



# การปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรฟ ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้งที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี

## Contamination of Heterotrophic Bacteria in Dry Seafood Products Distributed in Chon Buri Province

รศ.ดร.สุภัณฑิลา นิ่มรัตน์  
อาจารย์ประจำภาควิชาจุลชีววิทยา  
และโครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม  
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา  
E-mail: subunti@buu.ac.th

รศ.ดร.วีรพงษ์ วุฒิพันธุ์ชัย  
อาจารย์ประจำภาควิชาวาริชศาสตร์  
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา  
E-mail: veerapong@buu.ac.th

ปริยพร ทองเนียม  
นิสิตปริญญาตรี ภาควิชาจุลชีววิทยา  
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา  
E-mail: preyaphorn.t@cpf.co.th

### บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรฟในอาหารทะเลแห้งที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี จำนวน 29 ตัวอย่าง พบว่า อาหารทะเลแห้งมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรฟอยู่ในช่วง  $6.00 \pm 2.00 \times 10^2$  ถึง  $4.40 \pm 1.22 \times 10^9$  CFU/g โดยพบมากที่สุด ในตัวอย่างหมึกกะตอยแห้ง และพบน้อยที่สุดในตัวอย่างหนวดหมึกอบชุบน้ำเชื่อม-2 เมื่อนำมาจำแนกชนิดของแบคทีเรีย พบแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* มากที่สุด รองลงมา คือ

*Bacillus* และ *Micrococcus* นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ *Corynebacterium* spp., *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. ozaenae*, *Listeria* spp. และ *Proteus mirabilis* ดังนั้น จึงควรมีการเฝ้าระวังและตรวจติดตามการปนเปื้อนของแบคทีเรีย เพื่อให้ผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้งที่วางจำหน่ายในจังหวัดชลบุรีมีคุณภาพทางจุลินทรีย์มากยิ่งขึ้น

**คำสำคัญ:** อาหารทะเลแห้ง แบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรป แบคทีเรียก่อโรค  
*Staphylococcus Bacillus Micrococcus*

## Abstract

The aim of this study was to investigate the contamination of heterotrophic bacteria (HB) in 29 samples of dry seafood products (DSPs) distributed in Chon Buri Province. It was found that the HB contamination ranged from  $6.00 \pm 2.00 \times 10^2$  to  $4.40 \pm 1.22 \times 10^9$  CFU/g. The highest load of HB was found in dry Kobi squid, while the lowest load was found in baked tentacle-squid in syrub-2. The most predominant bacterial genera found in the dry seafood products were *Staphylococcus*, followed by *Bacillus* and *Micrococcus*, respectively. In addition, other pathogenic bacteria such as *Corynebacterium* spp., *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. ozaenae*, *Listeria* spp. and *Proteus mirabilis* were also found in the tested samples. Therefore, the contamination in DSPs distributed in Chon Buri Province should be monitored for better microbiological quality.

**Keywords:** Dry seafood, Heterotrophic bacteria, Pathogenic bacteria, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Micrococcus*

## บทนำ

อาหารทะเลแห้งจัดเป็นอาหารและของฝากที่สำคัญของจังหวัดบริเวณชายฝั่งทะเลของประเทศไทย เนื่องจากการอบและตากแห้งเป็นกรรมวิธีในการถนอมอาหารทะเลชนิดหนึ่ง ซึ่งทำให้สามารถเก็บรักษาอาหารทะเลได้เป็นระยะเวลานานขึ้นและเป็นที่ยอมรับภาคของคนไทยและคนในประเทศแถบเอเชีย ทั้งนี้ยังเป็นสินค้าเศรษฐกิจที่หารายได้ให้กับประเทศไทย โดยมีปริมาณการส่งออกเท่ากับ 17 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณผลผลิตทั้งหมด และมีอัตราการบริโภคภายในประเทศคิดเป็น 60-70 เปอร์เซ็นต์หรือประมาณ 4-5

พันตันต่อปี โดยมีปริมาณการส่งออกไปยังต่างประเทศเป็นสัดส่วน เช่น ประเทศฮ่องกง (36.92%) ประเทศญี่ปุ่น (35.92%) ประเทศสหรัฐอเมริกา (11.97%) ประเทศแคนาดา (3.28%) และประเทศออสเตรเลีย (2.56%) (กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม, 2543) เป็นต้น จึงจัดว่าอาหารทะเลแห้งเป็นสินค้าที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจไทยเป็นอย่างมาก

จังหวัดที่มีพื้นที่อยู่บริเวณชายฝั่งทะเล เช่น จังหวัดชลบุรี จังหวัดระยอง และจังหวัดตราด เป็นแหล่งที่มีการผลิตอาหารทะเลแห้งเป็นจำนวนมาก เนื่องจากเป็นแหล่งของวัตถุดิบและยังเป็นแหล่ง

ห้องเที่ยวจึงมีการจำหน่ายของฝากจากทะเล แต่ที่ผ่านมามีการตรวจพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ (Auerswald *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2008) ซึ่งก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค ทั้งยังสูญเสียทรัพยากรและสิ้นเปลืองเวลาในการผลิต นอกจากนี้ยังทำให้แหล่งท่องเที่ยวที่นั่นเสียชื่อเสียงอีกด้วย โดยจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในอาหารทะเลแห้ง ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ และรา ซึ่งแบคทีเรียที่พบปนเปื้อนในอาหารทะเลแห้ง เช่น *Aeromonas hydrophila* (Tsai and Chen, 1996) *Pseudomonas sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, (Auerswald *et al.*, 2006) และ *Vibrio parahemolyticus* (Yang *et al.*, 2008) เป็นต้น

ดังนั้นในการศึกษาค้นคว้าจึงได้ทำการศึกษาถึงสถานการณ์การปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรปในอาหารทะเลแห้งที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี

### วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อเป็นการตรวจตราและเฝ้าระวังการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรค และเพื่อให้ผู้บริโภคได้รับประทานอาหารที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายและถูกสุขลักษณะต่อไป

### ทบทวนวรรณกรรม

Ferber (2000) รายงานว่า พบเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลพร้อมบริโภคนำเข้าของประเทศแคนาดาระหว่างปี ค.ศ. 1996-1997 และปี ค.ศ. 1997-1998 คิดเป็น 0.88% และ 0.30% จากตัวอย่างอาหารทั้งหมด 565 และ 323 ตัวอย่าง ตามลำดับ

Phatarpekar *et al.* (2002) ได้ศึกษาการแพร่กระจายของแบคทีเรียที่พบได้ในกุ้ง ยกตัวอย่างเช่น *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Agrobacterium*, *Alteromonas*, *Alcaligenes*, *Chromobacterium*

*Cytophaga*, *Enterobacteriaceae*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Photobacterium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Vibrio* และ *Xanthomonas* เป็นต้น

Colakoglu *et al.* (2006) รายงานการตรวจพบ *Aeromonas* และ *Vibrio* ในหอยและกุ้งที่ซื้อจากรตลาดและห้องครัวของโรงแรมในเมือง Dardanelles ประเทศตุรกี จากจำนวนตัวอย่าง 127 ตัวอย่าง โดยพบในหอย 97 ตัวอย่าง และกุ้ง 30 ตัวอย่าง

Iurlina *et al.* (2006) รายงานการตรวจพบ *Bacillus spp.* ในตัวอย่างอาหาร 279 ตัวอย่าง จากผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ ที่จำหน่ายในประเทศอาเจนติน่า ซึ่งแบคทีเรียสกุลนี้เป็นแบคทีเรียที่สำคัญที่ทำให้อาหารเน่าเสียและก่อโรคทางเดินอาหารเป็นพิษได้

Friedemann (2007) รายงานการตรวจพบ *Enterobacter sakazakii* ในอาหารและเครื่องดื่มแบคทีเรียชนิดนี้พบได้ในอาหารต่างๆ ไป สามารถแยกแบคทีเรียนี้ได้จากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ ซึ่งสามารถปนเปื้อนได้ทั้งในอาหารสด อาหารแห้ง กระบวนการผลิต และแหล่งที่มีการปนเปื้อนหรือการติดเชื้อ

Parihar *et al.* (2008) ได้รายงานการตรวจพบ *Listeria spp.* ในอาหารทะเลที่จำหน่ายในตลาดในเมือง Goa ประเทศอินเดีย จำนวน 115 ตัวอย่าง ตรวจพบ *Listeria spp.* 28 ตัวอย่าง ซึ่งสามารถจำแนกชนิดได้คือ *L. monocytogenes* พบ 10 ตัวอย่าง และ *L. innocua* พบ 18 ตัวอย่าง โดย *L. monocytogenes* จะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ในกรณีที่มีการปนเปื้อนในอาหารทะเลดิบแบบพร้อมบริโภค เช่น หอยนางรมดิบ เป็นต้น

### วิธีการวิจัย

การศึกษาปริมาณและชนิดของแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรป (Heterotrophic bacteria) จาก

ตัวอย่างอาหารทะเลแห้ง

### 1. การเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์หมึกแห้งจากร้านค้าแผงลอยที่อยู่ในสถานะเปิด ที่วางจำหน่ายในจังหวัดชลบุรี ปี พ.ศ. 2551 ได้แก่ หมึกกล้วย หมึกกะตอย หมึกกะตา นวดหมึก หมึกแห้ง หมึกวง หมึกแพ หมึกไข่ หมึกแก้ว ผลิตภัณฑ์หอยแห้ง ได้แก่ หอยหวาน หอยแมลงภู่ หอยเสียบ ผลิตภัณฑ์หมึกแปรรูป ได้แก่ หมึกอบเนย หมึกแก้วกรอบ หมึกหวาน หมึกบดซุบ น้ำเชื่อม หมึกตัวฉาบ เต้าทongsามรส หมึกเส้นไม่เผ็ด หมึกกรอบ และผลิตภัณฑ์ปูแปรรูป คือ ปูทอดกรอบ จำนวน 29 ตัวอย่าง ที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี โดยแต่ละตัวอย่างเก็บในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อและนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาภายใน 2 ชั่วโมง หลังจากการสุ่มเก็บตัวอย่าง

### 2. ศึกษาปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโร-โทรป (ดัดแปลงจาก Jeyasekaran *et al.*, 2004)

เก็บตัวอย่างอาหารทะเลแห้งจากแหล่งจำหน่ายในจังหวัดชลบุรี ใช้กรรไกรปลอดเชื้อตัดตัวอย่างอาหารให้ละเอียด ชั่งตัวอย่าง 50 กรัม ใส่ลงในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ แล้วเติมสารละลาย Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution Water (BF) ปริมาตร 450 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องตีผสมอาหาร (Stomacher; ยี่ห้อ AES Laboratorie, รุ่น A064768, ฝรั่งเศส) เป็นเวลา 60 วินาที จะได้ตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง  $10^{-1}$  ทำการเจือจางตัวอย่างจนถึงระดับความเจือจาง  $10^{-6}$  จากนั้นถ่ายตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง  $10^{-1}$  ถึง  $10^{-6}$  ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วด้วยวิธีสเปรดเพลท (Spread plate technique) นำจานเพาะเชื้อปมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วบันทึกผล (ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ)

### 3. การศึกษาชนิดของแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรปในตัวอย่างอาหารทะเลแห้ง

ศึกษาชนิดของแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรปโดยวิธีย้อมแกรม บันทึกลักษณะทางกายภาพของเชื้อ ได้แก่ ลักษณะโคโลนี สี เป็นต้น จากนั้นนำไปแยกเชื้อบริสุทธิ์และทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีเพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรีย โดยเฉพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่ได้จนได้เชื้อที่บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Agar เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีตามวิธีการของ Brenner (1984); Kocur (1986); Seeliger and Jones (1986); Sneath *et al.* (1986); Holt *et al.* (1994)

### ผลการวิจัย

#### 1. การศึกษาปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรปในอาหารทะเลแห้งชนิดต่างๆ

จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรปในอาหารทะเลแห้งชนิดต่างๆ จำนวน 29 ตัวอย่าง พบว่า อาหารทะเลแห้งที่มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรปมากที่สุด คือ หมึกกะตอย มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ  $4.40 \pm 1.22 \times 10^9$  CFU/g รองลงมา คือ หมึกไข่และหมึกแพ มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ  $1.87 \pm 0.26 \times 10^8$  และ  $9.40 \pm 0.96 \times 10^7$  CFU/g ตามลำดับ ส่วนอาหารทะเลแห้งที่มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรปน้อยที่สุด คือ นวดหมึกอบซุบ น้ำเชื่อม-2 มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ  $6.00 \pm 2.00 \times 10^2$  CFU/g รองลงมา คือ หมึกตัวฉาบและหมึกอบซุบ น้ำเชื่อม มีปริมาณแบคทีเรีย  $4.70 \pm 0.85 \times 10^3$  และ  $8.20 \pm 2.23 \times 10^3$  CFU/g ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า อาหารทะเลแห้งส่วนใหญ่มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรปแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ยกเว้นหมึกกะตอยที่มีค่าแตกต่างกับตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรปในตัวอย่างอาหารทะเลแห้งชนิดต่างๆ ที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี ปี 2551

ตัวอย่างอาหารทะเลแห้ง	ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรป (CFU/g)
<b>หมึกแห้ง</b>	
-หมึกกล้วย	4.83±0.87×10 <sup>6</sup> b
-หมึกกะตอย	4.40±1.22×10 <sup>9</sup> a
-หมึกแกะตา	3.20±0.06×10 <sup>6</sup> b
-หนวดหมึก	8.80±1.25×10 <sup>7</sup> b
-หมึกหนัง	1.43±0.21×10 <sup>6</sup> b
-หมึกวง	5.87±2.14×10 <sup>4</sup> b
-หมึกแพ	9.40±0.96×10 <sup>7</sup> b
-หมึกไข่	1.87±0.26×10 <sup>8</sup> b
-หมึกแก้ว-1	2.50±0.53×10 <sup>5</sup> b
-หมึกแก้ว-2	3.23±1.00×10 <sup>6</sup> b
<b>หอยแห้ง</b>	
-หอยหวาน	2.80±0.09×10 <sup>6</sup> b
-หอยแมลงภู่	1.75±0.24×10 <sup>5</sup> b
-หอยเสียบ-1	4.43±1.00×10 <sup>5</sup> b
-หอยเสียบ-2	3.06±0.49×10 <sup>6</sup> b
<b>หมึกแปรรูป</b>	
-หมึกอบเนย	1.33±0.29×10 <sup>5</sup> b
-หมึกแก้วกรอบ	1.47±0.40×10 <sup>4</sup> b
-หมึกหวาน	2.17±0.21×10 <sup>4</sup> b
-หมึกบดชุบน้ำเชื่อม	1.40±0.75×10 <sup>5</sup> b
-หมึกอบชุบน้ำเชื่อม	8.20±2.23×10 <sup>3</sup> b
-หมึกตัวฉาบ	4.70±0.85×10 <sup>3</sup> b
-เต้าทองสามรส	1.13±0.06×10 <sup>6</sup> b
-หมึกเส้นไม่เผ็ด	2.41±0.17×10 <sup>6</sup> b
-หมึกเส้นสามรส (เผ็ด)-1	7.43±0.40×10 <sup>4</sup> b
-หมึกเส้นสามรส (เผ็ด)-2	4.80±1.08×10 <sup>7</sup> b
-หมึกกรอบ-1	1.20±0.26×10 <sup>4</sup> b
-หมึกกรอบ-2	1.30±0.26×10 <sup>5</sup> b
-หนวดหมึกอบชุบน้ำเชื่อม-1	5.87±0.76×10 <sup>4</sup> b
-หนวดหมึกอบชุบน้ำเชื่อม-2	6.00±2.00×10 <sup>2</sup> b
<b>ปูแปรรูป</b>	
-ปูทอดกรอบ	9.00±1.00×10 <sup>4</sup> b

หมายเหตุ: ค่าที่แสดงในแนวดิ่ง คือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

a,b แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแนวดิ่ง (p<0.05)

## 2. การศึกษาชนิดของแบคทีเรียในอาหารทะเลแห่งชนิดต่าง ๆ

จากการศึกษาชนิดของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปในอาหารทะเลแห่งชนิดต่าง ๆ พบแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* มากที่สุด รองลงมา คือแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* และ *Micrococcus* จำนวน

24, 18 และ 14 ตัวอย่าง ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบ *Corynebacterium* sp., *Enterobacter* sp., *E. cloaceae*, *Klebsiella ozaenae*, *K. pneumoniae*, *Listeria* sp., *Planococcus halophilus*, *Proteus mirabilis* ซึ่งมีคุณสมบัติทางชีวเคมี ดังแสดงในตารางที่ 2



ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียกลุ่มเมทาเทอโรโทรปที่พบในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้งที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี ปี 2551 (ต่อ)

Biochemical test	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Klebsiella ozaenae</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Listeria</i> spp.	<i>Micrococcus lylae</i>	<i>Micrococcus sedentarius</i>	<i>Micrococcus varians</i>	<i>Planococcus halophilus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Staphylococcus auricularis</i> S. <i>cohnii</i> subsp. 1	<i>Staphylococcus auricularis</i> S. <i>haemolyticus</i>	<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Staphylococcus caprae</i>	<i>Staphylococcus cohnii</i> subsp. 1/ S. <i>warneri</i>	<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>Staphylococcus hominis</i> /S. <i>saprophyticus</i> / S. <i>warneri</i>	<i>Staphylococcus hyicus</i> subsp. <i>Chromogenes</i>	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	<i>Staphylococcus simulans</i> /S. <i>warneri</i>	<i>Staphylococcus simulans</i> /S. <i>xylosus</i>
Acid from:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arabinose	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Xylose	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Mannitol	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Mannose	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Maltose	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Glucose	-	+	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Sucrose	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Galactose	NT	-	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Lactose	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Trehalose	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Gas from: D-glucose	-	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT



ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียกลุ่มสเตปโทโคคัสที่พบในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้งที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี ปี 2551 (ต่อ)

Biochemical test	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Klebsiella ozaenae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Listeria</i> spp.	<i>Micrococcus lysiae</i>	<i>Micrococcus sedentarius</i>	<i>Micrococcus varians</i>	<i>Planococcus halophilus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Staphylococcus auricularis</i> S. <i>cohnii</i> subsp. 1	<i>Staphylococcus auricularis</i> S. <i>haemolyticus</i>	<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Staphylococcus caprae</i>	<i>Staphylococcus cohnii</i> subsp. 1/ S. <i>warneri</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Staphylococcus hominis</i> /S. <i>saprophyticus</i> / S. <i>warneri</i>	<i>Staphylococcus hyicus</i> subsp. <i>Chromogenes</i>	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	<i>Staphylococcus simulans</i> /S. <i>warneri</i>	<i>Staphylococcus simulans</i> /S. <i>xylosus</i>
Nutrient agar with 7.5% NaCl	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Nutrient agar with 20% NaCl	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	+	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Coagulase	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Triple Sugar Iron	NT	NT	A/A, gas	A/A, gas	A/A, gas	A/A, gas	NT	NT	NT	NT	NT	K/A, gas	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
H <sub>2</sub> S production	NT	NT	-	-	-	-	NT	NT	NT	NT	NT	+	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Indole test	NT	NT	-	-	-	-	NT	NT	NT	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Malonate utilization	NT	NT	+	-	-	+	NT	NT	NT	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
LDC	NT	NT	-	-	+	+	NT	NT	NT	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
ODC	NT	NT	+	+	-	-	NT	NT	NT	NT	NT	+	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT

หมายเหตุ: + หมายถึง ให้ผลบวกกับการทดสอบ; - หมายถึง ให้ผลลบกับการทดสอบ; NT หมายถึง ไม่ได้ทำการทดสอบ; LDC: Lysine decarboxylase test; ODC: Decarboxylase test

## อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มเซพเทอโรโทรปในอาหารทะเลแห้งที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี พบว่า ในกลุ่มหมึกแห้งมีปริมาณแบคทีเรียอยู่ในช่วง  $5.87 \pm 2.14 \times 10^4$  ถึง  $4.40 \pm 1.22 \times 10^9$  CFU/g ซึ่งเคยมีรายงานว่าหมึกแห้งที่จำหน่ายในท้องตลาดมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ  $1 \times 10^7$  CFU/g (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2526) ส่วนตัวอย่างในกลุ่มหมึกแปรรูปมีปริมาณแบคทีเรียอยู่ในช่วง  $6.00 \pm 2.00 \times 10^2$  ถึง  $4.80 \pm 1.08 \times 10^7$  CFU/g ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ ศิริโณม ทุงแก้ว และกิตติรัตน์ วงษ์อินทร์ (2550) ที่ได้ทำการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของหมึกแห้งปรุงรส พบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง  $2.00 \times 10^6$  ถึง  $1.40 \times 10^7$  CFU/g และรายงานของสินหทัย สมบูรณ์ยิ่ง (2545) ที่ได้ทำการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของหมึกหวานปรุงรส พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง  $0.15 \times 10^4$  ถึง  $2.58 \times 10^5$  CFU/g ซึ่งการที่อาหารทะเลแห้งแต่ละชนิดมีปริมาณแบคทีเรียมากน้อยแตกต่างกัน อาจเนื่องจากการปนเปื้อนมาจากวัตถุดิบ ขั้นตอนการผลิตหรืออาจปนเปื้อนมาจากเครื่องมือที่ใช้และผู้ปฏิบัติงาน (วารวดี คุรุสง, 2538)

จากการจำแนกชนิดของแบคทีเรียพบว่าส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus*, *Bacillus* และ *Micrococcus* ที่พบแบคทีเรียกลุ่มนี้เนื่องจาก *Staphylococcus* เป็นแบคทีเรียที่พบได้บนผิวหนังของมนุษย์ สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และในสิ่งแวดล้อมซึ่งอาจปนเปื้อนลงสู่อาหารได้จากการใช้มือหยิบจับอาหาร (Aycicek *et al.*, 2005) และในการศึกษาค้างนี้ไม่พบ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในอาหารพร้อมบริโภค และสามารถสร้างสารพิษได้ (Aycicek *et al.*, 2005) ส่วน *Micrococcus* เป็นแบคทีเรียที่เจริญได้บนผิวหนังหรือเยื่อผิวหนังต่างๆ ของมนุษย์แต่ไม่ทำให้เกิดโรค ด้วยเหตุนี้จึงทำให้สามารถพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ใน

อาหารทะเลแห้ง และนอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนของ *Bacillus spp.* ซึ่งการปนเปื้อนของ *Bacillus spp.* ในอาหารอาจมาจากสิ่งแวดล้อม เพราะแบคทีเรียชนิดนี้พบได้ในดิน น้ำ ฝุ่นละออง รั้วพืช เป็นต้น (บุษกร อุตริชาติ, 2545) และสปอร์ของ *Bacillus spp.* อาจรอดชีวิตได้ในกระบวนการผลิตอาหารและสามารถเจริญได้ถ้าอาหารมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้องหรือที่อุณหภูมิแช่แข็ง (Iurlina *et al.*, 2006)

เมื่อนำมาวิเคราะห์หาชนิดของแบคทีเรียก่อโรคและไม่ก่อโรคในอาหารทะเลแห้งที่นำมาตรวจสอบในครั้งนี้ พบว่า อาหารทะเลแห้งที่ไม่พบแบคทีเรียที่ก่อโรคมียังมีจำนวน 17 ชนิด ส่วนอาหารทะเลแห้งที่พบแบคทีเรียก่อโรคมียังมีจำนวน 12 ชนิด ซึ่งได้แก่ หมึกไข่ หมึกแก้ว-2 หอยเสียบ-1 หอยเสียบ-2 หมึกอบเนย หมึกแก้วกรอบ หมึกกรอบ-1 หมึกกรอบ-2 หมึกบด ชุบน้ำเชื่อม หมึกหวาน หนวดหมึกอบชุบน้ำเชื่อม-2 และหมึกเส้นสามรส (เผ็ด)-1 แบคทีเรียก่อโรคที่พบคือ *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. ozaenae*, *Proteus mirabilis*, *Listeria spp.* และ *Corynebacterium spp.* โดย *Enterobacter* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในดิน น้ำ พืชผักต่างๆ และพบได้บ่อยในลำไส้คน จัดเป็นแบคทีเรียฉวยโอกาส มีรายงานว่าเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะและติดเชื้อในกระแสเลือด (สุภัณฑิต นิมรัตน์, 2552) นอกจากนี้ *E. cloacae* ยังเป็นสาเหตุให้เกิดโรคปอดบวมได้อีกด้วย (Kanemitsu *et al.*, 2007) *K. pneumoniae* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ น้ำ ดิน ขนมหวาน อาหารที่ทำจากนม ผัก ผลไม้ น้ำดื่ม และในลำไส้คน เป็นต้น จัดเป็นแบคทีเรียฉวยโอกาส ทำให้เกิดโรคปอดบวม ติดเชื้อในกระแสเลือดและระบบทางเดินปัสสาวะ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ แผลติดเชื้อ และช่องท้องอักเสบ เป็นต้น (สุภัณฑิต นิมรัตน์, 2552; Samra *et al.*, 2007) ส่วน *K. ozaenae* ทำให้เกิดโรคจมูกอักเสบเรื้อรัง (Botelho-Nevers *et al.*, 2007) *Proteus mirabilis*

เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในดิน น้ำ ขยะ และในลำไส้คน อาจทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงในเด็กหรือเกิดการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะและแผลติดเชื้อต่างๆ (สุภัณฑิลา นิมรรัตน์, 2552) ซึ่งมีรายงานว่าสามารถแยกแบคทีเรียชนิดนี้ได้จากอาหารทะเล เช่น ปลา และหอย เป็นต้น (Fernandez-Delgado *et al.*, 2007) นอกจากนี้ยังพบ *Listeria* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค Listeriosis สามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน น้ำ พืช สิ่งปฏิกูล และในลำไส้คนและสัตว์ (Seeliger and Jones, 1986; Korthalsa *et al.*, 2008) และพบ *Corynebacterium* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบได้ในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน น้ำ และในผลิตภัณฑ์อาหาร เป็นต้น (Yassin *et al.*, 2003; Collins *et al.*, 2004)

อาหารทะเลแห่งที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ ส่วนใหญ่มีปริมาณแบคทีเรียที่พบในระดับสูง โดยเฉพาะอาหารทะเลแห้ง เช่น ประเภทหมึกแห้ง ดังนั้นในการเลือกซื้ออาหารทะเลแห้งควรเลือกซื้อที่บรรจุในภาชนะที่สะอาด ปิดผนึกสนิท เพราะสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกภายนอกได้ และการบริโภคอาหารทะเลควรนำมาปรุงให้สุกก่อนบริโภค เพื่อเป็นการป้องกันอันตรายจากการบริโภคอาหารทะเลที่ปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียก่อโรค

### บรรณานุกรม

กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม. (2543). *อุตสาหกรรมอาหารทะเลตากแห้ง (กุ้งและปลาหมึกแห้ง)*. สืบค้นเมื่อ 4 มีนาคม 2553, จาก <http://www.ryt9.com/s/ryt9/272072>

บุษกร อุตรักษาติ. (2545). *จุลชีววิทยาทางอาหาร*. สงขลา: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ.

ไพโรจน์ วิริยจารี. (2526). *การยืดอายุการเก็บรักษาปลาหมึกแห้งโดยวิธีร่วมระหว่างการฉายรังสีและการให้สารกันเชื้อรา*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วรารุณี ครุสง. (2538). *จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร*. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

ศิริโฉม ท่งแก้ว และกิตติรัตน์ วงษ์อินทร์. (2550). *คุณภาพทางจุลชีววิทยาของหมึกแห้งปรุงรสพร้อมบริโภคที่จำหน่ายปลีกในตลาดหนองมนชลบุรี*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สินหทัย สมบูรณ์ยิ่ง. (2545). *การสำรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ปลาหมึกหวานปรุงรสที่จำหน่ายในตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทาลัยบูรพา.

สุภัณฑิลา นิมรรัตน์. (2552). *การจำแนกแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน วงศ์เอนเทอโร-แบคทีเรียซีอี*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุมาลี เหลืองสกุล. (2541). *จุลชีววิทยาทางอาหาร*. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.

Auerswald, L., Morren, C. & Lopata, A. L. (2006). Histamine levels in seventeen spices of fresh and processed South African seafood. *Food Chemistry*, 98, 231-239.

Aycicek, H., Cakiroglu, S. & Stevenson, T. H. (2005). Incidence of *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat meals from military cafeterias in Ankara, Turkey. *Food Control*, 16, 531-534.

- Botelho-Nevers, E., Gourié, F., Lepidi, H., Couvret, A., Amphoux, B. Dessi, P. & Raoult, D. (2007). Chronic nasal infection caused by *Klebsiella rhinoscleromatis* or *Klebsiella ozaenae*: two forgotten infectious diseases. *International Journal of Infectious Diseases*, 11, 423-429.
- Brenner, D. J. (1984). "Section: 5 Facultative Anaerobic Gram-Negative Rods." In N. R. Krieg & J. G. Holt (Editors). *Bergey's manual of systematic bacteriology, Volume 1*, pp. 414-417. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Colakoglu, F. A., Sarmasik, N. C. & Koseoglu, B. (2006). Occurrence of *Vibrio* spp. and *Aeromonas* spp. in shellfish harvested off Dardanelles coast of Turkey. *Food Control*, 17, 648-652.
- Collins, M.D., Hoyles, L., Foster, G. & Falsen, E. (2004). *Corynebacterium caspium* sp. nov., from a Caspian seal (*Phoca caspica*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, 925-928.
- Ferber, J. M. (2000). Present situation in Canada regarding *Listeria monocytogenes* and ready-to-eat seafood products. *Food Microbiology*, 62, 247-251.
- Fernandez-Delgado, M., Contreras, M., Garcia-Amado, M. A., Gueneau, P. & Suarez, P. (2007). Occurrence of *Proteus mirabilis* associated with two species of Venezuelan oysters. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 49(6), 355-399.
- Friedemann, F. (2007). *Enterobacter sakazakii* in food and beverages (other than infant formula and milk powder). *International Journal of Food Microbiology*, 116, 1-10.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. & Williams, S. T. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9<sup>th</sup> ed. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Iurlina, M. O., Saiz, A. I., Fuselli, S. I. & Fritz, R. (2006). Prevalence of *Bacillus* spp. in different food products collected in Argentina. *Food Science and Technology*, 39, 105-110.
- Jeyasekaran, G., Ganesan, P., Shakila R. J., Maheswari, K. & Sukumar, D. (2004). Dry ice as a novel chilling medium along with water ice for short-term preservation of fish Emperor breams, *Lethrinus miniatus*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5, 485-493.
- Kanemitsu, K., Endo, S., Oda, K., Saito, K., Kunishima, H., Hatta, M., Inden, K. & Kaku, M. (2007). An increased incidence of *Enterobacter cloacae* in a cardiovascular ward. *Journal of Hospital Infection*, 66, 130-134.
- Kocur, M. (1986). "Section 12: Gram-Positive Cocci Genus III *Planococcus*." In P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe & J. G. Holt (Editors). *Bergey's manual of systematic bacteriology, Volume 2*, pp. 1011-1013. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Korthalsa, M., Egeb, M., Lickc, S., von Mutiusb, E., & Bauera, J. (2008). Occurrence of *Listeria* spp. in mattress dust of farm children in Bavaria. *Environmental Research*, 107, 299-304.
- Parihar, V. S., Barbuddhe, S. B., Danielsson-Tham, M. L., & Tham, W. (2008). Isolation and characterization of *Listeria* species from tropical seafoods. *Food Control*, 19, 566-569.

- Phatarpekar, P. V. Kenkre, V. D., Sreepada, R. A., Desai, U. M., & Achuthankutty, C. T. (2002). Bacterial flora associated with larval rearing of the giant freshwater prawn. *Maccrobriachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 203, 279-291.
- Samra, Z., Ofir, O., Lishtzinsky, Y., Madar-Shapiro, L. & Bishara, J. (2007). Outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-3 in a tertiary medical centre in Israel. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 30, 525-529.
- Seeliger, H. P. R. & Jones, D. (1986). "Section 14: Regular, Nonsporing Gram-Positive Rods." In P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe & J. G. Holt (Editors). *Bergey's manual of systematic bacteriology, Volume 2*, pp. 1235-1246. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E. & Holt, J. G. (1986). *Bergey's manual of systematic bacteriology volume 2*. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Tsai, G. J. & Chen, T. H. (1996). Incidence and toxigenicity of *Aeromonas hydrophila* in sea food. *International journal of food microbiology*, 31, 121-131.
- Yang, Z., Jiao, X., Zhou, X., Cao, G., Fang, W. & Gu, R. (2008). Isolation and molecular characterization of *Vibrio parahemolyticus* from fresh, low-temperature preserved, dried, and salted seafood products in two coastal areas of eastern China. *International journal of food microbiology*, 125, 279-285.
- Yassin, A. F., Kroppenstedt, R. M. & Ludwig, W. (2003). *Corynebacterium glaucum* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, 705-709.



**Associate Professor Dr. Subuntith Nimrat** is currently a faculty member in the Department of Microbiology and Environmental Science Program, Faculty of Science, Burapha University, Chon Buri, Thailand. She received a Ph.D. degree in Environmental Science from Rutgers, the State University of New Jersey, New Brunswick, US with the support of Royal Thai Government Scholarship. Dr. Nimrat obtained her B.Sc. and M.Sc. from Chiangmai University and Mahidol University, respectively. She was awarded an Academic Excellence Awards in University Linkages Program provided by Thailand-Australia Science and Engineering Assistance Project (TASEAP) in 2001 and a Distinguished Lecturer in Research from Faculty of Science, Burapha University, Thailand. She has published nearly 44 international and national research papers and 106 international and national proceeding. Her expertise focuses on Environmental biotechnology, and applied microbiology. She established the potential probiotic bacteria applied in both freshwater and marine aquaculture. Dr. Nimrat also emphasizes on the biodiversity of bacteria in aquatic animal's product and their application. She is the author of 7 Thai books such as Determination of Gram negative bacilli: Vibrionaceae, Determination of Gram negative bacilli: Enterobacteriaceae and Aquaculture: The role of microorganisms and the application and Microbiology, and Management of water and soil pollution. Dr. Nimrat also wrote one chapter in "Aquaculture Research Trends" by Nova Science Publishers, Inc., NY. In 2008.



**Associate Professor Dr. Veerapong Vuthiphandchai** obtained his Ph.D. in Marine Estuarine and Environmental Science from University of Maryland, USA and received his B.Sc. in Faculty of Fisheries (Honor) from Kasetsart University and M.Sc. in Aquaculture from Asian Institute of Technology (A.I.T.). He is currently an Associate professor in the Department of Aquatic Science at Burapha University and his research interests are reproductive endocrinology of fish, sperm cryopreservation of aquatic animals and risk assessment of environmental effects on aquaculture.



**Miss Preyaphorn Thongniam** received her Bachelor's Degree of Science in Microbiology, Faculty of Science from Burapha University. She is currently a scientist at Animal Health and Technical Service Office, Charoen Pokphand Food PCL., Bangkok, Thailand.