อภินันทนาการ

สำนักหอสมุด

สัญญาเลขที่ R2560B146

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตคู่มือการผลิตและเก็บรักษาอาหารพร้อมบริโภคให้ปลอดภัย สำหรับผู้บริโภคในฤดูร้อน

ดร. จารุวรรณโดย ดร. จารุวรรณ ทองสนิท โอคุมุระ

ผู้ร่วมวิจัย

นางสาวอุษณี สุขสีทอง

นางสาวเสาวรส ทองริ้ว

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร
วันลงทะเบียน - 4 ก.พ. 2565
เลขทะเบียน 1048909
เลขเรียกหนังสือ ว TX 541 จ337ก 2560

สนับสนุนโดย

งบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยนเรศวร

ปีงบประมาณ 2560

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เพื่อศึกษาค่าความต้านทานความร้อนของแบคทีเรียก่อโรคในอาหารพร้อมบริโภคให้ผู้ประกอบการผลิตอาหารที่ปลอดภัยแก่ผู้บริโภค ในการทดลองได้ศึกษาการต้านทานความร้อนของแบคทีเรียก่อโรค *Clostridium perfringens* และ *Vibrio parahemolyticus* โดยการเพาะเชื้อในอาหาร ได้แก่ กะปิเพื่อปรุงน้ำพริกกะปิ และกุ้งเผา และให้ความร้อนในระดับการต้มและปิ้งย่างระหว่างอุณหภูมิ 63-80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ในตัวอย่างอาหารทั้งสองชนิดเพื่อศึกษาการต้านทานความร้อนของแบคทีเรียพบว่า เซลล์สมบูรณ์ของ *Clostridium perfringen* มีค่าความต้านทานความร้อนต่ำสุด คือ 3.2 , 1.6 และ 0.1 นาที ที่อุณหภูมิ 63 , 71 และ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ *Vibrio parahemolyticus* ในกุ้งเผาพบว่ามีค่าความต้านทานความร้อนเท่ากับ 26.4 และ 8.4 วินาที ณ อุณหภูมิ 63 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

คำสำคัญ: ค่าความต้านทานความร้อน , ค่า D value , *Clostridium perfringens* , *Vibrio parahemolyticus* , อาหารพร้อมบริโภค

Abstract

The aim of this research was to determine the decimal reduction times of pathogenic bacteria present on ready-to-eat food that applied for food safety manufacturing. The experiments were conducted with *Clostridium perfringens* in Kapi paste (Nam Phig Ka Pi) and *Vibrio parahaemolyticus* in grilled shrimp inoculated with the pathogens. The thermal induction between 63 - 80 °C of each genus were detected from inoculated food for 10 min. Extremely high decimal reduction times of 3.2, 1.6, and 0.1 min were obtained for *C. perfringens* in Kapi paste at 63, 71 and 80°C, respectively. Grilled shrimp at 63 and 70°C showed decimal reduction times were 26.4 and 8.4 seconds, respectively.

Keywords: Decimal reduction time , D value , *Clostridium perfringens* , *Vibrio parahemolyticus* , Ready-to-eat food

Executive Summary

พฤติกรรมการบริโภคอาหารพร้อมบริโภค ได้แก่ อาหารตามสั่ง และ ข้าวแกง เนื่องจากผู้บริโภคไม่มีเวลาในการปรุงอาหารเพื่อบริโภคเพื่อความสะดวกสบายและรวดเร็ว อาหารพร้อมบริโภคจึงเป็นอาหารที่จำเป็นในชีวิตประจำจึงมีความเสี่ยงในการเกิดโรคอาหารเป็นพิษจากกิน แบคทีเรียที่พบก่อโรคอาหารเป็นพิษ มีหลายชนิด ที่พบบ่อย คือ *Staphylococcus aureus* , *E. coli* ,*Shigella* , *Salmonella, Clostridium, Vibrio* และ *Listeria monocytogenes* ฤดูร้อนของประเทศไทยเริ่มต้นประมาณกลางเดือนกุมภาพันธ์ ไปจนถึงกลางเดือนพฤษภาคม โดยเฉพาะเดือนเมษายนบริเวณประเทศไทย ดังนั้นอากาศที่ร้อนจัดเช่นนี้เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในอาหารเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว และผลิตสารพิษในปริมาณมากเช่นกัน ดังนั้นจึงเป็นปัญหาของอาหารพร้อมบริโภค ข้าวแกง ที่ต้องผลิตในช่วงเช้ามืดและจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิปกติจนเวลาที่ผู้บริโภครับประทาน และทำให้ผู้บริโภคเป็นโรคอาหารเป็นพิษจำนวนมากในช่วงฤดูร้อน โครงงานวิจัยนี้ศึกษาการการต้านทานความร้อนของแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในอาหารพร้อมบริโภค และผลิตคู่มือการผลิตอาหารพร้อมบริโภคแบบ infographic ให้ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภคในฤดูร้อน

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

พฤติกรรมการบริโภคอาหารพร้อมบริโภค ได้แก่ อาหารตามสั่ง และ ข้าวแกง เนื่องจากผู้บริโภคไม่มีเวลาในการปรุงอาหารเพื่อบริโภคเพื่อความสะดวกสบายและรวดเร็ว อาหารพร้อมบริโภคจึงเป็นอาหารที่จำเป็นในชีวิตประจำจึงมีความเสี่ยงในการเกิดโรคอาหารเป็นพิษจากกิน แบคทีเรียที่พบก่อโรคอาหารเป็นพิษ มีหลายชนิด ที่พบบ่อย คือ *Staphylococcus aureus* , *E. coli* ,*Shigella* , *Salmonella, Clostridium, Vibrio* และ *Listeria monocytogenes* ฤดูร้อนของประเทศไทยเริ่มต้นประมาณกลางเดือนกุมภาพันธ์ ไปจนถึงกลางเดือนพฤษภาคม โดยเฉพาะเดือนเมษายนบริเวณประเทศไทย ดังนั้นอากาศที่ร้อนจัดเช่นนี้เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในอาหารเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว และผลิตสารพิษในปริมาณมากเช่นกัน ดังนั้นจึงเป็นปัญหาของอาหารพร้อมบริโภค ข้าวแกง ที่ต้องผลิตในช่วงเช้ามืดและจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิปกติจนเวลาที่ผู้บริโภครับประทาน และทำให้ผู้บริโภคเป็นโรคอาหารเป็นพิษจำนวนมากในช่วงฤดูร้อน โครงงานวิจัยนี้ศึกษาการการต้านทานความร้อนของแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในอาหารพร้อมบริโภค และผลิตคู่มือการผลิตอาหารพร้อมบริโภคแบบ infographic ให้ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภคในฤดูร้อน

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อาหารเป็นพิษ

อาหารเป็นพิษ หมายถึง อาการท้องเดิน (อุจจาระร่วง) เนื่องจากการกินอาหารที่มีสารพิษที่เกิดจากเชื้อโรคปนเปื้อน เป็นสาเหตุของอาการท้องเดินที่พบได้บ่อยในหมู่คนทั่วไป ส่วนใหญ่มักจะมีอาการไม่รุนแรง และทุเลาได้เองภายใน 24-48 ชั่วโมง

ชื่อภาษาไทย : อาหารเป็นพิษ

ชื่อภาษาอังกฤษ : Food poisoning (สุรเกียรติ อาชานานุภาพ,2554)

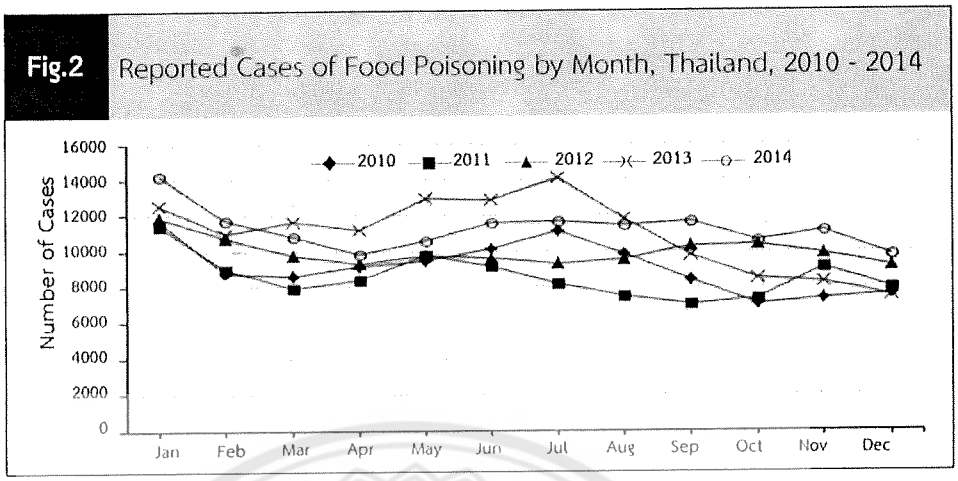
อาหารเป็นพิษ เป็นโรคพบบ่อยโรคหนึ่งในประเทศที่กำลังพัฒนา แต่พบได้ประปรายในประเทศที่พัฒนาแล้ว เกิดได้กับคนทุกอายุ ตั้งแต่เด็กจนถึงผู้สูงอายุ และโอกาสเกิดในผู้หญิงและผู้ชายเท่ากันทั้งนี้เป็นโรคพบในเด็กได้สูงกว่าวัยอื่นๆ เพราะแหล่งอาหารเป็นพิษที่สำคัญ คือ อาหารโรงเรียน ทั้งนี้ในประเทศที่กำลังพัฒนา มีรายงานเด็กเกิดอาหารเป็นพิษได้สูงถึงประมาณ 5 ครั้งต่อปี อาหารเป็นพิษ เมื่อเกิดจากเชื้อโรค สามารถเป็นโรคติดต่อได้และพบเกิดระบาดได้เป็นครั้งคราว โดยนิยามของการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ คือเกิด อาการท้องเสีย อาจร่วมกับอาการทางกระเพาะอาหาร และลำไส้อื่นๆ เช่น ปวด ท้อง ขึ้นพร้อมกัน หรือ ต่อเนื่องกัน อย่างน้อยตั้งแต่ 2 คนขึ้นไป โดยมีสาเหตุมาจากอาหาร หรือ น้ำดื่ม โรคอาหารเป็นพิษที่เกิดกับนักท่องเที่ยวเดินทาง มักเกิดจากติดเชื้อแบคที เรีย ซึ่งเรียกว่า โรคท้องเสียของนักท่องเที่ยวเดินทาง Travelers' diarrhea (พวงทอง ไกรพิบูลย์, 2556)

สาเหตุ

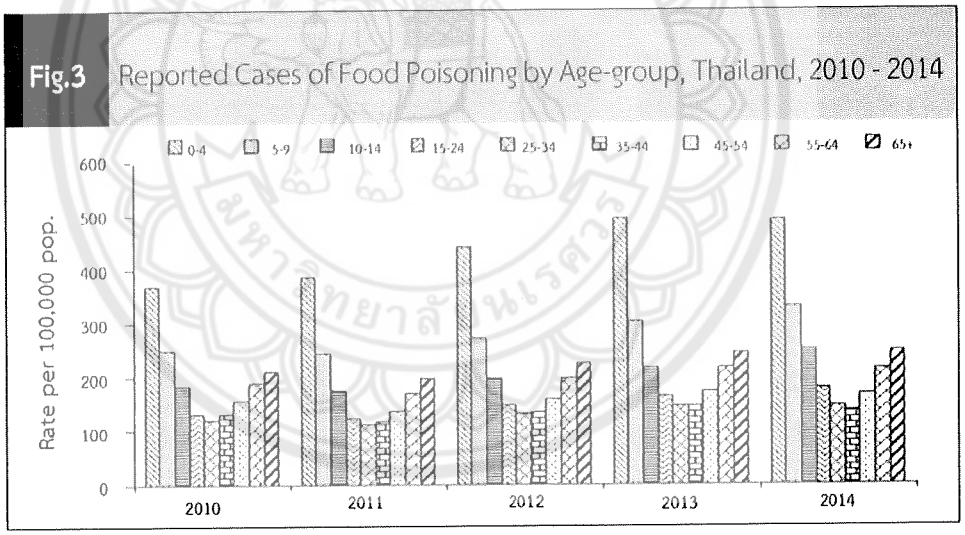
เกิดจากการปนเปื้อนของสารเคมี หรือโลหะหนัก ที่พบว่าเป็นสาเหตุของอาหารเป็นพิษได้บ่อยครั้ง ได้แก่

- สารพิษของแบคทีเรีย ที่เจริญเติบโตในอาหารก่อนการบริโภค เช่นสารพิษของเชื้อ *V.parahaemolyticus, Clostridium botulinum , Staphylococcus aureus, Bacillus cereus* หรือผลิตสารพิษในลำไส้เมื่อบริโภคเข้าไป เช่น *Clostridium perfringens*
- จากการติดเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส หรือ พยาธิ เช่น อุจจาระร่วงสาเหตุจาก *Escherichia coli*, salmonellosis, shigellosis, viral gastroenteritis, trichinosis ฯลฯ
- สารพิษจากสาหร่ายบางสายพันธ์ (harmful algae species) เช่น ciguatera fish poisoning, paralytic shellfish poisoning ฯลฯ) หรือพิษปลาปักเป้า (สำนักงานระบาดวิทยา, ป.ก.ก.)

การระบาดของอาหารเป็นพิษ



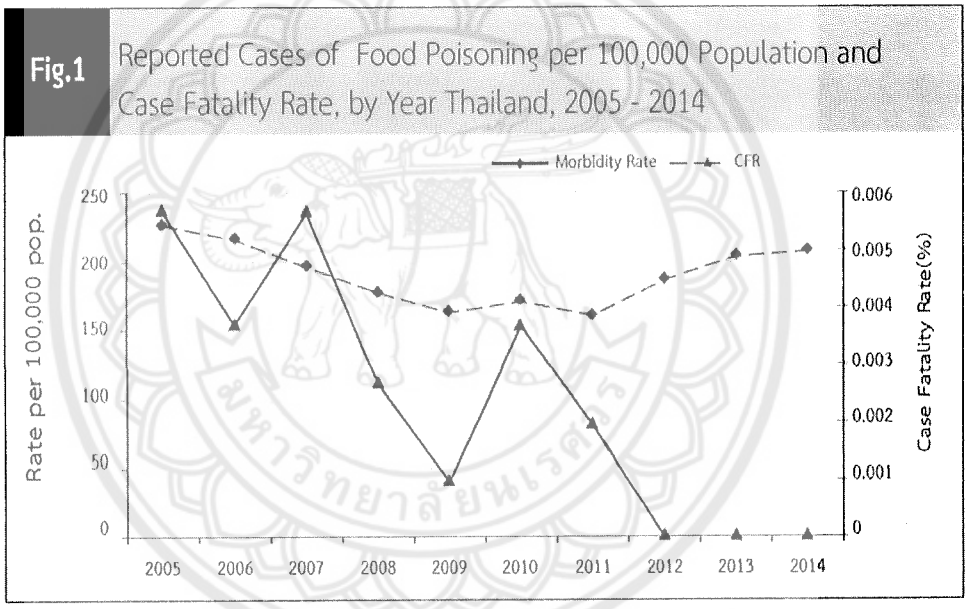
รูปที่ 2 แสดงจำนวนผู้ป่วยที่ป่วยด้วยอาหารเป็นพิษในแต่ละช่วงเดือน ระหว่างปี พ.ศ. 2553 -2557(สำนักงานระบาดวิทยา, 2557)



รูปที่ 3 แสดงจำนวนผู้ป่วยตามช่วงอายุที่ป่วยด้วยอาหารเป็นพิษ ระหว่างปี พ.ศ. 2553 -2557(สำนักงานระบาดวิทยา, 2557)

ในปี พ.ศ.2558 สำนำกระบาดวิทยาได้รับรายงานผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษ 130,995ราย (ไม่รวมพิษจากเห็ดและพิษมันสำปะหลัง) อัตราป่วย 200.22ต่อประชากรแสนคน ไม่มีรายงานผู้ป่วยเสียชีวิต(สำนักระบาดวิทยา, 2558) ในปี 2559 พบผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษ จำนวน 138,595 ราย ไม่มีผู้เสียชีวิต และโรคอุจจาระร่วง จำนวน 1,202,813 ราย พบผู้เสียชีวิตจำนวน 5 ราย โดยในช่วงฤดูร้อนจะพบผู้ป่วย โรคอุจจาระร่วงเฉลี่ยเดือนละ 1 แสนราย(สำนักระบาดวิทยา, 2558)

ในปี พ.ศ. 2557 (ค.ศ. 2014) สำนักระบาดวิทยา ได้รับ รายงานผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษ 134,797 ราย (ไม่รวมพิษจาก เห็ดและพิษมันสำปะหลัง) อัตราป่วย 207.52 ต่อประชากรแสน คน ไม่มีรายงานผู้ป่วยเสียชีวิต อัตราป่วยในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา (ปี พ.ศ. 2548 – 2557 : ค.ศ. 2005 - 2014) อัตราป่วยลดลงในระยะ 5 ปีแรก คือ ตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2548 (226.62 ต่อประชากรแสนคน) ถึงปี พ.ศ. 2552 (162.98) จากนั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2555 เป็นต้นมา อัตราป่วยตายในรอบ 10 ปีที่ผ่านมา มีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจน (รูปที่ 1) ในช่วง 5 ปีที่ผ่านมา (ปี พ.ศ. 2553 – 2557 : ค.ศ. 2010 - 2014) พบผู้ป่วยสูงสุดในเดือน มกราคม 14,209 ราย จากนั้นค่อย ๆ ลดลง และเพิ่มสูงขึ้นอย่าง ต่อเนื่องตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงกันยายน เดือนธันวาคมพบผู้ ป่วยน้อยที่สุด 9,755 ราย (รูปที่ 2) ผู้ป่วยเพศหญิง 81,111 ราย เพศชาย 53,686 ราย อัตราส่วนเพศชายต่อเพศหญิง เท่ากับ 1 : 1.5 กลุ่มอายุที่พบ สูงสุดคือ กลุ่มอายุ 0 - 4 ปี อัตราป่วย 491.12 ต่อประชากรแสน คน รองลงมา คือ กลุ่มอายุ 5 - 9 ปี (329.19) และ 10 - 14 ปี (250.15) (รูปที่ 3) (สำนักระบาดวิทยา, 2557)



รูปที่ 1 แสดงจำนวนผู้ป่วยที่ป่วยด้วยอาหารเป็นพิษ ระหว่างปี พ.ศ. 2548 - 2557(สำนักงานระบาดวิทยา, 2557)

กะปิ (Shrimp paste)

กะปิ เป็นเครื่องปรุงที่แทบทุกบ้านรู้จักกันเป็นอย่างดี เนื่องจากเป็นส่วนประกอบสำคัญของอาหารไทยหลายประเภท เช่น น้ำพริกกะปิ ข้าวคลุกกะปิ กุ้งผัดกะปิ สารานุกรมไทย ฉบับราชบัณฑิตยสถาน เล่ม 1 อธิบายไว้ว่า กะปิ เป็นของดองเค็มที่ทำจากเคยผสมเกลือ หมักไว้และโขลกให้เข้ากัน ใช้ปรุงอาหารรับประทาน, เคย หรือ กุ้งเคย เป็นชื่อสัตว์น้ำที่มีรูปร่างคล้ายกุ้งฝอยแต่ตัวเล็กมาก มีขนาดยาวไม่เกิน 3.4 เซนติเมตร มีหนวด 2 แฉก ลำตัวใสหรือขุ่น เนื้อยุ่ย พบมากที่ปากน้ำบางปะกง ปากน้ำเจ้าพระยา แหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี และในอ่าวไทยที่คลองด่าน นอกจากการใช้ เคย มาหมักเกลือทำกะปิแล้ว พบว่าบางครั้งก็ใช้ปลามาหมักเกลือเพื่อทำกะปิก็มี ซึ่งปลาที่นิยมนำมาใช้ทำกะปินั้น โดยมากเป็นปลาน้ำเค็ม เช่น ปลากะตัก ปลาหลังเขียว และปลาเล็กอื่น ๆ ซึ่งเป็นปลาที่ไม่มีราคาในตลาด

มาตรฐานการตรวจวิเคราะห์ทางด้าน เคมี จุลินทรีย์ และกายภาพ

1. การตรวจวิเคราะห์เคมีได้แก่
   - ปรอท ต้องไม่เกิน 0.5 ppm
   - แคดเมี่ยม ต้องไม่เกิน 0.5 ppm
   - ตะกั่ว ต้องไม่เกิน 0.5 ppm
   - เกลือ (%) ต้องไม่ต่ำกว่าร้อยละ 20
   - กรดเบนโซอิกและเบนโซอิก ต้องไม่เกิน 200 ppm
2. การตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ได้แก่
   - Yeast and Mold น้อยกว่า1,000/g
   - *Staphylococcus aureus* น้อยกว่า 3 MPN/g
   - *Salmonella spp.* ไม่พบใน 25 g
   - *Clostridium perfringens* มีค่าเท่ากับ 10 /0.1 g
3. การตรวจวิเคราะห์กายภาพ ได้แก่
   - น้ำหนัก
   - สี
   - กลิ่น
   - ภาชนะบรรจุ
   - การทดสอบทางประสาทสัมผัส

- Light filth

-ข้อมูลฉลากซึ่งตรวจตามมาตรฐานของประเทศปลายทาง (สุรินทร์พร ยิ้มกัน, ป.ก.ก.)

น้ำพริกกะปิ จากการศึกษาพฤติกรรมการบริโภคและความปลอดภัยทางอาหารของน้ำพริก โดยกรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุขชี้ว่า คนไทยมากถึงร้อยละ 89.0 นิยมบริโภคน้ำพริก และกว่าร้อยละ 64.1 จัดให้น้ำพริกเป็นอาหารประจำครอบครัวที่ขาดไม่ได้ จากการสำรวจความคิดเห็นของกลุ่มตัวอย่างระบุว่า คนส่วนใหญ่บริโภคน้ำพริก เพราะช่วยให้รับประทานผักได้มากขึ้น เหตุผลต่อมาคือ ทำกินเองได้ง่าย ส่วนเหตุผลอื่นๆ ที่มีสัดส่วนใกล้เคียงกัน อาทิ เป็นอาหารที่หาซื้อได้ง่าย มีหลายประเภท และกินเป็นนิสัยน้ำพริกที่คนไทยรับประทานเป็นประจำและสม่ำเสมอมากที่สุดคือ น้ำพริกกะปิ มีผู้นิยมบริโภคเกินกว่าครึ่ง คิดเป็นร้อยละ 52.6 รองลงมาคือ น้ำพริกปลาร้า น้ำพริกตาแดง น้ำพริกหนุ่ม น้ำพริกมะขาม และน้ำพริกนรก ตามลำดับ การสำรวจของสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร, ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 14 แห่ง ร่วมกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) และสำนักงานสาธารณสุขจังหวัด ในน้ำพริกพร้อมบริโภค พบการใช้วัตถุกันเสียเกินปริมาณที่อนุญาต ร้อยละ 11 ชนิดของวัตถุกันเสียที่พบมากที่สุดคือ กรดเบนโซอิก ปริมาณที่พบ 1,089-6,872 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในน้ำพริกแบบแห้ง และพบ 1,005-14,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในนำพริกแบบเปียกซึ่งข้อกำหนดอ้างอิงมาตราฐาน CODEX ไม่เกิน1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การตรวจสอบทางด้านจุลินทรีย์ น้ำพริกแบบแห้งมีจุลินทรีย์รวมอยู่ร้อยละ 2.9 เชื้อก่อโรค *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringen* ร้อยละ 1.2 น้ำพริกแบบเปียกมีจุลินทรีย์รวมอยู่ร้อยละ 1.4 เชื้อก่อโรค *Bacillus cereus*และ *Clostridium perfringen* ร้อยละ 1.4 เท่ากัน (มติชนออนไลน์, 2559)

กุ้ง

กุ้ง (shrimp หรือ prawn) เป็นสัตว์น้ำในกลุ่ม crustacean อยู่ในกลุ่มเดียวกับกั้ง และปู มีลักษณะสำคัญคือมีเปลือกหุ้มตัวเป็นสารกลุ่มไคทิน ลำตัวเป็นปล้อง โดยมีรยางค์ยื่นออกมาเป็นคู่ เช่น หนวด ขากรรไกร ขาเดินและขาว่ายน้ำ เมื่อเจริญเติบโตจะสลัดเปลือกเดิมสร้างเปลือกใหม่ กุ้งเป็นอาหารทะเลที่มีเนื้ออร่อย รับประทานกันอย่างแพร่หลายทั่วโลก พันธุ์กุ้งที่นิยมบริโภค ได้แก่ กุ้งกุลาดำ กุ้งก้ามกรามกุ้งขาวลักษณะที่ต้องการของกุ้งสด คือ มี รูปร่างปกติและมีอวัยวะครบ มีสีตามธรรมชาติ ส่วนหัวและลำตัวติดแน่น เปลือกสดใส ลื่น เป็นเงามันตามธรรมชาติ เนื้อแน่น ใสติดกับเปลือกแน่นแกะออกจากเปลือกยาก (ดังตัวอย่างที่ 1)

กุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Litopenaeus vannamei* อยู่ในวงศ์ Penaeidae มีชื่อสามัญว่า แปซิฟิค ไวท์ ชริมพ์ (pacific white shrimp) หรือ ไวท์เลค ชริมพ์ (whiteleg shrimp) หรือที่เรียกกันทั่วไปว่า กุ้งขาวแวนนาไม หรือกุ้งแวนนาไม สำหรับจำหน่ายสด กุ้งขาวแวนนาไม หมายถึง กุ้งที่มีกรีเป็นเส้นตรง กรีด้านบนมีฟัน 7 ซี่ ถึง 8 ซี่ กรีด้านล่างมีฟัน 2 ซี่ ถึง 3 ซี่มีหนวดสีชมพูยาวตลอดเส้น ขาว่ายน้ำ (swimmerlet) มีสีขาว

โรคที่อยู่ในกุ้งซึ่งเป็นโรคใหม่ คือ Early Mortality Syndrome (EMS) พบทั้งใน กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) และกุ้งขาวแวนนาไม *(Penaeus vannamei)* เป็นโรคของกุ้งที่มีอาการตับวายเฉียบพลัน (Acute Hepatopancreatic Necrosis) เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio parahaemolyticus* เชื้อแบคทีเรียที่สร้างสารพิษจะอยู่เฉพาะที่ (localized infection) พบที่กระเพาะอาหารและตับอ่อนของกุ้งและส่วนใหญ่เป็นแบบกระจายไปทั่วตัวกุ้ง (systemic infection) คือ เชื้อแบคทีเรียเข้าสู่กระแสเลือดทำให้ทุกๆอวัยวะที่มีเลือดหมุนเวียนไปเลี้ยงจะมีเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนอยู่ (จิราพร เกษรจันทร์ ,2560)

การย่าง (grilling) หรือการปิ้ง เป็นวิธีการทำให้อาหารสุก (cooking) โดยการให้อาหารสัมผัสกับความร้อนจากเปลวไฟโดยตรง กุ้งย่างต้องผ่านความร้อนที่อุณหภูมิกึ่งกลางที่ 70 °C เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 11 วินาที โดยกุ้งจะต้องผ่านความร้อนจนเนื้อสุกทั่วทั้งชิ้นและไม่มีลักษณะของเนื้อดิบปรากฏอยู่ (จิราพร เกษรจันทร์,2551)

V. parahaemolyticus

เป็นแบคทีเรีย อยู่ในวงศ์ *Vibrionaceae* ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ รูปร่างเป็นแท่ง ขนาดกว้าง 0.5-0.8 ไมครอน ยาว 1.4-2.4 ไมครอน สร้างเอนไซม์ออกซิเดส เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลา อาศัยอยู่ในน้ำทะเลน้ำกร่อย มักพบบนผิวดินและผิวของสัตว์ทะเล เช่น กุ้งหอย ปู ปลา สามารถมีชีวิตอยู่ในอาหารหรือน้ำที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ตั้งแต่ 1-8% ถ้ามากกว่า 10% เชื้อจะตาย สามารถอยู่ได้ที่อุณหภูมิต่ำ เช่น ในเนื้อปู (1-15 °C) นาน 30 วัน กุ้งปอกเปลือก (3-18 °C) นาน 6 วัน หอยนางรมแช่แข็งนาน 40-130 วัน แบคทีเรียถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

การก่อโรค การติดเชื้อจะเกิดขึ้น เมื่อได้รับเชื้อมากกว่า 10^6 เซลล์ และเนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้เจริญได้เร็วมาก ใช้เวลาในการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า สั้นมากเพียง 8-9 นาทีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อเชื้อเข้าสู่ร่างกาย ก็จะทวีจำนวนขึ้นในลำไส้ และก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหาร การก่อโรคกระเพาะลำไส้อักเสบ 60-80% ติดเชื้อทางบาดแผล 34% และพบติดเชื้อในกระแสเลือด5% อาการที่พบบ่อยของโรคกระเพาะลำไส้อักเสบ คือ ท้องเสียอาจถ่ายเหลวเป็นน้ำ หรือมีเลือดปน คลื่นไส้ อาเจียน ปวดหัวหนาวสั่น มีไข้ต่ำ ส่วนใหญ่อาการจะหายไปเองภายใน 3 วัน บางรายอาจมีอาการนานถึง 10 วัน สายพันธุ์ก่อโรคจะสร้างสารพิษที่สำคัญ 2 ชนิด คือ Thermostable direct hemolysin (TDH) และ Thermostable direct hemolysin-related hemolysin

(TRH) ส่วนใหญ่สายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยมักผลิตสารพิษชนิดทนความร้อน TDH ระยะฟักตัว ประมาณ 15 ชั่วโมง (4-96 ชั่วโมง)การติดต่อ เกิดจากการรับประทานอาหารทะเลที่ปรุงไม่สุก หรือการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ ซึ่งอาจเกิดจากกระบวนการผลิตอาหาร หรือจากผู้ปรุงอาหาร หรือผู้สัมผัสอาหารที่เป็นพาหะของเชื้อ ไม่พบการติดต่อจากคนสู่คน

การระบาด พบระบาดได้ทั่วโลก จากรายงานพบแยกเชื้อครั้งแรกได้ในประเทศญี่ปุ่น (ค.ศ. 1950 หรือ พ.ศ. 2493) Fujino และคณะ แยกเชื้อได้จากอุจจาระผู้ป่วยที่เมืองโอซากา ประเทศญี่ปุ่น สาเหตุเกิดจาก การรับประทานปลาดิบ รายงานจากประเทศญี่ปุ่น จีน ไต้หวัน อินเดีย ไทยและหลายๆ ประเทศทางเอเชียรวมทั้งอเมริกา พบว่า มากกว่าร้อยละ 50 ของโรคกระเพาะลำไส้อักเสบมีสาเหตุจากเชื้อนี้ เกิดจากการรับประทานอาหารทะเลที่ปรุงไม่สุก การระบาดครั้งนี้สำนักระบาดวิทยา สำนักควบคุมโรคติดต่อกรมควบคุมโรคและสาธารณสุขจังหวัด ได้ลงพื้นที่สอบสวนโรค เก็บตัวอย่างอุจจาระผู้ป่วย น้ำ เนื้อไก่ เลือดไก่และป้ายภาชนะ มาตรวจที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบเชื้อ *V. parahaemolyticus* จากผู้ป่วยและเลือดไก่ จึงสงสัยว่าผู้ป่วยติดเชื้อจากการรับประทานข้าวมันไก่-ลาบไก่ที่มีเลือดเป็นส่วนผสมโดยธรรมชาติจะอยู่ในอาหารทะเลเพราะเจริญได้ในอาหารที่มีเกลือ ไม่อยู่ในอาหารประเภทเนื้อไก่ เนื้อหมู เนื้อวัว การพบเชื้อในเลือดไก่เกิดจากการปนเปื้อน ซึ่งต้องตรวจสอบแหล่งที่อยู่ ของเชื้อที่เข้ามาปนเปื้อนในเลือดไก่ จากรายงานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่า การระบาดเกือบทุกเหตุการณ์เชื้อปนเปื้อนมาจากคน ซึ่งเกี่ยวข้องในขั้นตอนการผลิตอาหารหรือปรุงอาหาร แต่เนื่องจากการระบาดนานหลายเดือน มีหลายเหตุการณ์ ต้องพิสูจน์ว่าแต่ละเหตุการณ์มีส่วนเกี่ยวข้องกันหรือไม่ โดยการตรวจสอบซีโรทัยป์ ศึกษาคุณลักษณะของ รูปแบบสารพันธุกรรมของตัวเชื้อที่แยกได้จากคน เลือดไก่ และแหล่งอื่นๆการป้องกัน รับประทานอาหารที่ปรุงสุก (ปรุงสุกทุกขั้นตอน) และยังร้อนๆอยู่ ทั้งอาหารทะเล และอาหารกล่อง ไม่วางอาหารที่ปรุงสุกแล้วปะปนกับอาหารที่ยังไม่ได้ปรุงให้สุก รวมทั้งแยกอุปกรณ์ ในการประกอบอาหาร หรือทำความสะอาดอุปกรณ์ สำหรับอาหารทะเลก่อนนำไปใช้กับอาหารชนิดอื่น การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ตรวจหาเชื้อสาเหตุโดยการเพาะเชื้อจากตัวอย่างอุจจาระ ตรวจหาแหล่งแพร่กระจายเชื้อจากอาหาร น้ำ ภาชนะปรุงอาหาร ผู้ปรุงอาหาร (อุจจาระ ป้ายมือ) ตรวจซีโรทัยป์ การสร้างสารพิษด้วยวิธี PCR และรูปแบบพันธุกรรม ด้วยวิธี Pulsed field gel electrophoresis จากตัวอย่างเชื้อบริสุทธิ์ (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2557)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

1. ตัวอย่างกะปิจำนวน 6 ตัวอย่าง
2. กุ้งขาวแวนนาไม (vannamei) จากห้างสรรพสินค้าในจังหวัดพิษณุโลก

วิธีการทำการวิจัย

- **การทดลองการศึกษาการต้านทานความร้อน *C. perfringens* ในกะปิ**

1. การเตรียม *Clostridium perfringens* (ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร)

1.1. เพาะเลี้ยง *Clostridium perfringens* ใน cooked meat medium ปริมาตร 10 ml บ่มที่อุณหภูมิ37˚C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน

1.2. ปิเปตจาก 1.1.ปริมาตร 0.2 ml ใส่ลงใน fluid thioglycolate broth ปริมาตร 10 ml บ่มที่อุณหภูมิ 37˚C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน

1.3. เตรียมสารละลายเซลล์เทียบกับ McFarland No.0.5 เทียบเท่ากับแบคทีเรียความเข้มข้น 1.2×10^8 CFU/ml

2. การเตรียมตัวอย่างกะปิ

2.1. ชั่งกะปิ 10 กรัม แบ่งเป็น 8 ส่วน

2.2. ทำการปลอดเชื้อกะปิโดย เครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121˚C 15นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

3. การหาความต้านทานความร้อนของ *Clostridium perfringens*

3.1. ปิเปตสารละลายเซลล์จาก 1.3. ปริมาตร 1 ml ลงในกะปิ 2.2.ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

3.2. นำตัวอย่างจาก 3.1.ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 63, 71และ 80˚C เก็บตัวอย่างเป็น 0, 1, 3, 5, 7, 10 นาทีตามลำดับ

3.3. นำตัวอย่างกะปิที่เย็นแล้ว เจือจางใน fluid thioglycolate broth ปริมาตร 90 ml และเจือจาง 10 เท่าเป็นลำดับ จนถึง 10^{-3} ด้วย fluid thioglycolate broth ปริมาตร 10 ml

- ตรวจสอบการรอดชีวิตของแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* เมื่อผ่านการปิ้งย่าง เวลา 0, 1, 3, 5 และ 7 นาที โดยตัวอย่างกุ้ง และพักให้เย็นในถุงปลอดเชื้อ จำนวน 2 นาที ก่อนทำขั้นตอนต่อไป
- ทำการเจือจางตัวอย่างกุ้ง โดยนำกุ้งที่ผ่านการปิ้งย่าง บรรจุในถุงปลอดเชื้อ และเติมสารละลายบัฟเฟอร์ Alkaline peptone water ปริมาตร 225 มิลลิลิตร จากนั้นตีปั่นด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 2 นาที
- ปิเปตสารละลาย เจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อThiosulfate Citrate Bile Sait Sucrose Agar จำนวน 2 เพลท และเพาะโดยเทคนิค spread plate
- บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยคว่ำจานเพาะอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมงตรวจนับจำนวนโคโลนีคำนวณเป็น CFU/g
- สร้างกราฟ แสดงอัตรารอดชีวิตของ *V. parahaemolyticus* ณ อุณหภูมิต่างๆ กราฟ Thermal dead time curve ระหว่างค่า log ของปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (log CFU/g หรือ log CFU/ml) กับระยะเวลาที่ให้ความร้อน (นาที / วินาที) คำนวณหาค่า D-value ซึ่งค่า D-value โดยใช้สูตร D=-1/a คือ ระยะเวลาที่ทำให้จำนวนแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ลดลง 1 log cycle หรือ ลดลง 90%

3.4. เพาะเลี้ยง *Clostridium perfringens* ที่รอดชีวิต โดยวิธี pour plate ด้วยอาหาร Brain Heart Infusion บ่มที่อุณหภูมิ37˚C เป็นเวลา 24ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน

3.5. นับจำนวนโคโลนี (CFU/g)

3.6. หาความต้านทานความร้อนของ *Clostridium perfringens* โดยสร้างกราฟหาค่า D-value

- การทดลองการศึกษาการต้านทานความร้อน *V. parahaemolyticus* ในกุ้ง

การเตรียมเชื้อตั้งต้น

1.1 นำ stock culture *V. parahaemolyticus* เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth เติม NaCl 2% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.2 นำ culture broth ถ่ายลงใน Nutrient agar Slant เติมNaCl 2% บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.3 นำโคโลนีที่ขึ้นบนอาหาร Nutrient agar Slant ตรวจสอบการติดสีแกรม และทดสอบ Biochemical test เพื่อยืนยันว่าเป็น *V. parahaemolyticus* Key Biochemical & Physiological Characteristics of Important *Vibrios*

1.4 นำโคโลนีที่ขึ้นบนอาหาร Nutrient agar Slant เจือจางด้วยสารลาย 0.98%NaCl เทียบปริมาณความเข้มข้นเชื้อตั้งต้นด้วย MacFarland No 0.5 ที่มีปริมาณเชื้อตั้งต้นเข้มข้นเริ่มต้น 1.5. x 10^8 CFU/ml

กุ้งเผา

- ชั่งกุ้งขาวแวนนาไม 25 กรัม นำมาล้างผ่านระบบน้ำประปาจำนวน 2 ครั้ง และล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อจำนวน 1 ครั้ง และซับตัวอย่างให้แห้งด้วยกระดาษซับอาหารปลอดเชื้อ โดยกุ้งแช่น้ำปลาต้องแช่น้ำโซดาขวดเป็นเวลา 1 นาทีหลังจากนั้นนำตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไม ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่นและแช่โซดาใส่ในบีกเกอร์ปลอดเชื้อและถ่ายเชื้อตั้งต้นจากวิธีข้อ2 ปริมาณเชื้อตั้งต้นเท่ากับ 1.5 x 10^8 CFU/ml จำนวน 1 มิลลิลิตร ดังนั้น ปริมาณเชื้อตั้งต้นในกุ้งเท่ากับ 6.0 x 10^6CFU/g จึงทำการผสมเชื้อให้เข้ากับตัวกุ้งให้ทั่ว
- นำกุ้งขาวแวนนาไมในข้อ3 ความร้อนในเตาปิ้งย่างไฟฟ้า อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียสและ 70 องศาเซลเซียส โดยติดตามอุณหภูมิ ณ จุดศูนย์กลางบริเวณกลางตัวกุ้ง ในขณะที่เผากุ้งโดย เทอร์โมมิเตอร์ชนิดเสียบในอาหารเป็นเวลาทั้งหมด 7 นาที

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การศึกษาการต้านทานความร้อนของ *C. perfringen* ในกะปิ

จากการศึกษาการต้านทานความร้อนของ C. perfringens ในกะปิที่อุณหภูมิ 63.0 องศาเซลเซียสและ71.0 และ 80 องศาเซลเซียส ที่มีความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้นที่ 6 log CFU/ml ที่ระยะเวลาต่างๆ ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 1 แสดงการทดสอบการต้านทานความร้อนที่อุณหภูมิ 63°C

เวลา(นาที)	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ค่าเฉลี่ย	Log(CFU/g)
0	150×10^4	170×10^4	160×10^4	6.204
1	110×10^4	110×10^4	110×10^4	6.040
3	114×10^3	70×10^3	92×10^3	4.964
5	2×10^3	75×10^3	38.5×10^3	4.585
7	135×10^2	158×10^2	146.5×10^2	4.166
10	110×10^1	120×10^1	115×10^1	3.061

จากตารางที่ 1 เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 63°C เป็นระยะเวลา 1, 3, 5, 7,และ 10 นาที การรอดชีวิตของ *Clostridium perfringens* เท่ากับ 6.040, 4.964, 4.585, 4.166, 3.061 CFU/gตามลำดับ จากเชื้อเริ่มต้น 6.204 CFU/g

ตารางที่ 2 แสดงการทดสอบการต้านทานความร้อนที่อุณหภูมิ 71°C

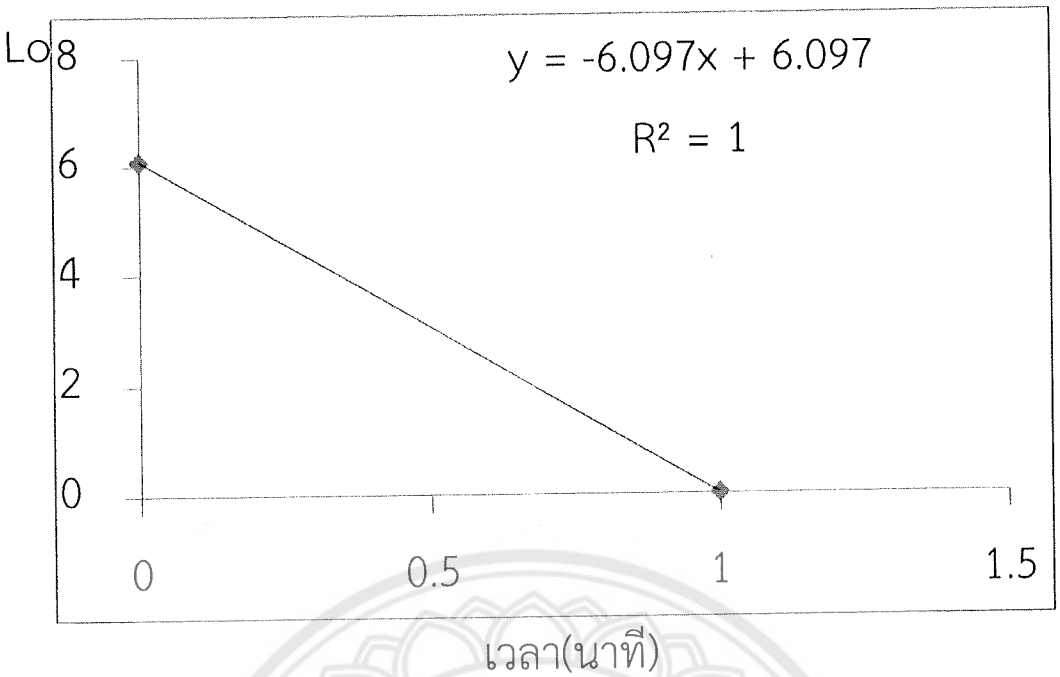
เวลา(นาที)	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ค่าเฉลี่ย	Log(CFU/g)
0	160×10^4	137×10^4	148.5×10^4	6.170
1	127×10^4	49.5×10^4	88.25×10^4	5.946
3	62×10^3	123×10^3	92.5×10^3	4.966
5	84×10^2	40×10^2	62×10^2	3.792
7	57×10^1	39.5×10^1	48.25×10^1	2.683
10	0	0	0	0

จากตารางที่ 2 เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 71°C เป็นระยะเวลา 1, 3, 5, 7 และ 10 นาที การรอดชีวิตของ *Clostridium perfringens* เท่ากับ 5.946, 4.966, 3.792, 2.683, 0 CFU/gตามลำดับ จากเชื้อเริ่มต้น 6.170 CFU/g

ตารางที่ 3 แสดงการทดสอบการต้านทานความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C

เวลา(นาที)	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ค่าเฉลี่ย	Log(CFU/g)
0	120×10^4	130×10^4	125×10^4	6.097
1	0	0	0	0
3	0	0	0	0
5	0	0	0	0
7	0	0	0	0
10	0	0	0	0

จากตารางที่ 3 เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C เป็นระยะเวลา 1, 3 ,5 ,7 และ 10 นาที การรอดชีวิตของ *Clostridium perfringens* เท่ากับ 0 CFU/g จากเชื้อเริ่มต้น 6.170 CFU/g 6.097



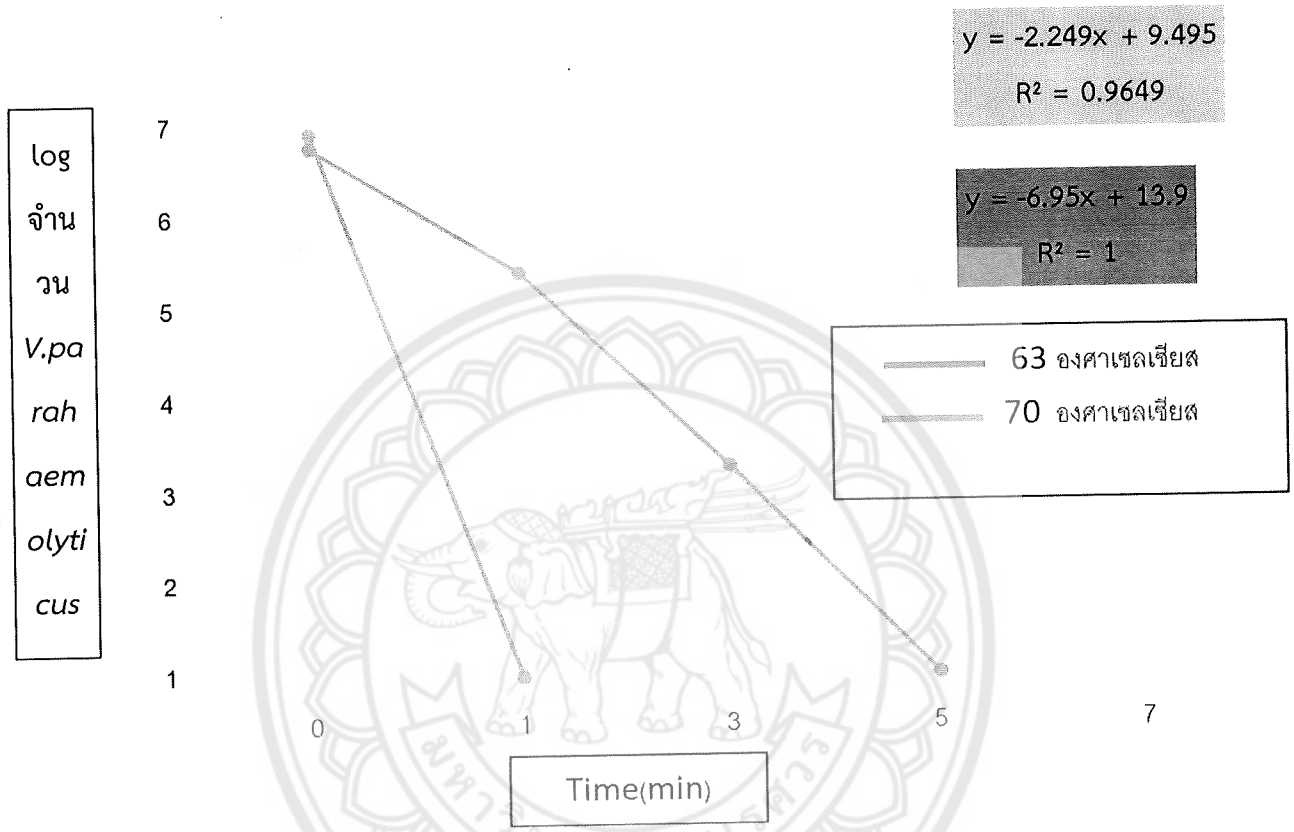
กราฟที่ 3 แสดงอัตราการรอดชีวิตของ Clostridium perfringens ที่อุณหภูมิ 80°C

จากกราฟที่ 1 แสดงอัตราการรอดชีวิตของ *Clostridium perfringens* ที่อุณหภูมิ 63°C ได้สมการเส้นตรงคือ y = - 0.3102x +6.1807, กราฟที่ 2แสดงอัตราการรอดชีวิตของ *Clostridium perfringens* ที่อุณหภูมิ 71°C ได้สมการเส้นตรงคือ y = - 0.6097x +6.5684 และกราฟที่3 แสดงอัตราการรอดชีวิตของ *Clostridium perfringens* ที่อุณหภูมิ 80°C ได้สมการเส้นตรงคือ
y = - 0.6097x +6.097 จากสมการเส้นตรงที่ได้สามารถนำไปหาค่า D-value และทำนายแนวโน้มของเวลาที่ทำให้ลดจำนวนเชื้อลง เพื่อความปลอดภัยตามมาตราฐานอาหารที่มีการกำหนดไว้

การศึกษาการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้ง

จากการศึกษาการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งเผาที่อุณหภูมิ 63.0 องศาเซลเซียสและ 70.0 องศาเซลเซียส ที่มีความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้นที่ 6 log CFU/ml ที่ระยะเวลาต่างๆ ได้ผลดังนี้ผลการต้านทานความร้อน *V. parahaemolyticus* ในกุ้งเผาที่อุณหภูมิ 63.0 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่า *V. parahaemolyticus* เริ่มต้นที่ 6 log CFU/ml เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 63.0 องศาเซลเซียส สามารถทำลาย *V. parahaemolyticus* ให้ลดจำนวนลงจนไม่สามารถนับจำนวนได้ ในเวลาที่ 5 นาที ดังรายละเอียดในตารางที่ 4 และภาพที่ 4

จากตารางแสดงจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตของ *V. parahaemolyticus* ที่รอดชีวิตในกุ้งเผา ทั้ง 2 อุณหภูมิ พบว่า หลังจากที่กุ้งเมื่อผ่านความร้อนไปแล้วเป็นเวลา 0, 1, 3 5 และ 7 นาที จะเห็นว่า ค่า CFU/g หรือ logCFU/g มีค่าลดลงที่เวลาแตกต่างกัน คือที่อุณหภูมิความร้อนที่ 63.0 องศาเซลเซียส ลดลงสูงสุด เท่ากับ 0 CFU/g ที่เวลา 5 นาที และที่อุณหภูมิความร้อนที่ 70.0 องศาเซลเซียส ลดลงสูงสุด เท่ากับ 0 CFU/g ที่เวลา 1 นาที และเมื่อนำค่า logCFU/gมากำหนดเป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์จะได้ดังนี้



ภาพที่ 4 กราฟแสดงการรอดชีวิตของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งเผา ที่อุณหภูมิ 63.0,และ 70.0 องศาเซลเซียส ในเวลาต่างๆ

เมื่อนำค่าที่ได้จากสมการความเป็นเส้นตรงมาคำนวณหาค่า D-value ของ *V.parahaemolyticus* ในกุ้งเผาโดยใช้สูตร D = -1/a ซึ่ง a คือความชันของสมการเส้นตรง ได้ดังนี้

ประเภท	D (วินาที)
กุ้งเผา	D_{63} =-1/-2.249 D_{63} = 26.4

สำนักหอสมุด
- 4 ก.พ. 2565

บทที่ 5

บทสรุปและอธิปรายผลการวิจัย

ความต้านทานความร้อนของ *Clostridium perfringens* ที่อุณหภูมิ 63, 71 และ 80°C พบว่า $D_{63°C}$, $D_{71°C}$ และ $D_{80°C}$ เท่ากับ 3.2 นาที, 1.6 นาที และ 0.1 นาที ตามลำดับ และที่อุณหภูมิ 80°Cพบว่าเชื้อที่เป็นเซลล์มีการตายทั้งหมด เมื่อให้ความร้อนไม่น้อยกว่า1นาทีค่า D-value สามารถนำไปหาแนวโน้มของอุณหภูมิและเวลาในการประกอบอาหารและการถนอมอาหารให้มีความปลอดภัย หรือ ปราศจากเชื้อก่อโรคโดย การย่างกะปิที่อุณหภูมิ 63°c ต้องใช้เวลามากกว่า 6.4 นาที, อุณหภูมิ 71°c ต้องใช้เวลามากกว่า 3.2 นาที และ อุณหภูมิ 80°c ต้องใช้เวลามากกว่า 0.3 นาที จึงจะทำให้เชื้อที่พบในกะปิ 10^4 CFU/g (กัญญา และคณะ,2543) ลดลงเหลือจำนวน 10^2 CFU/g ตามมาตรฐานมอก. 1080-2535

จากการศึกษาการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งเผา ที่อุณหภูมิ 63.0 องศาเซลเซียสและ70.0 องศาเซลเซียสในเวลา 0 ,1 ,3 ,5 และ 7นาที โดยพบว่าที่ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้นที่ 6 log CFU/mlที่ทำให้ปริมาณเชื้อลดลง 1 log cycle โดย ที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส ปริมาณเซลล์ลดจำนวนลงจนไม่สามารถนับได้ใน เวลาที่ 5 นาที มีค่า D-value 26.4 วินาทีและที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสปริมาณเซลล์ลดจำนวนลงจนไม่สามารถนับได้ในเวลาที่1นาทีมีค่า D-value 8.4 วินาที

อภิปรายผลการวิจัย

กะปิเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นบ้านที่นิยมบริโภคในกลุ่มคนเอเชีย ลักษณะของการนำมาบริโภคแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะ คือ บริโภคสด และมีการให้ความร้อนก่อนนำมาบริโภค การตรวจพบแบคทีเรีย *C. perfringens* มีปริมาณสูงสุด 10^4 CFU/g ในตัวอย่างกะปิราคาถูกจนถึงราคาแพง (อุษณีย์ และคณะ 2535 12) *C. perfringens* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อน สร้างเอนโดสปอร์ เจริญในสภาวะไม่มีออกซิเจน แต่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนเนื่องจากสามารถต้านทานออกซิเจนได้หรือทนต่อสภาวะที่มีอากาศ สามารถทนความร้อนได้ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 0.31-38 นาที การศึกษาการความต้านทานความร้อนของ *C. perfringens* ใน Pork luncheon roll พบว่า $D_{65°c}$ = 0.9 นาที หรือ 54 วินาที , $D_{70°c}$ = 0.2 นาที หรือ 12 วินาที (Byrne และ Bolton , 2002 13) ความต้านทานความร้อนของ *C. perfringens* NCTC 8798 ในเนื้อวัวบด ค่า $D_{59°c}$ เท่ากับ 7.2 นาที (Roy และคณะ 1981 , Gracia และHeredia, 2011 14-15) อุณหภูมิ 55-65 °C เซลล์ของ *Clostridium perfringens* ในเนื้อวัวและใส่สาร sodium pyrophosphate พบว่า ที่อุณหภูมิ 55, 57.5, 60,

62.5 ℃ มีค่า D value เท่ากับ 21.6, 10.2, 5.3, and 1.6 นาที ตามลำดับ แต่เนื้อไก่งวงบดค่า $D_{55°C}$ เท่ากับ 17.5 นาที และ $D_{62.5°C}$ เท่ากับ 1.3 นาที (Juneja และ Marmer,1998 16) ซึ่ง D-value ของแบคทีเรียมีความแตกต่างกัน มีผลมาจากคุณสมบัติและส่วนประกอบของอาหาร, จุลินทรีย์ที่สามารถพบได้ในอาหารแต่ละชนิดและสายพันธุ์ของ *Clostridium perfringens* ที่แตกต่างกัน จากมาตรฐานเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ ๓ ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช. 61/2561 ระบุว่า กะปิ อาหารหมักพื้นเมือง ให้พบ *C. perfringens* ได้ไม่เกิน 1000 CFU/g (รมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2560 และมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช 61/2561, 2561 17-18) ในงานวิจัยนี้พบว่าความสามารถในการต้านทานความร้อน *C. perfringens* ที่เป็นเซลล์สมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 63, 71 และ 80°C พบว่า $D_{63°C}$, $D_{71°C}$ และ $D_{80°C}$ เท่ากับ 3.2 นาที, 1.6 นาที และ 0.1 นาที ตามลำดับ ประโยชน์ของค่า D-value สามารถประเมินเวลาและอุณหภูมิในการให้ความร้อนของการประกอบอาหารเพื่อทำลายและลดปริมาณแบคทีเรียในอาหารจนถึงระดับที่มีความปลอดภัยและมีจุลินทรีย์อยู่ในปริมาณไม่เกินมาตรฐานกำหนด ซึ่งสำหรับการให้ความร้อนกับกะปิจนถึงจุด cold point ที่ อุณหภูมิ 63°c ต้องใช้เวลามากกว่า 3.2 นาที ที่อุณหภูมิ 71°c ต้องใช้เวลามากกว่า 1.6 นาที และ ที่อุณหภูมิ 80°c ต้องใช้เวลามากกว่า 0.1 นาที จะทำให้แบคทีเรีย *C. perfringens* ในกะปิที่มีจำนวนเซลล์ประมาณ 10^4 CFU/ ถูกทำลายและลดลงเหลือจำนวนให้น้อยกว่า 10^3 CFU/g ตามมาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และ มผช 61/2561 ทำให้กะปิที่นำไปบริโภคปลอดภัย

จากการศึกษาการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งเผา ที่อุณหภูมิปานกลาง 63 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิสูง 70 องศาเซลเซียส (สุรีย์และคณะ 2561 19) ระบุว่าเป็นอุณหภูมิขั้นต่ำในการรับประทานอาหารประเภทปิ้งย่าง การศึกษาการต้านทานความร้อน *V. parahaemolyticus* ในกุ้งที่อุณหภูมิ 55, 75 และ 95 องศาเซลซียส ได้ค่า D-value เท่ากับ125.02, 26.22 และ 16.48 วินาที การปรุงอาหารทะเลให้สุกและเพื่อให้การทำลายแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ที่ $D_{65°C}$ อย่างน้อย 1 นาที และ ที่ D ควรให้ความร้อนเป็นเวลา 2.5 นาที (9) ค่า $D_{50°C}$ เท่ากับ 1.75 นาที และ $D_{70°C}$ เท่ากับ 2 นาที (The International Commission on Microbiological Specifications for Foods Vibrio parahaemolyticus. In Micro-organisms in Foods 5 Microbiological Specifications of Food Pathogens, 1996, (CFSAN-FDA) Center for Food Safety and Applied Nutrition, U.S. Food and Drug Administration 2005) Johnston และ Brown, 2002 20-22) จากงานวิจัยในครั้งนี้พบว่า ค่า D-value ของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งเผาที่อุณหภูมิ 63.0,และ 70.0 องศาเซลเซียส พบว่า ที่ทำให้ปริมาณเชื้อลดลง 1 log cycle ใช้เวลา 26.4 วินาทีและ 8.4 วินาที ตามลำดับ

	D_{70} =-1/-6.95 D_{70} = 8.4

ตารางที่ 6 ตารางแสดงค่า D-value ในกุ้งเผาที่อุณหภูมิ 63.0,และ 70.0 องศาเซลเซียส

จากตารางแสดงค่า D-value ของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งเผาที่อุณหภูมิ 63.0,และ 70.0 องศาเซลเซียส พบว่า เวลาที่อุณหภูมิ 63.0,และ 70.0 องศาเซลเซียส ที่ทำให้ปริมาณเชื้อลดลง 1 log cycle ใช้เวลา 26.4 วินาทีและ 8.4 นาที

ตารางที่ 4 ตารางแสดงจำนวนเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่รอดชีวิตในกุ้งเผา เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 63.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่างๆ

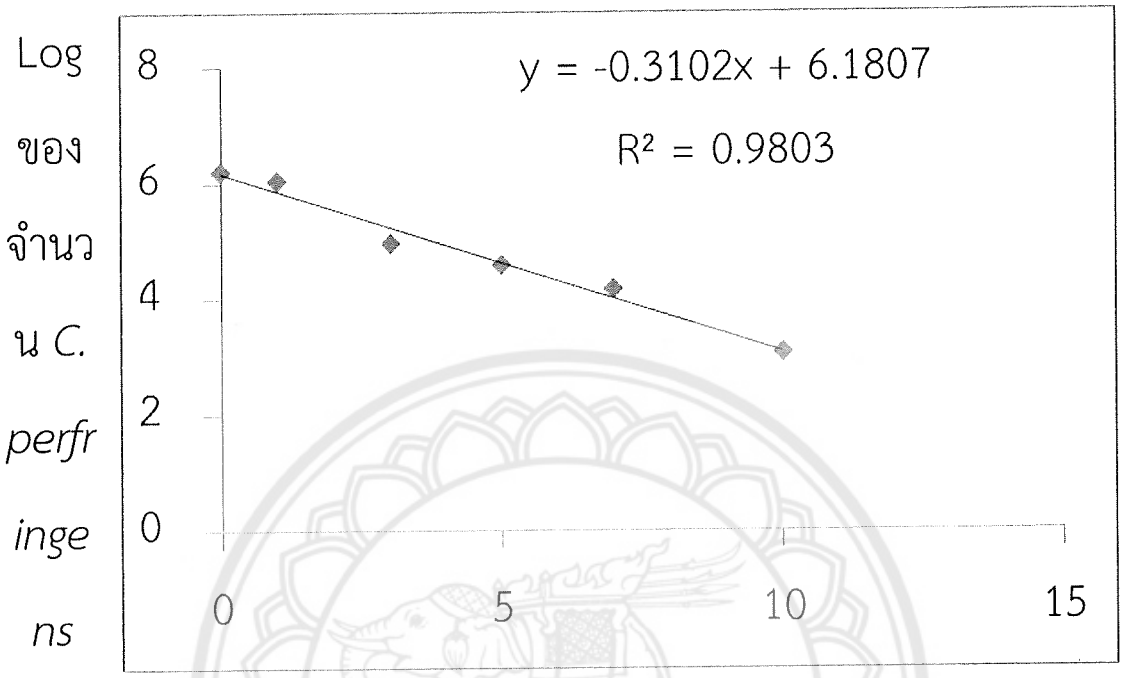
เวลา(นาที) / ปริมาณจุลินทรีย์	ความร้อนที่ 63.0 องศาเซลเซียส				
	0	1	3	5	7
CFU/g	6.19×10^6	2.56×10^5	1.98×10^3	0	0
Log(CFU/g)	6.79	5.41	3.29	1	1

ผลการต้านทานความร้อน *V. parahaemolyticus* ในกุ้งเผาที่อุณหภูมิ 70.0 องศาเซลเซียส

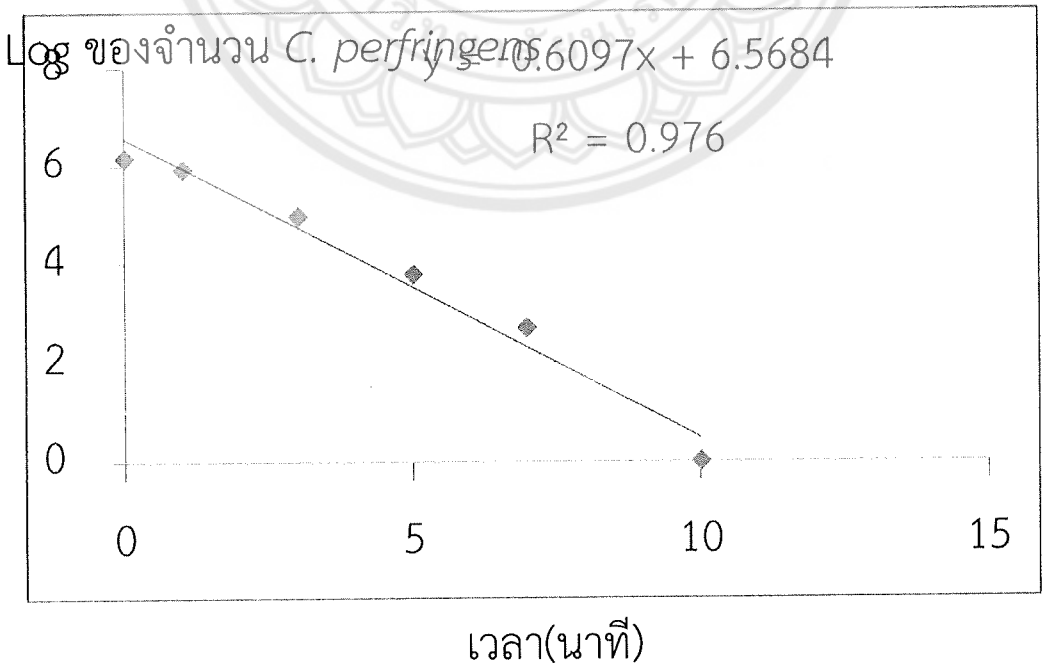
จากการทดลองพบว่า *V. parahaemolyticus* เริ่มต้นที่ 6 log CFU/ml เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70.0 องศาเซลเซียส สามารถทำลาย *V. parahaemolyticus* ให้ลดจำนวนลงจนไม่สามารถนับจำนวนได้ ในเวลาที่ 1 นาที ดังรายละเอียดในตารางที่ 5 และภาพที่ 4

ตารางที่ 5 ตารางแสดงจำนวนเชื้อ *V.parahaemolyticus* ที่รอดชีวิตในกุ้งเผา เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่างๆ

เวลา(นาที) / ปริมาณจุลินทรีย์	ความร้อนที่ 70.0 องศาเซลเซียส				
	0	1	3	5	7
CFU/g	9.02×10^6	0	0	0	0
Log(CFU/g)	6.95	1	1	1	1



กราฟที่ 1 แสดงอัตราการรอดชีวิตของ *Clostridium perfringens* ที่อุณหภูมิ 63°C



กราฟที่ 2 แสดงอัตราการรอดชีวิตของ *Clostridium perfringens* ที่อุณหภูมิ 71°C

บรรณานุกรม

กัญญา และคณะ.2543 .สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์(ออนไลน์). แหล่งที่มา : http://kukr.lib.ku.ac.th/db/BKN/search_detail/result/27042824 ตุลาคม 2560

กิตติศักดิ์ วสันติวงศ์ และคณะ.2010.แหล่งที่มา : http://research.dusit.ac.th/new/upload/file/c1249c0394405043b047bb28a3380482.pdf. 12 December 2017

ไทยรัฐ.(ออนไลน์). แหล่งที่มา : https://www.thairath.co.th/content/549536.10 พฤษภาคม 2560

พวงทอง ไกรพิบูลย์. 2556. หาหมอ.com. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : http://haamor.com/th/อาหารเป็นพิษ. 5 พฤษภาคม 2560

ปศุสัตว์. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : http://pasusat.com/กะปิ. 10 พฤษภาคม 2560

มติชนออนไลน์. 2559. เส้นทางเศรษฐี. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : https://www.sentangsedtee.com/today-news/article_5440. 17 พฤษภาคม 2560

รัฐบาลไทย. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : http://www.thaigov.go.th/news/contents/details/3567. 5 พฤษภาคม 2560

สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : http://fic.nfi.or.th/foodsafety/upload/damage/pdfคลอสตริเดียม %20เพอร์ฟริงเจน.pdf. 19 พฤษภาคม 2560

สำนักงานมาตราฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.(ออนไลน์). แหล่งที่มา : http://pr.tisi.go.thกะปิมอก-1080-2535/.30 พฤศจิกายน 2560

สยามกะปิ.(ออนไลน์). แหล่งที่มา : http://www.siamkapi.com/content/14-what-is-shrimp-paste-and-how-to-make. 30 พฤศจิกายน 2560

สุรินทร์พร ยิ้มกัน.กองตรวจสอบคุณภาพสินค้าประมง กรมประมง.(ออนไลน์). แหล่งที่มา : http://www.fisheries.go.th/quality/การผลิตกะปิไทย.pdf.15 พฤศจิกายน 2560

สุวรรณา เทพสุนทร. สำนักระบาดวิทยา. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : http://www.boe.moph.go.th/fact/Food_Poisoning.htm. 24 พฤษภาคม 2560

Andy Hwang and Lihan Huang. Ready-to-Eat Foods: Microbial Concerns and Control Measures(online). Available :https://books.google.co.th/books?id=OQPLBQAAQBAJ&pg=PA34&lpg=PA34&dq=c.perfringen+and+gravy+d-value&source=bl&ots=u_9C1kOkVH&sig=repofGCRsnq63pSSLudAiB9WWek&hl=th&sa=X&ved

R. J. Roy, F. F. Busta and D. R. Thompson, "Thermal Inactivation of *Clostridium perfringens* After Growth at Several Constant and Linearly Rising Temperatures" Vol.46, pp.1586-1591, Sep. 1981

S..Gracia and N. Heredia, "*Clostridium perfringens*: A Dynamic Foodborne Pathogen" Food and Bioprocess Technology. Vol.4. pp.624-630. 2011.

V.K. Juneja and B.S. Marmer, "Thermal inactivation of *Clostridium perfringens* vegetative cells in ground beef and turkey as affected by sodium pyrophosphate" Food Microbiology, vol.15,pp.281-287, 1998.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ "ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร. (2560)

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช 61/2561. กะปิ Shirmp paste Kapi. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพมหานคร. (2561)

สุรีย์ นานาสมบัติ และคณะ, "การตรวจหาการปนเปื้อน *Vibrio parahaemolyticus* ในอาหารทะเลสดที่จำหน่ายในกรุงเทพและการศึกษาการต้านทานความร้อน" วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณวารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ. ปีที่ 16, ฉบับที่ 3 , หน้าที่ 175-184, มกราคม 2561.

The International Commission on Microbiological Specifications for Foods Vibrio parahaemolyticus. In Micro-organisms in Foods 5 Microbiological Specifications of Food Pathogens,. Blackie Academic and Professional, London. pp 426-435 (1996)

M.D. Johnston and M.H. Brown MH, "An investigation into the changed physiological state of

=0ahUKEwiZ9O_ugpTYAhUHqY8KHRaJCF0Q6AEIQDAD#v=onepage&q=c.perfringen%20and%20gravy%20d-value&f=false. 12 June 2017

Charles Patrick Davis. 2015. emedicinehealth. (online). Available : https://www.emedicinehealth.com/food_poisoning/article_em.htm. 16 MAY 2017

Cinthia Carolina Abbona and Patricia VirginiaStagnitta .2016. ScienceDirect (online). Available : http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S10759964163001X?via%3Dihub. 22 MAY 2017

Healthwise staff. 2015. WedMD. (online). Available : https://www.webmd.com/food-recipes/food-poisoning/food-poisoning-and-safe-food-handling-references. 12 MAY 2017

Juneja et al.2001. Wiley Online Library(online). Available :http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1745-4565.2001.tb00312.x/abstract. 12 December 2017

Medthai. (online). Available : https://medthai.com/อาหารเป็นพิษ. 30 MAY 2017

University of Minnesota. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : http://enhs.umn.edu/current/5103_spring2003/perfringens/perfmetabolic.html 15 กันยายน 2560

กิตติศักดิ์ วสันติวงศ์ และคณะ.2010.แหล่งที่มา : http://research.dusit.ac.th/new/upload/file/c1249c0394405043b047bb28a3380482.pdf. 12 December 2017

ไทยรัฐ.(ออนไลน์). แหล่งที่มา : https://www.thairath.co.th/content/549536. 10 พฤษภาคม 2560

พวงทอง ไกรพิบูลย์. 2556. หาหมอ.com. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : http://haamor.com/th/อาหารเป็นพิษ. 5 พฤษภาคม 2560

มติชนออนไลน์. 2559. เส้นทางเศรษฐี. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : https://www.sentangsedtee.com/today-news/article_5440. 17 พฤษภาคม 2560

มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ.2550.กุ้งขาวแวนนาไม. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : http://www.acfs.go.th/standard/download/std_white_shrim_wannamite.pdf.24 กุมภาพันธ์ 2561 รัฐบาลไทย. (ออนไลน์). แหล่งที่ม http://www.thaigov.go.th/news/contents/details/3567.5 พฤษภาคม 2560

สุวรรณา เทพสุนทร. สำนักระบาดวิทยา. (ออนไลน์). แหล่งที่มา :

http://www.boe.moph.go.th/fact/Food_Poisoning.htm. 24 พฤษภาคม 2560

สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : www.nfi.or.th/foodsafety/upload/damage/pdf/vibrio_parahaemolyticus2.pdf. 8 มกราคม 2561

สำนักระบาดวิทยากรมควบโรคกระทรวงสาธารณสุข.Food Poisoning(ออนไลน์). แหล่งที่มา http://www.boe.moph.go.th/boedb/d506_1/ds_wk2pdf.php?ds=03&yr=60. 8 มกราคม 2561

สุรีย์ นานาสมบัติ.(2556). การตรวจหาการปนเปื้อน Vibrio parahaemolyticus ในอาหารทะเลสดที่จำหน่ายในกรุงเทพและ การศึกษาการต้านทานความร้อน.วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณวารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ ปีที่ 16 ฉบับที่ 3 .18 มกราคม 2561

สุภาวิณี วงศ์แย้ม.(ออนไลน์). แหล่งที่มา http://www.lib.kps.ku.ac.th/SpecialProject/Science/2546/Bs/SupaviniVs/SupaviniVsAll.pdf 18 มกราคม 2561

ทรงชัย สหวัชรินทร์.(2532).สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน การเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกาม.สนามเสือป่า ถนนศรีอยุธยา เขตดุสิต กรุงเทพ..18 มกราคม 2561

รายงานเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาและการพยากรณ์โรคเขตสุขภาพ.(ออนไลน์). แหล่งที่มา https://app.box.com/s/5gntlo7jbfmf8dgcu33wjoozb8hdjtbx

ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา(ออนไลน์). แหล่งที่มา :.http://www.aquathai.org/wed/project-view/01-60/.8 มกราคม 2561

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการอบเนื้อ..(ออนไลน์). แหล่งที่มา

อรุณี เอกพาณิชย์ถาวร วรรณวิบูลย์ กาญจนกุญชร และ ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, “การสำรวจคุณภาพกะปิในหกจังหวัดของประเทศไทย.” รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 30 สาขาเศรษฐศาสตร์และบริหารธุรกิจ สังคมศาสตร์ ศึกษาศาสตร์ มนุษยศาสตร์ สิ่งแวดล้อม คหกรรมศาสตร์ อุตสาหกรรมเกษตร วิทยาศาสตร์ วิศวกรรมศาสตร์, กรุงเทพ, 29 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2535, หน้า 473-484.

B. Byrne and D. J. Bolton, “Thermal inactivation of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* vegetative cells and spores in pork luncheon roll.” Food Microbiology, vol.23 No.8,pp 803-808, Jan. 2007

Vibrio bacteria as a survival mechanism in response to cold temperatures and studies on their sensitivity to heating and freezing" J.Appl Microbiol. Vol.92, pp.1066–77, 2002.

(CFSAN-FDA) Center for Food Safety and Applied Nutrition, U.S. Food and Drug Administration 2005. Quantitative risk assessment on the public health impact of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in raw oysters. Available from: http://www.cfsan.fda.gov/dms/vpra-toc.html . Accessed 20 กันยายน 2563.

การศึกษาการต้านทานความร้อนของแบคทีเรียก่อโรคในอาหารพร้อมบริโภค

Heat Resistance of Food Borne Pathogens in Ready-to-Eat Food

อุษณีย์ สุขสีทอง[1] เสาวรส บุญริ้ว[1] และ จารุวรรณ ทองสนิท โอคุมุระ[2]

[1]สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

[2]ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

[1]Email:Savarod23@gmail.com ; [2]Email: jaruwanth@nu.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เพื่อศึกษาค่าความต้านทานความร้อนของแบคทีเรียก่อโรคในอาหารพร้อมบริโภคให้ผู้ประกอบการผลิตอาหารที่ปลอดภัยแก่ผู้บริโภค ในการทดลองได้ศึกษาการต้านทานความร้อนของแบคทีเรียก่อโรค *Clostridium perfringens* และ *Vibrio parahemolyticus* โดยการเพาะเชื้อในอาหาร ได้แก่ กะปิเพื่อปรุงน้ำพริกกะปิ และกุ้งเผา และให้ความร้อนในระดับการต้มและปิ้งย่างระหว่างอุณหภูมิ 63-80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ในตัวอย่างอาหารทั้งสองชนิดเพื่อศึกษาการต้านทานความร้อนของแบคทีเรีย พบว่า เซลล์สมบูรณ์ของ *Clostridium perfringen* มีค่าความต้านทานความร้อนต่ำสุด คือ 3.2 , 1.6 และ 0.1 นาที ที่อุณหภูมิ 63 , 71 และ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ *Vibrio parahemolyticus* ในกุ้งเผาพบว่ามีค่าความต้านทานความร้อนเท่ากับ 26.4 และ 8.4 วินาที ณ อุณหภูมิ 63 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

คำสำคัญ: ค่าความต้านทานความร้อน , ค่า D value , *Clostridium perfringens* , *Vibrio parahemolyticus* , อาหารพร้อมบริโภค

Abstract

The aim of this research was to determine the decimal reduction times of pathogenic bacteria present on ready-to-eat food that applied for food safety manufacturing. The experiments were conducted with *Clostridium perfringens* in Kapi paste (Nam Phig Ka Pi) and *Vibrio parahaemolyticus* in grilled shrimp inoculated with the pathogens. The thermal induction between 63 - 80 °C of each genus were detected from inoculated food for 10 min. Extremely high decimal reduction times of 3.2, 1.6, and 0.1 min were obtained for *C. perfringens* in Kapi paste at 63, 71 and 80°C, respectively. Grilled shrimp at 63 and 70°C showed decimal reduction times were 26.4 and 8.4 seconds, respectively.

Keywords: Decimal reduction time , D value , *Clostridium perfringens* , *Vibrio parahemolyticus* , Ready-to-eat food

บทนำ (Introduction)

อาหารริมทาง หมายถึงอาหารพร้อมรับประทานหรือเครื่องดื่มที่จำหน่ายกันตามริมถนนหรือที่สาธารณะ มีทั้งที่เป็น ซุ้มขายอาหาร รถเข็นอาหาร หรือรถบรรทุกอาหาร ทั้งนี้ส่วนใหญ่ราคาอาหารจะต่ำกว่าอาหารในภัตตาคารและเป็นอาหารที่คนท้องถิ่นนิยมรับประทาน ทำให้อาหารริมทางพร้อมบริโภคสะท้อนถึงวัฒนธรรมการกินในแหล่งนั้นๆ (1) ปัจจัยที่มีผลต่อการบริโภคจากร้านริมวิถีในเขตกรุงเทพมหานคร มี 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยด้านการสะดวกในการเข้าถึงอาหารและปัจจัยรสชาติของอาหาร ในขณะที่ปัจจัยด้านความมีสุขลักษณะที่ดี ราคา และสารอาหารที่จะได้รับเป็นปัจจัยรองลงมา (2) แต่การรับประทานอาหารร้านริมทางต้องคำนึงถึงความสะอาด ความปลอดภัยจากโรคที่เกิดจากอาหารและน้ำ

กะปิเป็นอาหารที่คนไทยนิยมนำมารับประทาน เมนูเช่น น้ำพริกกะปิ หรือ น้ำจิ้มมะม่วง กระบวนการทำจะไม่มีการผ่านความร้อน สามารถทำให้จุลินทรีย์ที่ก่อโรคในอาหารเจริญเติบโตได้ จุลินทรีย์ที่พบในกะปิ เช่น *Clostridium perfringens* เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุหนึ่งของโรคอาหารเป็นพิษ พบบ่อยในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์หลายชนิดและมีอยู่ในดินและพื้นที่ที่ปนเปื้อนจากอุจจาระของมนุษย์หรือสัตว์ ปริมาณของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคได้คือ 1 ล้านเซลล์ต่อกรัมของอาหาร จากกระบวนการทำกะปิจะมีการปนเปื้อนดินและการหมักของกะปิเป็นสภาวะที่เหมาะแก่การเจริญเติบโตของ *Clostridium perfringens* (3-4) กุ้งเป็นอาหารทะเลที่มีเนื้ออร่อย โดยกุ้งถูกนำมารับประทานเป็นที่นิยมปัจจุบัน คือ การรับประทานแบบกึ่งสุกกึ่งดิบ คือ กุ้งเผา และรับประทานแบบดิบ คือ กุ้งแช่น้ำปลา เป็นต้น แบคทีเรียที่พบในกุ้งพบว่าเป็นกลุ่ม *Vibrio* spp. ตรวจพบแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* สูงถึงร้อยละ 48.7 กุ้งขาวปนเปื้อน *V. parahaemolyticus* คิดเป็นร้อยละ 70 ของจำนวนตัวอย่าง (5)

การรับประทานแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนในอาหารจะเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ (Food poisoning) ทำให้อาเจียนและท้องร่วง หลังจากที่รับประทานหรือดื่มของเหลวที่ปนเปื้อนแบคทีเรีย โดยการปนเปื้อนสามารถเกิดได้จากทุกขั้นตอนของอาหาร เช่นการปนเปื้อนเชื้อจากวัตถุดิบ การปรุง และการเก็บอาหาร ที่ไม่ถูกสุขลักษณะ ข้อมูลจากสำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค ระบุว่าตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม–23 ธันวาคม 2562 คนไทยเป็นโรคอาหารเป็นพิษ 105,672 ราย เสียชีวิต 1 ราย เป็นกลุ่มวัยทำงานและวัยผู้สูงอายุ (6) การพยากรณ์โรคและภัยสุขภาพคาดว่า มีโอกาสพบผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษเพิ่มขึ้น เนื่องจากสภาพอากาศที่ร้อนขึ้นส่งผลให้เชื้อโรคสามารถเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดีในอาหารที่บูดเสียง่าย เช่น อาหารที่มีกะทิเป็นส่วนประกอบ เป็นต้น (7) อาหารที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคติดต่อทางอาหารและน้ำที่ประชาชนควรเพิ่มความระมัดระวังเป็นพิเศษ 10 เมนูในช่วงเทศกาล ได้แก่ 1) จ่อม/ลาบ/ก้อยดิบ 2) อาหารทะเล 3) อาหารประเภทยำ 4) ส้มตำ 5) ข้าวมันไก่ 6) ข้าวผัด/ข้าวผัดโรยเนื้อปู 7) อาหารหรือขนมที่มีส่วนประกอบของกะทิสด 8) ขนมจีน 9) สลัดผัก และ 10) น้ำแข็งที่ผลิตไม่ได้มาตรฐาน (8) การตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคอาหารเป็นพิษ คือ *Vibrio parahaemolyticus* ร้อยละ 51.08 *Salmonella* spp. ร้อยละ 26.04 และ *Staphylococcus aureas* ร้อยละ 22.22 ในรอบ 5 ปีที่ผ่านมา (9) ความชุกของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษในอาหารในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย คือ *Staphylococcus aureus* , *Escherichia coli* , *Salmonella* , *Clostridium perfringens* , *Bacillus cereus* , *Vibrio cholerea* O1 ซึ่งพบในเนื้อหมู ข้าวมันไก่ ข้าวหมูแดง นมพาสเจอร์ไรซ์ และ น้ำดื่ม (10)

ค่าความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ถูกกำหนดให้แสดงในรูปของค่า D (D value) หรือ Decimal reduction time ซึ่งหมายถึงระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายจุลินทรีย์ลง 90 % ของจำนวนเริ่มต้น ที่อุณหภูมิหนึ่งๆ จุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีค่า D แตกต่างกัน การหาค่า D ทำได้โดยใส่จุลินทรีย์ที่ทราบจำนวนแน่นอนลงในภาชนะบรรจุแล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิคงที่โดยใช้เวลานานต่างๆกัน (11) กะปิและกุ้งนิยมบริโภคแบบไม่มีการผ่านความร้อนจึงเป็นปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เพื่อความปลอดภัยในการบริโภคจึงต้องมีการไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการทำลายแบคทีเรียก่อโรคให้มีปริมาณที่ปลอดภัยตามมาตรฐานอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์ในการทำวิจัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาความต้านทานความร้อน (D value) ของแบคทีเรีย *C. perfringens* ในกะปิ และ *V. parahaemolyticus* ในกุ้ง เพื่อให้ได้อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการให้ความร้อนกับกะปิและกุ้งก่อนนำมาประกอบอาหารเป็นน้ำพริกกะปิและรับประทานเป็นกุ้งเผาต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย (Materials and Methods)

1. การเตรียมสารละลายเชื้อตั้งต้น *Clostridium perfringens* และ *Vibrio parahaemolyticus*

1.1. การเตรียมสารละลายเซลล์ *C. perfringens*

- เพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว cooked meat medium ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน โดยใส่ AnaeroPack-Anaero (Mitsubishi)

- ปิเปต culture ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ fluid thioglycolate broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน เปรียบเทียบความขุ่นของ culture กับเตรียมสารละลาย McFarland No.0.5 ที่มีความเข้มข้นของเซลล์ เทียบเท่ากับ $1.5x10^8$ CFU/ml

1.2. การเตรียมสารละลายเซลล์ *V. parahaemolyticus*

- เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Nutrient และ NaCl 2% (w/v) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

- นำ culture broth จำนวน1 ลูปถ่ายลงใน Nutrient agar slant NaCl 2% บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

- นำโคโลนีจาก Nutrient agar slant จำนวน 1 ลูป ละลายในสารละลาย normal saline (0.98% NaCl) steriled เขย่าให้เข้ากันและเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นของเซลล์เทียบกับ MacFarland No 0.5 ที่มีปริมาณเชื้อตั้งต้นเข้มข้นเริ่มต้น $1.5x 10^8$ CFU/ml

2. การเตรียมตัวอย่างอาหารและการเพาะเลี้ยงเชื้อตั้งต้นเพื่อทดสอบการต้านทานความร้อน

- กะปิ

ชั่งกะปิน้ำหนัก 10 กรัม บรรจุในกระดาษฟอยด์ห่อให้มิดชิด และนำไปฆ่าเชื้อในกะปิ โดย เครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

- ปิเปตสารละลายเซลล์ *C. perfringens* มีจำนวนเซลล์ประมาณ $1.5x10^8$ cell/ml ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในกะปิปราศจากเชื้อและคลุกเคล้าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

- กุ้งขาวแวนนาไม

ชั่งกุ้งขาวแวนนาไมน้ำหนักประมาณ 25 กรัม ล้างผ่านน้ำประปาจำนวน 2 ครั้ง และล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 1 ครั้ง และซับตัวอย่างกุ้งให้แห้งด้วยกระดาษซับอาหารปลอดเชื้อ (อบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง)

- ปิเปตสารละลายเซลล์ *V. paraheamolyticus* เชื้อตั้งต้นลงในกุ้ง โดยปริมาณเชื้อตั้งต้นเท่ากับ 1.5×10^8 CFU/ml ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และทำคลุกผสมเชื้อให้เข้ากับตัวกุ้ง

3. การทดสอบการต้านทานความร้อนของแบคทีเรีย

- กะปิ

- นำตัวอย่างกะปิที่ใส่เชื้อตั้งต้น *C. perfringens* นำไปให้ร้อนที่อุณหภูมิ 63, 71 และ 80 องศาเซลเซียส ในตู้อบ (hot air oven) และทำการชักตัวอย่างกะปิ ในเวลาต่อไปนี้ 0, 1, 3, 5, 7, 10 นาที โดยติดตามอุณหภูมิของบริเวณจุด cold point ของตัวอย่าง ด้วยเทอโมมิเตอร์แบบปักในเนื้ออาหาร

- นำตัวอย่างกะปิ 10 กรัม เจือจางตัวอย่างกะปิด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ fluid thioglycolate broth ปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่าให้กะปิเป็นเนื้อเดียวเป็นสารละลายกะปิความเจือจาง 10^{-1} และทำการเจือจาง 10 เท่าเป็นลำดับๆ ถึงความเจือจาง 10^{-3} ด้วย fluid thioglycolate broth ปริมาตร 9 มิลลิลิตร

- ตรวจสอบการรอดชีวิตของแบคทีเรียโดยการนับจำนวนแบคทีเรีย *C. perfringens* วิธี pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain Heart Infusion agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน ตรวจนับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียที่อยู่ในช่วง 25-250 โคโลนีต่อ (CFU/g)

- นำข้อมูล log ของจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิตทั้งหมด (log CFU/g) และเวลา (min) ในการให้ความร้อน ณ อุณหภูมิหนึ่งๆ สร้างกราฟการรอดชีวิตของแบคทีเรีย (survival curve) และหาค่าการต้านทานความร้อนของแบคทีเรีย *C. perfringens* ในกะปิ (D-value)

- กุ้ง

- นำตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไมที่ใส่เชื้อตั้งต้น *V. parahemolyticus* นำไปให้ความร้อนด้วยเตาปิ้งย่างไฟฟ้า (ยี่ห้อ Otto) โดยติดตามอุณหภูมิ ณ จุดศูนย์กลางบริเวณกลางตัวกุ้ง ในขณะที่ทำการให้ความร้อนหรือย่างกุ้งด้วยเทอร์โมมิเตอร์ชนิดปักในเนื้ออาหารแบบสุ่ม โดยทำการตรวจวัดอุณหภูมิในตำแหน่ง cold point ในตัวกุ้งให้มีอุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส และ 70 องศาเซลเซียส เวลา 0, 1, 3, 5 และ 7 นาที ตามลำดับ

- ตรวจสอบการรอดชีวิตของแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* โดยนำตัวอย่างกุ้งพักให้เย็นในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ เป็นเวลา 2 นาที และทำการเจือจางตัวอย่างกุ้ง โดยการเติมสารละลายบัฟเฟอร์ Alkaline peptone water ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ตีปั่นด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 2 นาที และและทำการเจือจาง 10 เท่าเป็นลำดับๆ ด้วย Alkaline phosphate buffer ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จนถึงความเจือจางที่เหมาะสม

- ปิเปตสารละลายกุ้งเจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยง *V. parahaemolyticus* โดยวิธี spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar (TCBS) จำนวน 2

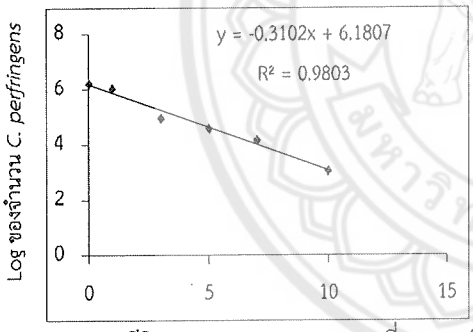
เพลท บ่มที่อุณหภูมิ *37* องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน *24* ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีสีเขียวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่คาดว่าเป็นแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ให้มีโคโลนีในช่วง 25-250 โคโลนี และคำนวณจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิต (CFU/g)

- นำข้อมูล *log* ของจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิตทั้งหมด (log CFU/g) และเวลา (min) ในการให้ความร้อน ณ อุณหภูมิหนึ่งๆ สร้างกราฟการรอดชีวิตของแบคทีเรีย (survival curve) และหาค่าการต้านทานความร้อนของแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ในกุ้งเผา (D-value)

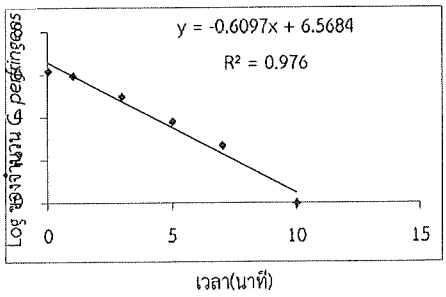
ผลการวิจัย/ทดลอง (Results)

การศึกษาการต้านทานความร้อนของ *C. perfringens* ในกะปิ

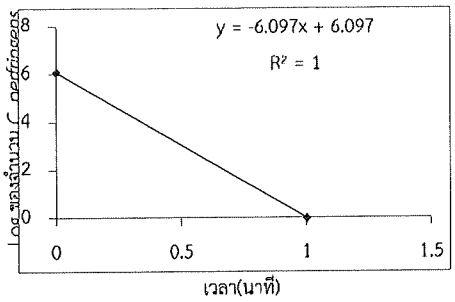
จากการศึกษาการต้านทานความร้อนของ *C. perfringens* ในกะปิ โดยทำการให้กะปิมีอุณหภูมิ 63.0 71.0 และ 80.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 นาที และตรวจสอบปริมาณของ *C. perfringens* ที่รอดชีวิตจากความร้อนโดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain heart infusion agar และสร้างกราฟการรอดชีวิตของแบคทีเรีย ณ อุณหภูมิระหว่างเวลาและจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิต (log) ดังแสดงกราฟที่ 1 2 และ 3



กราฟที่ 1 แสดงการรอดชีวิตของ *C. perfringens* ที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส



กราฟที่ 2 แสดงการรอดชีวิตของ *C. perfringens* ที่อุณหภูมิ 71 องศาเซลเซียส

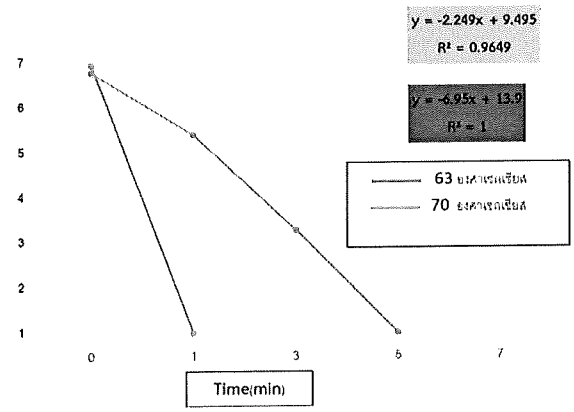


กราฟที่ 3 แสดงการรอดชีวิตของ *C. perfringens* ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

จากกราฟแสดงการรอดชีวิตของ *C. perfringens* ที่อุณหภูมิ 63 71 และ 80°C เมื่อคำนวณค่าความต้านทานความร้อนของแบคทีเรีย (D-value) โดยค่า D-value คือ ระยะเวลาที่ใช้ทำลายจำนวนจุลินทรีย์ให้ลดลง 90 เปอร์เซ็นต์ หรือ 1 log cycle ที่อุณหภูมิใดอุณหภูมิหนึ่ง คำนวณได้จากความชันของสมการเส้นตรงจากกราฟการรอดชีวิตของแบคทีเรีย ระหว่างค่า log ของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตหลังจากให้ความร้อน (log CFU/g) กับเวลา ค่า D = - 1/slope จากการคำนวณ ค่า D-value ของ *C. perfringens* ในกะปิที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 63 71 และ 80 องศาเซลเซียส มีค่า D value เท่ากัน 3.2 นาที, 1.6 นาที และ 0.1 นาที ตามลำดับ

การศึกษาการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งเผา

จากการศึกษาการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งเผา โดยทำการให้ความร้อนกับกุ้งที่อุณหภูมิ 63.0 และ 70.0 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 3, 5 และ 7 นาที และตรวจสอบปริมาณของ *V. parahaemolyticus* ที่รอดชีวิตจากความร้อนโดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar และสร้างกราฟการรอดชีวิตของแบคทีเรีย ณ อุณหภูมิระหว่างเวลาและจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิต (log) ดังแสดงกราฟที่ 4



กราฟที่ 4 แสดงการรอดชีวิตของ *V. parahaemolyticus* ที่อุณหภูมิ 63 และ 70 องศาเซลเซียส

จากกราฟแสดงการรอดชีวิตของ *V. parahaemolyticus* ที่อุณหภูมิ 63 และ 80°C เมื่อคำนวณค่าความต้านทานความร้อนของแบคทีเรีย (D-value) คำนวณได้จากความชันของสมการเส้นตรง จากกราฟการรอดชีวิตของแบคทีเรีย ระหว่างค่า log ของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตหลังจากให้ความร้อน (log CFU/g) กับเวลา ค่า D = - 1/slope จากการคำนวณ ค่า D-value ของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งเผาที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 63 และ 80 องศาเซลเซียส มีค่า D value เท่ากัน 26.4 วินาทีและ 8.4 วินาที ตามลำดับ

วิจารณ์ อภิปรายผล (Discussion)

กะปิเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นบ้านที่นิยมบริโภคในกลุ่มคนเอเชีย ลักษณะของการนำมาบริโภคแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะ คือ บริโภคสด และมีการให้ความร้อนก่อนนำมาบริโภค การตรวจพบแบคทีเรีย *C. perfringens* มีปริมาณสูงสุด 10^4 CFU/g ในตัวอย่างกะปิราคาถูกจนถึงราคาแพง (12) *C. perfringens* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อน สร้างเอนโดสปอร์ เจริญในสภาวะไม่มีออกซิเจน แต่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนเนื่องจากสามารถต้านทานออกซิเจนได้หรือทนต่อสภาวะที่มีอากาศ สามารถทนความร้อนได้ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 0.31-38 นาที การศึกษาการความต้านทานความร้อนของ *C. perfringens* ใน Pork luncheon roll พบว่า $D_{65°c}$ = 0.9 นาที หรือ 54 วินาที , $D_{70°c}$ = 0.2 นาที หรือ 12 วินาที (13) ความต้านทานความร้อนของ *C. perfringens* NCTC 8798 ในเนื้อวัวบด ค่า $D_{59°c}$ เท่ากับ 7.2 นาที (14-15) อุณหภูมิ 55-65 °C เซลล์ของ *Clostridium perfringens* ในเนื้อวัวและใส่สาร sodium pyrophosphate พบว่า ที่อุณหภูมิ 55, 57.5, 60, 62.5 °C มีค่า D value เท่ากับ 21.6, 10.2, 5.3, and 1.6 นาที ตามลำดับ แต่เนื้อไก่งวงบดค่า $D_{55°C}$ เท่ากับ 17.5 นาที และ $D_{62.5°C}$ เท่ากับ 1.3 นาที (16) ซึ่ง D-value ของแบคทีเรียมีความแตกต่างกัน มีผลมาจากคุณสมบัติและส่วนประกอบของอาหาร, จุลินทรีย์ที่สามารถพบได้ในอาหารแต่ละชนิดและสายพันธุ์ของ *Clostridium perfringens* ที่แตกต่างกัน

จากมาตรฐานเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ ๓ ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช. 61/2561 ระบุว่า กะปิอาหารหมักพื้นเมือง ให้พบ *C. perfringens* ได้ไม่เกิน 1000 CFU/g (17-18) ในงานวิจัยนี้พบว่าความสามารถในการต้านทานความร้อน *C. perfringens* ที่เป็นเซลล์สมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 63, 71 และ 80°C พบว่า $D_{63°C}$, $D_{71°C}$ และ $D_{80°C}$ เท่ากับ 3.2 นาที, 1.6 นาที และ 0.1 นาที ตามลำดับ ประโยชน์ของค่า D-value สามารถประเมินเวลาและอุณหภูมิในการให้ความร้อนของการประกอบอาหารเพื่อทำลายและลดปริมาณแบคทีเรียในอาหารจนถึงระดับที่มีความปลอดภัยและมีจุลินทรีย์อยู่ในปริมาณไม่เกินมาตรฐานกำหนด ซึ่งสำหรับการให้ความร้อนกับกะปิจนถึงจุด cold point ที่ อุณหภูมิ 63°c ต้องใช้เวลามากกว่า 3.2 นาที ที่อุณหภูมิ 71°c ต้องใช้เวลามากกว่า 1.6 นาที และ ที่อุณหภูมิ 80°c ต้องใช้เวลามากกว่า 0.1 นาที จะทำให้แบคทีเรีย *C. perfringens* ในกะปิที่มีจำนวนเซลล์ประมาณ 10^4 CFU/ ถูกทำลายและลดลงเหลือจำนวนให้น้อยกว่า 10^3 CFU/g ตามมาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และ มผช 61/2561 ทำให้กะปิที่นำไปบริโภคปลอดภัย

จากการศึกษาการต้านทานความร้อนของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งเผา ที่อุณหภูมิปานกลาง 63 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิสูง 70 องศาเซลเซียส (19) ระบุว่าเป็นอุณหภูมิขั้นต่ำในการรับประทานอาหารประเภทปิ้งย่าง การศึกษาการต้านทานความร้อน *V. parahaemolyticus* ในกุ้งที่อุณหภูมิ 55, 75 และ 95 องศาเซลซียส ได้ค่า D-value เท่ากับ125.02, 26.22 และ 16.48 วินาที (8) การปรุงอาหารทะเลให้สุกและเพื่อให้การทำลายแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ที่ $D_{65°C}$ อย่างน้อย 1 นาที และ ที่ D ควรให้ความร้อนเป็นเวลา 2.5 นาที (9) ค่า $D_{50°C}$ เท่ากับ 1.75 นาที และ $D_{70°C}$ เท่ากับ 2 นาที (20-22) จากงานวิจัยในครั้งนี้พบว่า ค่า D-value ของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งเผาที่อุณหภูมิ 63.0,และ 70.0 องศาเซลเซียส พบว่า ที่ทำให้ปริมาณเชื้อลดลง 1 log cycle ใช้เวลา 26.4 วินาทีและ 8.4 วินาที ตามลำดับ

บทสรุป (Conclusion)

การศึกษาค่าความต้านทานความร้อนของแบคทีเรียก่อโรคในอาหารพร้อมบริโภค ในการทดลองได้ศึกษาการต้านทานความร้อนของแบคทีเรียก่อโรค *Clostridium perfringens* ในกะปิและ *Vibrio parahemolyticus* ในกุ้ง โดยใช้ความร้อนในระดับการต้มและปิ้งย่างระหว่างอุณหภูมิ 63-80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตในตัวอย่างอาหารทั้งสองชนิด พบว่า *Clostridium perfringen* มีค่าความต้านทานความร้อนต่ำสุด คือ 3.2 , 1.6 และ 0.1 นาที ที่อุณหภูมิ 63 ,71

และ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และ *Vibrio parahemolyticus* จากการศึกษาในตัวอย่างกุ้งเผาพบว่ามีค่าเท่ากับ 26.4 และ 8.4 วินาที ณ อุณหภูมิ 63 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ค่าการต้านทานความร้อนของแบคทีเรียนี้สามารถนำไปประเมินระยะเวลาในการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆแก่อาหารทั้งสองชนิดเพื่อให้อาหารปลอดภัยจากเชื้อก่อโรค

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

ขอขอบคุณภาควิชาภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวรที่อนุเคราห์ห้องปฏิบัติการในการทำวิจัยครั้งนี้และ ขอขอบคุณทุนงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2560 ที่สนับสนุนทุนงบประมาณเพื่อศึกษาและทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง (References)

(1) ศูนย์อัจริยะเพื่ออุตสาหกรรมอาหาร (5 กันยายน 2563) อาหารริมทาง (street food) ในประเทศไทย. สืบค้นจาก http://fic.nfi.or.th/MarketOverviewDomesticDetail.php?id=145

(2) โอปอล์ สุวรรณเมฆ และ อภิวรรตน์ กรมเมือง, "ปัจจัยที่มีผลต่อความพึงพอใจในการบริโภคอาหารริมบาทวิถีในเขตกรุงเทพมหานคร" วารสารบริหารธุรกิจศรีนครินทรวิโรฒ. ปีที่ 10. ฉบับที่ 2. หน้า144-155. กรกฎาคม-ธันวาคม 2562.

(3) สิริพร สธนเสาวภาคย์ และคณะ, "การปรับปรุงคุณภาพทางจุลินทรีย์ของกะปิและการพัฒนาคุณภาพเพื่อการส่งออก" รายงานผลงานวิจัย ประจำปี 2539-2542. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. กรุงเทพมหานคร. (2543)

(4) กิตติศักดิ์ วสันติวงศ์ กรรณิการ์ สุรรักษ์ดิสัย และศิริพร บุญจะกุล, "ผลของระดับความร้อนในการฆ่าเชื้อน้ำพริกกะปิบรรจุกระป๋อง"วารสารวิจัย มหาวิทยาราชภัฏสวนดุสิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. Vol. 3 , No. 1 , หน้า75-85, January - December (2010)

(5) นฤชล ตันธราพรฤกษ์ และคณะ, "การตรวจวิเคราะห์ *Vibrio parahaemolyticus* (tdh$^+$) จากตัวอย่างกุ้งขาวที่จำหน่ายในจังหวัดสมุทรปราการโดยใช้เทคนิคดูเพล็กซ์พีซีอาร์" วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. ปีที่1. ฉบับที่2. หน้า 33-44, กค-ธค (2558)

(6) กองโรคติดต่อทั่วไปสำนักสื่อสารความเสี่ยงฯ กรมควบคุมโรค, (10 กันยายน 2563) "กรมควบคุมโรค แนะประชาชนยึดหลัก "สุก ร้อน สะอาด" ป้องกัน 2 โรคติดต่อทางอาหารและน้ำในช่วงเทศกาลปีใหม่" สืบค้นจาก https://ddc.moph.go.th/brc/news.php?news=10833&deptcode=brc&news_views=413

(7) กรมควบคุมโรค (10 กันยายน 2563) กรมควบคุมโรค พยากรณ์โรคและภัยสุขภาพ. สืบค้นจาก https://region3.prd.go.th/topic/news/9033

(8) กระทรวงสาธารณสุข (10 กันยายน 2563) สธ.เตือนหน้าร้อนช่วงสงกรานต์ ระวัง 10 เมนูเสี่ยงอุจจาระร่วง ปีนี้ป่วยแล้ว. สืบค้นจาก https://www.chiangmainews.co.th/page/archives/591131/

(9) จินต์ศุจี กอบกุลธร และคณะ. "สถานการณ์โรคอาหารเป็นพิษในประเทศไทยปี พ.ศ. 2557" รายงานการประเมินผลงาน. กรมควบคุมโรค. (2559)

(10) พลับพลึง เทพวิทักษ์กิจ และคณะ. "ความชุกของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษในอาหารที่มีความสัมพันธ์กับการก่อโรคในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย" วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. ปีที่ 54. หน้า 166-173 (2555)

(11) ทิพาพร อยู่วิทยา. "สาระหน้ารู้เกี่ยวกับอาหารกระป๋องที่มีความเป็นกรดต่ำ การกำหนดกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน" อาหาร. ปีที่ 22. ฉบับที่ 4. หน้า39-50 (2535)

(12) อรุณี เอกพาณิชย์ถาวร วรรณวิบูลย์ กาญจนกุญชร และปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, "การสำรวจคุณภาพกะปิในหกจังหวัดของประเทศไทย." รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 30 สาขาเศรษฐศาสตร์และบริหารธุรกิจ สังคมศาสตร์ ศึกษาศาสตร์ มนุษยศาสตร์ สิ่งแวดล้อม คหกรรมศาสตร์ อุตสาหกรรมเกษตร วิทยาศาสตร์ วิศวกรรมศาสตร์, กรุงเทพ, 29 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2535, หน้า 473-484.

(13) B. Byrne and D. J. Bolton, "Thermal inactivation of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*

vegetative cells and spores in pork luncheon roll." Food Microbiology, vol.23 No.8,pp 803-808, Jan. 2007

(14) R. J. Roy, F. F. Busta and D. R. Thompson, "Thermal Inactivation of *Clostridium perfringens* After Growth at Several Constant and Linearly Rising Temperatures" Vol.46, pp.1586-1591, Sep. 1981

(15) S..Gracia and N. Heredia, "*Clostridium perfringens*: A Dynamic Foodborne Pathogen" Food and Bioprocess Technology. Vol.4. pp.624-630. 2011.

(16) V.K. Juneja and B.S. Marmer, "Thermal inactivation of *Clostridium perfringens* vegetative cells in ground beef and turkey as affected by sodium pyrophosphate" Food Microbiology, vol.15,pp.281-287, 1998.

(17) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ "ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร. (2560)

(18) มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช 61/2561. กะปิ Shirmp paste Kapi. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพมหานคร. (2561)

(19) สุรีย์ นานาสมบัติ และคณะ, "การตรวจหาการปนเปื้อน *Vibrio parahaemolyticus* ในอาหารทะเลสดที่จำหน่ายในกรุงเทพและการศึกษาการต้านทานความร้อน" วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณวารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ. ปีที่ 16, ฉบับที่ 3 , หน้าที่ 175-184, มกราคม 2561.

(20) The International Commission on Microbiological Specifications for Foods Vibrio parahaemolyticus. In Micro-organisms in Foods 5 Microbiological Specifications of Food Pathogens,. Blackie Academic and Professional, London. pp 426-435 (1996)

(21) M.D. Johnston and M.H. Brown MH, "An investigation into the changed physiological state of *Vibrio* bacteria as a survival mechanism in response to cold temperatures and studies on their sensitivity to heating and freezing" J.Appl Microbiol. Vol.92, pp.1066–77, 2002.

(22) (CFSAN-FDA) Center for Food Safety and Applied Nutrition, U.S. Food and Drug Administration 2005. Quantitative risk assessment on the public health impact of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in raw oysters. Available from: http://www.cfsan.fda.gov/dms/vpra-toc.html . Accessed 20 กันยายน 2563.

- 600 million – almost 1 in 10 people in the world – fall ill after eating contaminated food.

420,000 die every year

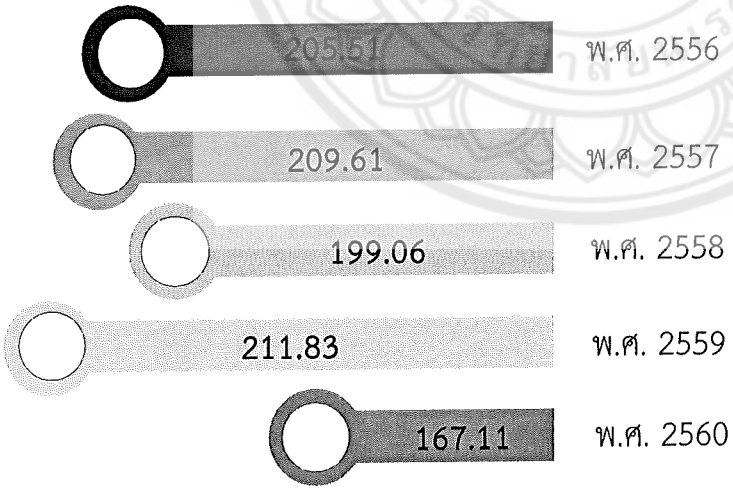
Food Safety

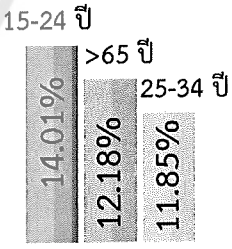
South-East Asia Region

175,000 die every year

https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety 30 April 2020

สถานการณ์โรคอาหารเป็นพิษ (FOOD POISONING) ในประเทศไทย



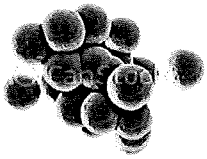


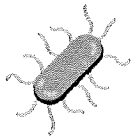
กลุ่มอายุ

สัญชาติเป็นไทย	ร้อยละ 98.3
อื่นๆ	ร้อยละ 0.7
และพม่า	ร้อยละ 0.5

อัตราป่วยต่อประชากรแสนด้วยโรคอาหารเป็นพิษต่อประชากรแสนคน ปีพ.ศ. 2556-2560

จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดอาหารเป็นพิษ





Vibrio parahaemolyticus ***Staphylococcus aureus*** ***Salmonella* spp.**

สาเหตุหลัก 1. การทานอาหารร่วมกัน 2. เมนูเสี่ยง 3. การทานอาหารค้างมื้อ

FIVE KEYS TO SAFER FOOD

1. Keep clean

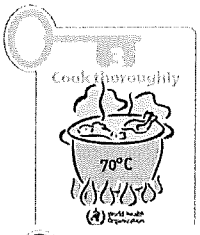
ล้างมือให้สะอาดก่อนทำอาหาร และหลังจากออกจากห้องน้ำ ฆ่าเชื้อและล้างเครื่องมือพื้นผิวสัมผัสอาหาร ป้องกันแมลง สัตว์เลี้ยงและสัตว์กัดเทะออกจากห้องครัว

2. Separate raw and cooked - แยกเนื้อสัตว์ เนื้อไก่ อาหารทะเลสด ออกจากอาหารชนิดอื่น

-แยกเขียงสำหรับอาหารสดและอาหารสุกแล้ว

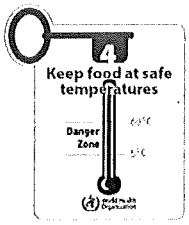
3. Cook thoroughly

- ให้ความร้อนอาหารประเภทเนื้อสัตว์ให้สุกทั่ว โดยมีอุณหภูมิถึง 70 องศาเซลเซียส ร่วมถึงการอุ่นอีกครั้ง



4. Keep food at safe temperatures

- ไม่เก็บอาหารไว้ที่อุณหภูมิห้องเกิน 2 ชั่วโมง
- อุณหภูมิตู้เย็นควรต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส
- อาหารเสริฟร้อนควรเกิน 60 องศาเซลเซียส



5. Use clean water and raw materials

-ใช้น้ำสะอาดหรือน้ำที่ผ่านการบำบัด

-เลือกวัตถุดิบในการผลิตที่สดใหม่และสะอาด และอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

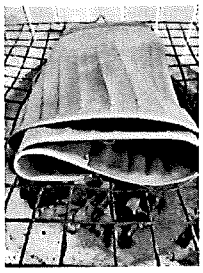
-ล้างผักและผลไม้ให้สะอาดก่อนรับประทานสด

-ไม่รับประทานอาหารที่หมดอายุ

World Health Organisation's five keys to safer food

การผลิตน้ำพริกกะปิอย่างปลอดภัย

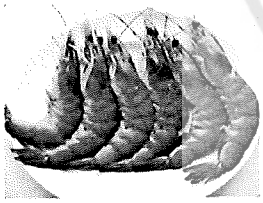
นำกะปิสดปริมาณที่ต้องการ



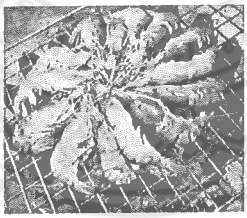
- ห่อด้วยวัสดุ ได้แก่ ใบตองหรือฟอยด์ แผ่กะปิให้มีความหนา 1 เซนติเมตร
- วางไว้บนไฟร้อน นำเทอโมมิเตอร์แบบปักในอาหารวัดบริเวณตรงกลางของกะปิ ให้มีความร้อนเท่ากับ
  63 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3.2 นาที
  71 องศาเซลเซียส เป็นเวลา ประมาณ 1.6 นาที
  80 องศาเซลเซียนส เป็นเวลาประมาณ 6 วินาที

สามารถนำกะปิที่ผ่านความร้อนปรุงเป็นน้ำพริกกะปิได้อย่างปลอดภัย จากแบคทีเรีย *Clostridium perfringens*

การย่างกุ้งเผาอย่างปลอดภัย



นำกุ้งสด(ขนาดเล็ก)ล้างน้ำให้สะอาด



นำกุ้งเผาบนไฟร้อน นำเทอโมมิเตอร์แบบปักในอาหารวัดบริเวณตรงกลางของกุ้ง ให้มีความร้อนเท่ากับ
63 องศาเซลเซียส (ไฟปานกลาง) นับเลข 1-30 กลับด้าน
70 องศาเซลเซียส (ไฟร้อนจัด) เป็นเวลา นับเลข 1-9 กลับด้าน

กุ้งเผาปลอดภัย จากแบคทีเรีย *Vibrio parahaemolyticus*

มหาวิทยาลัยนเรศวร