การศึกษาเชื้อราปนเปื้อนสายพันธุ์ที่สร้างสารอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งและการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ที่ปนเปื้อนโดยใช้สารกันเสียบางชนิด

Studies on Aflatoxin – producing Mold in Dried Seafood and Growth Inhibition of Contaminated *Aspergillus flavus* by Food Preservatives

อนุเทพ ภาสุระ
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทคัดย่อ

การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อราในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งชนิดต่าง ๆ ที่วางจำหน่ายในตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2541 จำนวน 180 ตัวอย่างพบว่า มีปริมาณเชื้อราปนเปื้อนอยู่ในช่วงระหว่าง 1.5×10^3 - 5.5×10^5 CFU ต่อกรัม สามารถแยกเชื้อราปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์หมึกตากแห้งได้มากที่สุดถึง 206 ไอโซเลต รองลงมาคือ ผลิตภัณฑ์ปลาและผลิตภัณฑ์กุ้งแห้งที่พบ 147 และ 76 ไอโซเลต ตามลำดับ เมื่อนำมาจัดจำแนกพบว่าส่วนใหญ่เป็นเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus* (66.20 เปอร์เซ็นต์) ส่วนเชื้อราที่สามารถสร้างสารอะฟลาทอกซินได้พบมากที่สุดในผลิตภัณฑ์หมึกตากแห้ง การพัฒนากรรมวิธีการผลิตอาหารทะเลตากแห้งให้ปราศจากเชื้อราที่สร้างสารอะฟลาทอกซินโดยการเติมสารกันเสีย พบว่า กรดเบนโซอิกมีประสิทธิภาพดีที่สุดที่ความเข้มข้น 750 ส่วนในล้านส่วน (ppm.) เมื่อใช้แช่กุ้งฝอยและปลาข้างเหลืองก่อนตากแห้ง ส่วนน้ำเกลือ 3% จะเหมาะสมกับกรรมวิธีการผลิตหมึกกล้วยตากแห้งมากที่สุด ผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งที่ได้สามารถเก็บไว้ในถุงพลาสติกที่ปิดมิดชิดได้นานมากกว่า 1 เดือน โดยไม่พบการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารอะฟลาทอกซิน

ABSTRACT

The contamination of fungi in 180 samples of dried seafood products collected from Nongmon Market, Chonburi was studied between January and June 1997. There were contaminated fungi between 1.5×10^3 - 5.5×10^5 CFU/g, which the highest contamination was found in dried squid products as 206 isolates. Dired fishes and dried shrimps were found at 147 and 76 isolates respectively. Most of the fungal contaminants were classified as *Aspergillus* group (66.20 percents). Most of the aflatoxin-producing mold flora were collected from dried squid products.

The effect of some food additives, namely ascorbic acid, benzoic acid, sodium bicarbonate and sorbic acid for growth inhibition of *A. flavus*, an aflatoxin producing strain, was investigated in manufacturing process of dried seafood products. It was found that benzoic acid at 750 ppm. was the most effective food additive in dried shrimp and dried fish. Brine, 3% NaCl, was mostly suitable for soaking dried squid. The dried seafood products in these modified processes can be stored more than a month in closed plastic bag with free from contaminated aflatoxin-producing fungi

บทนำ

อะฟลาทอกซิน (aflatoxin) เป็นสารพิษชนิดหนึ่งที่ผลิตขึ้นโดยเชื้อรา *Aspergillus flavus, A. parasiticus* และ *Penicillium puberulum* เชื้อราเหล่านี้มักจะพบกับอาหารแห้งหรือเมล็ดธัญพืชที่เก็บไว้ในสภาพไม่เหมาะสม (Gourama and Bullerman, 1995) สารพิษชนิดนี้สามารถแบ่งออกได้หลายชนิด คือ B_1, B_2, G_1 และ G_2 โดยสารอะฟลาทอกซิน ชนิด B_1 จะเป็นอันตรายมากที่สุด สารพิษชนิดนี้สามารถทนความร้อนได้ถึง 260 องศาเซลเซียส การใช้ความร้อนตามวิธีธรรมดาในการประกอบอาหารจึงไม่สามารถทำลายสารพิษนี้ได้ และเมื่อเกิดการสะสมของสารพิษนี้ในร่างกายมากขึ้น จะทำให้เกิดโรคมะเร็งตับ และตับอักเสบ (Larone, 1993) ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้ง เช่น ปลาตากแห้ง กุ้งแห้ง หมึกแห้ง เป็นที่นิยมของผู้บริโภคเป็นอย่างมากและมีวางจำหน่ายทั่วไปตามท้องตลาด ผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งเหล่านี้ อาจมีสารอะฟลาทอกซินปนเปื้อนจากการปนเปื้อนของเชื้อราที่ล่องลอยอยู่ในอากาศในระหว่างกระบวนการผลิต หรืออาจเกิดการปนเปื้อนระหว่างการขนส่ง หรือระหว่างการเก็บรอการจำหน่าย ดังนั้น ในการเก็บรักษาอาหารจึงอาจมีความจำเป็นต้องใช้สารกันเสีย (Food Preservatives) เติมในอาหารเพื่อช่วยในการถนอมอาหารหรือยืดอายุการเก็บของอาหารแต่จะต้องมีความปลอดภัยต่อสุขภาพผู้บริโภค โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์ที่ต้องการเก็บรักษาไว้ระยะเวลานาน ๆ เช่น อาหารตากแห้ง เป็นต้น

งานวิจัยนี้จึงมีจุดหมายที่จะตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อราชนิดต่าง ๆ และการสร้างสารอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งรวมทั้งการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ที่สร้างสารอะฟลาทอกซินในอาหารทะเลตากแห้งด้วยสารกันเสีย เพื่อเป็นแนวทางในการลดอันตรายที่จะเกิดจากการปนเปื้อนของเชื้อราและสารอะฟลาทอกซิน หรือสารตกค้างในน้ำทะเล และเป็นการยกระดับมาตรฐานการผลิตอาหารทะเลตากแห้งอันเป็นอุตสาหกรรมหลักในครัวเรือนของเกษตรกรชาวประมงของภาคตะวันออกอีกทางหนึ่งด้วย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่าง

สำรวจและเก็บตัวอย่างอาหารทะเลตากแห้งที่ผลิตด้วยกรรมวิธีชาวบ้าน ได้แก่ กุ้งแห้ง หมึกแห้ง และปลาทะเลตากแห้ง ชนิดละ 60 ตัวอย่าง ๆ ละประมาณ 200 กรัม จำนวนตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ที่วางจำหน่ายในตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี (โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจากบริเวณส่วนบน ตอนกลาง และส่วนล่างสุดของถุงภาชนะบรรจุ) ระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2541 บันทึกลักษณะของตัวอย่าง เช่น รูปร่าง สี ขนาด และหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นของผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง

2. การตรวจนับปริมาณเชื้อราที่ปนเปื้อนในตัวอย่างอาหารทะเลตากแห้ง

คลุกเคล้าตัวอย่างอาหารทะเลตากแห้งแต่ละตัวอย่างให้เข้ากัน สุ่มชั่งตัวอย่าง 1 กรัม และเติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 9 มิลลิลิตร ในถุงพลาสติกฆ่าเชื้อ บดให้ละเอียดเจือจางให้มีความเข้มข้นเป็น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4} ตามลำดับ จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารละลายแต่ละความเข้มข้นมา 0.1 มิลลิลิตร ลงบน Peptone dextrose rose bengal agar เกลี่ยสารละลายให้ทั่วบนผิวหน้าของอาหาร นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2-3 วัน ตรวจนับจำนวนโคโลนีและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่เจริญ บันทึกผล

3. ทำการแยกเชื้อราจากอาหารทะเลตากแห้ง

โดยตัดชิ้นอาหารทะเลตากแห้งประมาณ 1 ตารางเซนติเมตร ล้างในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง จากนั้นนำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เติม Chloramphenicol เข้มข้น 250 mg/l แยกโคโลนีเชื้อราที่เจริญขึ้นมาให้บริสุทธิ์ เก็บเชื้อราที่ได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA slant เก็บรักษาแบบชั่วคราวในตู้เย็นอุณหภูมิ 4-6 องศาเซลเซียส

4. การจำแนกชนิดเชื้อราปนเปื้อนและเชื้อราสายพันธุ์ที่สร้างสารอะฟลาทอกซิน

นำเชื้อราบริสุทธิ์ที่เก็บได้ทั้งหมดทำสไลด์ ตั้งถาวรส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พร้อมกับเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างเชื้อราต่าง ๆ ตามวิธีการจัดจำแนกของ Alexopoulos *et al*, 1996 ; Larone , 1993 และ Raper and Fennell, 1979 บันทึกผล

5. การตรวจสอบการสร้างสารอะฟลาทอกซินจากเชื้อราที่แยกได้

นำเชื้อราที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้ง มาตรวจสอบหาการสร้างสารอะฟลาทอกซินบนอาหารเลี้ยงเชื้อ APA (Bothast and Fennell, 1974) บ่มที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นนำมาตรวจสอบการเรืองแสงภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร บันทึกผลการเรืองแสงรอบ ๆ โคโลนี ถ้าพบแสดงว่ามีการสร้างสารอะฟลาทอกซิน

6. การศึกษาประสิทธิภาพของสารกันเสียต่อเชื้อรา *A. flavus*

นำสารกันเสียได้แก่กรดเบนโซอิก,กรดแอสคอร์บิก, โซเดียมไบคาร์บอเนต และกรดซอร์บิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มี Chloramphenicol ความเข้มข้น 250 mg/l จากนั้นนำสารละลายสปอร์ของ *A. flavus* เข้มข้น 10^2 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เตรียมไว้ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง บันทึกจำนวนโคโลนี เชื้อราที่เจริญ เลือกสารกันเสียและความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus*

7. การศึกษาพัฒนากรรมวิธีการตากแห้งผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งโดยการเติมสารกันเสีย

ทดสอบประสิทธิภาพของสารกันเสียในการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้ง โดยนำตัวอย่างอาหารทะเลสด ตัวอย่างละประมาณ 1 กิโลกรัม แช่ในสารละลายต่าง ๆ คือ น้ำกลั่น, น้ำทะเล, น้ำเกลือ นาน 30 นาที หรือสารละลายสปอร์เชื้อรา *A. flavus* ในน้ำเกลือ, น้ำทะเล หรือ สารละลายสปอร์ที่ใช้กรดเบนโซอิกเป็นสารอันเสียที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน จากนั้นนำตัวอย่างอาหารทะเลไปตากแห้ง ทำการตรวจนับจำนวนเชื้อราและตรวจสอบการสร้างสารอะฟลาทอกซิน

ของเชื้อดังกล่าวทันที และภายหลังการเก็บในถุงพลาสติกที่ปิดมิดชิดนาน 1 เดือน

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

1. การศึกษาการปนเปื้อนและการจำแนกชนิดเชื้อราในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้ง

จากการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อราในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้ง คือ หมึก ปลา และกุ้ง อย่างละ 60 ตัวอย่าง ที่วางจำหน่ายทั่วไปในตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี ช่วงระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2541 พบว่า ปริมาณเชื้อราปนเปื้อนจะพบมากที่สุดในผลิตภัณฑ์กุ้งตากแห้ง คือ พบในช่วงระหว่าง 3×10^4 - 5.5×10^5 CFU ต่อกรัมในกุ้งนา ปริมาณต่ำสุดในปลาลิ้นหมา คือ 1.5×10^3 - 3.5×10^3 CFUต่อกรัม และปริมาณเชื้อราปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ จะอยู่ในช่วงระหว่าง 3.0×10^4 - 9.5×10^4 CFU ต่อกรัม ในหมึกตากแห้ง, 1.5×10^3 - 7.0×10^3 CFU ต่อกรัมในปลาตากแห้ง ส่วนผลิตภัณฑ์กุ้งตากแห้ง พบเชื้อราระหว่าง 2.5×10^3 - 5.5×10^5 CFUต่อกรัม และพบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อราในทุกตัวอย่างที่วางจำหน่าย เชื้อราดังกล่าวนี้อาจจะปนเปื้อนมาในระหว่างการผลิต การขนส่ง หรือระหว่างรอการจำหน่าย และจากการทดลองนี้พบว่าความชื้นในผลิตภัณฑ์จะไม่มีความสัมพันธ์กับขนาดของผลิตภัณฑ์ แต่จะเกี่ยวข้องกับความหนาบางของชิ้นผลิตภัณฑ์ที่นำมาทำแห้ง และพบว่าความชื้นของผลิตภัณฑ์อยู่ระหว่าง 3.99 - 31.40 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ในกุ้งแห้งมีความชื้นเฉลี่ยสูงสุด และยังพบว่าความชื้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณเชื้อราปนเปื้อน โดยผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งที่มีความชื้นมาก จะพบการปนเปื้อนของเชื้อรามากตามไปด้วย และลักษณะรูปทรงของผลิตภัณฑ์มีความเกี่ยวข้องกับปริมาณเชื้อราปนเปื้อนและความชื้นด้วย โดยจะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์ที่มีขนาดเล็กและแผ่เป็นชิ้นบาง ๆ จะพบปริมาณเชื้อราปนเปื้อนน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ที่มีขนาดชิ้นใหญ่หรืออัดตัวแน่น ซึ่งเชื้อราและความชื้นอาจจะสะสมอยู่ตามส่วนซอกที่โค้งงอตามรูปทรงของผลิตภัณฑ์ดังกล่าว

ในการจำแนกชนิดเชื้อราปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งแต่ละชนิดนั้น พบว่า ผลิตภัณฑ์หมึกแห้งมีการปนเปื้อนของเชื้อรามากที่สุดถึง 206 ไอโซเลต ส่วนผลิตภัณฑ์ตากแห้งปลาและผลิตภัณฑ์กุ้งตากแห้ง มีการปนเปื้อนของเชื้อรา 147 และ 76 ไอโซเลต ตามลำดับ (ตารางที่ 1) โดยที่เชื้อราปนเปื้อนส่วนใหญ่จัดอยู่ใน *Aspergillus* group พบมากถึง 66.20 เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มเชื้อราปนเปื้อนที่พบทั้งหมด ส่วนเชื้อราชนิดอื่น ๆ พบมากน้อยแตกต่างกันไป โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์กุ้งตากแห้ง พบว่ามีการปนเปื้อนเชื้อราน้อยที่สุด แต่เชื้อราปนเปื้อนที่พบนั้นส่วนใหญ่เป็นเชื้อรากลุ่มที่มีการสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศเป็นปริมาณมาก และมีบางชนิดที่สามารถเจริญได้ในบริเวณที่มีความชื้นต่ำมาก เช่น *A. flavus* การปนเปื้อนเชื้อราในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งเหล่านี้จึงสามารถแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว หากว่ามีแหล่งสะสมเชื้ออยู่ในบริเวณใกล้เคียง หรือภายในภาชนะเก็บรักษานั้นจึงนับได้ว่าการแพร่กระจายของเชื้อราปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งอาจเกิดจากการสะสมของเชื้อราภายในร้านค้าหรือแหล่งผลิตซึ่งหากระบบการสุขาภิบาลในการผลิตและจัดจำหน่ายไม่ดีพอ จะทำให้ผู้บริโภคเกิดความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารตากแห้งที่มีการปนเปื้อนของเชื้อราต่าง ๆ มากขึ้นด้วย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 1 ระดับการปนเปื้อนของเชื้อราที่สำคัญในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งชนิดต่าง ๆ ที่วางจำหน่ายในตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2541

ชนิดเชื้อรา	เปอร์เซ็นต์สายพันธุ์เชื้อราที่พบการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารทะเล					
	หมึก		ปลา		กุ้ง	
	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%
Alternaria sp.	6	2.91	2	1.36	-	-
Aspergillus flavus	21	10.19	22	14.97	29	38.16
A. fumigatus	3	1.46	9	6.12	6	7.89
A.niger	60	29.13	52	35.37	10	13.16
A.ochraceous	19	9.22	2	1.36	-	-
Aspergillus spp.	5	2.43	15	10.20	3	3.95
Curvularia spp.	11	5.34	11	7.48	-	-
Drechslera spp.	1	0.49	4	2.72	-	-
Mucor spp.	6	2.91	3	2.04	8	10.53
Penicillium spp.	22	10.68	17	11.56	13	17.11
Rhizopus spp.	10	4.85	3	2.06	1	1.32
เชื้อราอื่น ๆ (เช่น *Syncephalastrum, Paecilomyces* เป็นต้น	42	20.39	7	4.76	7	9.21
รวม	206	100	147	100	76	100

2. การสร้างสารอะฟลาทอกซินของเชื้อราปนเปื้อนที่แยกได้จากตัวอย่างอาหารทะเลตากแห้ง

จากการนำเชื้อราที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งที่เคยมีรายงานและคาดว่าจะมีการสร้างสารอะฟลาทอกซินคือ *A. flavus* และ *Penicillium* spp. พบว่าอาหารทะเลตากแห้งแทบทุกชนิดมีการปนเปื้อนของเชื้อราดังกล่าวโดยเฉพาะในหมึกบดชนิดหวาน, หมึกหยอง, หมึกแกะดาแกะไส้, ปลาวงและกุ้งเหลือง พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อราทั้งสองชนิดนี้และเป็นสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสารอะฟลาทอกซินได้ (ตารางที่ 2) และในกลุ่มผลิตภัณฑ์หมึกตากแห้งจะมีเชื้อราสายพันธุ์ที่สร้างสารอะฟลาทอกซินมากที่สุด ด้วยแต่มีผลิตภัณฑ์บางชนิดที่ไม่พบเชื้อราทั้ง 2 ชนิดเลย ได้แก่ หมึกกรอบ หมึกทาโร่ ปลาแก้ว กุ้งแก้ว กุ้งแช่บ๊วย กุ้งตะกาด และกุ้งนา จะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์เหล่านี้บางชนิดผ่านกระบวนการผลิตที่ทำให้สุกด้วยความร้อนก่อนนำไปตากให้แห้งหรืออบให้แห้งและบางชนิดมีการปรุงรสด้วยเครื่องเทศจึงทำให้เชื้อราที่ปนเปื้อนไม่สามารถเจริญอยู่ได้ และอาจเกี่ยวข้องกับการสุขาภิบาลของแต่ละแหล่งผลิตที่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นการปรุงอาหารทะเลตากแห้งให้สุกโดยใช้ความร้อนก่อนการบริโภค จะเป็นวิธีการหนึ่งที่จะลดปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อน อันจะเป็นการเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภค และการเลือกบริโภคชนิดของผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งที่เหมาะสมจะมีส่วนช่วยลดความเสี่ยงการได้รับสารอะฟลาทอกซินอีกทางหนึ่งด้วย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์สายพันธุ์เชื้อราที่สร้างสารอะฟลาทอกซินที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งชนิดต่าง ๆ

ผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้ง	เปอร์เซ็นต์สายพันธุ์เชื้อราที่สร้างสารอะฟลาทอกซินบนอาหาร APA (%)	
	Aspergillus flavus	*Penicillium* spp.
หมึกบดชนิดหวาน	100.00	50.00
หมึกบดชนิดไม่หวาน	-	33.33
หมึกหยอง	33.33	33.33
หมึกแกะตาแกะไส้	66..67	40.00
หมึกวง	-	50.00
หมึกทอดชนิดหวาน	50.00	-
ปลาลิ้นหมา		100.00
ปลาข้าวสาร	50.00	-
ปลาวง	55.55	57.14
ปลาไส้ตันขาว	-	20.00
ปลาไส้ตันดำ	16.67	-
กุ้งเนื้อ	33.33	-
กุ้งเหลือง	20.00	16.67
กุ้งกุลาดำ	16.67	-

3. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารกันเสียในการยับยั้งเชื้อรา *A. flavus* ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้ง

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารกันเสีย 4 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิก, กรดเบนโซอิก, โซเดียมไบคาร์บอเนต และ กรดซอร์บิก ในระดับที่ยอมรับให้ใช้เติมในอาหารได้ พบว่า กรดเบนโซอิกสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *A. flavus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 750 ppm. ขึ้นไป สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ทั้งหมด ส่วนสารกันเสียชนิดอื่น ๆ จะต้องใช้ในระดับความเข้มข้นเกินค่ามาตรฐานที่ยอมรับได้จึงจะให้ผลในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราทั้งหมด และกรดเบนโซอิกเป็นสารกันเสียที่ไม่ทำให้เกิดการสะสมในร่างกาย เนื่องจากสามารถถูกขับถ่ายออกจากร่างกายในรูปของกรดฮิพพูริก (hippuric acid) ทางปัสสาวะได้จึงมีความปลอดภัยแก่ผู้บริโภค เมื่อนำตัวอย่างอาหารทะเลสดมาทำการแปรรูป โดยใช้วิธีการผลิตตามแบบชาวบ้านแถบจังหวัดชลบุรี และมีการเติมกรดเบนโซอิกความเข้มข้น 750 ppm. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ภายหลังการตากแห้ง (ตารางที่ 3) พบว่า กรรมวิธีของชาวบ้านที่ใช้น้ำทะเลแช่ก่อนนำไปใช้ได้ผลดี สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารอะฟลาทอกซินได้ทั้งหมด เช่นเดียวกับการใช้น้ำเกลือ 3 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เกิดเนื่องจากผลของเกลือที่ติดอยู่บนตัวอย่างทำให้เกิดการสูญเสียน้ำ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

(dehydrate) ออกจากเซลล์เชื้อรา จึงสามารถลดจำนวนการปนเปื้อนของเชื้อราได้ แม้ว่ากรรมวิธีการผลิตแบบภูมิปัญญาชาวบ้านจะได้รับการถ่ายทอดและปฏิบัติตามกันมายาวนาน แต่ในภาวะปัจจุบันน้ำทะเลมีการเจือปนด้วยจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่อาจเป็นโทษต่อร่างกาย และยังมีสารพิษต่าง ๆ ตกค้างอยู่ เช่น ยาปราบศัตรูพืช โลหะหนัก เป็นต้น จึงอาจจะทำให้เกิดความเสี่ยงต่อผู้บริโภคได้ แต่กระบวนการผลิตวิธีการเดิมตามภูมิปัญญาชาวบ้านนี้จะปลอดภัยหากว่ามีการใช้น้ำทะเลที่แน่ใจและพิสูจน์ได้ว่าปราศจากสิ่งเจือปนที่จะเป็นพิษต่อร่างกาย ส่วนการแช่ในกรดเบนโซอิกนั้นพบว่า การแช่ปลาข้างเหลืองและกุ้งฝอยในสารละลายสปอร์ที่มีกรดเบนโซอิก 750 ppm. มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารอะฟลาทอกซินได้ทุกระยะเวลาในการแช่ ส่วนในหมึกกล้วยที่นำมาผ่านกระบวนการเดียวกัน พบว่า การแช่ที่เวลาน้อย ๆ จะได้ผลดีกว่าเมื่อต้องแช่ในระยะเวลานาน ทั้งนี้อาจจะเกี่ยวข้องกับลักษณะผิวหน้าของอาหารทะเลแต่ละชนิดที่มีความสามารถในการดูดซับสารกันเสียแตกต่างกัน เนื่องจากหมึกกล้วยมีผิวที่ลื่นเป็นเมือกและเรียบ จึงทำให้การเกาะติดของสารกันเสียที่ผิวน้อยกว่าในปลาข้างเหลืองและกุ้งฝอย เมื่อแช่ในสารกันเสียนานมากขึ้นจึงทำให้การซึมซับของสารกันเสียเข้าสู่วัตถุดิบน้อยลง เนื่องจากการตกตะกอนของสารกันเสียจึงไม่สามารถแทรกซึมเข้าไปทั่วชิ้นผลิตภัณฑ์นั้น ดังนั้นการพิจารณาการใช้สารกันเสียหรือวัตถุเจือปนอาหารอื่น ๆ จึงควรจะคำนึงถึงปัจจัยด้านพื้นผิวหน้าและลักษณะรูปทรงของผลิตภัณฑ์อาหารด้วย หรืออาจจะมีการเติมสารที่มีคุณสมบัติช่วยการเกาะติดเพื่อให้ประสิทธิภาพของวัตถุเจือปนอาหารสามารถคงอยู่ที่ผลิตภัณฑ์ได้นาน

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อราในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้ง คือ หมึก ปลา และกุ้ง อย่างละ 60 ตัวอย่างที่วางจำหน่ายทั่วไปในตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี ช่วงระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2541 พบว่า มีปริมาณเชื้อราปนเปื้อนสูงสุดในกุ้งนาตากแห้งพบอยู่ในช่วงระหว่าง 3.0×10^4 - 5.5×10^5 CFUต่อกรัม และพบปริมาณเชื้อราปนเปื้อนต่ำสุดในปลาลิ้นหมาอยู่ในช่วงระหว่าง 1.5×10^3 - 3.5×10^3 CFUต่อกรัม เมื่อนำมาจำแนกชนิดเชื้อราปนเปื้อนพบว่าหมึกแห้งมีการปนเปื้อนของเชื้อรามากที่สุดถึง 206 สายพันธุ์ ส่วนปลาและกุ้งมี 147 และ 76 สายพันธุ์ ตามลำดับ โดยที่เชื้อราปนเปื้อนส่วนใหญ่จัดอยู่ใน *Aspergillus* group. พบมากถึง 66.20 เปอร์เซ็นต์

จากการนำเชื้อราที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้ง คือ *A. flavus* และ *Penicillium* spp. ซึ่งมีรายงานว่าสร้างสารอะฟลาทอกซินได้มาทดสอบ การสร้างอะฟลาทอกซินบนอาหาร APA พบว่า หมึกบดชนิดหวาน, หมึกหยอง, หมึกแกะตาแกะไส้, ปลาวง และกุ้งเหลือง มีการปนเปื้อนของเชื้อราทั้งสองชนิดนี้ แต่มีผลิตภัณฑ์บางชนิดที่ตรวจไม่พบเชื้อราทั้งสองชนิดเลย ได้แก่ หมึกกรอบ, หมึกทาโร่, ปลาแก้ว, กุ้งแก้ว, กุ้งแช่บ๊วย, กุ้งตะกาด และกุ้งนา

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์สายพันธุ์เชื้อราที่สร้างสารอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งที่ใช้กรดเบนโซอิกเป็นสารกันเสียภายหลังการตากแห้งตามกรรมวิธีภูมิปัญญาชาวบ้านภาคตะวันออกของประเทศไทย

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์สายพันธุ์เชื้อราที่สร้างสารอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งผ่านกระบวนการ (%)					
	หมึกกล้วย		ปลาข้างเหลือง		กุ้งฝอย	
	หลังการตากแห้ง	เก็บไว้นาน 1 เดือน	หลังการตากแห้ง	เก็บไว้นาน 1 เดือน	หลังการตากแห้ง	เก็บไว้นาน 1 เดือน
1. น้ำทะลแช่ 30 นาที (กรรมวิธีควบคุมตามวิธีภูมิปัญญาชาวบ้าน)	-	-	-	-	-	-
2. น้ำกลั่น แช่ 30 นาที	-	-	14.29	-	-	-
3. น้ำกลั่น + เกลือ 3% แช่ 30 นาที	58.82	-	-	-	36.00	-
4. น้ำทะเล + สปอร์ + BA แช่ 30 นาที	-	-	-	-	-	-
5. น้ำ + สปอร์ แช่ 30 นาที	-	-	1.67	16.67	12.50	22.22
6. น้ำ + สปอร์ + BA แช่ 0 นาที	-	-	-	-	-	-
7. น้ำ + สปอร์ + BA แช่ 10 นาที	-	50.00	3.33	-	-	-
8. น้ำ + สปอร์ + BA แช่ 20 นาที	-	-	-	-	33.33	-
9. น้ำ + สปอร์ + BA แช่ 30 นาที	21.28	76.92	-	-	-	-
10. น้ำ + สปอร์ + BA แช่ 60 นาที	30.30	30.30	-	-	-	-

หมายเหตุ : BA = benzoic acid

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารกันเสีย 4 ชนิด คือ กรดแอสคอร์บิก, กรดเบนโซอิก, โซเดียมไบคาร์บอเนตและกรดซอร์บิก ในระดับที่ยอมรับให้ใช้เติมในอาหารได้ พบว่า กรดเบนโซอิกสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *A. flavus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 750 ppm. ซึ่งสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ทั้งหมด เมื่อนำตัวอย่างอาหารทะเลสดมาทำการแปรรูปโดยใช้วิธีการผลิตตามแบบชาวบ้าน และมีการเติมกรดเบนโซอิกความเข้มข้น 750 ppm. ที่ระยะเวลาในการแช่ต่าง ๆ เทียบกับกรรมวิธีควบคุมเพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ภายหลังการตากแห้ง พบว่ากรรมวิธีภูมิปัญญาชาวบ้านที่ใช้น้ำทะลแช่ก่อนนำไปตากแห้งนั้นได้ผลดี สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารอะฟลาทอกซินได้ทั้งหมด เช่นเดียวกับการแช่ในน้ำเกลือ 3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการแช่ในกรดเบนโซอิกพบว่า การแช่ปลาข้างเหลืองและกุ้งฝอยในสารละลายสปอร์ที่มีกรดเบนโซอิกนั้นมีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารอะฟลาทอกซินได้ในทุกเวลาการแช่ ส่วนในหมึกกล้วยที่ผ่านกระบวนการเดียวกัน พบว่า การแช่ที่เวลาน้อยจะได้ผลดีกว่าเมื่อแช่ในระยะเวลานาน

ดังนั้น แนวทางหนึ่งในการพัฒนาอุตสาหกรรมอาหารทะเลตากแห้งให้เป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานและ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ปลอดภัยต่อผู้บริโภค นอกจากจะเอื้อประโยชน์ในด้านการเก็บถนอมรักษาอาหารทะเลไว้ได้นานแล้วการควบคุมคุณภาพด้านจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์จัดว่ามีความสำคัญมากเช่นกัน จึงจำเป็นที่จะต้องควบคุมคุณภาพวัตถุดิบและกระบวนการผลิตแต่ละขั้นตอนรวมทั้งการเก็บรักษารอการจำหน่ายเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพและปลอดภัยต่อผู้บริโภค อันจะเป็นการส่งเสริมอุตสาหกรรมการผลิตอาหารทะเลตากแห้งอีกทางหนึ่ง

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

บรรณานุกรม

Alexopoulos, C.J., C.W. Mims and M. Blackwell. **Introductory Mycology**. 4th ed. John Wiley and Sons, New York, 1996.

Bothast, R.J. and D.I. Fennell. A medium for rapid identification and enumeration of *Aspergillus flavus* and related oraganisms. **Mycologia**. 66(1) : 365 - 369 ; 1974.

Chipley, J.R. and U, Nduka. Inhibition of *Aspergillus* growth and aflatoxin release by derivativas of benzoic acid. **Applied and Environmental Microbiology**. 40(2) : 352-357;1980

Draughon, F.A. and J,C. Ayres. Inhibition of aflatoxin production by selected insecticides. **Applied and Environmental Microbiology**. 41(4) : 972 - 976; 1981.

Gourama, H. and L.B. Bullerman. *Aspergillus flavus* and *A. Parasiticus* : aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds : A Rewiew. **J. of Food Protection.** 58(12) : 1395 - 1404 ; 1995.

Larone, D.H. **Medically Important Fungi : A Guide to Identification**. American Society of Micobiology, Washington D.C., 1993.

Raper, B.K. and D.I. Fennell. **The Genus *Aspergillus***. The Williams & Wilkins Company, New York, 1979,

Tabata, S. and others. Degradation of aflatoxins by food additives. **J. of Food Protection**. 57(1) : 2 - 47 ; 1994

Yousef A.E. and E.H. Marth. Growth and synthesis of aflatoxin by *Aspergillus parasiticus* in the presence of sorbic acid. **J. of Food Protection**. 44(10) : 736 - 741 ; 1981.

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University