บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

เต้าเจี้ยวเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักถั่วเหลือง แป้งสาลี และเชื้อรา *Aspergillus oryzae* ในน้ำเกลือ เป็นเวลา 1-2 เดือน จึงนำมาบริโภคได้ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีน้ำตาล รสเค็ม นิยมใช้เป็นเครื่องปรุงรส (Beuchat, 1987) ในประเทศไทยแบ่งการผลิตได้เป็น 3 ระดับ คือ อุตสาหกรรมขนาดใหญ่มีส่วนแบ่งการตลาด ร้อยละ 50 อุตสาหกรรมขนาดกลางและเล็กมีส่วนแบ่งการตลาดประมาณ ร้อยละ 40 และการผลิตในกลุ่มครัวเรือน มีส่วนแบ่งการตลาดร้อยละ 10 (Mongkolwai *et al.*,1997)

การผลิตเต้าเจี้ยวในครัวเรือนเป็นการรวมกลุ่มผลิต เพื่อตอบสนองโครงการเศรษฐกิจแบบพอเพียงของรัฐบาลและส่งเสริมให้ประชาชนในท้องถิ่นมีงานทำ และมีกำลังผลิตประมาณ 1000 – 2000 ขวดต่อเดือน (ขวดละ 250 กรัม) เต้าเจี้ยวที่ผลิตจากกลุ่มชุมชนมักเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคในท้องถิ่น เนื่องจากเป็นการอุดหนุนสินค้าในชุมชนเองและมีราคาถูก เช่น ขนาดบรรจุ 250 กรัม ราคา 15 บาท แต่เต้าเจี้ยวจากอุตสาหกรรมขนาดใหญ่มีราคาประมาณ 23 - 25 บาท แต่เนื่องจากการผลิตในระดับครัวเรือนเป็นแบบดั้งเดิมและสภาวะแวดล้อมที่ควบคุมไม่ได้ จึงทำให้เกิดปัญหาด้านความปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคต่อผู้บริโภค (Iwuoha and Eke, 1996) ซึ่งจากผลการวิเคราะห์เต้าเจี้ยวของกลุ่มเกษตรกรในจังหวัดตรัง กระบี่ พังงาและพัทลุง รวม 11 กลุ่ม พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ทำให้อาหารเป็นพิษ คือ *Bacillus cereus* ร้อยละ 64.3 และใช้วัตถุกันเสีย คือ กรดเบนโซอิกเกินมาตรฐานร้อยละ 9 (ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ตรัง, 2540) เมื่อสำรวจกระบวนการผลิตในระดับครัวเรือน พบว่ามีสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ปนเปื้อนมาจากวัตถุดิบ คือ ถั่วเหลือง แป้งสาลี และหัวเชื้อ *A. oryzae* และความร้อนที่ใช้ในการผลิต เช่น ต้มหรือนึ่งถั่วเหลืองและคั่วแป้งสาลีไม่สามารถ

ทำลายสปอร์ได้ ส่วนเต้าเจี้ยวที่ผลิตจาก อุตสาหกรรมขนาดใหญ่จำนวน 6 ยี่ห้อที่ขายในห้างสรรพสินค้า ไม่พบเชื้อ *B. cereus* และใช้วัตถุกันเสียชนิดกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในปริมาณ 600 – 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การใช้สารทำความสะอาด (sanitizing agent) เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและ *B. cereus* ที่ปนเปื้อนในถั่วเหลืองซึ่งมีกลไกการทำลายคือสารจะซึมผ่านผนังเซลล์เพื่อทำลายองค์ประกอบภายในและทำลายประจุของจุลินทรีย์หรือทำปฏิกิริยากับอนุมูลโลหะที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโต สำหรับสารลดแรงตึงผิว (surfactant) จะช่วยลดแรงยึดเกาะระหว่างจุลินทรีย์และผิวของถั่วเหลือง (Beuchat, 1998 ; Morpeth, 1995) รังสีแกมมาและคลื่นไมโครเวฟสามารถทำลายสปอร์ของ *B. cereus* ในแป้งสาลีได้ โดยรังสีแกมมาทำให้โครงสร้างของ DNA ผิดปกติทำให้ไม่สามารถจำลองตัวเองเพื่อการแบ่งเซลล์ได้ (Nester *et al.*, 1998) ส่วนคลื่นไมโครเวฟ ทำลายเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกลไกของความร้อนและไม่ใช้ความร้อน (cold pasturization) (Datta and Davidson, 2001) การทำลายสปอร์ *B. cereus* โดยใช้วัตถุกันเสียชนิดกรดอ่อน คือ กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกจะช่วยยืดอายุการเก็บของเต้าเจี้ยวได้ เมื่อวัตถุกันเสียเข้าไปภายในเซลล์ จะทำลายพันธะของโปรตีน ทำให้โปรตีนเกิดการเสื่อมสภาพทำให้เซลล์จุลินทรีย์ไม่สามารถคงตัวอยู่ได้ (Nester, 1998) นอกจากนี้การใช้แบคเทอริโอซินซึ่งเป็นสารยับยั้ง จุลินทรีย์จากธรรมชาติซึ่งมีกลไกการยับยั้งคือยับยั้งการสร้างผนังเซลล์รบกวนหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ ยับยั้งการสร้างกรดนิวคลีอิก และยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน (Hoover, 1993) จึงเป็นแนวทางหนึ่งเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี

นอกจากนี้การผลิตเต้าเจี้ยวของกลุ่มเกษตรกร พบว่ามีปัญหาเรื่องงบประมาณเพื่อแก้ไขจุดบกพร่องของการผลิต รวมทั้งขาดความรู้ในด้านวิชาการและการตลาด ภาครัฐบาลควรส่งเสริมในด้านงบประมาณและการพัฒนาบุคลากร

งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อปรับปรุงและพัฒนากระบวนการผลิตเต้าเจี้ยวโดยอุตสาหกรรมพื้นบ้าน เพื่อให้ได้คุณภาพตามเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่จะคุ้มครองผู้บริโภคในชุมชนให้ปลอดภัยจากจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเป็นพิษที่ปนเปื้อนมาในผลิตภัณฑ์ได้

ตรวจเอกสาร

1. เต้าเจี้ยว

เต้าเจี้ยวเป็นอาหารหมักพื้นเมืองที่นิยมบริโภคในแถบเอเชียตะวันออกมีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว (semi-solid fermented food) ผลิตจากถั่วเหลืองเพียงอย่างเดียว หรือ ถั่วเหลืองผสมกับข้าว ข้าวบาเล่ย์หรือแป้ง มีรสชาติ (หวานหรือเค็ม) และสี (ขาว แดงหรือน้ำตาล) ขึ้นกับชนิดของเต้าเจี้ยว (Beuchat, 1987) ในประเทศไทยผู้บริโภคมักนิยมนำเต้าเจี้ยวมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ปรุงรสในอาหารชนิดต่างๆ เต้าเจี้ยวมีคุณค่าทางโภชนาการ ประกอบด้วย โปรตีนร้อยละ 19.4 ไขมันร้อยละ 9.4 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 13.2 และเถ้าร้อยละ 13.0 (Rehm and Reed, 1983)

1.1 วัตถุดิบสำหรับการผลิตเต้าเจี้ยว

1.1.1 ถั่วเหลือง เป็นวัตถุดิบหลักและเป็นแหล่งโปรตีน

1.1.2 แป้ง นิยมใช้แป้งสาลี เพื่อปรับความชื้นของถั่วเหลืองให้มีค่าประมาณร้อยละ 45 เพื่อให้เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์และเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับจุลินทรีย์ในการหมัก

1.1.3 เกลือ เตรียมเป็นน้ำเกลือให้มีความเข้มข้นร้อยละ 4 - 13 เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ทำให้เกิดโรค ขณะเดียวกันช่วยให้จุลินทรีย์ที่ต้องการเจริญได้ (Beuchat, 1987)

1.1.4 หัวเชื้อเริ่มต้น ใช้เชื้อรา *Aspergillus oryzae* ในลักษณะเป็นโคนิเดียแห้งซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความสม่ำเสมอและควบคุมการผลิตได้ดี (Samson, 1993) การเตรียมเชื้อราสำหรับใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการหมักโคจิ โดยใช้ปลายข้าวบดหยาบๆ ผสมน้ำเป็นวัสดุในการเพาะเลี้ยงบรรจุในถุงพลาสติกแล้วเติมสปอร์ของเชื้อ *A. oryzae* บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6-7 วัน จะได้ผงสปอร์ของเชื้อราสำหรับเตรียมโคจิได้ทันที และอาจเก็บรักษาไว้โดยขยี้ถุงจนสปอร์แตกแล้วเก็บในตู้เย็น (เก็บได้ 1 เดือน) หรืออบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง (เก็บได้ 6 เดือน) หรืออาจนำไปผสมกับแป้งในอัตราส่วนแป้งต่อผงสปอร์เท่ากับ 20 : 1 (เก็บได้ 6 เดือน)

(วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2536) นอกจากนี้ยังใช้โคจิเก่าเพื่อเป็นหัวเชื้อในการผลิตเต้าเจี้ยวได้อีกวิธีหนึ่ง

1.2 การผลิตเต้าเจี้ยว

1.2.1 การเตรียมถั่วเหลือง โดยนำถั่วเหลืองแช่น้ำที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาประมาณ 18 – 22 ชั่วโมง (เพื่อปรับความชื้นให้เท่ากับร้อยละ 35 โดยประมาณ) ถั่วเหลืองหลังจากแช่น้ำ ปริมาตรเพิ่มขึ้นร้อยละ 240 และน้ำหนักเพิ่มขึ้นร้อยละ 220 – 240 ทั้งนี้ขึ้นกับอัตราส่วนโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตของถั่วเหลือง (Reed, 1987) แล้วทำให้สุกด้วยการนึ่งหรือต้มและวางพักไว้ให้เย็น

1.2.2 การเตรียมโคจิ เตรียมโดยใช้สปอร์ของเชื้อรา *A. oryzae* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นเติมลงในถั่วเหลืองที่คลุกด้วยแป้งสาลีแล้วคลุกเคล้าให้สปอร์กระจายให้ทั่ว บ่มที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 40-50 ชั่วโมง โดยให้มีการถ่ายเทอากาศ ควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 28 ถึง 35 องศาเซลเซียสและความชื้นประมาณร้อยละ 55-60 เพื่อให้เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อรา *A. oryzae* ทั้งนี้ไม่ควรให้มีความชื้นมากเกินไปเพื่อป้องกันการเจริญของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการ (Beuchat, 1987)

1.2.3 การหมัก จะนำโคจิที่ได้จากขั้นตอนการเตรียมโคจิบรรจุในโอ่งเคลือบแล้วเติมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 4 - 22 ให้ท่วมโคจิแล้วปิดฝา หมักที่อุณหภูมิ 30 – 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 – 2 เดือน ทั้งนี้จะหมักเต้าเจี้ยวได้ทั้งบริเวณกลางแจ้งและในโรงเรือน

1.2.4 การเก็บเกี่ยว นำเต้าเจี้ยวที่ผ่านการหมัก ไปพาสเจอไรซ์เพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์โดยการต้ม แล้วบรรจุในภาชนะเช่น ขวดแก้ว ที่ต้มหรือนึ่งเพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์แล้วบรรจุเต้าเจี้ยวใส่ภาชนะในขณะร้อน

กระบวนการผลิตเต้าเจี้ยวแสดงดังภาพที่ 1

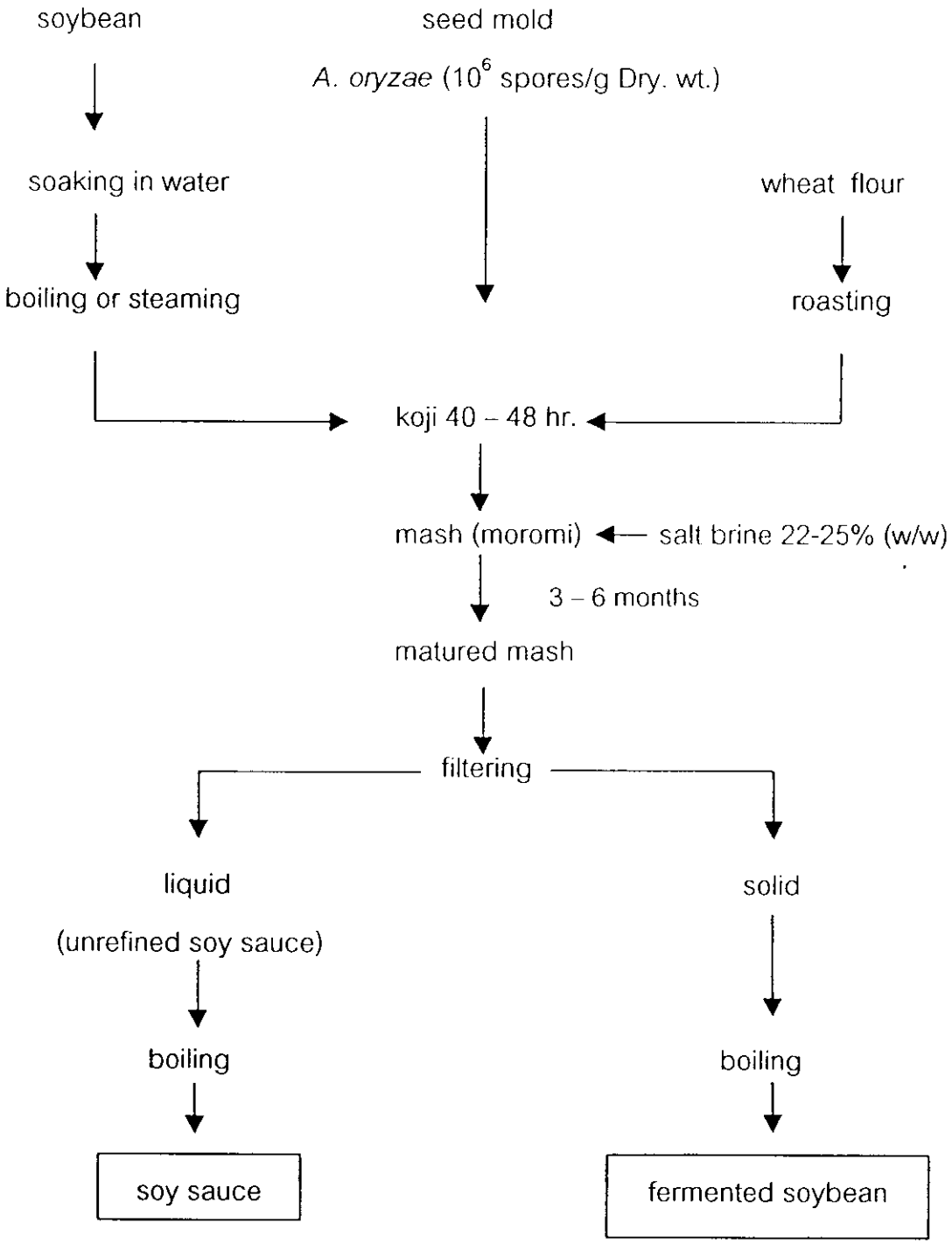

Figure 1 Manufacturing methods of soy sauce and fermented soybean in Thailand

ภาพที่ 1 แสดงขั้นตอนการผลิตซีอิ้วและเต้าเจี้ยวในประเทศไทย

Source : Mongkolwai *et al.*, (1997)

ในประเทศไทยการผลิตซีอิ้วและเต้าเจี้ยวมีการผลิตในระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ 2 โรงงาน คือ ง่วนเชียงและหยั่นหว่อหยุ่น มีส่วนแบ่งการตลาดร้อยละ 50 ได้รับเทคโนโลยีการผลิตและซื้อเครื่องมือจากประเทศญี่ปุ่นหรือไต้หวัน ส่วนโรงงานอุตสาหกรรมขนาดกลางและเล็ก มีประมาณ 73 โรงงาน มีส่วนแบ่งการตลาดร้อยละ 40 ส่วนที่เหลือเป็นซีอิ้วและเต้าเจี้ยวที่ผลิตจากอุตสาหกรรมระดับครัวเรือนจำหน่ายในท้องถิ่นนั้นๆ ซึ่งในอุตสาหกรรมขนาดกลาง เล็กและครัวเรือน ยังคงใช้กระบวนการผลิตแบบดั้งเดิม (Mongkolwai *et al.*, 1997) และในการผลิตแบบดั้งเดิมนั้นมีบางขั้นตอนที่ง่ายต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ เช่น การเตรียมโคจิ การหมัก เป็นต้น รวมทั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนจากวัตถุดิบและสภาวะแวดล้อมที่ไม่สามารถควบคุมได้ ทำให้เกิดปัญหาด้านความปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคต่อผู้บริโภค (Iwuoha and Eke, 1996)

1.3 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการหมักเต้าเจี้ยว

1.3.1 เชื้อรา เชื้อราที่มีความสำคัญและนิยมใช้ในการผลิตซีอิ้วและเต้าเจี้ยว คือ เชื้อ *A. oryzae* จัดเป็นเชื้อราในสกุล Deuteromycetes ซึ่งใช้ในการเตรียมโคจิ นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักทั้งในแถบประเทศตะวันตกและตะวันออกที่ใช้อุณหภูมิค่อนข้างสูงในการหมัก (Jones, 1993) ทำหน้าที่สร้างเอนไซม์โปรตีเอสและอะมัยเลส โดยเอนไซม์โปรตีเอสจะย่อยโปรตีนในถั่วเหลืองให้เป็นกรดอะมิโนและเกลือของกรด-อะมิโน ได้แก่ โซเดียมกลูตาเมท จะให้ผลดีต่อเต้าเจี้ยวในด้านรสชาติ เอนไซม์อะมัยเลสจะย่อยคาร์โบไฮเดรตในถั่วเหลืองให้เป็นน้ำตาลกลูโคสและมอลโทส ซึ่งจุลินทรีย์ใช้เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตและการหมัก ไขมันซึ่งอยู่ในฟอร์มของกรดไขมันจะเปลี่ยนไปอยู่ในฟอร์มของเอสเทอร์ของกรดไขมันทำให้มีผลต่อกลิ่นรส (Rehm and Reed, 1983) Oyashiki และคณะ (1989) กล่าวว่าในการย่อยแป้งและโปรตีนด้วยเอนไซม์จากเชื้อรา *A. oryzae* จะมีอุณหภูมิเหมาะสมในช่วง 30 – 60 องศาเซลเซียส และพีเอชเหมาะสม คือ 7.0

นอกจากนี้ในการหมักซีอิ้วและเต้าเจี้ยวยังใช้เชื้อราชนิดอื่น คือ *A. flavus* และ *A. soyae* ได้

1.3.2 แบคทีเรีย แบคทีเรียที่พบและมีความสำคัญในการหมักเต้าเจี้ยว ได้แก่ แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก โดยเฉพาะพวกที่ทนเกลือได้สูง ได้แก่ *Pediococcus soyae* แบคทีเรียแลคติกทำหน้าที่ในช่วงการหมักในเต้าเจี้ยว โดยใช้น้ำตาลกลูโคสและมอลโทส เพื่อผลิตกรดอินทรีย์ เอสเทอร์ เอธานอลและกรดไขมันอิสระ ทำให้กลิ่นและรสชาติของเต้าเจี้ยวดีขึ้น (Beuchat, 1987) ลักษณะที่สำคัญที่สุดของแบคทีเรียกลุ่มนี้ คือ สามารถหมักน้ำตาลให้ได้กรดแลกติก ทำให้พีเอชของน้ำหมักลดลงจากพีเอช 6-7 เป็นพีเอช 4-5 ซึ่งช่วงพีเอชระดับนี้เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ (Caplice, 1999)

1.3.3 ยีสต์ ยีสต์มีความสำคัญต่อการให้กลิ่นรสในการหมักเต้าเจี้ยว โดยเปลี่ยนน้ำตาลในน้ำหมักให้เป็นเอธิล บิวธิลและเอมิลแอลกอฮอล์ และเมื่อทำปฏิกิริยากับกรดอินทรีย์จะได้เอสเทอร์ซึ่งช่วยส่งเสริมให้เต้าเจี้ยวมีกลิ่นรสที่ดี (Beuchat , 1987) ยีสต์ที่พบ ได้แก่ *Zygosaccharomyces rouxii Debaryomyces Pichia* และ *Candida*

2. การปนเปื้อนของเชื้อ *Bacillus cereus* ในอาหาร

แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่พบได้ตามธรรมชาติ และพบได้ในอาหารหลายประเภท มีบทบาทสำคัญทั้งก่อให้เกิดประโยชน์ในการผลิตอาหารและทำให้เกิดโทษ คือทำให้อาหารเน่าเสียและเกิดโรคเมื่อบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของในปริมาณมากหรือบริโภคสารพิษที่แบคทีเรียสร้างขึ้น นอกจากนี้แบคทีเรียบางชนิดใช้เป็นดัชนีบอกคุณภาพของอาหารอีกด้วย แบคทีเรียที่มีความสำคัญทางด้านอาหารและสร้างสปอร์มี 2 สกุล คือ *Clostridium* และ *Bacillus*

2.1 ลักษณะรูปร่างและสรีรวิทยาของเชื้อ *B. cereus*

เชื้อ *B. cereus* เป็นแบคทีเรียที่มีขนาดใหญ่ มีเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ประมาณ 1.0 –1.2 ไมโครเมตร ความยาวประมาณ 3.0 – 5.0 ไมโครเมตร ลักษณะ

เซลล์เป็นรูปท่อนตรง ติดสีแกรมบวก สามารถย่อยสลายน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโทสและทรีฮาโลสได้แต่ไม่สามารถย่อยสลาย น้ำตาลเพนโทส และน้ำตาลแอลกอออล์ได้ *B. cereus* ทุกสายพันธุ์จึงใช้น้ำตาลซูโครส ซาลิซิน มอลโทส แมนโนส แลกโทส กลีเซอรอล และเอ็มอินโนซิทอลได้ มีบางสายพันธุ์ย่อยสลายแป้ง เคซีนและเจลาติน แล้วให้เอนไซม์ยูรีเอส เคลื่อนที่ได้และไม่มีแคปซูล

Neste และคณะ (1998) กล่าวว่าเมื่อสารอาหารที่จำเป็นขาดแคลนและสภาวะแวดล้อมต่างๆ เช่น อุณหภูมิ พีเอช วอเตอร์แอคติวิตี้ เป็นต้น ไม่เหมาะสม เซลล์เจริญจะสร้างสปอร์ โดยสร้างขึ้นในช่วงหลังของการเติบโตใน ระยะล็อก (log phase) เซลล์เจริญ 1 เซลล์ จะสร้างสปอร์ 1 สปอร์ (Kramer and Gilbert, 1989) เชื้อ *B. cereus* สร้างเอนโดสปอร์เดี่ยว มีลักษณะรี อยู่บริเวณด้านข้างหรือตรงกลางเซลล์ สปอร์ไม่ใหญ่กว่าตัวเซลล์

Anderson และคณะ (1995) อ้างจาก Husmark (1993) กล่าวว่าสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ยึดเกาะกับพื้นผิวอื่นได้ดี เนื่องจากสปอร์มีคุณสมบัติที่สำคัญคือ ไม่ชอบน้ำ และมีลักษณะทางกายภาพที่เป็นกิ่งก้าน (appendages) เป็นเส้นยาวอยู่โดยรอบจึงทำให้สปอร์ยึดเกาะกับพื้นผิวอื่นได้ดี สปอร์ที่สร้างขึ้นจะทนต่อความร้อน สารเคมี และสภาวะแวดล้อม สำหรับกระบวนการกระตุ้นการงอกของสปอร์ (Activation) นั้นมีหลายวิธี เช่นการใช้ความร้อน การฉายรังสี และการใช้สารเคมี เป็นต้น

Kramer และ Gillbert (1989) กล่าวว่า เมื่อเก็บรักษาอาหารที่อุณหภูมิมากกว่า 10 องศาเซลเซียส จะทำให้สปอร์ของ *Bacillus* งอกเป็นเซลล์เจริญ เช่น การศึกษาของ Turner และคณะ (1996) พบว่า เมื่อเก็บซุปไก่ที่มีเกลือเข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส สปอร์ของเชื้อ *B. cereus* งอกเป็นเซลล์เจริญได้ภายใน 1 วัน และถ้าสปอร์อยู่ในอาหารที่ปรุงสุกแล้วและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 30 – 50 องศาเซลเซียส สปอร์จะงอกเป็นเซลล์เจริญและเพิ่มจำนวนรวมทั้งสร้างสารพิษ ดังนั้นการเก็บรักษาอาหารที่อุณหภูมิต่ำ การลดพีเอช ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ รวมทั้งการรับประทานอาหารที่สุกใหม่จะควบคุมไม่ให้สปอร์ของเชื้อ *B. cereus* งอกเป็นเซลล์เจริญและเพิ่มจำนวนเซลล์เจริญต่อไปได้ (Roberts *et al.*, 1996)

2.2 **แหล่งที่พบเชื้อ** *B. cereus*

เชื้อ *B. cereus* แพร่กระจายทั่วไปในธรรมชาติ สามารถแยกได้จากดิน ฝุ่น ละออง ธัญพืช ขนสัตว์และน้ำดื่ม (Kramer and Gilbert, 1989) การสำรวจอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* ในประเทศไทยของ กนกรัตน์ ศิริพานิชกร (2541) อ้างจาก Suksuwan (1983) พบว่าอาหารที่พบเชื้อ *B. cereus* มากที่สุดคือ ข้าวสาร พริกแห้ง และเนื้อกุ้งบด Notermans และ batt (1998) แสดงปริมาณของ *B. cereus* ที่อาจมีการปนเปื้อนในอาหารชนิดต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 1

แป้งสาลีขาวที่จำหน่ายในท้องตลาดพบการปนเปื้อนสปอร์ของ *Bacillus* ประมาณ 20 - 30 สปอร์ต่อกรัม (สุมาลี เหลืองสกุล, 2527) และพบเชื้อ *B. cereus* ในอาหารประเภทต่างๆ ได้แก่ อาหารจีน ผลิตภัณฑ์เบเกอรี (Bean *et al.*, 1997) ปลาเนื้อหมู อาหารประเภทแป้ง น้ำสลัด (Lindqvist *et al.*, 2000) และในเทมเป้มีเชื้อ *B. cereus* ปนเปื้อนปริมาณน้อยกว่า 3 log CFU/g คิดเป็นร้อยละ 85 และปริมาณ 3-6 log CFU/g คิดเป็นร้อยละ 15 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด (Samson *et al.*, 1987) ปรีชา จึงสมานุกูล (2533) พบการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* ในเต้าเจี้ยวจากเขตภาคกลาง มีปริมาณ 3-6 log CFU/g คิดเป็นร้อยละ 85.4 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด

2.3 **สภาวะการเจริญของเชื้อ** *B. cereus*

เชื้อ *B. cereus* เจริญได้ที่อุณหภูมิ 4 - 50 องศาเซลเซียส มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส และสปอร์มีอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการงอกคือ 30 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 4.3 – 9.3 เซลล์เจริญจะเจริญได้ดีที่พีเอช 5.0 ค่า a_w 0.912 - 0.950 ค่า a_wที่เหมาะสมต่อการเจริญเท่ากับ 0.92 และปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการเจริญของ *B. cereus* ได้แก่ ความเข้มข้นของเกลือ โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมอยู่ในระดับร้อยละ 13 (Kramer and Gilbert, 1989 ; Varnam and Evans 1996) Benedict และคณะ (1993) พบว่า เชื้อ *B. cereus* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พีเอช เท่ากับ 6.75 ระยะเวลาของ lag phase เท่ากับ 0.91 ชั่วโมง และระยะเวลาที่จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เท่ากับ 0.23 ชั่วโมง

Table 1 Incidence of *Bacillus cereus* contamination in foods

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณของ *Bacillus cereus* ที่ปนเปื้อน ในอาหารประเภทต่าง ๆ

Type of food	% Incidence	Range (cfu g^{-1} or ml^{-1})
Rice and rice products		
Rice grains	40-100	10^2-10^3
Cooked rice	10-93	10^1-10^7
Fried rice	12-86	10^1-10^5
Rice dishes	3-40	10^1-10^5
Milk and dairy products		
Raw milk	7-35	10^1-10^2
Pasteurized milk	2-35	10^1-10^4
Cream	5-11	10^1-10^5
Ice cream	20-25	10^1-10^4
Dried products		
Milk powder	15-75	10^1-10^3
Herbs/spices	10-75	10^1-10^6
Cereals grains	56	10^2-10^5
Barley grains	62-100	10^2-10^4
Soup	4-5	10^2-10^4
Miscellaneous		
Chinese meals	83	10^3-10^5
Pasta product	50	10^4
Cocoa/chololate	30	10^3-10^5
Fish products	4-9	10^1-10^4

Source : Notermans and Batt, 1998

2.4 **อาการเกิดโรคของเชื้อ** *B. cereus*

เชื้อ *B. cereus* เป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษในคน Kramer and Gilbert (1989) กล่าวว่าการเกิดโรคจาก *B. cereus* คิดเป็นร้อยละ 1- 23 จากชนิดจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษชนิดอื่น เช่น *S. aureus* *Cl. perfringens* *Salmonella* spp. และแบคทีเรียชนิดอื่น ปริมาณเซลล์เจริญหรือสปอร์ 1×10^{5} ถึง 1×10^{8} CFU/g ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษกับผู้บริโภคได้ (Granum, 1997) *B. cereus* สร้างทอกซินชนิด hemolysin toxin มีอาการเป็นพิษ 2 ลักษณะคือ

1.Diarrheal syndrome เป็นอาการของอาหารเป็นพิษที่เกิดจาก diarrheal toxin ซึ่งทอกซินเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50,000 ดาลตัน และมี isoelectric point เท่ากับ 4.9 ทอกซินชนิดนี้ไม่ทนร้อน ถูกยับยั้งได้ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที และมีความไวต่อเอนไซม์ทริปซิน (Varnam and Evans, 1996) เซลล์เจริญสร้างทอกซินในระยะ log phase (Brook *et al.*,1995) อาการของ diarrheal syndrome จะแสดงภายในระยะเวลา 8-16 ชั่วโมง มีอาการปวดท้องมาก ท้อง คลื่นไส้ อาเจียน และอาจมีไข้เล็กน้อย (Notermans and batt, 1998)

2. Emetic syndrome เป็นอาการของอาหารเป็นพิษที่เกิดจาก emetic toxin ซึ่งทอกซินเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 5,000 ดาลตัน สร้างขึ้นในระหว่างการสร้างสปอร์ สารพิษชนิดนี้ทนร้อนถึง 126 องศาเซลเซียส เวลา 90 นาที ดังนั้นในการผลิตอาหารด้วยวิธีปกติจึงไม่สามารถทำลาย emetic toxin ได้และยังทนในสภาวะที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 เดือน นอกจากนี้ไม่ถูกทำลายโดยเอนไซม์ทริปซิน (Varnam and Evans, 1996) อาการของ emetic syndrome จะแสดงในระยะเวลาสั้นคือ 1-5 ชั่วโมง มีอาการคลื่นไส้อาเจียน ท้องเสียเล็กน้อย อาการอยู่ในช่วง 6 – 24 ชั่วโมง (Notermans and batt, 1998)

จากรายงานพบการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจาก *B. cereus* ในประเทศสหรัฐอเมริกา (คศ.1988 –1992) จำนวน 433 ราย และประเทศเนเธอร์แลนด์ (คศ.1992 –1994) จำนวน 172 ราย (Notermans and batt, 1998) ในประเทศไทยไม่

มีรายงานการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *B. cereus* (กนกรัตน์ ศิริพานิชกร, 2541 อ้างจาก Suksuwan ,1983)

3. การควบคุมเชื้อ *B. cereus* ในอาหาร

การควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารนั้นสามารถทำได้โดยวิธีป้องกันการเจริญและทำลายจุลินทรีย์ ฉะนั้นกระบวนการแปรรูปอาหาร เช่น การใช้ความร้อน การใช้คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เช่น รังสีแกมมาและคลื่นไมโครเวฟ การอบแห้ง รวมทั้งวัตถุกันเสียและ biopreservative จะช่วยป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการและยืดอายุการเก็บอาหารได้ ซึ่งวิธีการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์มีดังนี้คือ

3.1 การใช้ความร้อน

การให้ความร้อนเพื่อช่วยถนอมอาหาร โดยความร้อนจะทำลายจุลินทรีย์ที่ให้โทษและทำให้อาหารเสื่อมเสีย จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ไม่ทนร้อน การใช้ความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรซ์ จะเพียงพอในการทำลายแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียและชนิดที่เป็นพิษในอาหาร เซลล์ของแบคทีเรียส่วนใหญ่ถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิในช่วง 82 –93 องศาเซลเซียส แต่ยังคงมีสปอร์ของแบคทีเรียบางชนิดที่ทนต่อความร้อน

3.1.1 ความร้อนชื้น

ความร้อนชื้นเป็นความร้อนที่เกิดขึ้นในสภาวะที่มีน้ำ ได้แก่ วิธีการต้มนึ่ง และให้ความร้อนภายใต้ความดัน (autoclaving) ทำให้กรดนิวคลีอิก แอซิด โปรตีน และเอนไซม์ภายในเซลล์จุลินทรีย์เกิดการตะกอนแล้วเสื่อมสภาพ เป็นผลให้เซลล์ถูกทำลาย (Nester *et al.*, 1998)

Oloyede และ Scholefield (1994) พบว่าเมื่อต้มสปอร์ของ *B. cereus* สายพันธุ์ NCIMB 6349 จำนวน 10^6 CFU/ml ในบัฟเฟอร์ พีเอช 4.5 – 6.5 ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จะไม่สามารถทำลายสปอร์ได้

3.1.2 ความร้อนแห้ง

ความร้อนแห้งเป็นความร้อนจากพลังงานไฟฟ้าหรือแก๊ซ ด้วยวิธีอบ คั่ว และเผาให้ความร้อนโดยตรงกับอาหาร เพื่อลดความชื้นจนถึงระดับที่สามารถระงับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ความร้อนแห้งทำให้จุลินทรีย์ถูกทำลายโดยกระบวนออกซิเดชัน (Nester *et al.*, 1998)

Rosenkvist และ Hansen (1995) พบว่าการอบเมล็ดข้าวสาลีที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ยังคงพบสปอร์ของ *Bacillus* ในปริมาณ 1.4 – 12.8 CFU/g และการอบขนมปังที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 นาที ไม่สามารถทำลายสปอร์ของเชื้อ *B. licheniforms* และ *B. subtilis* ได้

3.1.3 ความร้อนจากไมโครเวฟ

ความร้อนจากไมโครเวฟเป็นความร้อนจากคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าชนิดหนึ่ง ใช้ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารแต่การฆ่าเชื้อด้วยระบบไมโครเวฟยังไม่ได้รับความนิยมมากนักในระดับอุตสาหกรรม เพราะว่าระบบนี้ยืดอายุได้พอ ๆ กับการฆ่าเชื้อในระดับพาสเจอร์ไรซ์ จึงมีอายุการเก็บรักษาไม่นานพอและยังต้องจัดส่งในระบบแช่เย็นด้วย (วิไล รังสาดทอง, 2545)

พลังงานจากไมโครเวฟเป็นรังสีชนิดไม่แตกตัว (non – ionizing radiation) มีความยาวคลื่นสูงและความถี่ของคลื่นต่ำ 2,450 MHz หรือ 915 MHz โดยพลังงานจากคลื่นไมโครเวฟเป็นเป็นพลังงานที่มีความถี่คลื่นสั้น โดยมีค่าพลังงานเท่ากับ$1.2x10^{-5}$ อิเล็กตรอนโวลท์ พลังงานจากไมโครเวฟจะตกกระทบวัตถุซ้ำ ๆ กัน และกระจายเข้าไปในวัตถุเพื่อทำลายพันธะเคมีในวัตถุ (Heddleson and Doores ,1994)
โดยมีกลไกการเกิดความร้อนได้สองแบบร่วมกันคือ (สายสนม ประดิษฐดวง, 2543)

1. Ionic Polarization เป็นการเกิดความร้อนเนื่องจากผลของการเคลื่อนที่ของไอออนในสารละลายเมื่อเข้าไปอยู่ในสนามไฟฟ้าแต่ละไอออนซึ่งมีประจุไฟฟ้าจะถูกกระตุ้นและเร่งให้มีการเคลื่อนที่ จึงทำให้เกิดการเสียดสีกับไอออนอื่นๆและเปลี่ยนพลังงานจลน์มาเป็นพลังงานความร้อน

2. Dipole Rotation เป็นการเกิดความร้อนกับสารประกอบมีขั้ว (polar) ได้แก่ น้ำ ซึ่งตามปกติมีการเรียงตัวประจุบวกและลบอย่างไม่มีระเบียบ (random oriented) เมื่อเข้าไปอยู่ในสนามไฟฟ้า ประจุบวกและลบของสารนั้นจะเคลื่อนที่เปลี่ยนทิศทางเพื่อเรียงตัวอย่างมีระเบียบ ซึ่งการเคลื่อนที่ด้วยการหมุนตัวกลับไปกลับมาจะเกิดอย่างรวดเร็วตามระดับความถี่ของคลื่นไมโครเวฟ ซึ่งผลของความเร็วในการหมุนตัวทำให้เกิดความร้อนขึ้น

ความร้อนที่เกิดจากทั้งสองรูปแบบจะเกิดที่จุดที่อาหารสัมผัสกับไมโครเวฟแล้วจึงค่อยกระจายตัวออกไปยังส่วนอื่น

การดูดซับพลังงานจากไมโครเวฟของสารประกอบจะแตกต่างกันขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ คือ องค์ประกอบทางเคมี ลักษณะทางกายภาพและอุณหภูมิของอาหาร รวมทั้งระดับความถี่ของคลื่นไมโครเวฟด้วย (สายสนม ประดิษฐดวง, 2543) คลื่นไมโครเวฟจะทำให้อาหารร้อนทั่วทั้งชิ้น โดยเป็นไปอย่างรวดเร็วและไม่ทำให้ผิวหน้าร้อนเกินไปจึงทำให้เกิดความเสียหายจากความร้อนน้อยและไม่เกิดสีน้ำตาลบนผิว นอกจากนี้การถ่ายเทความร้อนเกิดจากการนำความร้อนในอาหารด้วย รวมทั้งภาชนะควรเป็นภาชนะประเภท แก้ว กระดาษและโพลิเมอร์ที่ใช้เป็นภาชนะบรรจุ มีคุณสมบัติโปร่งใสหรือไม่ดูดซับคลื่นไมโครเวฟจึงไม่ร้อนทำให้คลื่นไมโครเวฟผ่านไปยังอาหารได้ ส่วนภาชนะที่เป็นโลหะเมื่อคลื่นไมโครเวฟกระทบกับโลหะ คลื่นไมโครเวฟจะสะท้อนกลับหมด ดังนั้นอาหารที่ใส่ภาชนะดังกล่าวจึงไม่สุก (วิไล รังสาดทอง, 2545)

Datta และ Davidson (2001) รายงานว่าในการพาสเจอไรซ์หรือสเตอริไรซ์อาหารด้วยไมโครเวฟ สามารถทำให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึงอุณหภูมิที่ต้องการได้อย่างรวดเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับการให้ความร้อนแบบธรรมดา โดยลดเวลาในการให้ความร้อนให้เหลือเพียง 1 ใน 4 ของเวลาที่ใช้ตามปกติ ในอุณหภูมิเดียวกัน ค่า Fo ของการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟจะน้อยกว่าการให้ความร้อนแบบธรรมดาและลดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ รวมทั้งสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการให้ความร้อนแบบธรรมดา แสดงดังภาพที่ 2

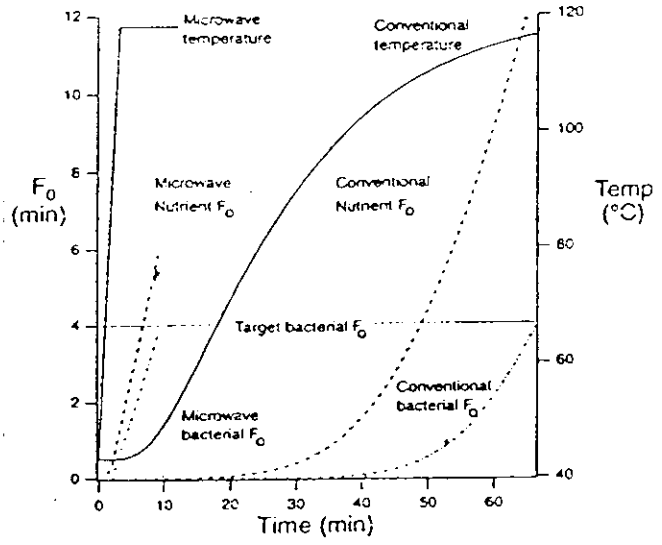

Figure 2 Quality parameters for microwave and conventional heating compared using computed values for typical heating situation

ภาพที่ 2 การให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเปรียบเทียบกับการให้ความร้อนแบบธรรมดา

Source : Datta and Davidson (2001)

กลไกการทำลายจุลินทรีย์ด้วยคลื่นไมโครเวฟ

คลื่นไมโครเวฟทำลายจุลินทรีย์ได้โดยกลไกดังต่อไปนี้ คือ

1. กลไกของความร้อน ความร้อนที่เกิดจากคลื่นไมโครเวฟจะทำลาย ผนังเซลล์ โครงสร้างโปรตีน กรดนิวคลีอิก เอนไซม์ และองค์ประกอบอื่น ๆ ทำให้เซลล์ไม่สามารถจำลองแบบเพื่อการเจริญต่อไปได้ (Heddleson and Doores, 1994) เช่น การศึกษาของ Ramaswamy และคณะ (2000) อ้างถึงใน Datta และ Davidson (2001) โดยเปรียบเทียบการทำลาย เชื้อ E. *coli* K-12 ด้วยไมโครเวฟระบบต่อเนื่องกับการใช้ความร้อนด้วยการต้มและนึ่ง พบว่าที่อุณหภูมิเดียวกัน ค่า D (D-values) ของการใช้ไมโครเวฟจะน้อยหรือต่ำกว่าการใช้ความร้อนแบบธรรมดาอย่างมีนัยสำคัญ

2. กลไกไม่ใช้ความร้อน Kozempel และคณะ (1998) กล่าวว่าการทำลายจุลินทรีย์ด้วยคลื่นไมโครเวฟว่าเป็นการทำลายจุลินทรีย์โดยไม่ใช้ความร้อนหรือเรียกว่า cold pasteurization โดยมี 4 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องดังนี้คือ

Selective heating หมายถึง คลื่นไมโครเวฟทำให้เซลล์จุลินทรีย์มีอุณหภูมิสูงกว่าบริเวณโดยรอบ เซลล์จุลินทรีย์จึงทำให้มีอุณหภูมิสูงถึงที่ต้องการอย่างรวดเร็ว ดังนั้นคลื่นไมโครเวฟจึงทำลายจุลินทรีย์ได้อย่างรวดเร็ว

Electroporation หมายถึง เมื่อใช้คลื่นไมโครเวฟทำให้เกิดความต่างศักย์ไฟฟ้าที่บริเวณเซลล์เมมเบรน จะมีการสูญเสียไขมันที่อยู่ในชั้นไขมันของผนังเซลล์ ทำให้เกิดช่องว่างเป็นรูพรุนเล็ก ๆ ที่บริเวณเซลล์เมมเบรน ทำให้เซลล์รั่ว

Cell membrane rapture หมายถึง คลื่นไมโครเวฟทำให้กระแสไฟฟ้าบริเวณเซลล์เมมเบรนลดลงซึ่งจะทำให้เซลล์แตก

Cell lysis หมายถึง คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจับตัวกับโมเลกุลที่สำคัญภายในเซลล์ ได้แก่ โปรตีน หรือ ดีเอ็นเอ ซึ่งจะทำให้องค์ประกอบภายในเซลล์แตก

การศึกษาของ Kozenpel และคณะ (1998) ใช้คลื่นไมโครเวฟทำลายเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารที่มีลักษณะเป็นของเหลว ได้แก่น้ำ น้ำแอปเปิ้ล น้ำสับปะรด น้ำมะเขือเทศ แอปเปิ้ลไซเดอร์ และเบียร์ โดยให้อาหารไหลผ่านท่อที่มีการใช้คลื่นไมโครเวฟขนาด 5.0 – 5.4 กิโลวัตต์ ซึ่งให้อุณหภูมิในช่วง 40 – 65 องศาเซลเซียส อัตราการไหล 0.96 – 1.26 กิโลกรัมต่อนาที เวลา 1.1 – 1.5 นาทีต่อการไหลผ่าน 1 รอบ พบว่าสามารถลดเชื้อ จุลินทรีย์ชนิด *Pediococcus* sp.ในอาหารชนิดดังกล่าวได้ 0.3 – 1.7 log CFU/ml และให้เบียร์ไหลผ่านคลื่นไมโครเวฟจำนวน 4 รอบ พบว่าปริมาณยีสต์ลดลง 2.5 CFU/ml และ *Pediococcus* sp. ลดลง 1 CFU/ml ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟที่อุณหภูมิต่ำสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ Datta และ Davidson (2001) กล่าวว่าคลื่นไมโครเวฟทำลายจุลินทรีย์ในอาหารได้โดยกลไกของความร้อนที่เกิดขึ้นเป็นหลัก ในขณะที่กลไกทำลายจุลินทรีย์แบบไม่ใช้ความร้อนของคลื่นไมโครเวฟ จะช่วยเสริมการทำลายจุลินทรีย์ให้เพิ่มขึ้น

วิไล รังสาดทอง (2545) กล่าวถึงการประยุกต์ใช้คลื่นไมโครเวฟในอุตสาหกรรมอาหารได้แก่ ใช้กำจัดน้ำในการอบ การคืนตัวและการละลายน้ำแข็ง ซึ่งทำให้ลดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการเนื่องจากไม่มีการสูญเสียน้ำที่ไหลซึมออก ทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ดีขึ้น และการทำให้อาหารสุกโดยไม่ใช้น้ำมัน เป็นต้น

3.2 การฉายรังสี

การฉายรังสีอาหารคือ การนำเอาอาหารหรือผลิตภัณฑ์มาสัมผัสกับรังสี ที่แผ่ออกมาจากแหล่งให้รังสีเพื่อประโยชน์ในการแปรรูปและการถนอมรักษาอาหาร รังสีที่ใช้เพื่อการถนอมอาหารนี้จัดเป็น ionizing radiation มีช่วงความถี่ของช่วงคลื่นสูงที่สุด คือ 10^9 – 10^{22} Hz ซึ่งให้พลังงานสูงสามารถทะลุทะลวงเข้าไปในอะตอมของสารอื่น ๆ จนถึงขั้นแตกตัวเป็นไอออนได้ รังสีที่ใช้ในการถนอมอาหาร ได้แก่ รังสีแกมมา รังสีเอกซ์ และลำแสงอิเล็กตรอน (electron beam) โดยแหล่งที่มาของรังสี คือ

1. รังสีแกมมา จากแหล่งของไอโซโทปกัมมันตรังสี ที่ให้รังสีแกมมาเพื่อใช้ในการถนอมอาหารมี 2 ชนิดคือ โคบอลต์ – 60 และ ซีเซียม – 137
2. รังสีเอ็กซ์ จากเครื่องผลิตชนิดเร่งอนุภาค ที่ทำงานให้พลังงานไม่เกิน 5 Mev
3. ลำแสงอิเล็กตรอน จากเครื่องผลิตชนิดเร่งอนุภาค ที่ทำงานให้พลังงานไม่เกิน 10 Mev

รังสีที่นิยมใช้เพื่อการถนอมอาหาร คือ รังสีแกมมา เพราะมีค่าใช้จ่ายน้อยที่สุด เนื่องจากแหล่งกำเนิดรังสีสามารถผลิตได้จากปฏิกิริยาการแตกตัวของธาตุ (atomic fission) และจากกากกัมมันตรังสี (atomic waste products) รวมทั้งมีอำนาจในการทะลุทะลวงสูงกว่ารังสีเอ็กซ์และลำแสงอิเล็กตรอน (Jay, 2000)

คณะกรรมการผู้เชี่ยวชาญการตรวจสอบความปลอดภัยของอาหารฉายรังสี ประกอบด้วย ผู้แทนจากองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ องค์การอนามัยโลก และทบวงการพลังงานปรมาณูระหว่างประเทศ แนะนำว่าอาหารที่ฉายรังสีไม่เกิน 10 kGy เป็นอาหารที่ปลอดภัย (Jay, 2000) แต่อย่างไรก็ตามระดับของปริมาณรังสีที่ใช้ในการถนอมอาหารเพื่อวัตถุประสงค์ต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 2

Table 2 Dose levels for food irradiation

ตารางที่ 2 ปริมาณรังสีสำหรับการฉายรังสีอาหาร

Level	Function	Dose (kGy)
Low	Inhibit sprouts in potatoes, garlic and onions	0.05-0.15
	Delay ripening or eliminate insect infestation	0.20-1.00
Medium	Prevent trichinosis	0.30-1.00
	Eliminate spoilage organisms	1.00-3.00
	Eliminate parasites and pathogens (except viruses)	3.00-8.00
High	Sterilization	25.0-50.0

Source : Jones (1992)

3.2.1 ผลของรังสีต่อน้ำ

อาหารมีน้ำเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ เมื่อฉายรังสีแกมมา โมเลกุลของน้ำในอาหารจะเกิดแตกตัว (ionization) เป็นอนุมูลอิสระ ซึ่งเกิดเป็นอนุภาคที่สำคัญ คือ อิเล็กตรอนไฮเดรต (hydrate electron ; HO_2), อนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical ; OH) และ ไฮโดรเจนอะตอม (hydrogen atom ; H) อนุภาคดังกล่าวมีคุณสมบัติเป็น ตัวออกซิไดซ์และตัวรีดิวซ์ จึงสามารถรวมกับออกซิเจนและสารประกอบอื่น ๆ ที่มี ศักยภาพในธรรมชาติแล้วเกิดเป็นสารใหม่ ซึ่งสารที่ได้จะมีผลต่อสารชีวภาพอื่น ๆ (Diehl, 1990)

3.2.2 ผลของรังสีที่มีต่อองค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

ผลของรังสีที่มีต่อคาร์โบไฮเดรต เมื่อฉายรังสีคาร์โบไฮเดรต สารประกอบประเภทโพลีแซคคาไรด์จะแตกตัวโดยปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็กลง ได้แก่ เด็กซ์ทริน มอลโทส และกลูโคส และน้ำตาลดังกล่าวจะแตกตัวเป็นสารประกอบอื่น คือ ไฮโดรเจน คาร์บอนไดออกไซด์ อัลดีไฮด์ คีโตน กรด และคาร์โบไฮเดรตอื่น ๆ ดังนั้น

การฉายรังสีคาร์โบไฮเดรต เช่น สารละลายแป้ง จะทำให้สารละลายดังกล่าวมีความหนืดลดลง (Diehl, 1990)

ผลของรังสีที่มีต่อโปรตีน เนื่องจากโปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์ การฉายรังสีทำให้เกิดการแตกตัวของพันธะเปปไทด์ให้เป็นสารประกอบไนโตรเจนที่มีขนาดเล็กลง เช่น แอมโมเนีย อัลดีไฮด์ เป็นต้น ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงค่าการละลายและความหนืดของสารละลายโปรตีน การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะเกิดขึ้นเมื่อฉายรังสีในระดับสูง ในการฉายรังสีระดับปริมาณต่ำจะเกิดเพียงเล็กน้อย และปริมาณรังสีที่ใช้กับอาหารพบว่าไม่ทำลายกรดอะมิโนและโปรตีน (Jones, 1992) นอกจากนี้เอนไซม์จะมีความไวต่อรังสีมากกว่าโปรตีนปกติ และเมื่อฉายรังสีแกมมาปริมาณ 100 กิโลเกรย์ เอนไซม์ฟอสโฟไลเปสจะสูญเสียกิจกรรมคิดเป็นร้อยละ 80 (Diehl, 1990)

ผลของรังสีที่ต่อไขมัน รังสีจะทำให้โครงสร้างของไขมันแตกตัวบริเวณพันธะของคาร์บอนชนิด C-C, C=C และ C ≡ C กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวจะถูกทำลายได้ง่ายกว่ากรดไขมันอิ่มตัว การฉายรังสีไขมันในสภาวะมีออกซิเจนจะทำให้เกิดสารเปอร์ออกไซด์เช่นเดียวกับการหืนที่เกิดจากกระบวนการออกซิเดชันตามธรรมชาติ และถ้ามีออกซิเจนเกิดขึ้นในระหว่างฉายรังสีหรือหลังจากฉายรังสี ไขมันจะแตกตัวได้สารประกอบดังนี้ ไฮโดรเจน คาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรคาร์บอน และอัลดีไฮด์ (Diehl, 1990) Aziz และคณะ (2002) พบว่าเนื้อวัวฉายรังสีในปริมาณ 1 และ 3 กิโลเกรย์ ไม่มีผลต่อค่าของกรดไขมันอิสระ แต่มีผลต่อค่าเปอร์ออกไซด์ซึ่งเพิ่มขึ้นหลังจากฉายรังสี

ผลของรังสีต่อวิตามิน วิตามินเป็นสารอาหารชนิดหนึ่งที่มีในอาหาร แบ่งเป็น 2 ชนิดคือ ละลายน้ำและละลายในไขมัน เมื่อฉายรังสีอาหารทำให้วิตามินเกิดการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากวิตามินมีความไวต่อรังสีมากกว่าสารอาหารประเภทอื่น ๆ วิตามินที่ละลายน้ำถูกทำลายด้วยรังสีมากที่สุดคือ ไทอามิน (บี 1) รองลงมาคือ วิตามินซี ไพริดรอกซิน (บี 6) ไรโบฟลาวิน (บี 2) และ ไนอะซิน ตามลำดับ วิตามินละลายในไขมันถูกทำลายด้วยรังสีมากที่สุดคือ วิตามินอี รองลงมาคือ วิตามินเอ และ วิตามินเค ตามลำดับ (Jones, 1992) Aziz และคณะ (2002) พบว่าเนื้อวัว เนื้อวัวบด และ

แฮมเบอร์เกอร์เนื้อวัวที่ฉายรังสีปริมาณ 5 กิโลเกรย์และเก็บที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ไม่ทำให้ไทอามินเปลี่ยนแปลง

3.2.3 ผลของรังสีต่อจุลินทรีย์

การฉายรังสีอาหารเพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสีย หรือจุลินทรีย์ก่อโรค รังสีทำให้โครงสร้างเซลล์เมมเบรนเปลี่ยนแปลง กิจกรรมของเอนไซม์ภายในเซลล์ผิดปกติ และทำให้โครงสร้างของ DNA ผิดปกติทำให้ไม่สามารถจำลองตัวเองเพื่อการแบ่งเซลล์ได้ จึงทำให้จุลินทรีย์ตายได้ (Nester *et al.*, 1998) Diehl (1990) กล่าวถึงการทำลายจุลินทรีย์จากรังสีเกิดได้ 2 ลักษณะคือ ทางตรงและทางอ้อม โดยผลทางตรงนั้นรังสีจะเข้ากระทำต่อเป้าหมายภายในเซลล์โดยตรง เช่น ดีเอ็นเอ ส่วนทางอ้อม รังสีเข้ากระทำต่อสิ่งแวดล้อมของเป้าหมาย เช่น น้ำ และผลที่เกิดขึ้นจะเข้ากระทำต่อเป้าหมายต่อไป เช่น การฉายรังสีทำให้เกิดอนุมูลอิสระของน้ำภายในเซลล์ ซึ่งอนุมูลอิสระนั้นมีคุณสมบัติเป็นตัวออกซิไดซ์และตัวรีดิวซ์ สามารถทำลายเซลล์จุลินทรีย์ได้ เมื่อฉายรังสีเซลล์เจริญจะถูกทำลายด้วยผลทางอ้อมเป็นส่วนใหญ่ เนื่องจากภายในไซโตพลาสซึมมีน้ำเป็นส่วนประกอบคิดเป็นร้อยละ 80

Jones (1992) กล่าวว่า การฉายรังสี 3 ถึง 5 กิโลเกรย์สามารถทำลายแบคทีเรียชนิดไม่สร้างสปอร์ได้โดยไม่ทำให้คุณสมบัติทางกายภาพ และกลิ่นรสของอาหารเปลี่ยนแปลง

Frazier และ Westhoff (1988) กล่าวถึงปัจจัยที่มีผลต่อความต้านทานต่อรังสีของจุลินทรีย์ดังนี้คือ ปริมาณออกซิเจน องค์ประกอบทางเคมีของอาหารและสภาพทางกายภาพของตัวกลาง รวมทั้ง ชนิด ปริมาณและสภาวะของจุลินทรีย์ ซึ่งพบว่าสปอร์ของแบคทีเรียมีความต้านทานรังสีมากกว่าเซลล์เจริญ แสดงดังตารางที่ 3 (Monk *et al.*, 1995 ; Diehl, 1990)

Table 3 D_{10} values of vegetative cells and spores of *B. cereus* irradiated at air atmosphere in some medium.

ตารางที่ 3 ค่า D_{10} ของเซลล์เจริญและสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ที่ถูกฉายรังสีในแต่ละตัวกลางที่ความดันบรรยากาศ

Microorganism	Product/Medium	D_{10} (kGy)
B. cereus	Roast beef	0.173 ± 0.157
(vegetative cells)	Gravy	0.181 ± 0.167
	Cauliflower (cooked, crushed)	0.207 ± 0.099
	Potato (cooked, mashed)	0.199 ± 0.056
	Phosphate buffer (pH 7.0)	0.30 - 0.65
	Glucose yeast extract peptone	0.575
B. cereus	Nutrient broth	3.2
(spores)	Phosphate buffer (pH 7.0)	2.5 – 4.0
	Glucose yeast extract peptone	1.25
	Plate count broth (PCB)	2.3
	Lyophilized PCB	3.4

Source : Monk, *et al.*, 1995 ; Diehl, 1990

การศึกษาของ De Lara และคณะ (2002) พบว่ารังสีจากลำแสงอิเล็กตรอน (electron beam) ปริมาณ 7.6 กิโลเกรย์ ทำลายสปอร์ของ *B. subtilis* สายพันธุ์ AdHCL ในอาหาร nutrient broth ได้ 5 log CFU/ml และทำลายสปอร์ของ *B. cereus* สายพันธุ์ INRA AVZ421 และ INRA AVTZ415 ได้ 2 CFU/ml และหลังจากฉายรังสีปริมาณ 3.3 กิโลเกรย์ เวลาในการทำลายเชื้อที่ 105 องศาเซลเซียส (D_{105}) ลดลงจาก 2.7 นาที เป็น 0.88 นาที ในขณะที่เวลาในการทำลายสปอร์ของ *B. cereus* ที่ 90 องศาเซลเซียส (D_{90}) ลดลงจาก 19 นาที เป็น 6 นาที

3.3 **สารทำความสะอาด** (sanitizing agents)

สารเคมีที่ใช้ทำความสะอาดเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร ควรมีคุณสมบัติดังนี้ คือ สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้อย่างรวดเร็ว มีความคงตัวดี ไม่กัดกร่อนพื้นผิวเครื่องมือ ไม่เกิดกลิ่นที่ไม่ดี ไม่เป็นพิษและไม่ทำให้ผิวหนังและตาระคายเคือง ละลายน้ำได้ดีและล้างออกได้ง่าย ไม่เสื่อมคุณภาพหากเก็บไว้เป็นเวลานานและราคาถูก (ศิวาพร ศิวเวชช, 2542) มีการใช้สารทำความสะอาดทำลายหรือลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบประเภทผักและผลไม้ ในระหว่างการเก็บเกี่ยว เช่นการปนเปื้อนจาก ดิน น้ำและผู้ผลิต สารทำความสะอาดจะทำลายหรือลดจำนวนจุลินทรีย์ที่บริเวณผิวนอก บริเวณของผักหรือผลไม้ที่มีตัดแต่งแล้ว สารทำความสะอาดบางชนิดใส่ได้โดยตรงในน้ำล้าง บางชนิดใช้สำหรับล้างเครื่องมือหรือภาชนะบรรจุเท่านั้น อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของสารทำความสะอาดจะขึ้นอยู่ชนิดและความเข้มข้นของสาร รวมทั้งชนิดของจุลินทรีย์ด้วย (Beuchat, 1998)

3.3.1 **สารทำความสะอาดประเภทสารซักล้าง** (detergent)

สารทำความสะอาดประเภทสารซักล้าง หรือ detergent เป็นสารเคมีที่ใช้ทำความสะอาดเครื่องมือ อุปกรณ์ มีคุณสมบัติในการละลายไขมัน ทำลายโปรตีนและทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาด้วยบางส่วน สารทำความสะอาดที่กับอาหารได้แก่

1. สารประกอบคลอรีน

คลอรีนเป็นสารทำความสะอาดที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ได้ดีและมีราคาถูก มีใช้ 3 รูปแบบ คือ ก๊าซคลอรีนในรูปของคลอรีนไดออกไซด์ คลอรีนในรูปเป็นผงหรือแคลเซียมไฮโปคลอไรต์ มีคลอรีนอิสระประมาณร้อยละ 30 และคลอรีนในรูปของเหลวหรือโซเดียมไฮโปคลอไรต์ มีคลอรีนอิสระประมาณร้อยละ 10 -14 ซึ่งคลอรีนในรูปเป็นผงมีความคงตัวดีกว่าคลอรีนในรูปของเหลว (ศิวาพร ศิวเวชช, 2542)

สารประกอบคลอรีนเมื่อละลายในน้ำจะแตกตัวให้อนุมูลต่างๆ คือ กรดไฮโปคลอรัส กรดไฮโดรคลอริค ก๊าซคลอรีนและไฮโปคลอไรต์ออออน อนุมูลที่มีประสิทธิภาพ

ในการทำลายจุลินทรีย์ได้ดี คือ กรดไฮโปคลอรัส โดยซึมผ่านผนังเซลล์แล้วทำลายองค์ประกอบภายในและประจุของจุลินทรีย์จึงทำให้จุลินทรีย์ตาย ค่าพีเอชของสารละลายมีผลต่อประสิทธิภาพอนุมูลของกรดไฮโปคลอรัส คือ ที่พีเอช 6.0 และ 8.0 มีอนุมูลของกรดไฮโปคลอรัสคิดเป็นร้อยละ 97 และ 23 ตามลำดับ ดังนั้นพีเอชในช่วง 6.0 – 7.5 จะมีประสิทธิภาพดีที่สุดและไม่กัดกร่อนภาชนะ (Beuchat, 1998) โรงงานอุตสาหกรรม อนุญาตให้ใช้คลอรีนเข้มข้น 50 –200 พีพีเอ็ม ในน้ำล้างอาหาร และคลอรีนเข้มข้น 100 –250 พีพีเอ็ม ในน้ำล้างภาชนะ เครื่องมือและอุปกรณ์

Wei และคณะ (1995) ศึกษาการใช้สารละลายคลอรีนในน้ำล้างไก่ พบว่าการล้างด้วยวิธีแช่ไก่ในคลอรีนเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม เวลา 30 วินาที จะทำลายเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีปริมาณเริ่มต้น 3.06 และ 4.16 log CFU/g ได้หมด เมื่อแช่ในคลอรีนเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม เวลา 10 นาที หรือคลอรีนเข้มข้น 150 พีพีเอ็ม เวลา 5 นาที จะทำลายเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีปริมาณเริ่มต้น 5.04 log CFU/g ได้หมด และ แช่ในคลอรีนเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม เวลา 5 นาที หรือ คลอรีนเข้มข้น 250 พีพีเอ็ม เวลา 2 นาที จะทำลายเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีปริมาณเริ่มต้น 7.07 และ 9.03 log CFU/g ได้หมด

Pirovani และคณะ (2001) ศึกษาการล้างผักขม (spinash) ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 8 log CFU/g ด้วยสารละลายคลอรีน ที่ความเข้มข้น 25 ถึง 125 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 2 – 8 นาที พบว่าสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ได้ 2 - 3 log CFU/g

2. สารประกอบไตรโซเดียมฟอสเฟต (trisodium phosphate ; TSP)

สารประกอบไตรโซเดียมฟอสเฟต เป็นสารประกอบในกลุ่มของฟอสเฟตที่นิยมนำมาใช้กับน้ำล้างในอุตสาหกรรม เป็นสารอนินทรีย์มีคุณสมบัติเป็นด่าง มีความเป็น oxidizing agent น้อยกว่าสารประกอบคลอรีน เมื่อละลายน้ำแตกตัวให้ไดโซเดียมออกไซด์ (Na_2O) ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ นอกจากนี้ไตรโซเดียมฟอสเฟตจะทำปฏิกิริยากับอนุมูลโลหะที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จึงทำให้การเจริญหยุดชะงัก เช่น การใช้สารประกอบไตรโซเดียมฟอสเฟตในน้ำล้างเพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์ เช่น *Salmonella* *E. coli* *C. jejuni* เป็นต้น โดยทั่วไปสามารถใช้สารละลายไตรโซเดียมฟอสเฟต ปริมาณร้อยละ 1–15 ในน้ำล้างอาหาร

ได้ แต่ความเข้มข้นที่มากกว่าร้อยละ 10 อาจทำให้กลิ่นรสอาหารเปลี่ยนแปลงได้ (Beuchat, 1998)

De Ledesma และ คณะ (1996) ศึกษาการลดเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่ผิวของปีกไก่ โดยแช่ปีกไก่ในสารละลายไตรโซเดียมฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 10 อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาที แล้วเก็บที่อุณหภูมิ10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง สามารถลดเชื้อ *S. typhimurium* *L. monocytogenes* และ *S. aureus* ได้ร้อยละ 93.45 39.04 และ 80.33 ตามลำดับ Ismail และคณะ (2001) พบว่าเมื่อล้างปีกไก่ด้วยการแช่ในสารละลายไตรโซเดียมฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 4 8 และ 12 ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที สามารถลดเชื้อรา *Yarrowia lipolytica* ได้ 0.3 0.7 และ 0.8 log CFU/g ตามลำดับ และลดเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ 0.7 1.1 และ 1.1 log CFU/g ตามลำดับ

3.3.2 สารลดแรงตึงผิว (surfactant)

สารลดแรงตึงผิว หรือ surfactant จัดเป็น detergent ที่มีคุณสมบัติในการ ลดแรงตึงผิวระหว่างเฟส 2 เฟส มีคุณสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ จึงใช้เป็นสารทำความสะอาดเพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ สารลดแรงตึงผิวมีโครงสร้างของโมเลกุลเป็นแบบแอมฟิพาติก (amphipathic molecules) ประกอบด้วย 2 ส่วน คือส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ (hydrophilic and hydrophobic moieties) โดยส่วนที่ชอบน้ำหรือส่วนหัว (head group) อาจจะเป็นคาร์โบไฮเดรต กรดคาร์บอกซิลิก ฟอสเฟต กรดอะมิโน หรือแอลกอฮอล์ ส่วนที่ไม่ชอบน้ำหรือส่วนหาง อาจจะเป็นกรด ไขมันสายยาวหรือกรดไขมันไฮดรอกซิล ซึ่งเมื่ออยู่ในสารละลาย โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจะสะสมที่บริเวณผิวของตัวทำละลาย และเนื่องจากมีโครงสร้างดังกล่าวทำให้เกิดการลดค่าแรงตึงผิวของตัวทำละลายนั้น (Morpeth, 1995)

เมื่อสารลดแรงตึงผิวมีความเข้มข้นสูงในตัวทำละลาย โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจะหันส่วนที่ไม่ชอบน้ำเข้าหากันด้วยแรงจับกันของสารลดแรงตึงผิว เกิดเป็นโครงสร้างที่เรียกว่าไมเซลล์ แสดงดังภาพที่ 3

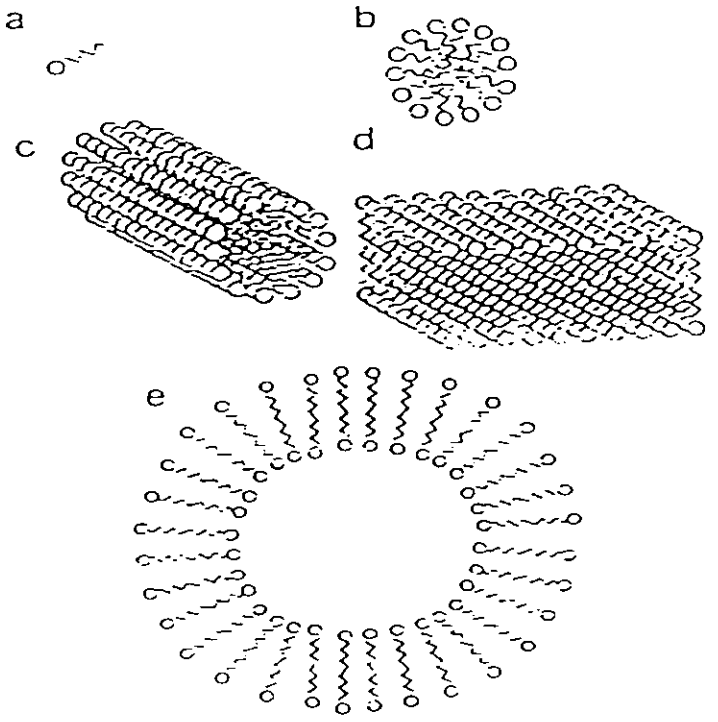

Figure. 3 Amphipathic molecules surfactant structure. (a) surfactant monomer (polar head and non polar tail) ; (b) circular micelle. ;(c) rod-shaped micelle. ; (d) micellar layer ; (e) vesicle representation.

ภาพที่ 3 โครงสร้างต่างๆ ของสารลดแรงตึงผิว ชนิดโมเลกุลแอมฟิพาติก (a) surfactant monomer (ส่วนหัวเป็นส่วนที่ชอบน้ำและส่วนหางเป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำ) ; (b) circular micelle. ;(c) rod-shaped micelle. ; (d) micellar layer ; (e) vesicle representation.

Source : Fiechter (1992)

ความเข้มข้น ณ. จุดที่ทำให้โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวมารวมกันนี้เป็นคุณสมบัติเฉพาะของสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิด เรียกความเข้มข้นจุดนี้ว่า critical micelle concentration (CMC) ซึ่งการเกิดไมเซลล์จะมีผลต่อค่าแรงตึงผิวของสาร-ละลาย เมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวในสารละลายเพิ่มขึ้น ค่าแรงตึงผิวของสารละลายจะมีค่าลดลงจนถึงจุด CMC คือ ค่าแรงตึงผิวของสารละลายจะไม่ลดลงอีกถึงแม้จะเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวในสารละลาย (Fiechter, 1992) ชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้กับอาหารมีดังนี้ คือ

1. สารประกอบ dialkyldimethylammonium chloride

สารประกอบ dialkyldimethylammonium chloride จัดเป็นสารในกลุ่ม quaternary ammonium compounds (QAC)มีคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิวประจุบวก (cationic surfactant) โดยประจุบวกที่กลุ่มหัวจะจับประจุลบของวัตถุอื่น (Clint, 1992) สารประกอบในกลุ่ม Quaternary ammonium compounds นิยมใช้เป็นสารทำความสะอาดอุปกรณ์หรือเครื่องมือที่สัมผัสกับอาหารเพื่อลดเชื้อจุลินทรีย์ เมื่อละลายน้ำจะได้สารละลายไม่มีสีและกลิ่น กระจายตัวได้ดี ไม่ทำให้เกิดการกัดกร่อน คงตัวที่อุณหภูมิสูงและมีประสิทธิภาพดีในพีเอชช่วงกว้าง ตั้งแต่พีเอช 6 ถึง 10 ทำลายยีสต์รา และแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารประกอบที่ใช้รวมทั้งชนิดของจุลินทรีย์ด้วย . ในปัจจุบันมีการใช้สารประกอบกลุ่มนี้ในอาหารประเภทผักและผลไม้ด้วย (Beuchat, 1998)

Edebo และ คณะ (1992) รายงานว่าการแช่เนื้อไก่ในสารละลาย dodecyl betainate ซึ่งเป็นสารประกอบในกลุ่ม QAC เข้มข้น ร้อยละ 0.1 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที สามารถลดเชื้อ *C. jejuni* และ *Salmonella* spp. ได้ร้อยละ 99 ในขณะที่การแช่เนื้อไก่ในสารละลายดังกล่าว ที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส จะต้องใช้ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 10 นาที จึงจะลดเชื้อ *C. jejuni* ได้ร้อยละ 99 และลดเชื้อ *Salmonella* spp. ได้ร้อยละ 2

Jean และคณะ (2003) ใช้สารละลาย QAC ความเข้มข้น 200 – 3,000 พีพีเอ็ม ทำความสะอาดอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัสกับอาหาร เช่น พลาสติกโพลีไวนิลคลอไรด์ โพลีเอธิลีน อลูมิเนียม และ สเตนเลส ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที สามารถลด Hepatitis A virus ได้ 1 - 2.5 log cycle

2. สารประกอบ Tween 80

Tween 80 มีชื่อทางเคมีเรียกว่า polyoxyethylene sorbitane monooliate ประกอบด้วยไขรัปและกรดไขมันชนิดโอเลอิก ลิโนเลอิก ปาล์มมิติและ สเตียริก มีคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดที่ไร้ประจุ (non-ionic surfactant) ใช้สำหรับงานชะล้างเกิดเป็นอิมัลชั่นที่อุณหภูมิต่ำได้ ส่วนที่ชอบน้ำของโครงสร้างของสารประกอบนี้

คือสายของเอธิลีนออกไซด์ (ethylene oxide chain) ข้อดีของสารประกอบชนิดนี้คือไม่เป็นพิษ สามารถใช้ได้กับสารละลายที่มีพีเอชในช่วงกว้าง (Clint, 1992)

Yu และคณะ (2001) ศึกษาการใช้ สารประกอบ Tween 80 เพื่อลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 บริเวณผิวของผลสตรอเบอรี โดยจุ่มสตรอเบอรีที่มี *E. coli* O157:H7 ปริมาณ 6.4 log CFU/g โดยประมาณ ในสารละลาย Tween 80 ความเข้มข้น100 และ 200 พีพีเอ็มเป็นเวลา 30 วินาที พบว่าสามารถลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ได้ในช่วง 1.06 -1.25 log CFU/g

Adum และคณะ (1989) ศึกษาการใช้สารละลาย Tween 80 ความเข้มข้น 1000 พีพีเอ็ม เพื่อลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ชนิด mesophilic aerobic bacteria ในการล้างผักสลัด เป็นเวลา 5 ถึง 30นาที จะสามารถลดได้ร้อยละ 99.6 และการเติม Tween 80 ในสารละลายคลอรีนความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ไม่มีผลต่อการลดลงของเชื้อ จุลินทรีย์ไปกว่าการใช้ Tween 80 เพียงอย่างเดียว แต่การใช้สารละลาย Tween 80 ความเข้มข้นมากกว่า 10 พีพีเอ็ม จะทำให้คุณภาพของผักสลัดด้านกลิ่นรสและเนื้อสัมผัส ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

3.4 วัตถุกันเสีย

วัตถุกันเสียเป็นสารประกอบเคมีที่ใช้เพื่อการถนอมอาหารหรือยืดอายุการเก็บ มีคุณสมบัติยับยั้งหรือทำลายการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ วัตถุกันเสียที่นิยมใช้กับอาหาร ได้แก่

3.4.1 กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอท (Benzoic and benzoate)

กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอทเป็นวัตถุกันเสียชนิดกรดอ่อนใช้ถนอมอาหารได้หลายชนิด เติมในอาหารได้โดยตรงไม่ทำให้สีของอาหารเปลี่ยนแปลง อนุพันธ์ของกรดเบนโซอิก ได้แก่โซเดียมเบนโซเอท ละลายน้ำได้ดีกว่ากรดเบนโซอิก นิยมใช้ในรูปของโซเดียมเบนโซเอท พีเอชเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อประสิทธิภาพของกรดเบนโซอิก เมื่อพีเอชสูงขึ้นการแตกตัวจะเพิ่มขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพลดลง

แสดงดังตารางที่ 4 และกรดเบนโซอิกไม่สะสมในร่างกาย เพราะร่างกายมีกระบวนการขับสารพิษโดยขับออกทางปัสสาวะในรูปของกรดฮิบพูริก (Chipley, 1993)

Table 4 Effect of pH on the dissociation of benzoic acid

ตารางที่ 4 ผลของพีเอชต่อการแตกตัวของกรดเบนโซอิก

pH	undissociated acid (%)
3	93.5
4	59.3
5	12.8
6	1.44
7	0.144
pK	4.19

Source : Chipley, 1993

กรดเบนโซอิกมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง ยีสต์ แบคทีเรียและรา มีกลไกในการยับยั้งคือทำลายชั้นของเมมเบรนแล้วซึมผ่านเข้าไปในเซลล์และกระจายตัวอยู่ในเซลล์ทำลายพันธะของโปรตีน ทำให้โปรตีนเกิดการเสื่อมสภาพแล้วตกตะกอนทำให้เซลล์จุลินทรีย์ไม่สามารถคงตัวอยู่ได้ (Nester, 1998) รวมทั้งขัดขวางการซึมผ่านเข้าออกของสารที่บริเวณเซลล์เมมเบรนและยับยั้งระบบเอนไซม์ โดยพีเอชเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการออกฤทธิ์ของกรดเบนโซอิก เมื่อพีเอชสูงขึ้นการแตกตัวจะเพิ่มขึ้น (Chipley, 1993)

Kasrazadeh และ Genigeorgis (1995) รายงานการเจริญของเชื้อ *E. coli* O157: H7 เมื่อใช้โซเดียมเบนโซเอทในเนยแข็ง พบว่าเชื้อ *E. coli* O157: H7 ไม่มีการเจริญเติบโตเมื่อใช้โซเดียมเบนโซเอทที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 พีเอช 6.6 แล้วเก็บที่

อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 เดือน แต่ที่พีเอช 2.0 โซเดียมเบนโซเอทไม่สามารถทำลายเชื้อ *E. coli* O157: H7ได้ เนื่องจากเซลล์ของแบคทีเรียดังกล่าวสามารถขับกรดเบนโซอิกและประจุลบของกรดเบนโซอิกออกนอกเซลได้

ในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวอนุญาตให้ใช้กรดเบนโซอิกหรือโซเดียมเบนโซเอท หรือโพแทสเซียมเบนโซเอทได้ไม่เกิน 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อคำนวณในรูปกรดเบนโซอิก (มอก.891-2532) Pylypiw Jr และ Grether (2000) รายงานว่าประเทศสหรัฐอเมริกาใช้โซเดียมเบนโซเอทในการถนอมอาหาร ได้แก่ ซีอิ้วจากถั่วเหลืองในปริมาณ 330 ถึง 350 พีพีเอ็ม เนยถั่วในปริมาณ 320 พีพีเอ็มและมัสตาดร์ในปริมาณ 570 พีพีเอ็ม เป็นต้น

3.4.2 กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบท (Sorbic and sorbates)

กรดซอร์บิกและอนุพันธ์เป็นวัตถุกันเสียชนิดกรดอ่อน มีโครงสร้างเป็นสายตรงของกรดไขมันไม่อิ่มตัว มีสูตรโมเลกุลคือ CH_3-CH=CH=CH-COOH โดยหมู่คาร์บอก-ซิลเปลี่ยนรูปเป็นเกลือและเอสเทอร์ได้ เกลือซอร์เบทที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร คือ โปแตสเซียมซอร์เบท มีลักษณะเป็นผงหรือเกล็ด ละลายน้ำได้ดี และละลายใน อาหารได้มากกว่าร้อยละ 50 เช่น ละลายในน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 10 ได้ร้อยละ 58 เป็นต้น· ร่างกายจะย่อยสลายกรดซอร์บิกได้เป็นน้ำและคาร์บอนไดออกไซด์ จึงมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและเมื่อใช้ร่วมกับวัตถุกันเสียชนิดอื่น เช่น กรดเบนโซอิก หรือ พาราเบน จะไม่เสริมฤทธิ์ทำให้เกิดพิษได้ (Sofoa and Busta, 1993)

กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของยีสต์ในผักดอง น้ำผลไม้ ไวน์ ผลไม้แห้ง และผลิตภัณฑ์จากปลา ยับยั้งการเจริญของราในไส้กรอก ขนมปัง ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ทั้งชนิดแอโรบและแอนแอโรบ รวมทั้งแบคทีเรียทำให้อาหารเน่าเสียและก่อโรคด้วย ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดซอร์บิก ขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้คือ พีเอช วอเตอร์แอคติวิตี้ อุณหภูมิ ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ Sofoa และ Busta (1993) กล่าวว่าที่พีเอช 4.75

ซอร์บิกยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งคือ 6.0 – 6.5 คือมีกรดที่ไม่แตกตัวร้อยละ 6 การใช้เกลือและน้ำตาลในอาหารจะช่วยเสริมฤทธิ์ของกรดซอร์บิก เนื่องจากทำให้ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ลดลงและเมื่อให้ความร้อนร่วมกับกรดซอร์บิกจะทำให้จุลินทรีย์ทนต่อความร้อนลดลง

การใช้กรดซอร์บิกในอุตสาหกรรมอาหารนิยมใช้ในลักษณะของการพ่น จุ่ม หรือเติมลงในอาหารโดยตรงคิดเป็นปริมาณร้อยละ 0.02 - 0.30 ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของอาหาร แสดงดังตารางที่ 5 ในผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวอนุญาตให้ใช้กรดซอร์บิก หรือโซเดียมซอร์เบท หรือโพแทสเซียมซอร์เบทได้ไม่เกิน 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเมื่อคำนวณในรูปกรด ซอร์บิก (มอก.891-2532)

Table 5 Common applications of sorbates as antimicrobial agents

ตารางที่ 5 ปริมาณของกรดซอร์บิกที่ใช้เป็นวัตถุกันเสียในอาหารชนิดต่าง ๆ

products	levels (%)
Dairy products	0.05 – 0.30
Bakery products	0.03 – 0.30
Vegetable products	0.02– 0.20
Fruits products	0.02 – 0.25
Beverages	0.02 – 0.10
Food emulsions	0.05 – 0.10
Meat and fish products	0.05 – 0.30

Source : Sofoa and Busta, 1993

Tfouni และ Toledo (2002) ศึกษาการใช้วัตถุกันเสียในอาหารของประเทศบราซิล พบว่ามีการใช้กรดซอร์บิกในอาหารหมักที่เป็นผลิตภัณฑ์จากนม ได้แก่ โยเกิร์ตในปริมาณ 120 – 210 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เนยแข็งในปริมาณ 350 – 1,350 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่ง Nester (1998) กล่าวว่ากรดซอร์บิกสามารถทำลายเซลล์เจริญและ

สปอร์ของจุลินทรีย์ได้เนื่องจากกรดที่ไม่แตกตัวซึมผ่านผนังเซลล์และทำลายพันธะของโปรตีน ทำให้โปรตีนเสื่อมสภาพแล้วตกตะกอน ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ Sofoa และ Busta (1993) กล่าวถึงกลไกอื่น ๆ ในการทำลายจุลินทรีย์ของ กรดซอร์บิก ดังต่อไปนี้ คือ

1. กรดซอร์บิกจะยับยั้งการเพิ่มของกรดอะมิโน ลดการใช้คาร์บอนจากสารอาหารประเภทกลูโคส เอธานอล และอะซิทัลดีไฮด์ ในระหว่างที่เซลล์แบ่งตัว

2. กรดซอร์บิกจะยับยั้งเอนไซม์สปอรีโอไลติก (sporeolytic enzymes) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในขั้นตอนการเจริญของสปอร์ไปเป็นเซลล์เจริญ โดยทำให้ความหนืดบริเวณผนังเซลล์ของสปอร์เพิ่มขึ้น

3. ทำให้ลักษณะทางสรีรวิทยาและเซลล์เมมเบรนเปลี่ยนแปลง เช่น การทำให้ฟอสโฟโปรตีนในเซลล์ยีสต์มีความหนาแน่นและเรียงตัวไม่สม่ำเสมอ รวมทั้งยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิสมของเซลล์

El-shenawy และ Marth (1991) กล่าวว่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โปแตสเซียมซอร์เบทมีประสิทธิภาพการทำลายเชื้อ *L. monocytogenes* สายพันธุ์ V7 ใน tryptose broth ได้ดีกว่า ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส และเมื่อใช้กรดอะซิติกและกรดทาทาริกปรับพีเอชอาหาร tryptose broth จะมีประสิทธิภาพใน การยับยั้งดีกว่าใช้กรดซิตริก กรดแลกติกและกรดไฮโดรคลอริก

3.5 แบคเทอริโอซิน

แบคเทอริโอซินเป็นสารเปปไทด์หรือสารประกอบโปรตีนที่สร้างขึ้นจากแบคทีเรีย มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอื่นที่มีสายพันธุ์ใกล้เคียงกับแบคทีเรียที่ผลิตแบคเทอริโอซิน (Brink *et al.*, 1994) แบคเทอริโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรียแกรมบวกจะมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ และแบคเทอริโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรียแกรมลบจะมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (De Vuyst and Vandamme, 1994) ปัจจุบันแบคเทอริโอซินใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร นำมาใช้ในการผลิตอาหารและเครื่องดื่มเพื่อยืดอายุการเก็บ

รักษาและเนื่องจากไม่มีสารเคมีเป็นส่วนผสมในอาหารนั้น ๆ จึงมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคหรือเรียกว่า "green technologies" (Ross *et al.*, 2002)

Klaenhammer (1988) แบ่งแบคเทอริโอซินตามความสามารถในการยับยั้งได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. แบคเทอริโอซินมีผลการยับยั้งในช่วงแคบ (Narrow inhibitory spectrum) เป็นแบคเทอริโอซินที่สามารถยับยั้งได้เฉพาะจีนัสเดียวกัน เช่น Lactocin 27 จากเชื้อ *Lactobacillus helveticus* LP27 ยับยั้งเฉพาะ Lactobacilli, Diplococcin จากเชื้อ *Lactococcus lactis* ssp.*cremoris* 346 ยับยั้งเฉพาะ Lactococci

2. แบคเทอริโอซินมีผลการยับยั้งในช่วงกว้าง (Broad inhibitory spectrum) เป็นแบคเทอริโอซินที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกอื่น ๆ เช่น ไนซิน (nisin) จากเชื้อ *Lactococcus lactis* ssp.*lactis* ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก และ Pediocin AcH จากเชื้อ *Pediococcus acidilactici* ยับยั้ง Pediococci Lactobacilli Leuconostocs Bacilli Enterococci Staphylococci Listeria และ Clostridia

Ross และคณะ (2002) ได้แบ่งแบคเทอริโอซินที่ตามลักษณะโครงสร้าง มวลโมเลกุลและความคงตัวต่อความร้อน ออกเป็น 3 กลุ่มหลักดังต่อไปนี้ คือ

1. กลุ่มที่ 1 lantibiotic เป็นแบคเทอริโอซินที่มีขนาดเล็ก ประกอบด้วยสายเปปไทด์ 1 หรือ 2 สาย มีมวลโมเลกุลน้อยกว่า 5 กิโลดาลตัน ทนความร้อนได้สูง ได้แก่ nisin และ mersacidin

2. กลุ่มที่ 2 small non-modified peptides เป็นแบคเทอริโอซินที่มีมวลโมเลกุลน้อยกว่า 13 กิโลดาลตัน ทนความร้อนได้ปานกลาง ได้แก่ lactacin F pediocin PA-1 saKacin A และ P เป็นต้น

3. กลุ่มที่ 3 large heat-labile proteins เป็นแบคเทอริโอซินที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ มีมวลโมเลกุลมากกว่า 30 กิโลดาลตัน ทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน ที่ 60 - 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 -15 นาที ได้แก่ helvetin J lactacin Aและ B acidophilucin A เป็นต้น

3.5.1 แบคทีเรีย *L. casei* ssp. *rhamnosus*(SN11)และแบคเทอริโอซิน

แบคทีเรีย *L. casei* ssp. *rhamnosus* (SN11) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เซลล์รูปร่างเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ ไม่ต้องการอากาศแต่ทนต่อสภาวะมีอากาศ เป็นประเภท mesophile แต่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำสุด 5 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิสูงสุด 45 องศาเซลเซียส เป็นชนิด Homofermentative (Homolactic) คือย่อยสลายกลูโคสได้กรดแลกติกร้อยละ 85 ที่เหลือเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ เอธานอล และกรดอะซิติก (Caplice and Fitzgerald, 1999) *L. casei* ssp. *rhamnosus* (SN11) แยกได้จาก ส้มฟัก เจริญและสร้างสารยับยั้งแบคทีเรียอินดิเคเตอร์ได้ดีเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว MRS พีเอชเริ่มต้นของอาหารที่ 5.5 สามารถเจริญและผลิตแบคเทอริโอซินได้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ 35 องศาเซลเซียส แบคเทอริโอซินที่เชื้อสร้างขึ้นสามารถทนความร้อน ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที และทนต่อสภาวะเป็นกรดได้โดยยังคงมีกิจกรรมที่พีเอช 5 ถูกยับยั้งได้ด้วยเอนไซม์ โปรเนส อี (Pronase-E) โปรตีเนส เค (Proteinase-K) ทริปซิน (Trypsin) และ อัลฟา-ไคโมทริปซิน (α-Chymotrypsin) แต่ทนต่อเอนไซม์คะตะเลส (Catalase)

เมื่อนำ *L. casei* ssp. *rhamnosus* (SN11) เพาะเลี้ยงร่วมกับแบคทีเรียก่อโรค 3 ชนิด คือ *Escerichia coli* *Staphylococcus aureus* และ *Listeria murrayi* โดยใช้อัตราส่วน $1:10^3$ ในอาหารเหลว MRS ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง พบว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก คือ *S .aureus* และ *L. murrayi* ได้สูงสุดร้อยละ 99.4 และ 97.0 ตามลำดับ ในขณะที่ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ คือ *E. coli* ได้สูงสุดร้อยละ 66.7 (นิติเนตร ขำทวี, 2544)

3.5.2 กลไกการทำลายจุลินทรีย์ของแบคเทอริโอซิน (Mode of action)

แบคเทอริโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรียต่างชนิดกันจะมีคุณสมบัติทางเคมีต่างกันและมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ต่างกัน ซึ่งแบคเทอริโอซินชนิดหนึ่งๆ จะมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์แต่ละชนิดแตกต่างกัน รวมทั้งมีคุณสมบัติ

ป้องกันไม่ให้สปอร์ของแบคทีเรียเจริญไปเป็นเซลล์เจริญได้ โดยมีกลไกการทำลายดังนี้ คือ (Ennaher *et al.*, 1999 ; Jack *et al.*, 1995 ; Abee *et al.*, 1995)

1. ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่นอกสุดของเซลล์ ทำหน้าที่ป้องกันสิ่งที่อยู่ในเซลล์ โดยแบคเทอริโอซินจะยับยั้งการสร้างเปปติโดไกลแคน (Peptidoglycan) ซึ่งเป็นส่วนประกอบผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งหากถูกทำลายหรือสร้างได้ไม่สมบูรณ์แบคทีเรียจะตายได้ แบคเทอริโอซินพวกนี้จัดเป็น bacteriocidal

2. รบกวนหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเป็นส่วนที่ถัดจากผนังเซลล์เข้ามาแบคเทอริโอซินมีผลต่อ Proton motive force ของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้ความสมดุลของ K^+ ของเซลล์เปลี่ยนแปลงไป โดยมีการผ่านเข้าไปในเซลล์มากขึ้นเกิดการสะสมทำให้แรงดันในเซลล์ไม่สมดุลย์ ดังนั้นเมื่อการทำงานไม่สมดุลย์ เซลล์จะแตกและตายในที่สุดแบคเทอริโอซินพวกนี้จัดเป็น bacteriocidal

3. ยับยั้งการสร้างกรดนิวคลีอิก ทั้ง Deoxyribonucreic acid (DNA) และ Ribonucreic acid (RNA)

4. ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน แต่กระบวนการสังเคราะห์โปรตีนหลายขั้นตอนที่แบคเทอริโอซินยับยั้งได้และกลับสู่สภาพเดิมได้เมื่อความเข้มข้นลดลง แบคเทอริโอซินพวกนี้จัดเป็น bacteriostatic

5. รบกวนกระบวนการเมตาบอลิสม กระบวนการเมตาบอลิสมสามารถกลับสู่สภาพเดิมได้เมื่อความเข้มข้นลดลง แบคเทอริโอซินพวกนี้จัดเป็น bacteriostatic

การทำงานของแบคเทอริโอซิน แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนที่หนึ่ง แบคเทอริโอซินจับกับเซลล์บริเวณ specific receptors ขั้นที่สองจะแทรกเข้าสู่เซลล์โดยผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ และสุดท้ายจะเข้าไปทำลายภายในเซลล์ทำให้เซลล์ตาย กลไกการเข้าไปทำลายให้เซลล์ตายมีหลายแบบด้วยกัน คือ มีผลต่อ Proton motive force ของเยื่อหุ้มเซลล์ รวมทั้งทำให้เซลล์สูญเสียคุณสมบัติการผ่านเข้าออกของ สาร (membrane potential) (Hoover *et al.*, 1993) และอาจมีผลต่อ RNase และ DNase ภายในเซลล์แบคทีเรียที่ว่องไวต่อแบคทีเรีย ซึ่งทำให้หยุดการสังเคราะห์โปรตีน และมีผลทำให้หยุดการสังเคราะห์โพลีแซคคาไรด์ด้วย (Ross *et al.*, 2002) Muriana

(1996) รายงานว่า โมเลกุลของสารแบคเทอริโอซิน มีโครงสร้างแบบ α - helical หรือ β - sheet จะไป form paration complexes ในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดการฉีกขาดและเซลล์ สูญเสียความสามารถในการควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่าง ๆ มีผลทำให้เซลล์แบคทีเรียไวต่อแบคเทอริโอซินถูกทำลายได้

3.5.3 การนำแบคเทอริโอซินไปใช้ในอาหาร

ในปัจจุบัน nisin จากเชื้อ *L. lactis* ssp *lactis* มีชื่อทางการค้าว่า nisaplin เป็นแบคเทอริโอซินที่อนุญาตให้ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหารได้ในหลายประเทศ โดยในแต่ละประเทศได้กำหนดชนิดของอาหารและปริมาณที่ให้ใช้ แสดงดังตารางที่ 6 องค์การอนามัยโลกและองค์การอาหารโลก (WHO/FAO) กำหนดให้บริโภคได้ไม่เกิน 30,000 IU ต่อกิโลกรัมต่อน้ำหนักตัวต่อวันโดยไม่มีผลกระทบต่อความปลอดภัย (Daeschel, 1990)

Choi และ Park (2000) ศึกษาการใช้ไนซินในผักดอง (กิมจิ) พบว่าเมื่อใช้ไนซินความเข้มข้น 100 – 300 IU/ml จะยับยั้งการเจริญของเชื้อในกลุ่ม *Lactobacillus* spp. ได้ดีกว่าเชื้อในกลุ่ม *Leuconostoc* spp. และทำให้ *Lactobacillus plantarum* เจริญช้าลงประมาณ 2- 3วัน ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

Davies และคณะ (1997) พบว่าเมื่อเติมไนซินปริมาณ 2.5 mg/L ใน ricotta cheese ที่มีเชื้อ *L. monocytogenes* ปริมาณ 2 - 3 log CFU/g และเก็บที่อุณหภูมิ 6-8 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ได้เป็นเวลา 55 วัน และเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 10 สัปดาห์ ไนซินจะสูญเสียกิจกรรมคิดเป็นร้อยละ 10 – 32

Ferreira และ Lund (1996) พบว่าเมื่อเติมไนซินปริมาณ 2000 IU/g ใน cottage cheese ที่มีเชื้อ *L. monocytogenes* ปริมาณ 4 log CFU/g และเก็บที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่าปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ลดลง 3 log CFU/g ในขณะที่ชุดควบคุมปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ลดลง 1 log CFU/g

Jenson และคณะ (1994) กล่าวว่าไนซินที่ความเข้มข้น คือ 3.75 µg/g สามารถป้องกันการเจริญของสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ในขนมปังได้

Table 6 Examples of world wide use of nisin

ตารางที่ 6 ปริมาณไนซินที่อนุญาตให้ใช้ในอาหารในแต่ละประเทศ

Country	Food in which nisin is permitted	Maximum level (IU/g)
Argentina	Processed cheese	500
Australia	Cheese, processed cheese,canned	No limit
Belgium	tomatoes	100
Cyprus	Cheese	No limit
France	Cheese, clotted cheese, canned	No limit
Italy	vegetables	500
Mexico	Processed cheese	500
Netherlands	Cheese	800
Peru	Nisin is a permitted additive	No limit
Russia	Processed cheese,Cheese powder	8,000
UK	Nisin is a permitted additive	No limit
US	Processed cheese, canned vegetables	10,000
	Cheese, canned foods, clotted cream	
	Pasteurized processed cheese spreads	

Source : Cleveland *et al.*, 2001

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาวิธีการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *Bacillus cereus* ในกระบวนการผลิตเต้าเจี้ยวของกลุ่มแม่บ้านเกษตรกร และควบคุมปริมาณ เชื้อ *Bacillus cereus* ในผลิตภัณฑ์

ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาแหล่งปนเปื้อนของเชื้อ *Bacillus cereus* ในกระบวนการผลิตเต้าเจี้ยว โดยสำรวจจากการผลิตของกลุ่มเกษตรกร 2 กลุ่ม ในจังหวัดตรัง
2. ศึกษาวิธีการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* ในวัตถุดิบ คือ ถั่วเหลืองและแป้งสาลี
3. ศึกษาวิธีการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* เพื่อยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว โดยใช้วัตถุกันเสีย และ แบคเทอริโอซิน ที่ผลิตจาก *Lactobacillus casei* ssp. *rhamnosus* (SN 11)