย่างอาหารทะเลบดปริมาณ 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 ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไรต์ร้อยละ 2 นำผลที่ได้ไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตกับเวลาที่ให้ความร้อน คำนวณหาค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  จากนั้นทำการคัดเลือกอาหารทะเลชนิดที่มีค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* มากที่สุด ซึ่งเป็นอาหารทะเลชนิดที่ *V. parahaemolyticus* ต้านทานความร้อนได้ดีที่สุดนำไปศึกษาผลของ พริก กระเทียม และ โซเดียมคลอไรด์ ต่อการต้านทานความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลชนิดนั้นในขั้นต่อไป

### 3.4 การศึกษาผลของพริก กระเทียม และเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการต้านทานความร้อนของเชื้อ

#### *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลสด

การทดลองในขั้นนี้ได้ศึกษาผลของส่วนผสมอาหาร ได้แก่ พริก กระเทียม และ โซเดียมคลอไรด์ต่อการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลชนิดที่ต้านทานความร้อนได้ดีที่สุด ซึ่งคัดเลือกได้จากข้อ 3.3 โดยหาค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  ของ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลสดที่คัดเลือก ซึ่งนำมาผสมกับพริกขี้หนู กระเทียม และ โซเดียมคลอไรด์แต่ละชนิดตามวิธีการของ 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 และ โซเดียมคลอไรด์ ทำได้โดยนำพริกขี้หนู กระเทียม ไปแช่ในแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95 เป็นเวลา 10 นาที (ยกเว้น โซเดียมคลอไรด์) นำส่วนผสมทั้ง 3 ชนิดไปผึ่งไว้ในตู้เย็บเชื้อ โดยเปิดรังสียูวีทิ้งไว้เป็นเวลา 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  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลที่ผสมพริกขี้หนู อาหารทะเลผสมกระเทียมและอาหารทะเลผสมโซเดียมคลอไรด์ ทำได้โดยนำตัวอย่างอาหารทะเลที่ผสมส่วนผสมอาหารแต่ละชนิดมาชั่งด้วยเทคนิคปลอดเชื้อปริมาณ 11 กรัมใส่ในหลอดทดลองปลอดเชื้อชนิดละ 7 หลอด จากนั้นเติมสารแขวนลอยเซลล์ของ *V. parahaemolyticus* ที่เตรียมจากเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและการอภิปรายผลการทดลอง

#### 4.1 การวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเล

ในการวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเลสดจำนวน 5 ชนิดได้แก่ กุ้งแช่เบ๊วย ปลาหมึกกล้วย ปลากระพงขาว หอยแมลงภู่ และหอยนางรม ซึ่งพบว่าปลากระพงมีปริมาณไขมัน โปรตีน ของแข็งทั้งหมด และโซเดียมคลอไรด์มากที่สุดคือร้อยละ 2.96, 21.50, 23.96 และ 2.96 ตามลำดับ ในส่วนของปริมาณเถ้าพบว่า กุ้งแช่เบ๊วยมีปริมาณเถ้าโดยเฉลี่ยมากที่สุด 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

ชนิดของอาหาร ทะเล	องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละ) <sup>a</sup> ± SD				
	ไขมัน	โปรตีน	ของแข็งทั้งหมด	เถ้า	NaCl
กุ้งแช่เบ๊วยสด	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
ปลากระพงขาวสด	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

<sup>a</sup> ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

จากการวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทะเลนั้นพบว่า ปลากระพงขาวมีปริมาณ โปรตีน และไขมัน มากที่สุดในจำนวนชนิดของอาหารทะเลที่นำมาวิเคราะห์คือร้อยละ 21.50 และ 2.96 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณโปรตีนและไขมันที่แสดงในตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย กองโภชนาการอาหาร กระทรวงสาธารณสุข (2002) คือร้อยละ 20.40 และ 3.20 ตามลำดับ ซึ่งนอกจากจะมีปริมาณโปรตีนที่สูงแล้วยังมีปริมาณไขมันที่ต่ำกว่าเมื่อ เปรียบเทียบกับเนื้อปลาชนิดอื่นที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับรวมเนื้อปลาชนิดอื่นที่ไม่ใช่ปลากระพงขาว ซึ่งเนื้อปลาชนิดอื่นมีให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบกับเนื้อสัตว์ อีกทั้งยังเป็นไขมันที่จำเป็นต่อร่างกายที่เรียกว่า กรดไลโนเลอิก ทำหน้าที่เผาผลาญไขมันที่เรียกว่าคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ให้อยู่ในระดับพอดีอยู่เสมอ 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) ที่ได้รับระบุว่าในกุ้งแช่บ๊วย ปลาหมึกกล้วย และหอยแมลงภู่ มีปริมาณโปรตีนอยู่ที่ร้อยละ 20.80, 13.70 และ 16.70 ตามลำดับ ในขณะที่มีปริมาณไขมันอยู่ที่ 1.20, 1.50 และ 2.70 ตามลำดับ เมื่อเราพิจารณาจากตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบกับผลการรายงานการศึกษาของนักวิจัยที่ทำการวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีในอาหารทะเลชนิดเดียวกันพบว่าปริมาณองค์ประกอบทางเคมีบางชนิดไม่เท่ากันแต่มีแนวโน้มใกล้เคียงกัน ซึ่งสาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจจะเป็นเพราะว่าอาหารทะเลที่นำมาวิเคราะห์นั้นถึงแม้จะเป็นอาหารทะเลชนิดเดียวกันก็ตาม แต่อาจจะมาจากแหล่งที่อยู่อาศัยที่ต่างกันและยังมีปัจจัยทางด้านสภาพแวดล้อมของอาหารเข้ามาเกี่ยวข้องรวมทั้งความสดของอาหารทะเลก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทะเลนั้นมีค่าที่แตกต่างกัน

#### 4.2 การศึกษาการต้านทานความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในกุ้ง ปลาหมึก และปลาสด

จากการศึกษาหาความต้านทานความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสในอาหารทะเลได้แก่ กุ้งแช่บ๊วย ปลาหมึกกล้วย ปลากระพงขาว พบว่าค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  เฉลี่ยของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลที่มีค่าสูงสุดได้แก่กุ้งแช่บ๊วยเท่ากับ 125.02 วินาที และค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  เฉลี่ยต่ำสุดของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้แก่ในปลาหมึกเท่ากับ 107.32 วินาที ส่วนค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในปลากระพงขาวนั้นมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 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 ( $D_{55^{\circ}\text{C}}$ ) ของ *V. parahaemolyticus* แต่ละสายพันธุ์ในกุ้งแช่บ๊วย ปลาหมึกกล้วย และปลากระพงสด โดยพบว่าค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  ในกุ้งสดมีค่าสูงสุด (125.02 วินาที) แสดงว่า *V. parahaemolyticus* สามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านทานความร้อนได้ดีในกุ้งสดจึงได้ทำการคัดเลือกกุ้งสดเพื่อนำมาศึกษาผลของส่วนผสมอาหารต่อการต้านทานความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในขั้นต่อไป

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

ชนิดของอาหารทะเล	สายพันธุ์จุลินทรีย์	$D_{55^{\circ}\text{C}}$ (วินาที) <sup>a</sup> ± SD
กุ้งแช่บ๊วยสด	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> SH1	125.02 ± 4.52
ปลาหมึกกล้วย	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> MS2	107.32 ± 5.47
ปลากะพงขาว	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> GS1	111.76 ± 6.34

<sup>a</sup> ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

เมื่อพิจารณาจากองค์ประกอบทางเคมีของกุ้งแช่บ๊วย พบว่ากุ้งมีปริมาณโปรตีนสูงซึ่งอาหารที่มีปริมาณโปรตีนสูงจะต้องใช้ความร้อนในปริมาณที่สูงกว่าอาหารที่มีปริมาณโปรตีนต่ำกว่าในการทำลายจุลินทรีย์ที่ให้ผลเท่ากัน (Jay และคณะ, 2005) อาหารที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบจะมีผลต่อการใช้ความร้อนในการทำลายจุลินทรีย์เนื่องจากโปรตีนเป็นตัวช่วยรับความร้อนในระบบ โดยที่โมเลกุลของโปรตีนจะช่วยถ่ายเทความร้อนและเป็นตัวกั้นความร้อนให้กับจุลินทรีย์ (Garbriel และ Ubana, 2007) ซึ่งทำให้ต้องใช้เวลานานขึ้นในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ แต่เมื่อพิจารณาผลขององค์ประกอบทางเคมีจากตารางที่ 4.1 จะพบว่ากุ้งแช่บ๊วยนั้นมีปริมาณโปรตีนเป็นลำดับที่ 2 รองจากปลากะพงขาว ทำให้ต้องพิจารณาปัจจัยอื่นที่มีผลในการส่งเสริมการต้านทานความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* และเมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางเคมีที่วิเคราะห์อีกปัจจัยที่น่าจะเป็นสาเหตุก็คือปริมาณเถ้า ซึ่งพบว่ากุ้งแช่บ๊วยมีปริมาณเถ้าถึงร้อยละ 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 ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3 ผลของส่วนผสมอาหารต่อการต้านทานความร้อนของ *Vibrio parahaemolyticus*

เมื่อทำการเติมส่วนผสมของอาหารได้แก่พริก กระเทียม และโซเดียมคลอไรด์ลงในตัวอย่างกึ่งแข็งแช่แข็งที่มีเชื้อ *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ SH1 และหาค่า Decimal reduction time ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส พบว่าค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างกึ่งแข็งแช่แข็งที่ไม่มีการเติมส่วนผสมของอาหาร ค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในกึ่งแข็งแช่แข็งที่มีส่วนผสมของพริกมีค่าเท่ากับ 256.50 วินาที ซึ่งมีค่ามากกว่าค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  ของ *V. parahaemolyticus* ในชุดควบคุมซึ่งเป็นกึ่งแข็งแช่แข็งที่ไม่มีการเติมสารใดๆ (122.12 วินาที) สำหรับกึ่งแข็งแช่แข็งที่ผสมเกลือโซเดียมคลอไรด์และกระเทียมพบว่ามีค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ลดลงเมื่อถูกเปรียบเทียบกับชุดควบคุมคือ 94.80 และ 87.83 วินาที ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) ดังนั้นเชื้อ *V. parahaemolyticus* มีค่าการต้านทานความร้อนที่มากที่สุดในกลุ่มแช่แข็งแช่แข็งที่เติมพริก รองลงมาคือกึ่งแข็งแช่แข็งที่ไม่ได้เติมส่วนผสมอาหาร (ชุดควบคุม) ตามด้วยกึ่งแข็งแช่แข็งที่เติมโซเดียมคลอไรด์ และกึ่งแข็งแช่แข็งที่เติมกระเทียม

จากการทดลอง เมื่อผสมส่วนผสมของอาหารต่างชนิดกันในตัวอย่างกึ่งแข็งแช่แข็งที่มีการเติมเชื้อ *V. parahaemolyticus* มีผลทำให้ค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  ต่างกันซึ่งก็คือ ระยะเวลาที่ต่างกันในการทำให้เชื้อ *V. parahaemolyticus* ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส โดยมีจำนวนลดลงร้อยละ 90 ของจำนวนเซลล์เริ่มต้น

เมื่อตรวจนับจำนวนของ *V. parahaemolyticus* ในกึ่งแข็งแช่แข็งผสมพริกหลังผ่านความร้อนตามระยะเวลาที่กำหนดไว้พบว่ามีจำนวนลดลง และเมื่อนำมาหาค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  พบว่าใช้เวลามากกว่ากึ่งแข็งแช่แข็งที่ไม่ได้เติมส่วนผสม (ชุดควบคุม) อาจเนื่องจากสารบางชนิดที่อยู่ในพริกที่มีคุณสมบัติในการเพิ่มความต้านทานความร้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* สารสำคัญในพริกประกอบด้วยสารกลุ่มแคปไซซิน วิตามิน เอ และวิตามินซี และสารอื่นๆ ที่พบได้แก่ ลูทีโอลิน แคปแซนทีน แคปซาลูบิน แคโรทีน ไขมันโปรตีน และน้ำมันหอมระเหย ซึ่งประกอบด้วยสารต่างๆ มากมายเช่น 4-methyl-1-pentyl-2-methyl butyrate และ 3-methyl-1-pentyl-3-methyl butyrate เป็นต้น (นิจศิริ, 2542; Dorantes และคณะ, 2000)

### ตารางที่ 4.3 ผลของเครื่องเทศ และเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการต้านทานความร้อนของ

#### *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ SH1

ชนิดของส่วนผสมอาหารที่เติมในกึ่งสด	$D_{55^{\circ}\text{C}}$ (วินาที) <sup>a</sup> ± SD
ชุดควบคุม (ไม่มีการเติมสารใดๆ)	122.12 ± 6.31
พริก	256.50 ± 9.19
กระเทียม	87.83 ± 4.36
เกลือโซเดียมคลอไรด์	94.80 ± 1.91

<sup>a</sup> ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 2 ซ้ำ

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

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

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การตรวจหาองค์ประกอบทางเคมีในอาหารทะเลสดทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ กุ้งแช่เบ๊วย ปลากระพงขาว ปลาหมึกกล้วย หอยนางรม และหอยแมลงภู่ จากตลาดในกรุงเทพมหานครพบว่า ปลากระพงขาวมีโปรตีนมากที่สุดร้อยละ 21.5 รองลงมาเป็นกุ้งแช่เบ๊วย ปลาหมึกกล้วย หอยนางรม และหอยแมลงภู่ตามลำดับ ไขมันถูกพบมากที่สุดในปลากระพงขาวคิดเป็นร้อยละ 2.96 ถัดมาเป็นหอยแมลงภู่ กุ้งแช่เบ๊วยสด ปลาหมึกกล้วย และหอยนางรมตามลำดับ ปริมาณของแข็งทั้งหมดมีมากที่สุดในปลากระพงขาว คิดเป็นร้อยละ 23.96 รองลงมาเป็นหอยนางรมสด กุ้งแช่เบ๊วย ปลาหมึกกล้วย และหอยแมลงภู่ ถ้ามียามากที่สุดในกุ้ง คิดเป็นร้อยละ 3.61 รองลงมาเป็นปลาหมึกกล้วย ปลากระพงขาว หอยแมลงภู่ และหอยนางรมตามลำดับ และเกลือโซเดียมคลอไรด์พบมากที่สุดในปลากระพงขาว คิดเป็นร้อยละ 2.96 รองลงมาเป็นหอยแมลงภู่ ปลาหมึกกล้วย กุ้งแช่เบ๊วย และหอยนางรมตามลำดับ จากนั้นทำการเลือกตัวอย่าง กุ้งแช่เบ๊วย ปลากระพงขาว และปลาหมึกกล้วยมาใช้ในการศึกษาการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus*

*V. parahaemolyticus* เป็นจุลินทรีย์ก่อโรคในทางเดินอาหารที่มักพบในอาหารทะเลสำหรับอาหารทะเลมีผู้บริโภคอาหารทะเลดิบหรืออาหารทะเลที่ผ่านการทำสุกเพียงเล็กน้อยเป็นจำนวนมาก จึงได้ทำการศึกษาถึงผลของความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จากการทดลองได้ค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  มากที่สุดใน *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ SH1 ในกุ้งแช่เบ๊วย ถัดมาเป็นสายพันธุ์ GS1 ในปลากระพงขาว และค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  มีค่าน้อยที่สุดในสายพันธุ์ MS2 ในปลาหมึกกล้วย จากผลที่ปรากฏจึงเลือก *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ SH1 มาทดลองการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสร่วมกับส่วนผสมของอาหาร ได้แก่ พริก กระเทียม และ โซเดียมคลอไรด์ โดยเติมลงในกุ้งแช่เบ๊วยสด ตัวอย่างอาหารจะถูกทำให้เป็นเนื้อเดียวกันในเครื่องปั่นและบรรจุด้วยวิธีปลอดเชื้อ เมื่อนำไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสพบว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* กุ้งแช่เบ๊วยผสมพริกได้ค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  เพิ่มขึ้นมากกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้ใส่ส่วนผสมของอาหาร ซึ่งแสดงถึงผลของพริกที่ช่วยเพิ่มการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* สำหรับเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งแช่เบ๊วยที่ผสมโซเดียมคลอไรด์และกุ้งแช่เบ๊วยที่ผสมกระเทียม พบว่ามีค่า  $D_{55^{\circ}\text{C}}$  ลดลง ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสดงว่าโซเดียมคลอไรด์และกระเทียมช่วยส่งเสริมผลของความร้อนในการทำลายแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ทำให้เซลล์ของเชื้อบาดเจ็บและถูกทำลายได้เร็วขึ้น

ในการทดสอบนี้ได้ทำการทดสอบ พริก กระเทียม และ โซเดียมคลอไรด์ ยังมีสารอื่นๆ อีกมากที่มีผลส่งเสริมและยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดนี้ อาจการศึกษาในจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในทางเดินอาหารชนิดอื่นๆ หรือทำการทดสอบกับสปอร์ของจุลินทรีย์ ซึ่งมักจะถูกทำลายได้เมื่อใช้ความร้อนสูง ผลของการใช้ความร้อนร่วมกับส่วนผสมของอาหารอาจช่วยลดอุณหภูมิของความร้อนที่ต้องใช้จริงเพื่อกำจัดสปอร์ และจุลินทรีย์ นอกจากนี้ อาจพิจารณาถึงองค์ประกอบโดยละเอียดในอาหารต่างๆ ชนิดกัน เมื่อทำการทดลองใช้สารที่มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ หากมีการใช้สารเหล่านั้นร่วมกันมากกว่า 2 ชนิดขึ้นไป อาจมีผลทำให้จุลินทรีย์ต้านทานได้ดียิ่งขึ้นก็เป็นได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด (3 ซ้ำ)

ตัวอย่าง อาหารทะเล	ซ้ำ	น้ำหนักมอยซ์ เจอแคน(กรัม)	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	น้ำหนักมอยซ์เจอแคน+ ตัวอย่างหลังอบ (กรัม)	ร้อยละของ ของแข็ง
กุ้งแช่บ๊วย	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
ปลาหมึก กล้วย	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  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเต้า (3 ชั้น)

ตัวอย่าง อาหารทะเล	ชั้น	น้ำหนักครุชเบ็ด (กรัม)	น้ำหนักตัวอย่าง เริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนักครุชเบ็ด + ตัวอย่างหลังเผา (กรัม)	ร้อยละ ของเต้า
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
ปลาหมึก กล้วย	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  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (3 ซ้ำ)

ตัวอย่าง อาหารทะเล	ซ้ำ	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	ปริมาณ HCl ที่ ใช้(มิลลิลิตร)	ร้อยละของ ไนโตรเจนทั้งหมด	ร้อยละของ โปรตีน
กุ้งแช่บ๊วย	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
ปลาหมึก กล้วย	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
ปลากะพง ขาว	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  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (3 ซ้ำ)

ตัวอย่าง อาหารทะเล	ซ้ำ	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	น้ำหนัก flask ก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนัก flask + ไขมัน หลังอบ (กรัม)	ร้อยละของ ไขมัน
กุ้งแช่น้ำวย	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
ปลาหมึก กล้วย	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
ปลากะพง ขาว	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  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (3 ซ้ำ)

ตัวอย่าง อาหารทะเล	ซ้ำ	AgNO <sub>3</sub> ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	NH <sub>4</sub> SCN ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	ส่วนต่าง	ร้อยละของ NaCl
กุ้งแช่เบียว	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
ปลาหมึก กล้วย	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
ปลากะพง ขาว	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

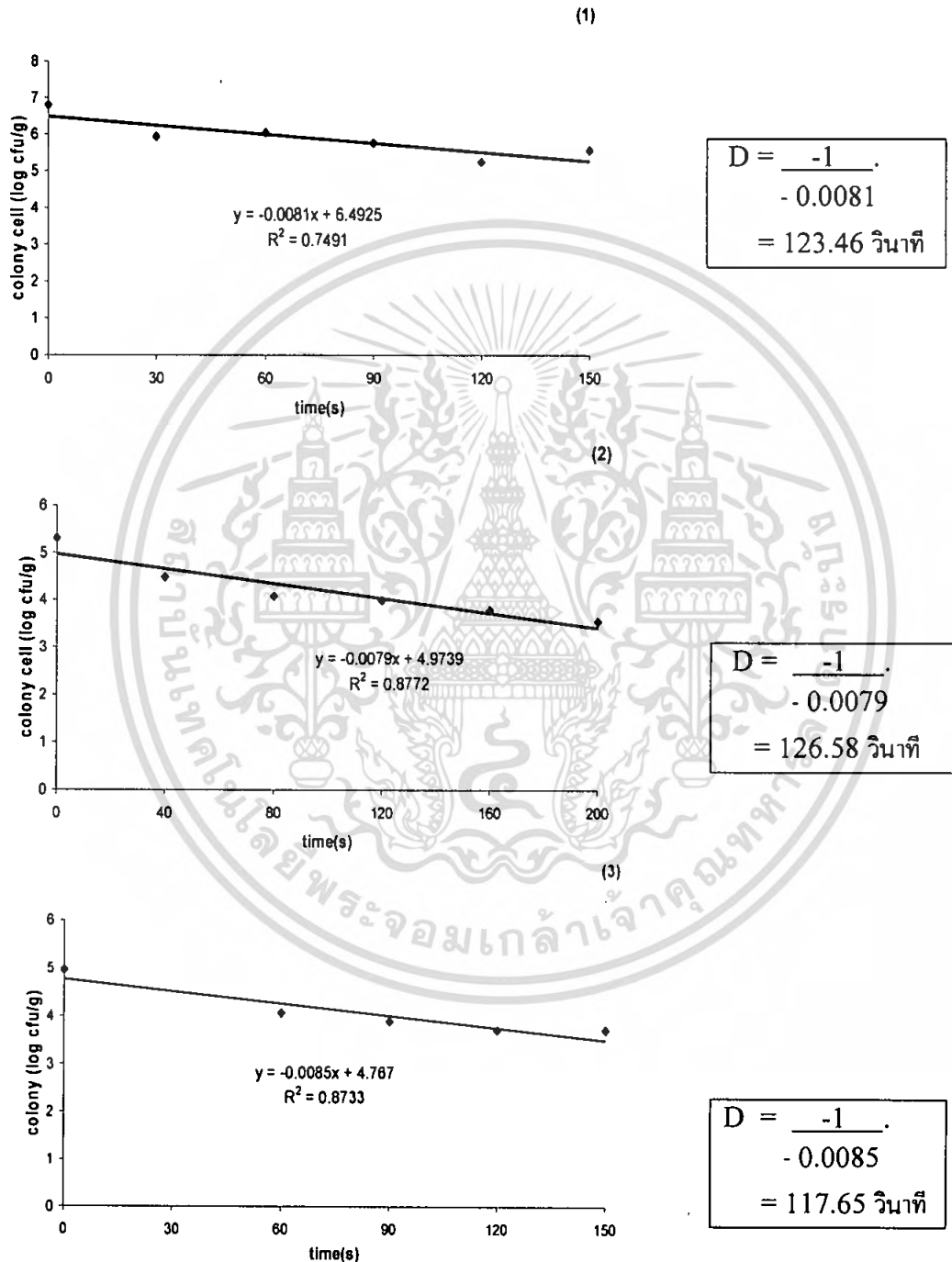
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

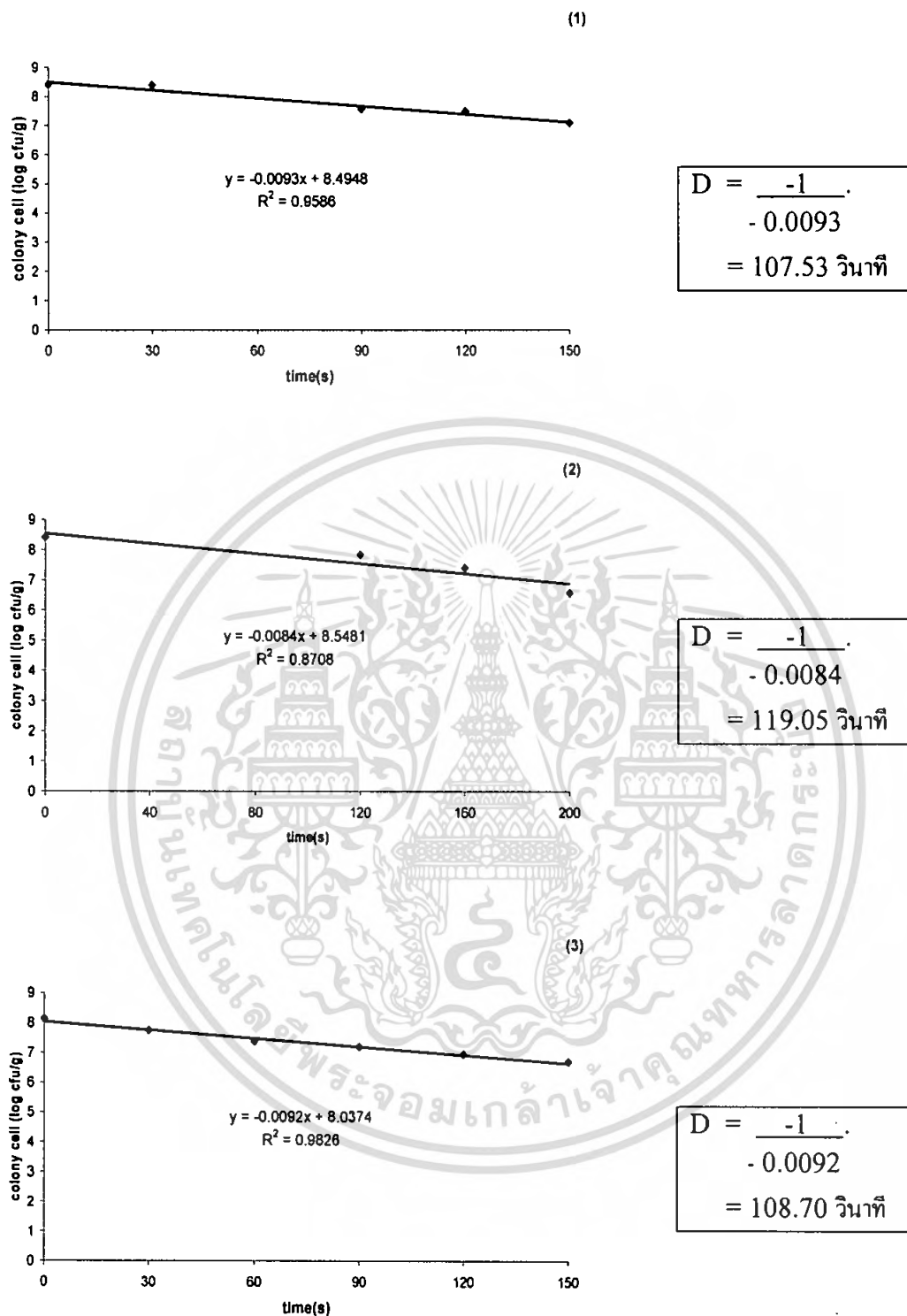
1. การศึกษาการต้านทานต่อความร้อนของเชื้อ *Vibio parahaemolyticus* ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ในตัวอย่างอาหารทะเล

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



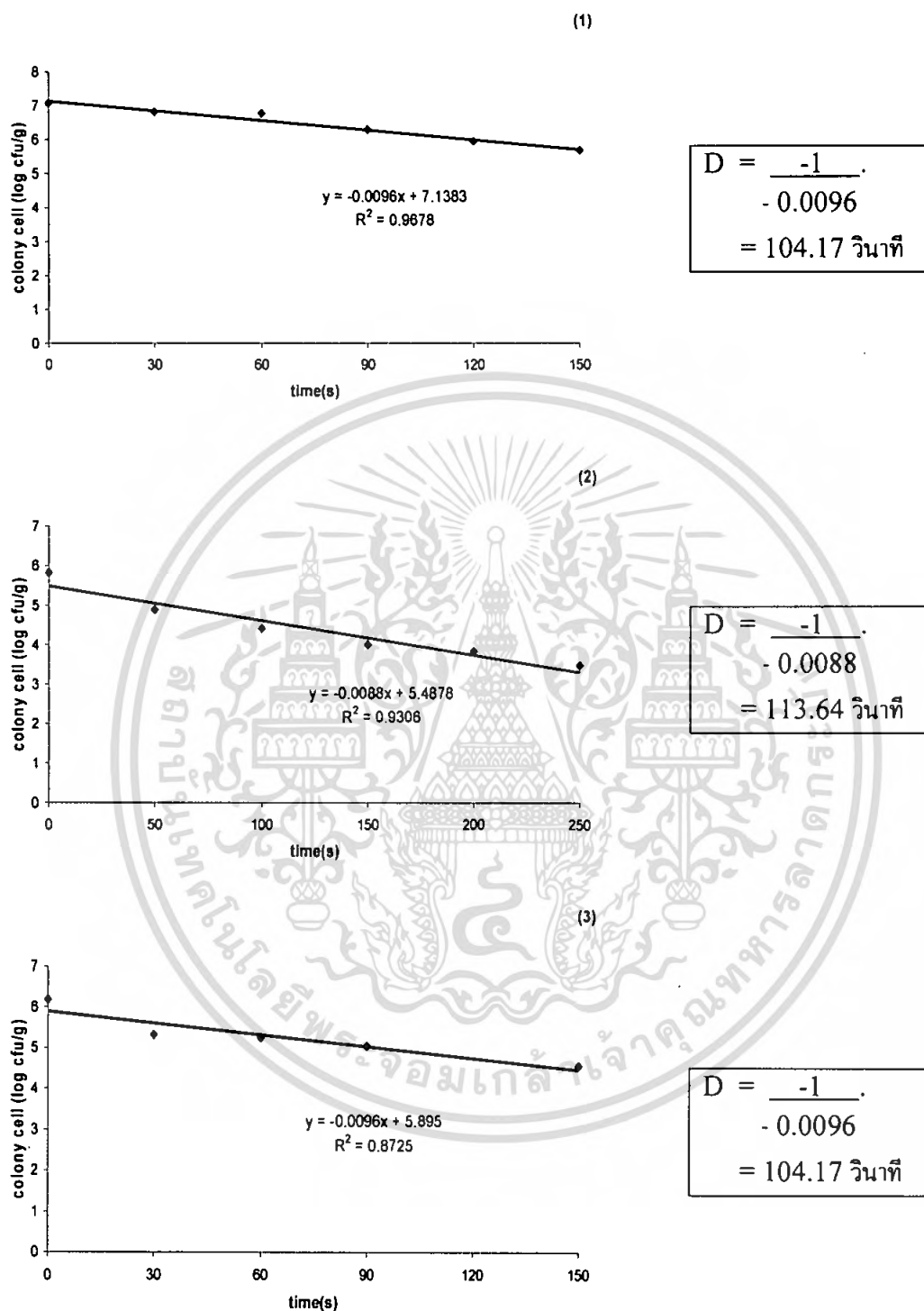
รูป ข.1 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* SH1 ในกุ้งแช่บ๊วย และการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ( $D_{55c}$ ): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 125.02 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

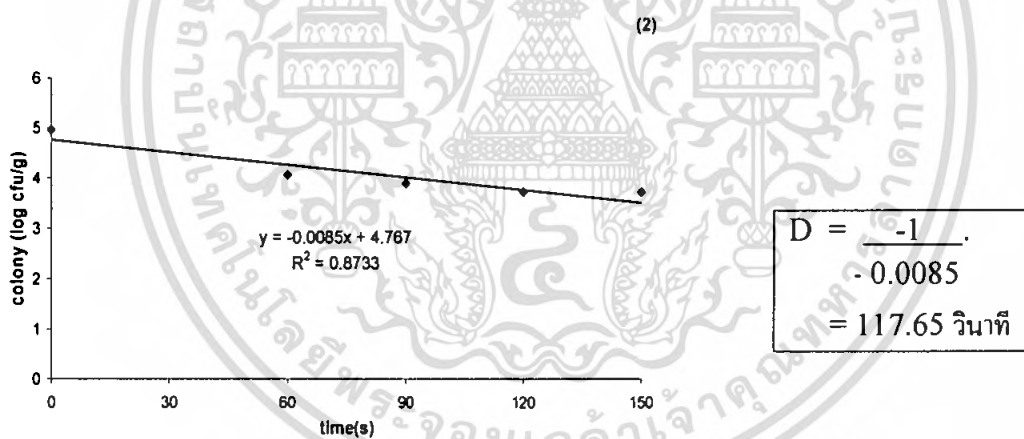
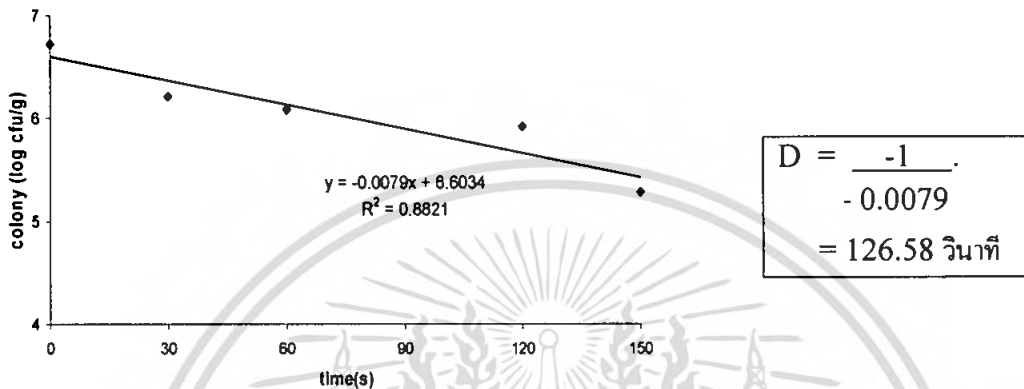


รูป ข.3 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* MS2 ในปลาหมึกด้วย และการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ( $D_{55C}$ ): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 107.32 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

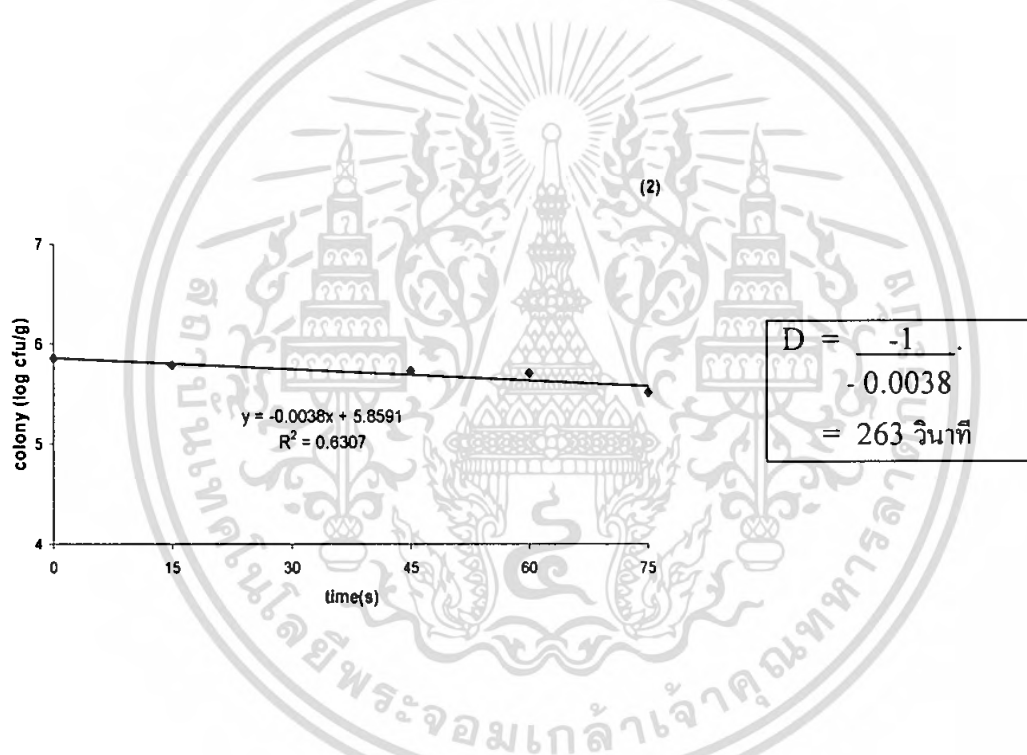
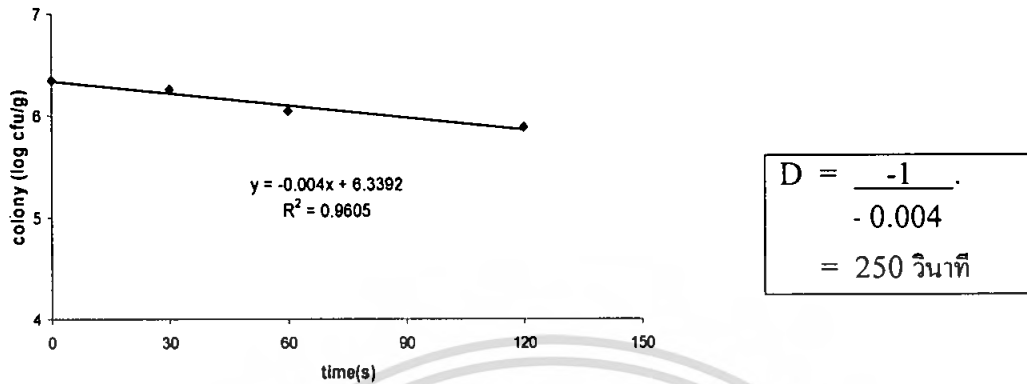
(1)



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

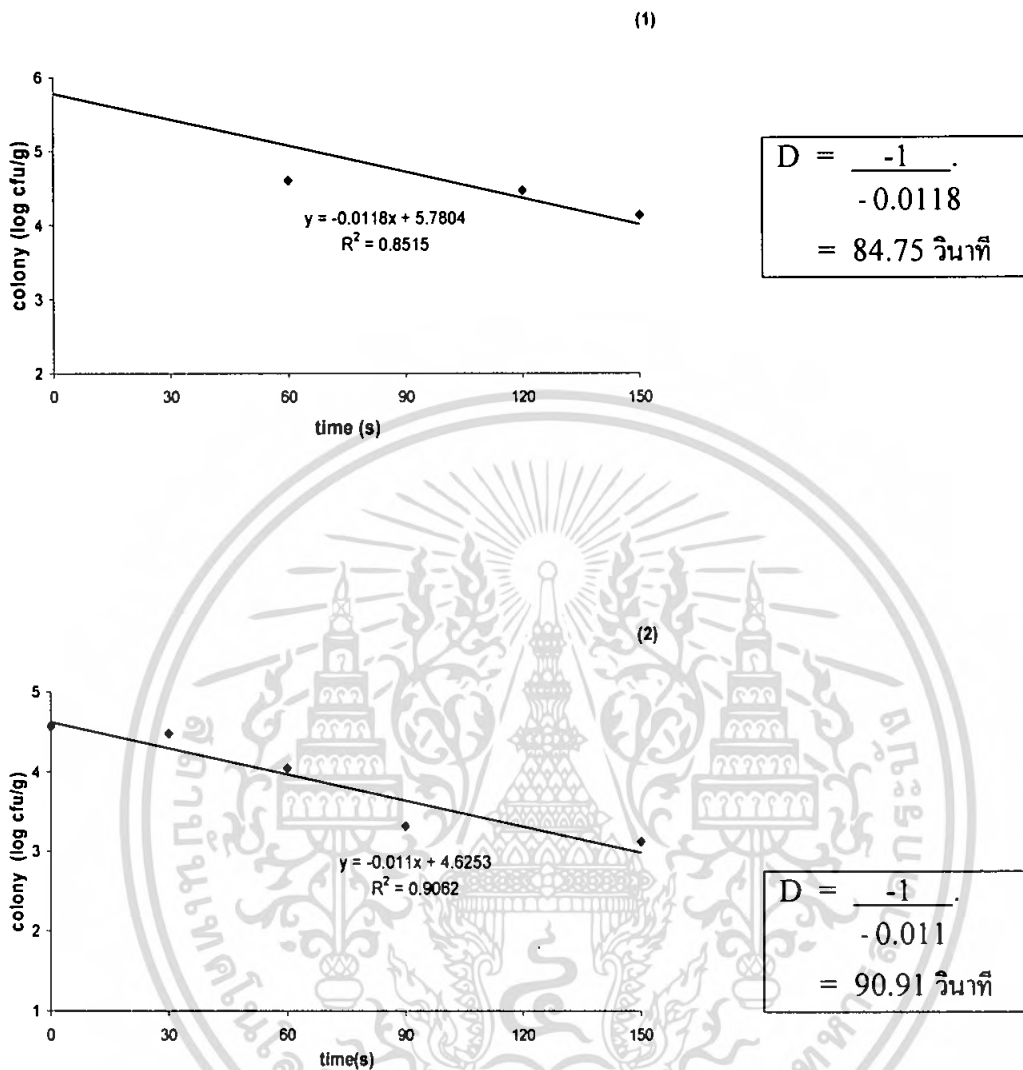
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1)



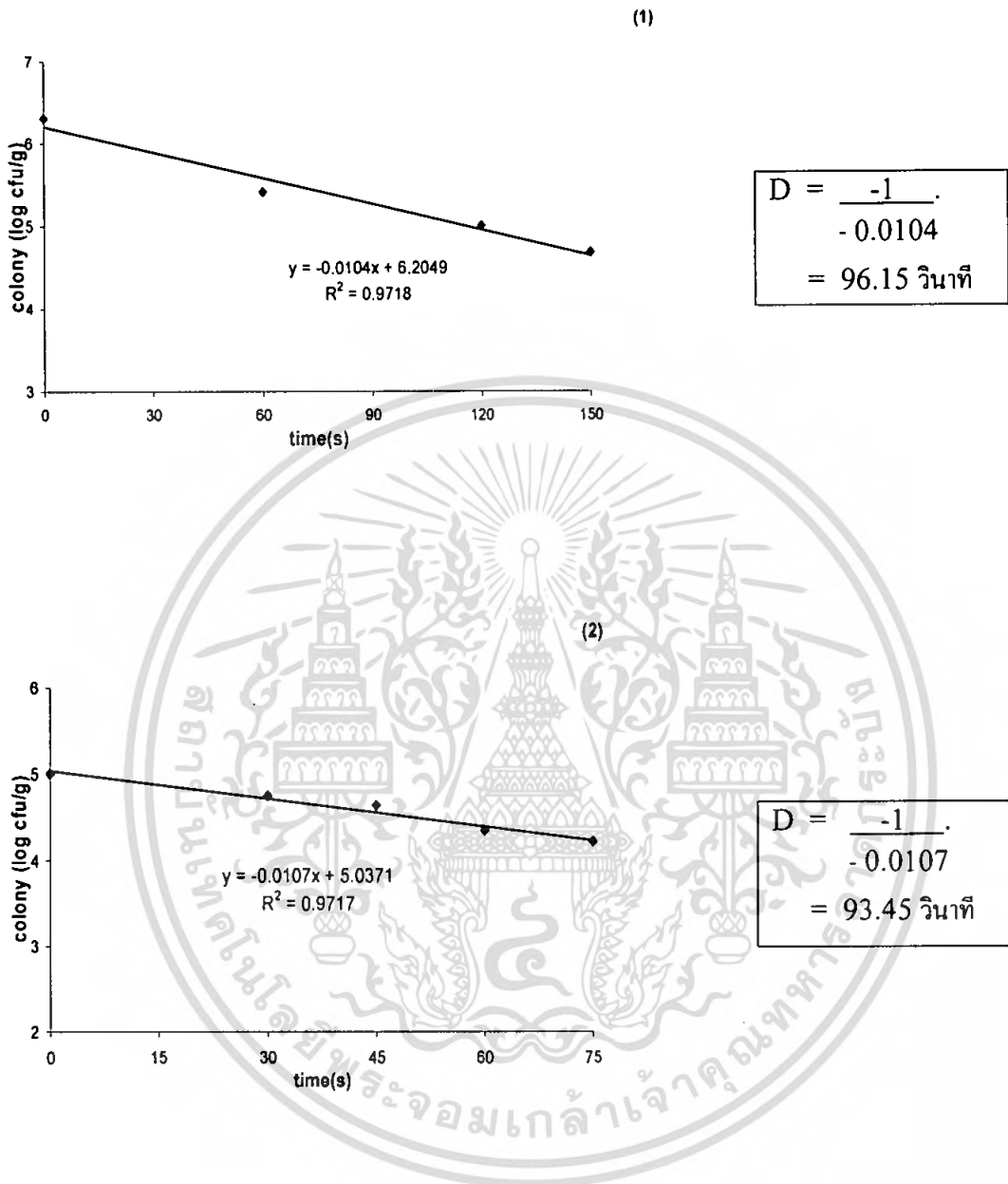
รูป ข.5 กราฟการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* ในกึ่งผสมพริก และการหาค่า D ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ( $D_{55c}$ ): จากภาพ D value เฉลี่ยเท่ากับ 256.5 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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 แบ่งใส่ขวดนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 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

## เอกสารอ้างอิง

- นิจศิริ เรืองรังษี. (2542). เครื่องเทศ. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นวรรตน์ โพธิราช และ ประทุม แสนมา. (2549). การแยกเชื้อและจำแนกชนิดของ *Vibrio parahaemolyticus* จากอาหารทะเลและการศึกษาการยับยั้งการเจริญด้วยความร้อน. ใครงานพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต. สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร.
- รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. (2540). พืชเครื่องเทศและสมุนไพร. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ โอเดียนสโตร์.
- ศรีสิทธิ์ การุณยะวนิช, ปรีชา จึงสมานกุล และ จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์. (2541). สุขลักษณะความปลอดภัยของอาหารพร้อมปรุงในซูเปอร์มาร์เก็ต วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ฉบับที่ 3.
- ศรีวรรณ หัทยานานนท์. (2548). สารระนำรู้เกี่ยวกับเชื้อ *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 ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Baumann, P., & Schubert, R. H. W. (1984). Family 2. Vibrionaceae. In N. R. Krieg, & 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-Sørensen, *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 *Escherichia 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.

- 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., & Trepas, 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 parahaemolyticus* : 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.

- 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  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้