บทตรวจเอกสาร

การส่งออกกุ้งแช่เยือกแข็ง

ประเทศไทยเริ่มส่งออกกุ้งแช่เยือกแข็งออกสู่ตลาดโลกในปี พ.ศ. 2508 มีปริมาณมูลค่าและอัตราการขยายตัวสูงมาก ปริมาณการส่งออกกุ้งแช่เยือกแข็งเพิ่มขึ้นทุกปี ประเทศไทยสามารถครองส่วนแบ่งตลาดโลกได้มากที่สุดเป็นอันดับหนึ่งในการส่งออกกุ้งแช่แข็งมาตั้งแต่ปี 2534 รวมเป็นเวลานับ 10 ปีแล้ว แต่อัตราการเพิ่มขึ้นมีการลดลงในปีหลัง ๆ การส่งออกที่มีอัตราการขยายตัวต่ำลงมีสาเหตุมาจากหลายประการ เช่น ด้านคุณภาพสินค้า การขนส่ง ภาษีอากรส่งออก การเอารัดเอาเปรียบ และการกีดกันเชิงการค้า การกระจายของตลาดส่งออก การแข่งขันในตลาดส่งออก ด้านราคา และปัญหาที่สำคัญที่สุดคือ ด้านคุณภาพ และมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ในด้านความสะอาดและความสดของสินค้า ปัญหาสิ่งปลอมปนต่างๆ เช่นเศษไม้ ยางวง ขนสัตว์ นอกจากผลจากสิ่งแปลกปลอมเหล่านี้จะมีผลกับการส่งออกแล้ว คุณภาพในด้านจุลินทรีย์และการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์ ยังเป็นปัญหาที่สำคัญจนทำให้ถูกตีกลับ (rejection) หรือถูกทำลายเมื่อส่งไปขายยังต่างประเทศ (เพ็ญศรี และคณะ, 2530)

การปนเปื้อนของกุ้งสดจากแบคทีเรีย

กุ้งหลังจับได้จะมีจำนวนจุลินทรีย์ต่างชนิดกันตามแหล่ง และพบว่า แบคทีเรียธรรมชาติของกุ้งจะเป็นแบคทีเรียจำพวก *Achromobactor Micrococcus Pseudomonas Flavobacterium* และ *Bacillus* ซึ่งปริมาณแบคทีเรียเหล่านี้มีจำนวนไม่มาก แต่หลังจากจับกุ้ง กุ้งจะมีการตาย และต้องใช้เวลาขนส่งสู่โรงงานแปรรูป บางครั้งต้องใช้เวลานานหลายชั่วโมง เมื่อมาถึงโรงงานแล้ว ยังมีขั้นตอนก่อนการแช่เยือกแข็งที่ต้องใช้เวลา และยังมีสภาวะที่เอื้ออำนวยให้แบคทีเรียสามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว สำหรับแบคทีเรียชนิดที่พบที่โรงงานก่อนการแปรรูป ได้แก่ Coliform , *Streptococcus, Staphylococcus, Salmonella, Proteus, Clostridium* (อรัญ, 2516) ภัทราพร และคณะ(2533) ได้ศึกษาปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ในตัวอย่างกุ้งกุลาดำจากบ่อเลี้ยงบริเวณอ่าวปัตตานีในสภาพที่มีความสดสูงสุดพบว่าจุลินทรีย์กระจายอยู่มากที่สุดที่ระบบทางเดินอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในลำไส้ซึ่งมีปริมาณสูงถึง 2.1×10^7 โคโลนี/กรัม ในขณะที่ในปากและกระเพาะมีปริมาณน้อยกว่า 10-100 เท่า จุลินทรีย์ที่พบในระบบทางเดินอาหารส่วนใหญ่ประกอบด้วย *Vibrio, Klebsiella, Yersinia* และ *Pseudomonas* สำหรับ *Aeromonas, Enterobacter* และ *Plesiomonas* พบจำนวนเล็กน้อย และพบว่าเมื่อกุ้งถูกแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์แล้วยังมีการตรวจพบแบคทีเรียชนิดที่ใช้เป็นตัวชี้คุณภาพ ได้แก่ *Vibrio cholerae, Escherichia coli, Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* (กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ, 2528)

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกุ้งเยือกแข็ง ตาม มอก.115 – 2529

สุขลักษณะในการทำกุ้งแช่เยือกแข็ง ให้เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กำหนดสุขลักษณะของอาหาร มาตรฐานที่ มอก. 115 จุลินทรีย์ต้องไม่เกินเกณฑ์กำหนดต่อไปนี้ ในกรณีที่เป็นกุ้งดิบ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (total viable count) ต้องไม่เกิน 1 $x10^7$ โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัมและจะมีจุลินทรีย์เกิน $1x10^6$ โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัมได้ไม่เกิน 3 ตัวอย่างใน 5 ตัวอย่าง *Escherichia coli* ค่า MPN ต้องไม่เกิน $4x10^2$ ต่อตัวอย่าง 1 กรัมและจะมีค่า MPN เกิน 4 ต่อตัวอย่าง 1 กรัมได้ไม่เกิน 3 ตัวอย่างใน 5 ตัวอย่าง *Staphylococcus aureus* ต้องไม่เกิน 5 $x10^3$ โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัมและจะมีจำนวนเกิน $1x10^3$ โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ได้ไม่เกิน3 ตัวอย่างใน 5 ตัวอย่าง *Salmonella* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม

กฎ ระเบียบ ข้อบังคับการควบคุมคุณภาพในการส่งกุ้งออกไปต่างประเทศ

ประเทศผู้นำเข้าที่สำคัญของผลิตภัณฑ์กุ้ง ได้แก่ ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป ออสเตรเลีย ประเทศต่าง ๆ เหล่านี้ได้กำหนดมาตรฐานสำหรับผลิตภัณฑ์กุ้ง โดยทั่วไปมุ่งเน้นถึงมาตรฐานในการผลิตให้ถูกสุขลักษณะ (Sanitation and hygiene requirement) การกำหนดมาตรฐานทางจุลชีววิทยา (Microbiological standard) ได้แก่เชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ หรือปริมาณเชื้อทั้งหมดสำหรับผลิตภัณฑ์สุก และผลิตภัณฑ์พร้อมบริโภค จะกำหนดระดับการยอมรับ และการตรวจสอบที่เข้มงวดสำหรับปริมาณเชื้อทั้งหมดรวมทั้งปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ

โดยในมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของกุ้งทั้งตัวและกุ้งเด็ดหัวแช่เยือกแข็งในการส่งออกไปยังต่างประเทศ ได้กำหนดไว้ว่า Total viable count ตัว/กรัม ไม่เกิน 100 *E. coli* MPN /กรัม ไม่พบ *S. aureus* coagalase - positive MPN /กรัม ไม่พบ *V. cholerae* /กรัม ไม่พบ *Salmonella* /กรัม (วรรณา , 2533)International Comission on Microbiological Specification for Foods และ Food and Agriculture Organization of the United Nation ได้กำหนดค่าการยอมรับสำหรับ *V. parahaemolyticus* ให้มีปริมาณไม่เกิน 100 เซลล์ต่อกรัมในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลต้มสุก และ ค่าการยอมรับของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งดิบแช่แข็ง ว่าต้องไม่เกิน $1x10^3$ โคโลนีต่อตัวอย่างอาหาร 1 กรัม และจะมีจำนวน $1x10^2$ โคโลนีต่อตัวอย่างอาหาร 1 กรัมได้ไม่เกิน 1 ตัวอย่าง ใน 5 ตัวอย่าง

Vibrio

จีนัส *Vibrio* จัดอยู่ในวงศ์ Vibrionaceae ซึ่งประกอบด้วย 4 จีนัส คือ *Aeromonas, Photobacteriu,m Plesiomonas* และ *Vibrio* เชื้อในจีนัส *Vibrio* มีมากกว่า 30 สปีชีส์ แต่สปีชีส์ที่ทำให้เกิดโรคในคนมี 11 สปีชีส์ คือ *V. cholerae* , *V. alginolyticus* , *V. carchariae* , *V. cincinatiensis* , *V. damsela* , *V. fluvialis* , *V. furnissii* , *V. metchnikovii* , *V. mimicus* , *V. vulnificus* และ *V. parahaemolyticus*

Vibrio เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง ลักษณะเป็นท่อนตรงหรือโค้ง หลายสปีชีส์เคลื่อนที่โดยใช้ polar flagellum ในอาหารเหลว แต่เมื่อเจริญในอาหารแข็งสามารถสร้าง Peritrichous flagella ได้ เชื้อในจีนัส *Vibrio* ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน พบทั่วไปทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม สามารถมีชีวิตอยู่ในน้ำทะเลหรือน้ำที่มีสภาพเป็นด่างได้นาน 1-2 สัปดาห์ (อรษา, 2541) *Vibrio* สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส สปีชีส์ที่ทำให้เกิดโรคในคนเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10-15 องศาเซลเซียส สามารถเผาผลาญอาหารได้โดยใช้กระบวนการหายใจและกระบวนการหมัก เชื้อสามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ (halophile) โดยสปีชีส์ที่ก่อให้เกิดโรคในคนต้องการเกลือโซเดียมคลอไรด์ ที่ความเข้มข้น 1-3% *Vibrio* สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสให้กรดแต่ไม่ให้แก๊ส โดยทั่วไปสามารถสร้าง indole catalase และ oxidase สามารถย่อยไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ สามารถสร้างเอนไซม์หลั่งออกมาภายนอกเซลล์ (exoenzyme) ได้แก่ protease amylase lipase lecitinase DNAase และ chitinase

Vibrio สามารถพบได้ในน้ำทะเลทั่วโลก และปนเปื้อนในสัตว์ทะเล ในประเทศไต้หวันได้มีการศึกษาการแยกเชื้อ *Vibrio* จากอาหารทะเล พบ *V. alginolyticus V. parahaemolyticus V. fluvialis V. mimicus Aeromonas caviae A.hydrophila* และ *A. sobria* (Wong et al., 1992) ในประเทศฮ่องกง ได้มีการศึกษาแยกเชื้อ *V. parahaemolyticus* และเชื้อ *Vibrio* อื่น ๆ จากอาหารทะเลที่จำหน่ายในตลาดพบว่าสามารถแยกเชื้อ *V. alginolyticus* ได้มากที่สุด รองลงมาคือ *V. parahaemolyticus V. harveyi V. fluvialis V. vulnificus V. Pelagius V. compbellii V.spendidus* และ *V. marinum* ตามลำดับ (Chan et al.,1989) ในประเทศอิตาลี Baffone และคณะ(2000) ได้ทำการศึกษากุ้งทะเลสดแช่แข็ง พบว่า 30% ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 129 ตัวอย่าง มีเชื้อ *V. parahaemolyticus V. vulnificus V. metchnikovii V. cholerae* non-O1 และ *V. fluvialis* จากการศึกษาของ Lowy และคณะ (1989) ที่ประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่า 100% ของจำนวนหอยนางรมดิบปนเปื้อนด้วยเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ 67% ปนเปื้อนด้วย *V. vulnificus* การก่อโรคลำไส้อักเสบของ *Vibrio* เกิดจากการรับประทานอาหารทะเลดิบ หรือปรุงสุก ๆ ดิบ ๆ นอกจากนี้ น้ำที่ปนเปื้อนเป็นสาเหตุสำคัญในการติดเชื้อ *V. cholerae* (Lee,1990) จากการศึกษา *Vibrio* ในหอยและน้ำทะเลในประเทศฝรั่งเศส ระหว่างเดือน กรกฎาคม-กันยายน ปีค.ศ. 1999 จำนวน 189 ตัวอย่างพบ V. *alginolyticus* มากที่สุด 99 ตัวอย่าง รองลงมาคือ *V. parahaemolyticus* 41 ตัวอย่าง *V. vulnificus* 20 ตัวอย่าง และ *V. cholerae* non-O1/ non-O139 ตัวอย่าง (Hervio-Health et al., 2002)

V. parahaemolyticus

V. parahaemolyticus จัดเป็นเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ (Food poisoning bacteria) ชนิดหนึ่งซึ่งทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร ถูกพบครั้งแรกโดย Fujino และคณะ ในปี ค.ศ.1950

โดยขณะนั้นเชื้อดังกล่าวเป็นสาเหตุของการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษในเมืองโอซากา ประเทศญี่ปุ่น มีผู้ป่วยที่แสดงอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบอย่างรุนแรงจำนวน 272 ราย และเสียชีวิต 20 รายเนื่องจากการรับประทานชิราสุ ซึ่งเป็นปลาซาร์ดีน (half-dried sardine) ตัวเล็กกึ่งตากแห้ง โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่มีระยะฟักตัวของโรค 2-6 ชั่วโมง อาการโดยทั่วไปประกอบด้วย ปวดเกร็งในช่องท้อง อาเจียน ถ่ายเหลวเป็นน้ำ แต่บางรายอุจจาระอาจมีมูกเลือดปน ปวดศีรษะ หนาว

V. parahaemolyticus พบทั่วไปบริเวณชายฝั่งทะเล ในน้ำทะเล ในตะกอนดิน สัตว์ทะเล เช่น กุ้ง หอย ปู ปลา แพลงก์ตอน และสาหร่าย การกระจายตัวของเชื้อในสิ่งแวดล้อมขึ้นกับฤดูกาล ในช่วงฤดูร้อนพบเชื้อมากกว่าฤดูหนาว จากการศึกษา *V. parahaemolyticus* ในหอยนางรมที่จำหน่ายในร้านค้าปลีกช่วงปี 1998-1999 ในสหรัฐอเมริกาโดยวิธี Most Probable Number พบว่าปริมาณ *V. parahaemolyticus* เพิ่มขึ้นสูงมากในช่วงฤดูร้อน (Cook, et al 2002) ในช่วงฤดูหนาวเชื้อจะอาศัยอยู่ในตะกอนใต้น้ำ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเชื้อสามารถเพิ่มจำนวนและปนเปื้อนในน้ำทะเลมากขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้ในแพลงก์ตอนสัตว์ โดยเชื้อดูดซับสารไคตินบนแพลงก์ตอนเมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสมเชื้อจะย่อยผนังเซลล์ของแพลงก์ตอน และเพิ่มจำนวนมากขึ้นในทะเล จากการศึกษาพบว่า ไม่สามารถแยกเชื้อในน้ำทะเลที่อุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส แต่สามารถแยกเชื้อจากตะกอนดินได้แม้ว่าอุณหภูมิของตะกอนดินจะต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส (Kaneko and Cowell, 1973)

ในประเทศไทยมีรายงานการพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ครั้งแรกในปี ค.ศ.1970 ครั้งนั้น *V. parahaemolyticus* เป็นแบคทีเรียก่อโรคอุจจาระร่วงสูงถึงร้อยละ 25 ของสาเหตุทั้งหมด ซึ่งสูงกว่า Salmonella และ Shigella (อรษา, 2541) และจากรายงานการสำรวจ *V. parahaemolyticus* ในผู้ป่วยโรงพยาบาลโรคติดต่อ กรมควบคุมโรคติดต่อ ระหว่างเดือน พฤศจิกายน ค.ศ.1970-มิถุนายน ค.ศ.1973 มีผู้ป่วย 2.9-2.2% นอกจากนี้ในเดือนธันวาคมปี 1998 ถึง มกราคม ปี1999 ได้มีการตรวจแยกเชื้อ *V. parahaemolyticus* จากอาหารทะเลสดที่จำหน่ายในตลาดสดในอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา จำนวน 114 ตัวอย่างแบ่งเป็น หอย 54 กุ้ง 30 ตัวอย่าง และ ปลา 30 ตัวอย่าง พบเชื้อ *V. parahaemolyticus* จากหอย51 ตัวอย่าง (94%) กุ้ง 25 ตัวอย่าง (83%) และปลา 22 ตัวอย่าง(73%) (Vuddhakul et al.,2000a) ในปี ค.ศ.1999 มีรายงานการตรวจแยกเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลส่งออกจำนวน686 ตัวอย่าง ซึ่งมาจากฮ่องกง อินโดนีเซีย ไทย และเวียดนาม พบ *V. parahaemolyticus* สูงถึง 45.9% โดยส่วนใหญ่พบเชื้อในตัวอย่างที่มาจากฮ่องกงและประเทศไทยสูงกว่าตัวอย่างที่มาจากอินโดนีเซียและเวียดนามมาก ซึ่งตัวอย่างที่พบส่วนใหญ่ เป็น กุ้ง ปู ปลา และ หอย (Wong et al.,1999)จากการศึกษาอุบัติการณ์ของโรคร่วมกับชนิดของอาหารที่รับประทานพบว่า สาเหตุเกิดจากการรับประทานปูแสม (ปูเค็ม) ปลาทะเล กุ้งทะเล ลูกชิ้นปลาทะเล และหอยแมงภู่ (บุญเยี่ยม และคณะ ,2527)

ประเทศไทยมีอุณหภูมิตลอดปีไม่แตกต่างกันมาก ดังนั้นการระบาดของเชื้อจึงพบได้ทุกเดือน แต่พบผู้ป่วยมากที่สุดในเดือนมิถุนายน และพบน้อยที่สุดในเดือนธันวาคม จากการสำรวจ

เชื้อบริเวณชายฝั่งทะเลอันดามัน และอ่าวไทย โดยเก็บตัวอย่างน้ำทะเลทั้งหมด 234 ตัวอย่าง จากระดับผิวน้ำ ระดับกลาง และระดับผิวดิน จากตะกอนดิน 78 ตัวอย่าง พบว่าบริเวณฝั่งอ่าวไทยตอนบนมีเชื้อมากกว่าฝั่งทะเลอันดามัน (เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2524)โดยบริเวณฝั่งอ่าวไทยมีเชื้อในน้ำทะเล 54% ตะกอนดิน 72% ฝั่งทะเลอันดามันมีเชื้อในน้ำทะเล 8% ตะกอนดิน44% ผลดังกล่าวอาจเกิดจากบริเวณฝั่งอ่าวไทยมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการกระจายของเชื้อคือ บริเวณที่ประชากรหนาแน่น มีสารอินทรีย์และสิ่งปฏิกูลจากคนและสัตว์ไหลจากพื้นดินสู่อ่าวไทยจำนวนมาก จึงทำให้สภาวะเหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนและการกระจายของเชื้อมากกว่าฝั่งทะเลอันดามัน (บุญเยี่ยมและคณะ, 2527)

ปัจจัยก่อความรุนแรงของโรค

1. Thermostable direct hemolysin

แม้ว่า *V. parahaemolyticus* มีแหล่งที่อยู่ในน้ำทะเลและชายฝั่งทะเลทั่วโลก แต่มีเพียงบางสายพันธุ์เท่านั้นที่ก่อให้เกิดโรคลำไส้อักเสบในมนุษย์ โดยสายพันธุ์ดังกล่าวสามารถสร้าง hemolysin ซึ่งทำให้เกิดปรากฏการณ์เม็ดเลือดแดงของคนหรือกระต่ายแตกแบบสมบูรณ์(β-hemolysin) บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดพิเศษที่เติมเลือด ชื่อ Wagatsuma agar ปรากฏการณ์ดังกล่าวเรียกว่า Kanagawa phenomenon (KP^{+}) ซึ่งพบได้ใน *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วย ประมาณ 88-96% ส่วนสายพันธุ์ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมพบ (KP^{-})เพียง 1-2 % เท่านั้น ดังนั้น hemolysin ดังกล่าวจึงเป็นปัจจัยสำคัญในการก่อโรค ซึ่งต่อมาเรียกว่า Thermostable direct hemolysin (TDH) (Miyamoto et al., 1969) TDH จัดเป็น pore – forming toxin ทำให้เกิดรูบนเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงและทำให้เซลล์แตกในเวลาต่อมา

2. Thermostable direct hemolysin-related hemolysin

Thermostable direct hemolysin-related hemolysin(TRH)มีฤทธิ์คล้ายกับ TDH โดยสามารถทำให้เม็ดเลือดแดงของสัตว์บางชนิดแตก ทำให้สัตว์ทดลองตาย มีผลต่อกล้ามเนื้อหัวใจ เพิ่มการซึมผ่านของของเหลวบริเวณผิวหนัง และทำให้เกิดการสะสมของน้ำในลำไส้(Honda et al., 1990) สาร hemolysin ที่เกี่ยวข้องกับการทนความร้อน(TRH)ได้แสดงให้เห็นว่าเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดความเป็นพิษจากการทดสอบ *V. parahaemolyticus* 214 สายพันธุ์ที่แยกได้จากคนไข้ ร้อยละ 52 ให้ สาร hemolysin ชนิด TDH อย่างเดียว ร้อยละ 24 ให้สาร hemolysin ชนิด TDH และ TRH และร้อยละ 11 เป็นสายพันธุ์ที่ให้สาร hemolysin ทั้งชนิดที่ทนและไวต่อความร้อน

ToxR

เป็นยีนที่ถูกอนุรักษ์ไว้ (conserved sequence) ในวงศ์ Vibrionaceae พบครั้งแรกใน V.cholerae โดยทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของ cholerae toxin และต่อมาพบว่าสามารถควบคุมการทำงานของยีนอื่นๆ อีกหลายชนิด โดย *ToxR* ทำหน้าที่กระตุ้นการถอดรหัสของยีนก่อความรุนแรงของโรค โดยสร้างโปรตีน ToxR ไปจับกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสายดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง upstream ของ promotor ของยีนก่อความรุนแรงของโรค พบว่าสามารถพบยีน *ToxR* ทุกสายพันธุ์ทั้งในผู้ป่วย

และสิ่งแวดล้อม ดังนั้นจึงมีการใช้ *ToxR* เป็นยีนเป้าหมายในการบ่งชี้เชื้อ *V.parahaemolyticus* โดยวิธี PCR ซึ่งพบว่าให้ผลที่ถูกต้องและแม่นยำ (Vuddhakul et al., 2000b)

พยาธิสภาพ

V.parahaemolyticus ทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบ (gastroenteritis) ผู้ป่วยแสดงอาการอุจจาระร่วง ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน อาจมีไข้ ผู้ป่วยบางรายอุจจาระอาจมีมูกเลือดปน โดยพบว่าผู้ป่วยมากกว่า 90% มีอาการอุจจาระร่วง อาการของโรคลำไส้อักเสบเกิดขึ้นหลังได้รับเชื้อ 10^6-10^9 โดยมีระยะฟักตัวประมาณ 4-9 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับปริมาณเชื้อและภูมิคุ้มกันของผู้ป่วย ระยะเวลาในการป่วยประมาณ 2-3 วัน ในรายที่รุนแรงอาจป่วยนาน 1-2 สัปดาห์ โดยปกติมักหายเอง สาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากการบริโภคอาหารทะเลดิบหรือปรุงแบบกึ่งสุกกึ่งดิบ

Vibrio cholerae

Vibrio cholerae เป็นแบคทีเรียรูปแท่งสั้น ปลายโค้งเล็กน้อย ขนาด0.4-0.6x 1.5-3.0 μm ติดสีแกรมลบ เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลัม 1 เส้นที่อยู่ตรงปลาย (polar flagellum) ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ดีในที่มีออกซิเจนช่วงอุณหภูมิ 16-42 องศาเซลเซียส แต่ที่ 37 องศาเซลเซียสเหมาะสมที่สุด เจริญได้ดีในสภาวะด่าง pH 6.4-9.6

V. cholerae พบแพร่กระจายทั่วไปในแหล่งน้ำ ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย บริเวณปากแม่น้ำ หรือแถบชายฝั่งทะเล(Colwell et al., 1981) ส่วนใหญ่มักพบ *V. cholerae* non-O1/ non-O139 นอกจากนี้ยังมีรายงานพบในอาหารทะเล หรือสัตว์ทะเลที่มีเปลือกหุ้ม หรือแม้แต่ในไข่เต่า *V. cholerae* non-O1มีโอกาสมีชีวิตอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้มากกว่า *V. cholerae* O1 แต่ในบริเวณพื้นที่เขตระบาดของอหิวาตกโรค มีโอกาสพบ *V. cholerae* O1 หรือ O139 ได้สูง เนื่องจากอาจเกิดการปนเปื้อนเชื้อจากอุจจาระผู้ป่วยลงสู่แหล่งน้ำ โดยเฉพาะประเทศกำลังพัฒนาที่มีประชากรอาศัยอยู่หนาแน่น และมีระบบทางด้านสาธารณสุขไม่ดีพอ แต่ในสภาวะปกติโอกาสการตรวจพบ *V. cholerae* O1 หรือ O139 ในสิ่งแวดล้อมเป็นไปได้ยาก ทั้งนี้เพราะบางสภาวะอาจไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตอยู่ของเชื้อ โดยขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ระดับความเป็นกรด ด่าง อุณหภูมิ ความเค็ม ความอุดมสมบูรณ์ของสารอาหาร เป็นต้น

พยาธิสภาพ

เมื่อคนรับประทานอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อน *V. cholerae*เชื้อบางส่วนอาจหลุดรอดจากสภาวะความเป็นกรดในกระเพาะอาหารผ่านมายังลำไส้เล็กแล้วใช้แฟลกเจลลาว่ายแทรกผ่านเยื่อเมือก (mucosa) มายึดเกาะกับ microvilliของเซลล์เยื่อบุผิว (epithelial cell) ลำไส้เล็ก โดยเฉพาะบริเวณเจจูนัม (jejunum) การยึดเกาะดังกล่าวช่วยให้ตัวเชื้อไม่ถูกขับลงสู่ลำไส้ใหญ่ ซึ่งมีแบคทีเรียประจำถิ่น (normal microbiota) อยู่เป็นจำนวนมาก หลังจากนั้นเชื้อจะแบ่งตัวเพิ่มจำนวน พร้อมทั้งสร้างสารพิษที่เรียกว่า cholera toxin (CT)ซึ่งมีผลทำให้ การดูดซึมน้ำและอีเลคโตรไลท์เข้าสู่ภายใน

เซลล์ถูกขับยั้ง แต่ไปเพิ่มการหลั่งน้ำและอิเลคโตรไลท์ออกจากเซลล์ไปสู่โพรงลำไส้ (lumen) ทำให้เกิดอาการถ่ายอุจจาระเหลวเป็นน้ำ

อาการของโรคผู้ที่ติดเชื้อแต่ละคน อาจแสดงอาการไม่เท่ากัน ขึ้นกับปริมาณเชื้อที่ได้รับและความต้านทานของแต่ละบุคคล ระยะฟักตัวของเชื้อประมาณ 1-5 วัน อาการที่เห็นได้ชัด ได้แก่ อุจจาระร่วง ลักษณะอุจจาระในระยะแรกมักมีเศษอาหารปนอยู่ ต่อมามีอาการถ่ายเป็นน้ำคล้ายน้ำซาวข้าว มีกลิ่นคาว ถ้าถ่ายนาน ๆ อาจมีน้ำดีปนออกมาด้วย อุจจาระไม่มีมูกเลือด ผู้ป่วยอาจมีอาเจียนร่วมด้วย ส่วนอาการปวดท้องและมีไข้ไม่ค่อยพบ ในรายที่อาการไม่รุนแรงมักมีอาการคล้ายกับอาการของโรคติดเชื้อในลำไส้จากเชื้อต่าง ๆ ได้แก่ *Salmonella* , *Shigella* และ *Escherichia coli* เป็นต้น ในรายที่อาการรุนแรง จะพบสภาวะร่างกายขาดสารน้ำและแร่ธาตุ ทำให้อ่อนเพลีย มือและนิ้วเหี่ยวย่น ตัวเย็น ชีพจรเบาจนกระทั่งจับไม่ได้ เลือดข้น มีความเป็นกรดในเลือดสูง ความดันโลหิตต่ำ ลักษณะนี้ถ้าให้การรักษาไม่ถูกต้องและทันท่วงที ผู้ป่วยอาจช็อก ไตวายอย่างเฉียบพลัน เป็นสาเหตุให้เสียชีวิตได้รวดเร็ว อาการอุจจาระร่วงและอาเจียนอาจทำให้ผู้ป่วยสูญเสียน้ำไปมากกว่า 1ลิตรต่อชั่วโมง หรือ 10-15 ลิตรต่อวัน(ร่างกายของมนุษย์มีน้ำประมาณ 20-40 ลิตร) อุจจาระของผู้ป่วยจะประกอบด้วยepithelial cell , mucosa cell, อีเลคโตไลท์และเชื้อ *V. cholerae* ประมาณ 10^7-10^9ต่อมิลลิลิตร(อรษา, 2541)

การติดต่อและแพร่กระจายของ *V.cholerae* มีน้ำหรืออาหารที่ปนเปื้อนเชื้อเป็นสื่อ โดยที่ผู้ป่วยอาจได้รับเชื้อทั้งทางตรงและทางอ้อม น้ำจัดเป็นสิ่งสำคัญที่สุดในการแพร่เชื้ออหิวาตกโรค ส่วนอาหารมักเป็นอาหารทะเลซึ่งอยู่ในลักษณะกึ่งสุกกึ่งดิบ นอกจากนี้อาจพบเชื้อได้ในผักสด ถ้านำน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อมาใช้ในการรดน้ำผัก แหล่งแพร่เชื้อที่สำคัญสู่สิ่งแวดล้อมคือ อุจจาระของผู้ป่วย ผู้ที่เป็นพาหะและไม่มีอาการของโรค สามารถเดินทางไปยังที่ต่างๆ ทำให้โอกาสแพร่เชื้อมีมากกว่าผู้ป่วย ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการแพร่กระจายเชื้ออย่างรวดเร็ว ได้แก่ เศรษฐกิจ ฐานะ และสุขอนามัยของประชาชน นอกจากนี้การอพยพเคลื่อนย้ายหรือการคมนาคมที่สะดวก ทำให้เชื้อกระจายไปได้ไกลและรวดเร็ว (อรษา, 2541)

กระบวนการแช่เยือกแข็ง

การแช่แข็ง คือ การลดอุณหภูมิของอาหารหรือผลิตภัณฑ์นั้นให้ต่ำลงจนถึงระดับที่สิ่งมีชีวิตนั้นไม่สามารถจะดำเนินปฏิกิริยาทางชีวเคมีต่อไปได้ โดยทั่วไปมักจะเป็นที่อุณหภูมิ –18 ^{0}C หรือต่ำกว่า ตามปกติจุลินทรีย์ที่มีปะปนอยู่ในอาหารนั้นก็จะชะงักการเจริญเติบโตและหยุดกระบวนการทางเมแทบอลิซึมลง ไม่ว่าการแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำเพียงใด ก็ไม่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ให้หมดไปได้

กุ้งแช่เยือกแข็ง หมายถึง กุ้งที่ผ่านกรรมวิธีเยือกแข็ง อย่างรวดเร็วให้มีอุณหภูมิที่จุดกึ่งกลางของผลิตภัณฑ์ต่ำกว่า –18 ^{0}C และต้องควบคุมอุณหภูมิในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ที่ –18 ^{0}C หรือต่ำกว่าโดยสม่ำเสมอและตลอดเวลา (มอก.115-2529)

กระบวนการผลิตกุ้งแช่เยือกแข็ง

ในกระบวนการผลิตกุ้งแช่เยือกแข็งสามารถผลิตได้หลายวิธี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับประเภทของสินค้าที่ต้องการ แต่ขั้นตอนที่สำคัญที่ใช้ในกระบวนการผลิตส่วนใหญ่มีดังนี้คือ

ขั้นตอนการผลิตกุ้งแช่เยือกแข็งชนิดเด็ดหัว (Headless)

กุ้ง

↓

ล้างตัวอย่างด้วยน้ำผสมคลอรีนผง 100 ppm

↓

หักหัว

↓

ล้างตัวอย่างด้วยน้ำผสมคลอรีนผง 200 ppm

↓

คัดขนาด

↓

ชั่งน้ำหนัก

↓

เทใส่ Block

↓

เรียง

↓

เติมตัวอย่างน้ำเคลือบ (400 – 500 มล.)

↓

แช่เยือกแข็งแบบเพลทสัมผัส ที่อุณหภูมิ –40 ^{0}C เวลาประมาณ 4 ชั่วโมง

↓

เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง –20 ^{0}C

ที่มา : อภิชาติ , 2538

การล้างกุ้งเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญมากในการแปรรูปกุ้งแช่เยือกแข็ง ตั้งแต่จับกุ้งขึ้นมาจากน้ำ ก็จะมีการล้าง ถ้าเป็นการล้างกุ้งที่จับจากบ่อเลี้ยง จะเป็นการล้างด้วยน้ำเพื่อล้างโคลนและสิ่งสกปรกที่ติดมากับกุ้งออก และเพื่อลดจุลินทรีย์ที่ติดมา ส่วนถ้าเป็นกุ้งที่จับจากทะเล ก็จะล้างด้วยน้ำทะเลที่สะอาด เพื่อลดสิ่งสกปรกลงเช่นเดียวกัน เมื่อกุ้งขนส่งมาถึงโรงงานจะต้องล้างที่จุดรับวัตถุดิบอีกครั้งหนึ่งเป็นจุดสำคัญ ส่วนการล้างในขั้นต่อ ๆ มาจะแตกต่างกันไปตามแต่ละ

โรงงาน บังอรและอรุณ(2515)พบว่า การวิเคราะห์กุ้งสดในระยะต่างๆ ก่อนการแช่เยือกแข็ง แสดงว่าคุณภาพของกุ้งดีขึ้น กล่าวคือ หลังการล้างน้ำหลาย ๆ ครั้งปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดลดต่ำลง

เนื่องจากการล้างกุ้งมีจุดประสงค์ใหญ่ที่จะลดปริมาณแบคทีเรีย ดังนั้นน้ำที่ใช้ล้างกุ้งนอกจากจะใช้น้ำที่มีอุณหภูมิต่ำแล้ว ยังมีการเติมสารเคมีที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียลงไปในน้ำ เพื่อช่วยลดปริมาณแบคทีเรียให้ต่ำลงไปอีก สารเคมีที่เติมมีทั้งที่เป็นตัวฆ่าหรือยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย หรือลดค่า pH ให้ต่ำลง เช่น Chlorotetracycline, Sodium bisulfite สารประกอบคลอรีน ซึ่งสารประกอบคลอรีนมีการนำมาใช้มากที่สุด (บุษกร, 2536)

การใช้คลอรีนในอุตสาหกรรมอาหาร

คลอรีนและสารประกอบคลอรีน

คลอรีน (Cl_2) เป็นธาตุตัวหนึ่งในกลุ่มของฮาโลเจน (halogen) และอยู่ในรูปของก๊าซคลอรีนที่มีสีเหลืองแกมเขียว (greenish-yellow) สารประกอบคลอรีนหรือสารประกอบไฮโปคลอไรท์ (hypochlorite) เกิดจากเกลือของคลอรีน ได้แก่ โซเดียมไฮโปคลอไรท์(NaOCl) และแคลเซียมไฮโปคลอไรท์($Ca(OCl)_2$) ซึ่งเป็นสารประกอบคลอรีนที่สามารถนำมาใช้ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้เช่นกัน $Ca(OCl)_2$ จะเป็นผงสีขาว ซึ่งมีคลอรีนอิสระ(free available chlorine :FAC) อยู่สูงมากประมาณ 70-80เปอร์เซ็นต์ ส่วน NaOCl เป็นของเหลวที่มี FAC ประมาณ 7-20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทั้งก๊าซคลอรีน โซเดียมไฮโปคลอไรท์และแคลเซี่ยมไฮโปคลอไรท์ จะมีความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้โดยมีการแตกตัวให้กรดไฮโปคลอรัส (HOCl) ดังสมการต่อไปนี้

ก๊าซคลอรีน

$$Cl_2 + H_2O \rightarrow HCl + HOCl$$

แคลเซียมไฮโปคลอไรท์

$$Ca(OCl)_2 + H_2O \rightarrow HOCl + Ca(OH)_2$$

โซเดียมไฮโปคลอไรท์

$$NaOCl + H_2O \rightarrow HOCl + NaOH$$

ซึ่งกรดไฮโปคลอรัสจะมีผลในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ กลไกในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์นี้ยังไม่เป็นที่แน่ชัด แต่มีผู้สรุปไว้หลายทฤษฎีซึ่งพอจะแยกได้ที่จุดที่คลอรีนหรือกรดไฮโปคลอรัสเข้าไปมีผล 3 จุด คือ

1. ส่วนห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ ได้แก่ ผนังเซล (cell wall) เยื่อหุ้มเซล (cell membrane) เยื่อหุ้มสปอร์ (spore coat) คลอรีนทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่อยู่ในส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ เป็นผลทำให้เกิดการสร้าง N-Chloro compounds ซึ่งรบกวนเมตาบอลิสมของเซลล์ (metabolism) และมีผลทำให้คุณสมบัติการควบคุมการผ่านเข้าออก (permeability) ของเซลล์สูญเสียไป

2. ส่วนที่เป็นของเหลวภายในเซลล์ หรือโปรโตพลาสม (protoplasm)และส่วนที่เป็นโปรตีน พบว่า คลอรีนจะไปทำปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (oxidation) กับส่วนโปรโตพลาสมของเซลล์ ไปตกตะกอนส่วนที่เป็นโปรตีนของเซลล์และทำปฏิกิริยากับส่วนที่เป็นซัลไฟดริล (sulfhydryl radical) ของโปรตีน เกิดผลิตภัณฑ์แบบที่ไม่สามารถย้อนกลับได้ (irreversible product) ทำให้เกิดการรบกวนการทำงานของเซลล์
3. ส่วนที่เป็นเอนไซม์ และการทำงานของเอนไซม์ ระบบการทำงานของเอนไซม์ จะถูกรบกวนทำให้ไม่สามารถทำงานได้ และยังสามารถทำลายตัวเอนไซม์ได้อีกด้วย

คลอรีนได้ถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้เพราะมีการจัดคลอรีนเป็นสารประเภทที่เรียกว่า "Generally Recognized As Safe" (GRAS) จึงมีความปลอดภัยที่จะใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่าง ๆ คลอรีนถูกนำไปใช้เพื่อวัตถุประสงค์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ เป็นครั้งแรกในต้นศตวรรษที่ 19 เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในโรงพยาบาลจากนั้นก็มีผู้พบว่าแบคทีเรียสามารถถูกทำลายได้จากคลอรีน สารประกอบคลอรีน และผลิตผลที่แตกตัวจากคลอรีน และต่อมา The American Public Health Association (APHA) ได้มีการรายงานการรับรองการใช้คลอรีนเพื่อเป็นสารฆ่าเชื้อ (disinfectant) จึงทำให้การใช้คลอรีนและสารประกอบคลอรีนแพร่หลาย ทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร เช่นใช้คลอรีนในการล้างวัตถุดิบเพื่อลดจำนวนและป้องกันการสะสมของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดเมือกและกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ของวัตถุดิบ ทำให้จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของผลผลิตลดลงเมื่อล้างวัตถุดิบด้วยคลอรีน คลอรีนสามารถใช้เป็นสารฟอกสีแป้งเค้ก เป็นสารฆ่าเชื้อในน้ำดื่ม น้ำที่ใช้ล้างเนื้อสัตว์ต่าง ๆ ปลา และ ไก่ ใช้ล้างผัก ผลไม้ดิบ ใช้ในอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเล

เมื่อปี ค.ศ. 1974 ในประเทศสหรัฐอเมริกา ได้พบว่าผลของการใช้คลอรีนในน้ำดื่มทำให้เกิดสารที่เรียกว่า trihalomethane (THM) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogen) มากขึ้น คลอรีน เมื่อผสมกับน้ำจะมีฤทธิ์เป็น "กรด" และให้ก๊าซคลอรีน ทำให้เกิดการระคายเคือง ซึ่งผู้ที่แพ้คลอรีนจะแสดงอาการคือ ถ้าหายใจเข้าไป: ทำความระคายเคืองต่อจมูก คอ และระบบหายใจส่วนบน คลอรีนปริมาณ 0.2 ส่วนในอากาศล้านส่วนจะทำให้คันจมูก ส่วนปริมาณ 1 ส่วนในอากาศล้านส่วนจะทำให้คอแห้ง ไอ และหายใจลำบาก และปริมาณ 1.3 ส่วนในล้านส่วนขึ้นไป ทำให้หายใจตื้น ปวดหัว ถ้ามากกว่า 30 ส่วนในอากาศล้านส่วนทำให้สำลัก เจ็บหน้าอก และอาเจียน และถ้าได้รับมากเกินกว่า 100 ส่วนในอากาศล้านส่วน ทำให้หลอดลมอักเสบ ปอดบวม และเสียชีวิตได้

ถ้าเข้าตา: ทำให้เคืองตาอย่างรุนแรง ก๊าซคลอรีน ทำให้ปวดแสบปวดร้อน และน้ำตาไหล คลอรีนเหลวทำให้ไหม้และอาจตาบอดได้

ถ้าถูกผิวหนัง: ผิวหนังจะระคายเคือง ก๊าซที่มีความเข้มข้นสูง จะทำให้ผิวหนังไหม้และเป็นตุ่มแดง ถ้าคลอรีนเหลวถูกผิวทำให้ไหม้และเนื้อเยื่อตาย

ไคติน – ไคโตแซนและโครงสร้างทางเคมี

สารไคติน-ไคโตแซน จัดอยู่ในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตผสมที่ประกอบด้วยอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสที่มีธาตุไนโตรเจนติดอยู่ด้วยทำให้มีคุณสมบัติที่โดดเด่นและหลากหลายมีประสิทธิภาพสูงในกิจกรรมชีวภาพ และยังย่อยสลายได้ตามธรรมชาติจึงเป็นสารที่มีความปลอดภัยในการใช้กับมนุษย์ สัตว์และสิ่งแวดล้อม

ไคตินเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของ เปลือกกุ้ง ปู แมลง หรือแม้แต่แกนของแมงกะพรุน หมึก หรือดาวทะเล นอกจากนี้ไคตินยังสามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์ (Knorr , 1984) และเชื้อราบางสปีชีส์ก็สามารถไคโตแซนได้ถึง 14% โดยน้ำหนัก สาหร่ายบางชนิดสามารถผลิตไคตินบริสุทธิ์ได้จากเส้นใยภายนอกเซลล์ ให้ผลผลิตไคตินถึง 80%

ไคโตแซนนั้นมีชื่อทางเคมีว่า Poly β-(1$\rightarrow$4)-2-amino-2-deoxy-D-glucose ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไคติน ที่เกิดจากการผลิตโดยนำไคตินมาต้มกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่เข้มข้นมากๆ ซึ่งปฏิกิริยานี้จะดึงเอาหมู่อะซิติล (CH_3CO) บางส่วนออกจากสายโซ่โมเลกุล ตรงคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 เรียกปฏิกิริยานี้ว่า deacetylation เหลือส่วนที่เป็นหมู่อะมิโนอิสระ (NH_2)ทำให้สายพอลิเมอร์มีหน่วยย่อยเป็น glucosamine ซึ่งเมื่อเพิ่มอุณหภูมิหรือความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์หมู่อะซิติลจะหลุดออกไปมากขึ้น ด้วยวิธีนี้นักเคมีสามารถผลิตโมเลกุลไคโตแซนในช่วงต่าง ๆ กัน ซึ่งมีคุณสมบัติและการใช้ประโยชน์แตกต่างกัน ความสามารถในการใช้งานของไคโตแซนจะขึ้นอยู่กับหมู่อะมิโน(NH_2) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่แอคทีฟ (active)และพร้อมจะทำปฏิกิริยา โดยเมื่อละลายในกรดอินทรีย์ หมู่ NH_2 สามารถรับโปรตรอนกลายเป็น(NH_3^+)และทำให้พอลิเมอร์ที่ได้มีประจุเป็นบวก ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีประสิทธิภาพ สามารถใช้ในการตกตะกอนดึงเอาสารอื่นลงมารวมเป็นกลุ่มของตะกอนได้ดี

ประโยชน์ของไคตินและไคโตแซน

ไคติน-ไคโตแซนมีความหลากหลายและโดดเด่นในทางเคมีโดยเฉพาะอย่างยิ่งประสิทธิภาพการเกิดปฏิกิริยากับสารที่มีประจุลบ จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ในหลายสาขา ได้แก่

1. ด้านการแพทย์และเภสัช ใช้เป็นเลนส์สายตา เนื่องจากมีคุณสมบัติยอมให้ออกซิเจนผ่านเข้าออกได้ ไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ ใช้เป็นแคปซูลบรรจุยา อนุพันธ์ของไคโตแซนบางชนิด ใช้เป็นสารป้องกันการตกตะกอนของเลือด ใช้เป็นตัวจับคอเลสเตอรอลและใช้ในด้านทันตกรรมเป็นสารเชื่อมหรืออุดฟัน

2. ด้านการเกษตร ไคโตแซนสามารถใช้เป็นฟิล์มบาง ใส ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น เคลือบผิวเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลผลิตทางการเกษตรและเมล็ดพันธุ์ เนื่องจากช่วยลดอัตราการหายใจ การผลิตก๊าซเอทิลีน ลดการเปลี่ยนสีของผลไม้ การรบกวนของเชื้อราและแมลง ไคโตแซนเป็นอาหารเสริมผสมลงในอาหารสัตว์บก เช่น สุกร วัว ควาย เป็ด ไก่ ช่วยเพิ่มปริมาณแบคทีเรียที่เป็น

ประโยชน์ในทางเดินอาหาร ช่วยลดอาการท้องเสียของสัตว์ได้ และช่วยลดอัตราการตายของสัตว์วัยอ่อนเนื่องจากการติดเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดในทางเดินอาหาร

3. ด้านอุตสาหกรรมอาหาร ในหลายประเทศได้ขึ้นทะเบียนไคติน/ไคโตแซน เป็นสารที่ใช้เติมในอาหารและยาได้โดยเฉพาะในประเทศญี่ปุ่น ได้มีผลิตภัณฑ์อาหารที่ผสมไคติน/ไคโตแซนเป็นจำนวนมากออกวางขายในท้องตลาดเป็นเวลานานแล้ว จากคุณสมบัติที่สามารถต่อต้านจุลินทรีย์ และเชื้อราบางชนิด จึงมีการใช้สารไคติน/ไคโตแซน เป็นสารกันบูด สารปรุงแต่งเพื่อความคงรูปและคงสีในอาหารต่างๆ สารเคลือบอาหาร และผักผลไม้ ช่วยลดความขุ่นของน้ำผลไม้ เช่น น้ำแอปเปิ้ล น้ำแครอท เคลือบสตรอเบอรี่สด พบว่า สามารถชะลอการเน่าเสียของผลสตรอเบอร์รี่

มีผู้วิจัยหลายท่านได้ทดลองนำไคโตแซนไปใช้ในการถนอมอาหารเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา และพบว่าไคโตแซนมีฤทธิ์ในการยับยั้งหรือชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ที่ตรวจพบใน กุ้งสด (Simpson et al., 1997) หอยนางรม นม (Tsai et al., 1999 & 2000) เนื้อหมูสด Darmaji และ Izumimoto(1994) พบว่าการเติมไคโตแซนโอลิโกเมอร์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ยังสามารถลดการเกิดการหืน (lipid oxidation) และลดการเน่าเสีย(putrefaction) ทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นและรสชาติดีกว่า นอกจากนี้ยังช่วยรักษาสีแดงของเนื้อในระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้ยังใช้ไคติน ไคโตแซนเป็นอาหารเสริม (nutritional additives) ที่ไม่ให้พลังงานและไม่มีการดูดซึมเข้าร่างกาย เนื่องจากคนไม่มีเอนไซม์ที่ช่วยย่อยไคติน ไคโตแซน ดังนั้นจึงมีการนำไปใช้ในอาหารสำหรับการควบคุมน้ำหนัก

4. ด้านอุตสาหกรรมการผลิตกระดาษ เส้นใยและสิ่งทอ ไคติน ไคโตแซน ใช้ในการผลิตผ้าที่ย้อมสีติดทนนาน ไม่หดตัว มีความนุ่มนวล ใช้เคลือบเส้นใยผ้าเพื่อลดกลิ่นต่าง ๆ ได้เช่น กลิ่นเหงื่อ กลิ่นอับชื้น ส่วนในอุตสาหกรรมกระดาษ จะใช้ไคโตแซนในกระบวนการผลิตกระดาษที่มีคุณสมบัติทางกายภาพสูง เช่น เหนียวแน่นขึ้น แข็งแรงขึ้น ทนทานต่อการฉีกขาด หรือผลิตกระดาษที่ซับหมึกได้ดี เพื่อการพิมพ์ที่ต้องการคุณภาพสูง

5. ด้านเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์บำรุงผิว สารไคติน ไคโตแซนมีสมบัติโดดเด่นในการอุ้มน้ำและเป็นตาข่ายคลุมผิว ตลอดจนต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ จึงใช้เป็นทั้งสารเติมแต่งและสารพื้นฐานของเครื่องสำอางหลายประเภท เช่น ผสมเป็นแป้งทาหน้าเพื่อความชุ่มชื้นและป้องกันเชื้อโรค เป็นส่วนผสมของแชมพูครีมและสบู่ ผสมในโลชั่นสำหรับเคลือบเพื่อป้องกันรวมถึงบำรุงผิวและเส้นผม

6. การใช้เป็นสารตกตะกอนในการบำบัดน้ำเสียและโลหะหนักในน้ำ บทบาทสำคัญทางด้านสิ่งแวดล้อมของไคโตแซน คือ การบำบัดน้ำทิ้ง น้ำเสีย ไคโตแซนมีความสามารถในการจับกับของแข็งแขวนลอยได้ดี และจับกับอะตอมของโลหะหนัก เช่น ปรอท แคดเมียม ตะกั่ว ด้วยพันธะเชิงซ้อน

ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของไคโตแซนและอนุพันธ์

1. น้ำหนักโมเลกุลและความหนืดของไคโตแซน ไคโตแซนมีความสามารถในการละลายต่ำ(poor solubility) สารละลายซึ่งเตรียมจากไคโตแซนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง จะมีความหนืดมาก อย่างไรก็ตามไคโตแซนและอนุพันธ์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำเกินไปจะไม่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

2. ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้เตรียมสารละลายไคโตแซน ไคโตแซนสามารถละลายได้ดีในกรดทั้งกรดอินทรีย์และกรดอนินทรีย์ แต่การนำไคโตแซนมาประยุกต์ใช้ทางด้านอาหารจึงเป็นข้อจำกัดให้สามารถใช้ได้เพียงกรดอินทรีย์เท่านั้น ดังนั้นกรดอินทรีย์จึงช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของไคโตแซน ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ขึ้นกับชนิดของกรด โดยกรดอะซิติค กรดแลคติค และกรดฟอร์มิค มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียมากกว่า กรดโพรพิออนิคและกรดแอสคอร์บิค(No et al., 2002)

3. ชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ ความเข้มข้นของไคโตแซนและอนุพันธ์ที่ใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์อาจแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ มีรายงานว่าไคโตแซนและอนุพันธ์สามารถยับยั้งแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ

4. ลักษณะของอาหาร ชนิดของอาหารแตกต่างกันต้องใช้ความเข้มข้นของไคโตแซนแตกต่างกัน โดยถ้าลักษณะของอาหารมีองค์ประกอบของอนุภาคมากก็จะขัดขวางการเคลื่อนที่ของโมเลกุลพอลิเมอร์ของไคโตแซน ซึ่งเป็นการลดโอกาสของไคโตแซนในการสัมผัสกับเซลล์ของจุลินทรีย์

วัตถุประสงค์

1.ศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาของไคโตแซนและคลอรีนที่สามารถลดจำนวนเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* ในหลอดทดลองได้ร้อยละ 90

2.ศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาของไคโตแซนและคลอรีนที่สามารถลดจำนวนเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* ในกุ้งสดที่มีการเติมเชื้อได้ร้อยละ 90

3.ศึกษาความสามารถของไคโตแซนและคลอรีนที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการล้างกุ้งจริงจากธรรมชาติในการลดจำนวนเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae*