บทที่ 5
อภิปรายและสรุปผล

อภิปรายผลการวิจัย

การแปรรูปปูม้าสดเป็นเนื้อปูสุกทำได้โดยการต้มหรือนึ่งที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที ก่อนการแกะแยกเนื้อส่วนต่าง ๆ บรรจุในภาชนะเป็นถุงพลาสติก และเก็บรักษาโดยการแช่ตู้เย็นหรือแช่น้ำแข็ง การต้มปูด้วยความร้อนระดับดังกล่าวสามารถทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนได้ แต่การแกะแยกส่วนเนื้อปูอาจทำให้มีจุลินทรีย์ปนเปื้อน หากผู้ประกอบการมีสุขลักษณะที่ไม่เหมาะสม ขาดการดูแลทางด้านความสะอาดในระหว่างการปฏิบัติงาน รวมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้ในการแกะเนื้อปูและพื้นที่ปฏิบัติงาน และขณะที่จำหน่ายขาดความระมัดระวังในการแบ่งจำหน่ายเนื้อปูสุก การศึกษาในครั้งนี้มีการเก็บตัวอย่างเนื้อปูส่วนนิ้วบรรจุในถุงแช่น้ำแข็งจากตลาดจำหน่ายปลีกในตลาดชลบุรี หนองมน อ่างศิลาและศรีราชา รวมทั้งสิ้น 50 ตัวอย่าง นำมาศึกษาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดตามวิธีมาตรฐานของ BAM (Maturin & Peeler, 1998) พบว่า ตัวอย่างมีแบคทีเรียปนเปื้อนระดับสูง คือ ร้อยละ 82 มีแบคทีเรียอยู่ในช่วงมากกว่า 10^6-10^7 เซลล์ต่อกรัม อรอนงค์ กุลธนทอง (2548) รายงานว่าเนื้อปูต้มสุกแช่น้ำแข็งจากตลาดหนองมนมีแบคทีเรียประมาณ 10^8 เซลล์ต่อกรัม และมีรายงานว่าเนื้อปูแช่แข็ง จำนวน 56 ตัวอย่างจากตลาดจำหน่ายปลีกในประเทศสหรัฐอเมริกา มีแบคทีเรียทั้งหมดสูงสุดที่พบ มีจำนวน $4.3x10^6$ เซลล์ต่อกรัม และพบต่ำสุดประมาณ 10^2 เซลล์ต่อกรัม โดยมีค่าเฉลี่ยของตัวอย่างทั้งหมดอยู่ในช่วง $1.9\pm1.0x10^5$ เซลล์ต่อกรัม (Ellender, Sharp, Comar, & Tettleton, 1993)

เกณฑ์ด้านจุลชีววิทยาสำหรับเนื้อปูต้มสุกกำหนดไว้ในมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ โดยต้องมีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดไม่เกิน 10^6 โคโลนีต่อตัวอย่างเนื้อปู 1 กรัม (มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2548) เมื่อเปรียบเทียบเกณฑ์ดังกล่าว พบว่า ตัวอย่างเนื้อปูที่ศึกษาครั้งนี้ ร้อยละ 82 มีแบคทีเรียสูงเกินเกณฑ์ที่กำหนด นอกจากนี้ยังมีเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารทั่วไปของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่กำหนดให้อาหารปรุงสุกทั่วไปต้องมีจำนวนจุลินทรีย์รวมไม่เกิน 10^6 เซลล์ต่อกรัม (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2549) เช่นเดียวกัน การที่พบแบคทีเรียปนเปื้อนในเนื้อปูสุกแช่เย็นระดับสูงแสดงถึงการขาดสุขลักษณะในการแกะตัวอย่างเช่น ใช้มือสัมผัสโดยตรงรวมทั้งมีการปนเปื้อนจากอุปกรณ์ที่ใช้ในการแกะ นอกจากนั้นการปนเปื้อนยังอาจมาจากขั้นตอนการจำหน่ายที่ขาดความระมัดระวังและมีการเก็บรักษาที่อุณหภูมิไม่เหมาะสมเนื่องจากเป็นเพียงการเก็บรักษาบนน้ำแข็ง ทำให้ตัวอย่างมี

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

อุณหภูมิประมาณ 7-10 องศาเซลเซียส จึงไม่อาจยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ทั้งหมดโดยเฉพาะอย่างยิ่งมีแบคทีเรียกลุ่มไซโครโทรป (Psychrotroph) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ คือ 0 องศาเซลเซียส และเจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง คือ 15-30 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ในอาหารแช่เย็น (บุษกร อุตรภิชาติ, 2545) อาจกล่าวได้ว่า แบคทีเรียทั้งหมดที่พบเป็นแบคทีเรียที่เกิดการปนเปื้อนมาในขณะที่มีการแกะเนื้อปูต้มสุกออกจากส่วนเปลือกหรือปนเปื้อนจากอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิต โดยมีรายงานว่าแบคทีเรียที่พบในเนื้อปูแช่เย็น ได้แก่ *Acinetobacter* sp. ที่พบได้ทั่วไปในดินและน้ำ *Renibacterium* sp. เป็นแบคทีเรียที่พบในปลา *Serratia marcescens* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ *Lactobacillus* sp. พบในผลิตภัณฑ์ปลา และ *Pseudomonas fluorescens* พบได้ทั่วไปในดิน น้ำและในอาหารเน่าเสีย (อรอนงค์ กุลธนทอง, 2548) รวมทั้งยังมีโอกาสพบ *S. aureus* ได้ซึ่งเกิดจากการปนเปื้อนจากมือที่สัมผัสกับเนื้อปูของผู้ประกอบการ ซึ่ง *S. aureus* เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นบนผิวเยื่อเมือกของมนุษย์

สำหรับ *S. aureus* นั้น พบในตัวอย่างร้อยละ 48 และร้อยละ 40 ของตัวอย่างทั้งหมดมี *S. aureus* ปนเปื้อนมากกว่า 10^4 เซลล์ต่อกรัม ตัวอย่างร้อยละ 52 มี *S. aureus* น้อยกว่า 10 เซลล์ต่อกรัม ซึ่งหมายความว่าตัวอย่างเหล่านี้อาจไม่มี *S. aureus* ปนเปื้อนหรือปนเปื้อนต่ำกว่า 10 เซลล์ต่อกรัม ซึ่งตรวจนับไม่ได้ด้วยวิธีที่ใช้ในการศึกษา การที่ไม่พบ *S. aureus* ในตัวอย่างน่าจะเนื่องจากระหว่างการแกะมีการรักษาความสะอาดของผู้ปฏิบัติงานโดยสวมใส่ถุงมือขณะปฏิบัติงานหรือมีการล้างมือจนสะอาดก่อนปฏิบัติงาน ตลอดจนมีการรักษาความสะอาดอุปกรณ์ที่ใช้ในการแกะและภาชนะที่ใส่เนื้อปู มีการเก็บรักษาเนื้อปูในสภาวะที่ป้องกันการเจริญของ *S. aureus* ส่วนการปนเปื้อนของ *S. aureus* ในตัวอย่างเนื้อปูต้มสุกที่เกิดขึ้นระหว่างการแกะเนื้อปูนั้น จากการประเมินแล้วการแกะเนื้อปูส่วนขานั้นเป็นการแกะเนื้อปูที่ต้องมีการสัมผัสกับมือผู้ประกอบการสูงที่สุด เพราะส่วนขาของปูมีขนาดเล็ก จึงเป็นการส่งเสริมให้มีพื้นที่ผิวในการสัมผัสกับมือของผู้ประกอบการมากขึ้น นอกจากนี้การปนเปื้อนยังอาจเกิดได้อีกในกรณีของการแบ่งจำหน่ายที่มีการใช้มือในการหยิบจับเนื้อปูแทนการใช้อุปกรณ์ที่มีความสะอาดและเหมาะสม ดังนั้น วิธีการจัดการในระหว่างกระบวนการผลิตให้ถูกสุขลักษณะจึงเป็นการลดจำนวน *S.aureus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Jorgensen, Mork, & Rorvik, 2005)

มีการรายงานพบการปนเปื้อน *S. aureus* ในตัวอย่างอาหารหลายชนิด ซึ่งปริมาณที่พบแตกต่างกันเช่น การรายงานของเนาวรัตน์ สุพรรณภาชน์ (2540) ที่ศึกษาการปนเปื้อน *S. aureus* ในตัวอย่างอาหารทะเลผ่านความร้อนแช่แข็งเพื่อการส่งออก พบว่ามี *S. aureus* ปนเปื้อนในปริมาณระหว่าง 3.0-4.3 MPN/ g Ellender et al. (1995) รายงานว่าเนื้อปูแช่แข็งพบ *S. aureus* ได้ต่ำสุด มีค่า $1.1x10^3$ เซลล์ต่อกรัม ในผลิตภัณฑ์อาหารพร้อมรับประทาน เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อพบการแพร่กระจาย

ของ *Staphylococcus* ที่ให้ผลปฏิกิริยาโคแอกกูเลสบวกสูงที่สุด ซึ่งเป็นการปนเปื้อนระหว่างที่มือผู้ประกอบการสัมผัสกับอาหารและส่วนผสมอื่น (Normanno et al., 2005) เช่นเดียวกับการผลิตแซนวิช ซึ่งเป็นอาหารที่ประกอบด้วยส่วนผสมหลายชนิด ก็พบว่ามีการปนเปื้อนของ *S. aureus* ที่ปริมาณประมาณ 10^3 เซลล์ต่อกรัม เช่นกัน (Hanashiro, Morita, Matte & Torres, 2005) และ Marin, Rosa, and Cornejo (1992) รายงานการพบ *S. aureus* ในตัวอย่างแฮมรมควันสเปนน้อยกว่า 10-10^4 เซลล์ต่อกรัม นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์อื่น ๆ เช่น นม ที่ต้องผ่านการรีดนมโดยผู้ประกอบการ ซึ่งมีโอกาสปนเปื้อนของ *S. aureus* จากผู้ประกอบการได้สูง มีการรายงานเกี่ยวกับการพบ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์นมของ Adesiyun et al. (1998) พบว่า นมดิบพบ *S. aureus* ได้ในช่วง $5.9x10^3$ ถึง $1.2x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีรายงานว่าพบ *S. aureus* ในชีส 10^3-10^4 เซลล์ต่อกรัม (Luca, Zanetti, & Stampi, 1997; Ikeda et al., 2005)

จากการรายงานข้างต้นประกอบกับผลการศึกษาในครั้งนี้อาจกล่าวได้ว่า การตรวจพบ *S. aureus* ในอาหารที่ผ่านการให้ความร้อนนั้นมีโอกาสเกิดได้สูง เพราะสาเหตุหลักของการปนเปื้อนมาจากมนุษย์ เช่น จากการสัมผัสกับอาหารของผู้ประกอบการหรือการไอ จาม ลงบนอาหารนั้น และเป็นการปนเปื้อนที่เกิดขึ้นหลังจากการผ่านความร้อนแล้ว (Labbe & Garcia, 2001) เนื่องจากการให้ความร้อนในการต้มปูสุกสามารถทำลายแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ปนเปื้อนลงได้ และหลังจากต้มปู การแกะเนื้อออกจากเปลือกด้วยมือและอุปกรณ์เป็นสาเหตุให้เกิดการปนเปื้อน *S. aureus* ลงในเนื้อปูได้ ปริมาณ *S. aureus* ในแต่ละตัวอย่างหรือในอาหารแต่ละชนิดนั้นแตกต่างกันเนื่องจากปัจจัยทางสารอาหารและปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมของตัวอย่างแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน ทำให้เกิดความเหมาะสมต่อการเจริญและการรอดชีวิตของ *S. aureus* แตกต่างกัน โดยทั่วไป *S. aureus* จะเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 7-47 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสม 6-7 ค่าวอเตอร์แอกทิวิตีอยู่ในช่วง 0.83-0.99 และเจริญได้ดีที่สุดที่ 0.99

จากการนับจำนวน *S. aureus* ในเนื้อปูต้มสุกในการศึกษานี้ พบว่าตัวอย่างส่วนใหญ่ (ร้อยละ 82 ของตัวอย่างที่ตรวจพบ *S. aureus* ทั้งหมด) มี *S. aureus* มากกว่า 10^4 เซลล์ต่อกรัม ซึ่งเมื่อพิจารณาตามเกณฑ์ของมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ ที่กล่าวว่า *S. aureus* ในตัวอย่างเนื้อปูต้มต้องมี *S. aureus* ไม่เกิน 10^3 โคโลนีต่อตัวอย่างเนื้อปู 1 กรัม และตามมาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่กำหนดให้ในอาหารปรุงสุกทั่วไปต้องพบ *S. aureus* ได้ไม่เกิน 10^2 เซลล์ต่อกรัม กล่าวได้ว่าตัวอย่างเนื้อปูต้มที่จำหน่ายปลีกในแหล่งที่เก็บตัวอย่างไม่ได้มาตรฐานดังกล่าว และเป็นอาหารที่ต้องได้รับการแก้ไขให้ถูกสุขลักษณะโดยเร่งด่วน เนื่องจากเนื้อปูต้มสุกเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่นิยมรับประทานกันสูง เพราะมีรสชาติดี และมีคุณค่าทางอาหาร ได้แก่ มีโปรตีนสูงถึงร้อยละ 16 แคลเซียมร้อยละ 0.05 ไขมันต่ำร้อยละ 0.49 และมีโอเมก้า-3 ร้อยละ 1.4

ซึ่งสูงกว่าสัตว์ทะเลชนิดอื่น ๆ และเป็นจุดเด่นทางโภชนาการของปูม้าเพราะเป็นสารต้านมะเร็ง (บรรจง เทียนส่งรัศมี, 2549)

การทดสอบความสามารถในการผลิตเอนเทอโรทอกซินเบื้องต้น ด้วยเครื่องมือตรวจวัดอัตโนมัติ VIDAS SET ซึ่งเป็นเครื่องมือวิเคราะห์อัตโนมัติที่มีความไว รวดเร็ว ใช้เวลาเพียง 80 นาที ในการวิเคราะห์ 12 ตัวอย่าง จึงเหมาะสมอย่างยิ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการตรวจวัดเอนเทอโรทอกซินเบื้องต้น (Meyrand et al., 1998) และในการตรวจวัดเอนเทอโรทอกซินครั้งนี้พบว่า *S. aureus* ร้อยละ 33.33 ของตัวอย่างที่พบ *S. aureus* ผลิตเอนเทอโรทอกซิน อัตราส่วนของ *S. aureus* สายพันธุ์ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินที่แยกได้จากอาหารแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร แหล่ง และวิธีตรวจสอบ Normanno et al. (2005) รายงานการพบ *S. aureus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินในผลิตภัณฑ์ปลารวมทั้งปูและกุ้ง ร้อยละ 25 ของตัวอย่างที่พบ *S. aureus* และการรายงานของ Shimamoru, Kidokoro, and Murata, (2006) พบ *S. aureus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินในขนมญี่ปุ่นและขนมตะวันตก ร้อยละ 41 ของตัวอย่างที่พบ *S. aureus* และการรายงานของ Adesiyun et al. (1998) ที่พบ *S. aureus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซิน ร้อยละ 42.9 เมื่อคัดแยกจากตัวอย่างนมดิบ นอกจากนั้นรายงานของ Fernandez and Rodriguez (1996) ที่แยกจุลินทรีย์จากชีสและครีมพบ *S. aureus* ผลิตเอนเทอโรทอกซิน ร้อยละ 49 (Fernandez & Rodriguez, 1996 cited in Aragon-Alego et al., 2006) โดยส่วนใหญ่ในการคัดแยก *S. aureus* จากตัวอย่างอาหารทั่วไปแล้ว จะพบสายพันธุ์ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซิน ร้อยละ 25 (Labbe & Garcia, 2001) แต่มีบางรายงานที่พบ *S. aureus* ผลิตเอนเทอโรทอกซินในตัวอย่างค่อนข้างสูง เช่น การรายงานของ Marin et al. (1992) ที่พบ *S. aureus* ผลิตเอนเทอโรทอกซินในตัวอย่างแฮมรมควันสเปน สูงถึงร้อยละ 85.9 ซึ่งถือว่าสูงมาก แต่อย่างไรก็ตาม การตรวจพบ *S. aureus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินในอาหารนั้น ก็ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพในการสกัดชนิดอาหารที่เลี้ยงจุลินทรีย์ ความไวของวิธีการที่ใช้ในการตรวจวัด (Doan & Davidson, 1999) ดังนั้นความแตกต่างของแต่ละรายงานนั้นอาจเกิดจากการศึกษาในตัวอย่างที่แตกต่างกัน วิธีการตรวจที่แตกต่างกัน ในงานวิจัยนี้พบ *S. aureus* ผลิตเอนเทอโรทอกซินทั้งหมดที่ได้จากการตรวจวัดด้วย VIDAS SET2 สามารถบอกได้ว่าเป็น *S. aureus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซิน แต่ไม่สามารถจำแนกได้ว่าเป็นเอนเทอโรทอกซินชนิดใด จึงนำ *S. aureus* ทั้งหมด (8 ไอโซเลท) ไปตรวจสอบอีกครั้งเพื่อให้ทราบชนิดของเอนเทอโรทอกซิน โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป Staphylococcal Entertoxin-Reverse Passive Latex Agglutination (SET-RPLA) พบว่าสามารถจำแนกชนิดของ เอนเทอโรทอกซินได้ทั้งหมด ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า วิธี VIDAS SET และ SET-RPLA นั้น ให้ผลที่สัมพันธ์กัน (Meyrand et al., 1998) และวิธี SET-RPLA ก็ให้ผลที่น่าเชื่อถือ เพราะเอนเทอโรทอกซินที่ *S. aureus* ผลิตนั้นจะถูกปล่อยออกมาสู่อาหารเหลว ส่งผลให้ทำปฏิกิริยากับแอนติซีรั่มได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Marin et al., 1992)

เอนเทอโรทอกซินที่ผลิตจาก *S. aureus* ที่แยกได้ในงานวิจัยนี้มีทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ SEA, SEB และ SEC โดยพบ SEA สูงที่สุดร้อยละ 62.5 ของ *S. aureus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินทั้งหมด รองลงมาคือ SEB และ SEC คิดเป็นร้อยละ 25 และ 12.5 ของ *S. aureus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินทั้งหมด ตามลำดับ สอดคล้องกับการรายงานที่อธิบายว่า SEA พบเป็นเอนเทอโรทอกซินที่ผลิตโดย *Staphylococcus* ที่พบได้บ่อยที่สุดและเป็นปัญหาหลักของการเกิดอาหารเป็นพิษ (Jablonski & Bohach, 1997) เช่นเดียวกับการรายงานของ Marin et al. (1992) ที่พบ SEA สูงที่สุดร้อยละ 54 ของ *S. aureus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินทั้งหมด ซึ่งคัดแยกจากแฮมรมควันสเปน และการรายงานของ Desmarchelier et al. (1999) ที่คัดแยก *S. aureus* ผลิตเอนเทอโรทอกซินจากเนื้อสัตว์ในระหว่างกระบวนการฆ่าสัตว์ พบ SEA สูงที่สุด (ร้อยละ 79 ของ *S. aureus* ทั้งหมดที่ให้ผลโคแอกกูเลสบวก) รองลงมา คือ SEB และ SEC อย่างไรก็ตามในอาหารพวกนมดิบหรือผลิตภัณฑ์นม โดยส่วนใหญ่แล้วจะพบเป็น SEC สูงที่สุด เช่น การรายงานของ Normanno et al. (2005) ที่พบ SEC ในนมดิบสูงร้อยละ 40 ของ *S. aureus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซิน อาจเป็นเพราะว่า SEC เป็นเอนเทอโรทอกซินที่พบได้บ่อยในสัตว์และเป็นสาเหตุของโรคเต้านมอักเสบในสัตว์อีกด้วย (Jay, 2000) นอกจากนั้นบางรายงานตรวจพบ SEB สูงที่สุด ใน *Staphylococcus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินที่แยกได้จากเครื่องดื่มและอาหารพร้อมรับประทานในประเทศสิงคโปร์ พบเป็น SEB สูงที่สุดร้อยละ 36.1 ของ *S. aureus* ที่พบเอนเทอโรทอกซิน และนอกจากนี้ยังกล่าวได้ว่าในประเทศญี่ปุ่น เมื่อ 5 ถึง 10 ปีที่ผ่านมา *S. aureus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินที่เด่นที่สุดเปลี่ยนจาก SEC และ SED ไปเป็น SEB (Shimamoru et al., 2006) เอนเทอโรทอกซิน A และ D เป็นชนิดที่พบได้บ่อย แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้แม้จะพบ SEA สูงที่สุด ซึ่งเป็นปัญหาหลักของการเกิดอาหารเป็นพิษและเป็นเอนเทอโรทอกซินที่มีกิจกรรมรุนแรง แต่ไม่พบ SED

สำหรับการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ในตัวอย่างเนื้อปูที่อุณหภูมิและปริมาณเชื้อเริ่มต่างกัน พบว่า *S. aurues* ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส ทั้งเมื่อมีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^3 และ 10^5 เซลล์ต่อกรัม ไม่พบการเพิ่มจำนวนของ *S. aureus* เมื่อเก็บรักษานาน 48 ชั่วโมง และไม่พบการผลิตเอนเทอโรทอกซิน เนื่องจากการเจริญของจุลินทรีย์ทุกชนิดจะช้าลงเมื่ออุณหภูมิลดลงต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส และเป็นช่วงอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมต่อการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* โดยไม่พบการผลิตเอนเทอโรทอกซินที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส (Bergdoll, 1989) บางรายงานไม่พบการผลิตเอนเทอโรทอกซินที่อุณหภูมิต่ำกว่า 18 องศาเซลเซียส (Yang et al., 2001) ในสภาพที่อุณหภูมิต่ำ กิจกรรมของเซลล์จะลดลง (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า ในบางกรณีการป้องกันการปนเปื้อนอาหารจาก *S. aureus* อาจทำได้ยาก การแช่เย็นอาจเป็นวิธีที่ควบคุมได้ดีที่สุด เพื่อป้องกันการเกิดอาหารเป็นพิษ เพราะ

Staphylococcus เจริญได้ไม่ดีที่อุณหภูมิต่ำ (Anunciacao, Linardi, Carmo, & Bergdoll, 1995) และยืนยันได้จากการทดลองในครั้งนี้ เมื่อแช่เย็นเนื้อปูที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส เซลล์ *S. aureus* ไม่เพิ่มจำนวนและตรวจไม่พบเอนเทอโรทอกซิน สอดคล้องกับการรายงานของ Anunciacao et al. (1995) ที่พบว่า เมื่อแช่เย็นครีมขนมเค้กในตู้เย็นจะไม่พบการเจริญของ *S. aureus* จนถึง 10^6 เซลล์ต่อกรัม และตรวจไม่พบ SEA

สำหรับการศึกษาที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^3 และ 10^5 เซลล์ต่อกรัม พบว่า *S. aureus* เริ่มเจริญอย่างรวดเร็วใน 12 ชั่วโมงแรก เนื่องจากเป็นช่วงอุณหภูมิที่ *S. aureus* สามารถเจริญได้ (Bergdoll, 1989) มีรายงานว่าช่วงอุณหภูมิเหมาะสำหรับการเจริญของ *Staphylococcus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินชนิด A คือ 35-37 องศาเซลเซียส และสายพันธุ์ที่ผลิตชนิด B และ C คือ 40-45 องศาเซลเซียส (Pereira, Salzberg, & Bergdoll, 1982) เมื่อตรวจวัดการผลิตเอนเทอโรทอกซินที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบ SEA เริ่มผลิตก่อน SEB คือ ผลิตตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 ของการเก็บรักษา อาจกล่าวได้ว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เหมาะสมต่อการผลิต SEA มากกว่า SEB และ SEB จะเริ่มผลิตเมื่อเข้าสู่ระยะพักตัว (McLean, Lilly, & Alford, 1968) จึงทำให้พบการผลิตช้ากว่า SEA ซึ่งเริ่มผลิตเมื่อเซลล์เข้าสู่ระยะล็อก และการตรวจพบเอนเทอโรทอกซินตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 นั้นเนื่องจากเอนเทอโรทอกซินจะเริ่มผลิตได้เมื่อเซลล์สูงถึง 10^6 เซลล์ต่อกรัม (Ikeda et al., 2005) และเมื่อเก็บรักษานาน 30 ชั่วโมง พบเอนเทอโรทอกซินสูงกว่า 64 นาโนกรัมต่อกรัม ทั้ง SEA และ SEB สำหรับการผลิตเอนเทอโรทอกซินเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่าการผลิต SEB ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 18 ของการเก็บรักษาจนถึงชั่วโมงที่ 30 นั้นสูงกว่าการผลิต SEA และสูงกว่าทุกชั่วโมงของการตรวจวัด (12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง) เมื่อเปรียบเทียบกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เนื่องจากการผลิต SEB จะสูงที่สุดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (Bergdoll, 1989) นอกจากนี้ที่ทั้งสองอุณหภูมิ พบการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ที่มีเชื้อเริ่มต้น 10^5 เซลล์ต่อกรัม ได้เร็วกว่าที่เชื้อเริ่มต้น 10^3 เซลล์ต่อกรัม เนื่องจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นมีผลต่อการผลิตเอนเทอโรทอกซินโดยปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่สูงจะใช้เวลาน้อยในการผลิตเอนเทอโรทอกซิน (Anunciacao et al., 1995) อาจเป็นไปได้ว่า เนื่องจากในการทดลองนี้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นน้อยมีระยะเวลาในการปรับตัวนานมากกว่าเซลล์เริ่มต้นสูง จึงส่งผลให้เซลล์เข้าสู่ระยะที่มีการผลิตเอนเทอโรทอกซิน (ระยะล็อกและระยะพักตัว) ได้ช้ากว่า Martin and Myers (1994) รายงานว่าที่เซลล์เริ่มต้นสูงผลิตเอนเทอโรทอกซินได้สูงกว่าเพราะเซลล์สามารถทนต่อสภาวะเครียดจากสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่า และจากการตรวจวัดเอนเทอโรทอกซินในการศึกษาครั้งนี้พบว่า *S. aureus* ผลิตเอนเทอโรทอกซินในเนื้อปูสุกได้เร็วที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส เมื่อเก็บรักษาเพียง 12 ชั่วโมง เนื่องจากในการศึกษานี้ใช้เนื้อปูสุกที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ทำให้ไม่มีแบคทีเรียคู่แข่ง ประกอบกับ *S. aureus* เจริญได้ดีในอาหารประเภทโปรตีน (Bergdoll, 1989) และเนื้อปู เป็นแหล่งสารอาหารที่สมบูรณ์ ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวนมาก ซึ่งเหมาะกับความต้องการของ *S. aureus* ในการเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซิน (Onoun and Mori, 1997) ตลอดจนมีพีเอชของเนื้อปูอยู่ในช่วง 7-8 และอุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งเหมาะสมกับการเจริญของ *S. aureus* จึงส่งผลให้การศึกษาในครั้งนี้พบการเจริญของ *S. aureus* และการผลิตเอนเทอโรทอกซินได้ อย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามการศึกษาในครั้งนี้ตรวจไม่พบการผลิต SEC แม้ *S. aureus* จะเจริญจนมีปริมาณเซลล์สูงถึง 10^6 เซลล์ต่อกรัม ก็ตาม เนื่องจาก *Staphylococcus* สายพันธุ์ที่ผลิต SEC เป็นสายพันธุ์ที่จำเพาะกับโฮสท์ที่เป็นสัตว์ (Balaban & Rasooly, 2000) และมีรายงานว่าพบได้บ่อยในแกะ (Jame, 2000) ดังนั้นการปนเปื้อนจึงอาจเกิดจากการสัมผัสสัตว์แล้วมาสัมผัสเนื้อปู แต่ไม่สามารถผลิตเอนเทอโรทอกซินในเนื้อปูได้ จึงตรวจวัดการผลิต SEC ได้เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว แต่ไม่พบเมื่อเลี้ยงในตัวอย่างเนื้อปู

มีการรายงานการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ต่อการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ในตัวอย่างอาหาร ดังนี้ Yang et al. (2001) ศึกษาการเจริญของ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์ไข่ พบว่าเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส รองลงมา คือ 22 18 และพบว่าที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เมื่อเก็บนาน 36 ชั่วโมง ไม่พบการเจริญของ *S. aureus* Portocareo et al. (2003) ศึกษาการรอดชีวิตของ *S. aureus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินระหว่างการเก็บของแฮมรมควันที่ถูกผลิตขึ้นภายใต้กระบวนการผลิตที่แตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบการเติมเกลือและการเติมเกลือร่วมกับไนไตรท์ พบว่า *S. aureus* ลดลงอย่างต่อเนื่องในตัวอย่างที่หมักด้วยเกลือทั้งแบบรมควันและไม่รมควัน ส่วนในตัวอย่างที่หมักด้วยเกลือกับไนไตรท์นั้นมีการเปลี่ยนแปลงของ *S. aureus* เพียงเล็กน้อย ดังนั้นในการศึกษาสามารถบอกได้ว่าปริมาณเกลือที่สูงและค่าวอเตอร์แอกทิวิตีที่ต่ำของแฮมรมควัน มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* Sameshima et al. (1998) ศึกษาผลของพีเอชต่อการเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ในตัวอย่างไส้กรอก โดยการเติม *Lactobacillus* sp. ร่วมกับ *S. aureus* ในตัวอย่างไส้กรอก จากนั้นเก็บตัวอย่างในระหว่างการหมัก วัดพีเอชและสังเกตการเปลี่ยนแปลงของ *S. aureus* และการผลิตเอนเทอโรทอกซิน พบพีเอชของตัวอย่างลดลงตลอดการหมัก เนื่องจากมีการเจริญของ *Lactobacillus* sp. ส่งผลให้สามารถยับยั้งการเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนต่อการเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ด้วย โดย Ingham, Searls et al. (2006) ได้ศึกษาการเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ที่บรรจุเนื้อแห้งในถุงบรรจุสุญญากาศ มีค่าวอเตอร์แอกทิวิตีต่ำกว่า 0.88 และจำนวน *S. aureus* เริ่มต้นประมาณ 6 Log เซลล์ต่อกรัม

เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส พบว่า *S. aureus* ลดลง 0.2-1.8 และ 0.6-5.3 Log เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ จากการรายงานจึงกล่าวว่า *S. aureus* ไม่สามารถเจริญและผลิตเอนเทอโรทอกซินได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเมื่อมีค่าวอเตอร์แอกทิวิตี ต่ำกว่า 0.88 Onoue and Mori (1997) ศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบสารอาหารต่อการเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* โดยติดตามกรดอะมิโนที่มีผลต่อ *S. aureus* พบว่า วาลีนจำเป็นสำหรับการเจริญ ขณะที่อาร์จินีนและซีสตีนจำเป็นสำหรับการเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซิน ดังนั้นการขาดกรดอะมิโนแต่ละชนิดจะมีผลต่อการผลิตเอนเทอโรทอกซินที่แตกต่างกัน

การศึกษาครั้งนี้ได้สังเกตลักษณะสัมผัสของเนื้อปูร่วมด้วยเมื่อมีการเก็บรักษาเป็นเวลานาน 30 ชั่วโมง พบว่า ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส ลักษณะของเนื้อปูไม่มีการเปลี่ยนแปลง แม้จะเก็บรักษานาน 48 ชั่วโมง เนื่องจากที่อุณหภูมิต่ำไม่พบการเจริญของ *S. aureus* และอุณหภูมิต่ำเป็นการป้องกันการผลิตเอนเทอโรทอกซินด้วย สำหรับที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส นั้น ลักษณะของเนื้อปูยังคงลักษณะเดิมจนถึงชั่วโมงที่ 12 หลังจากนั้นเมื่อมีจำนวนเซลล์สูงถึง 10^9-10^{10} เซลล์ต่อกรัม จะเริ่มพบการเปลี่ยนแปลงของลักษณะเนื้อปู เริ่มเละ เนื้อยุ่ย ไม่คงรูป มีกลิ่นเหม็นรุนแรง (กลิ่นแอมโมเนีย) ซึ่งไม่เหมาะแก่การนำไปรับประทานอย่างยิ่ง ดังนั้น จากการศึกษาในครั้งนี้กล่าวได้ว่า เพื่อความปลอดภัยในการนำเนื้อปูม้าต้มสุกไปรับประทาน ควรเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 7 องศาเซลเซียส และถ้าจำเป็นต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ก็ไม่ควรวางไว้นานเกิน 6 ชั่วโมง หรือในการประกอบอาหารที่มีอุณหภูมิสูงไม่มากควรรับประทานอาหารในทันที เพราะสภาวะโดยทั่วไป เช่น อุณหภูมิต่ำไม่พอ ผู้ประกอบการสุขอนามัยไม่ดี การประกอบอาหารโดยความร้อนที่ไม่พอ ทิ้งให้อาหารมีอุณหภูมิอุ่นก่อนการรับประทาน จะเป็นการส่งเสริม *S. aureus* ให้เจริญและผลิตเอนเทอโรทอกซิน (Soriano et al., 2002)

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาทั้งหมดสรุปได้ว่า

1. เนื้อปูม้าต้มสุกที่จำหน่ายปลีกในตลาดชลบุรี หนองมน อ่างศิลา และศรีราชา ส่วนใหญ่ (ร้อยละ 82) มีแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง 10^6-10^7 เซลล์ต่อกรัม และตัวอย่างร้อยละ 48 มี *S. aureus* ปนเปื้อน โดยร้อยละ 40 พบ *S. aureus* มากกว่า 10^4 เซลล์ต่อกรัม

2. พบ *S. aureus* สายพันธุ์ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซิน ร้อยละ 33.33 ของตัวอย่างที่ตรวจพบ *S. aureus* โดยผลิต SEA SEB และ SEC ซึ่งพบเป็น SEA สูงที่สุด คือ ร้อยละ 62.5 และพบ SEB และ SEC ร้อยละ 25 และ 12.5 ของตัวอย่างที่ตรวจพบ *S. aureus* ผลิตเอนเทอโรทอกซินทั้งหมดตามลำดับ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3. ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส ไม่พบการเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ส่วนที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส ทั้งที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^3 และ 10^5 เซลล์ต่อกรัม พบว่า *S. aureus* เจริญมากขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 12 ชั่วโมงแรก สำหรับการผลิตเอนเทอโรทอกซิน พบว่า ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีการผลิต SEA ได้ดีกว่า SEB โดย SEA ตรวจพบหลังการเก็บ 12 ชั่วโมง ขณะที่ SEB ตรวจพบได้ในชั่วโมงที่ 18 สำหรับที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบการผลิต SEA ช้าลง แต่พบการผลิต SEB มากขึ้น และพบว่าเมื่อปริมาณเชื้อเริ่มต้นสูงการผลิตเอนเทอโรทอกซินเกิดได้เร็วขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ในตัวอย่างเนื้อปูต้มสุกที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อ

2. ควรมีการศึกษาอิทธิพลของแบคทีเรียคู่แข่งต่อการเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ในอาหารเหลวและตัวอย่างเนื้อปูต้มสุก

3. ควรมีการศึกษาถึงขั้นตอนการผลิตเนื้อปูต้มสุกที่ส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนได้สูงที่สุด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University