

การทำลายเชื้อซาลโมเนลลาในปลาตากแช่แข็งด้วยรังสีแกมมา Inactivation of Salmonellae in Frozen Catfish by Gamma Irradiation

โกวิทช์ นุชประมุข* และจารุรัตน์ เอี่ยมศิริ

กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ สำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ 16 ถนนวิภาวดีรังสิต เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อเชื้อซาลโมเนลลาในปลาตากแช่แข็ง โดยใช้ปลาตากที่ตัดเป็นท่อนจุ่มลงในสารละลายที่มีเชื้อซาลโมเนลลา นำไปแช่แข็งที่ -18°C และฉายรังสีด้วยปริมาณรังสีระหว่าง 0.0 ถึง 2.4 กิโลเกรย์ ความต้านทานรังสีของเชื้อซาลโมเนลลา 10 ชนิด ในปลาตากแช่แข็งมีค่าระหว่าง 0.47 ถึง 0.77 กิโลเกรย์ *Salmonella* Enteritidis มีความต้านทานรังสีสูงสุดในบรรดาเชื้อซาลโมเนลลาที่พบในปลาตาก รังสีปริมาณ 2.5 กิโลเกรย์น่าจะพอเพียงสำหรับใช้ทำลายเชื้อซาลโมเนลลาที่อาจปนเปื้อนในปลาตากโดยสามารถลดจำนวนเชื้อได้ไม่น้อยกว่า $10^{3.2}$

Abstract

The effect of gamma irradiation on salmonellae viability in frozen catfish was investigated using fresh cut of catfish artificially contaminated with stationary phase cells of salmonellae, frozen at -18°C and irradiated with doses ranging from 0.0 to 2.4 kGy . The D_{10} values for ten serovars of salmonellae ranged from 0.47 to 0.77 kGy. *Salmonella* Enteritidis was the most resistant serovars found in frozen catfish. Dosage at 2.5 kGy would be sufficient to kill $10^{3.2}$ *Salmonella* Enteritidis that may occasionally present in frozen catfish.

Keywords : Salmonellae, Frozen Catfish, Gamma Irradiation, D_{10} value.

บทนำ

ประเทศไทยส่งออกปลาดุกแช่แข็งปีละประมาณ 3 แสนตัน จากสถิติการส่งไปจำหน่ายที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ในปี พ.ศ.2541 พบว่าปลาดุกแช่แข็งถูกกักกันจำนวน 63 รายการ เนื่องจากตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลา⁽¹⁾ ผลการตรวจปลาดุกแช่แข็งสำหรับการส่งออกโดยกรมประมงตั้งแต่ปี พ.ศ.2539-2541พบว่า มีเชื้อซาลโมเนลลาทั้งหมด 27 สายพันธุ์ และพบ *Salmonella Enteritidis* มากที่สุด⁽²⁾ มาตรฐานอาหารของประเทศต่างๆรวมทั้งประเทศไทยกำหนดว่า ต้องไม่พบเชื้อซาลโมเนลลา การมีเชื้อซาลโมเนลลาในอาหารนอกจากจะเป็นปัญหาทางการค้าระหว่างประเทศแล้วยังเป็นปัญหาที่สำคัญทางสาธารณสุขและเป็นสาเหตุหลักของโรคติดเชื้อจากอาหารของมนุษย์ทั่วโลกซึ่งส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจและสังคม ในช่วง 30 ปีที่ผ่านมาอุบัติการณ์ของโรคอุจจาระร่วงเนื่องมาจากการติดเชื้อซาลโมเนลลาในมนุษย์ของประเทศต่างๆสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ⁽³⁾ การฉายรังสีปลาดุกแช่แข็งด้วยปริมาณรังสีที่เหมาะสมจะทำให้ผลิตภัณฑ์ปลอดจากเชื้อซาลโมเนลลา และเป็นไปตามมาตรฐานของประเทศผู้นำเข้าซึ่งจะส่งผลดีต่อเศรษฐกิจของประเทศด้านการส่งออก และอาจช่วยลดอุบัติการณ์ของโรคอุจจาระร่วงได้ จึงเริ่มงานวิจัยนี้ขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความต้านทานต่อรังสีของเชื้อซาลโมเนลลาในปลาดุกแช่แข็งและกำหนดปริมาณรังสีสำหรับใช้ทำลายเชื้อดังกล่าวในปลาดุกแช่แข็ง

วิธีการ

1. ชนิดของเชื้อซาลโมเนลลา

เชื้อซาลโมเนลลาที่ใช้ในการทดลองเป็นชนิดที่ตรวจพบในปลาดุกแช่แข็ง⁽²⁾ และได้รับมาจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จำนวน 10 ชนิด ได้ทำการศึกษาค้นคว้าความต้านทานรังสีของเชื้อซาลโมเนลลาแต่ละชนิดในปลาดุกแช่แข็งที่ผ่านการปนเปื้อนด้วยเชื้อในระยะ stationary phase

2. การเตรียมเชื้อซาลโมเนลลา

เพาะเลี้ยงเชื้อซาลโมเนลลาแต่ละชนิดในหลอดทดลองที่มีอาหาร nutrient agar ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วถ่ายเชื้อ 1 loop ลงในหลอดทดลองที่มีอาหาร tryptic soy broth 10 มิลลิลิตร บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงถ่ายเชื้อ 1 loop ลงใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตรที่มีอาหาร tryptic soy broth 50 มิลลิลิตร จำนวน 12 ใบ บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส โดยเขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการเจือจางโดยเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ให้มีปริมาตรรวมเป็น 3 ลิตร คนให้เข้ากัน จะได้สารละลายที่มีเชื้อประมาณ 10^8 เซลล์/มิลลิลิตร

3. การเตรียมปลาดุก

นำปลาดุกสดขนาดตัวละประมาณ 330 กรัม ตัดเอาเฉพาะท่อนเนื้อที่ถัดจากช่องท้อง ท่อนละประมาณ 55 กรัม ล้างทำความสะอาด บรรจุถุงพลาสติก ปิดปากถุงแล้วนำไปฉายรังสีแกมมาที่ 10 กิโลเกรย์เพื่อฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

4. การปนเปื้อนปลาดุกด้วยเชื้อซาลโมเนลลา

นำปลาดุกที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาจุ่มในสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ 2 คนให้ทั่วขณะจุ่มเป็นเวลา 10 นาที นำมาผึ่งบนตะแกรงที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเพื่อให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 2 นาที บรรจุปลาดุกแต่ละท่อนในถุงพลาสติก แล้วปิดผนึกปากถุง นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

5. การฉายรังสีปลาดุกแช่แข็ง

ทำการฉายรังสีปลาดุกแช่แข็งปริมาณรังสีละ 3 ตัวอย่างโดยใช้เครื่องฉายรังสี Gamma cell 220 ปริมาณรังสีที่ใช้คือ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 กิโลเกรย์ หรือ 0.6, 1.2, 1.8 และ 2.4 กิโลเกรย์ขึ้นกับความต้านทานรังสีของเชื้อแต่ละชนิด และใช้ Gammachrome YR (Harwell Laboratory, Atomic Energy Authority, United Kingdom) สำหรับวัดปริมาณรังสีที่ได้รับ

6. การตรวจหาจำนวนเชื้อซาลโมเนลลา

ทำการตรวจหาจำนวนเชื้อซาลโมเนลลาในสารละลายสำหรับจุ่ม ในปลาดุกหลังจุ่ม และในปลาดุกที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับต่างๆ โดยนำแต่ละตัวอย่างมาทำให้เจือจางด้วย Butterfield's buffered phosphate diluent

แล้วทำ spread plate บนอาหาร plate count agar นับจำนวนโคโลนีหลังจากบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ผลการทดลอง และวิจารณ์

1. การปนเปื้อนปลาตุกด้วยเชื้อซาลโมเนลลา

จำนวนเชื้อซาลโมเนลลาในสารละลายที่ใช้จุ่มปลาตุกมีมากกว่า 10^8 CFU/ml (Colony Forming Unit/ml) หลังจากจุ่มปลาตุกในสารละลายเป็นเวลา 10 นาที แล้วสะเด็ดน้ำเป็นเวลา 2 นาที แล้วแช่แข็งพบว่าปริมาณเชื้อซาลโมเนลลาในปลาตุกแช่แข็งอยู่ระหว่าง 3×10^6 ถึง 2×10^7 CFU/g (Table 1)

2. ผลของรังสีแกมมาต่อเชื้อซาลโมเนลลาในปลาตุกแช่แข็ง

ผลของรังสีแกมมาในการทำลายเชื้อซาลโมเนลลาในปลาตุกแช่แข็ง แสดงใน Figure 1 จากรูปพบว่าจำนวนเชื้อซาลโมเนลลาในปลาตุกแช่แข็งลดลงตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น การลดลงของเชื้อซาลโมเนลลามีลักษณะเป็นเส้นตรง โดยมีค่าการรีgress สหสัมพันธ์ (regression coefficient) สูงเท่ากับ 0.987 ค่าความต้านทานรังสีของเชื้อซาลโมเนลลาชนิดต่างๆในปลาตุกแช่แข็งแสดงไว้ใน Table 2 จากตารางพบว่า *Salmonella Agona* มีค่าความต้านทานรังสีต่ำสุดเท่ากับ 0.47 กิโลเกรย์ และ *Salmonella Enteritidis* มีค่าความต้านทานรังสีสูงสุดเท่ากับ 0.77 กิโลเกรย์ ค่าความต้านทานรังสีของเชื้อซาลโมเนลลาในปลาตุกแช่แข็งนี้ไม่แตกต่างกันนักเมื่อเทียบกับค่าความต้านทานรังสีของเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อไก่แช่แข็ง⁽⁴⁾ กุ้งแช่แข็ง⁽⁵⁾ และเนื้อวัวสดแช่แข็ง⁽⁶⁾

จำนวนเชื้อซาลโมเนลลาในปลาตุกแช่แข็งที่คาดว่าจะถูกทำลายด้วยรังสีแกมมาที่ระดับต่างๆ แสดงไว้ใน Table 3 จากตารางจะพบว่าถ้าฉายรังสีปลาตุกแช่แข็งด้วยปริมาณรังสี 2.0, 2.5, และ 3.0 กิโลเกรย์ จำนวนเชื้อซาลโมเนลลาจะลดลงระหว่าง 2.60-4.26, 3.25-5.32 และ 3.90-6.38 log cycles ตามลำดับ เนื่องจากการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาในอาหารมักจะรายงานผลว่าพบหรือไม่พบในตัวอย่างที่ใช้ตรวจ 25 กรัม จึงไม่มีตัวเลขในเชิงปริมาณสำหรับจำนวนเชื้อซาลโมเนลลาในปลาตุกแช่แข็ง อย่างไรก็ตามจำนวนเชื้อซาลโมเนลลาในอาหารและอาหารสัตว์ที่เคยมีปรากฏในรายงานพบว่า มีค่าไม่มากกว่า 1 ต่อกรัม⁽⁷⁾ ดังนั้นปริมาณรังสี 2.5 กิโลเกรย์ น่าจะพอเพียงเพราะสามารถลดจำนวนซาลโมเนลลาในปลาตุกแช่แข็งได้ไม่น้อยกว่า 3 log cycles สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของรังสีแกมมาในการทำลายเชื้อซาลโมเนลลาในปลาตุกแช่แข็งจะต้องทำต่อไป โดยได้รับความร่วมมือจากผู้ประกอบการที่ประสงค์จะใช้เทคโนโลยีการฉายรังสีปรับปรุงคุณภาพด้านแบคทีเรียของปลาตุกแช่แข็งเพื่อการส่งออก

สรุป

ความต้านทานรังสีของเชื้อซาลโมเนลลาในระยะ stationary phase จำนวน 10 ชนิด ในปลาตุกแช่แข็งมีค่าอยู่ระหว่าง 0.47 ถึง 0.77 กิโลเกรย์ *Salmonella Enteritidis* มีค่าความต้านทานรังสีสูงสุด ปริมาณรังสี 2.5 กิโลเกรย์ สามารถลดจำนวนซาลโมเนลลาในปลาตุกแช่แข็งได้ไม่น้อยกว่า $10^{3.2}$ และเพียงพอสำหรับใช้ทำลายเชื้อซาลโมเนลลาที่อาจปนเปื้อนอยู่ในปลาตุกแช่แข็ง

Table 1. Mean ^a population of salmonellae in artificial contaminated frozen catfish.

Salmonella serovar	Population(log₁₀ CFU/g)	Number of sample
<i>Salmonella</i> Agona	6.90 (0.05)	6
<i>Salmonella</i> Albany	7.22 (0.18)	6
<i>Salmonella</i> Blockley	6.78 (0.05)	6
<i>Salmonella</i> Bovismorbificans	6.42 (0.23)	2
<i>Salmonella</i> Emek	7.07 (0.24)	7
<i>Salmonella</i> Enteritidis	6.85 (0.15)	5
<i>Salmonella</i> Hadar	7.07 (0.18)	7
<i>Salmonella</i> Panama	6.99 (0.11)	5
<i>Salmonella</i> Virchow	6.66 (0.22)	6
<i>Salmonella</i> Weltevreden	6.90 (0.12)	6

^a Values in parentheses indicate \pm standard deviation

Table 2. D₁₀ values of salmonellae in frozen catfish.

Salmonella serovar	D₁₀ values(kGy)	Regression coefficient
<i>Salmonella</i> Agona	0.47	0.984
<i>Salmonella</i> Albany	0.53	0.986
<i>Salmonella</i> Blockley	0.65	0.979
<i>Salmonella</i> Bovismorbificans	0.68	0.987
<i>Salmonella</i> Emek	0.52	0.984
<i>Salmonella</i> Enteritidis	0.77	0.968
<i>Salmonella</i> Hadar	0.63	0.926
<i>Salmonella</i> Panama	0.67	0.959
<i>Salmonella</i> Virchow	0.53	0.955
<i>Salmonella</i> Weltevreden	0.60	0.981

Table 3. Log CFU/g of salmonellae in frozen catfish killed by gamma irradiation at various doses.

Salmonella serovars	2.0 kGy	2.5 kGy	3.0 kGy
<i>Salmonella</i> Agona	4.26	5.32	6.38
<i>Salmonella</i> Blockley	3.08	3.85	4.62
<i>Salmonella</i> Enteritidis	2.60	3.25	3.90
<i>Salmonella</i> Hadar	3.18	3.97	4.76
<i>Salmonella</i> Panama	2.98	3.73	4.48
<i>Salmonella</i> Virchow	3.77	4.72	5.66
<i>Salmonella</i> Weltevreden	3.33	4.14	5.00

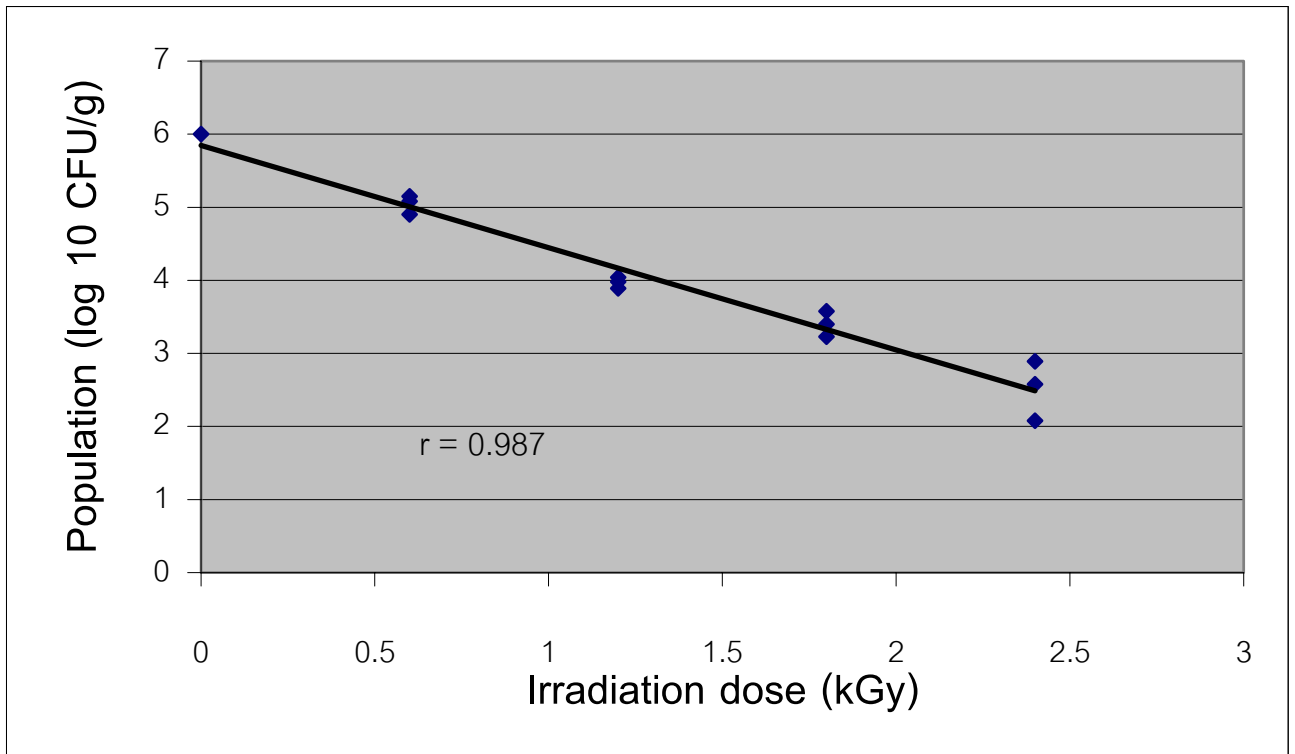


Figure 1. Irradiation inactivation curve for *Salmonella Bovismorbificans* in frozen catfish.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานปรมาณูเพื่อสันติที่สนับสนุนทุนในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. USFDA, Introduction to Import Detention Reports, www.fag.gov/org/ids.
2. โสภกา อารีรัตน์ และกนกพรพรรณ ศรีมโนภาษ. 2542. “ การปนเปื้อนของเชื้อซาลโมเนลลาในปลาตู้กบิก อยู่ที่มีการเลี้ยงในระบบต่างกัน” วารสารการประมง 52(6) พย.-ธค. 2542. หน้า 554-563.
3. Internationl Consultative Group on Food Irradiation. 1987. Report of a Task Force Meeting on the Use of Irradiation to Ensure Hygienic Quality of Food, Vienna, 14-18 July 1986. Document WHO /EHE /FOS 87.2, WHO, Geneva.
4. Nouchpramool, K., Prachasitthisak, Y., Charoen, S., Kanarat, S., Kanigunta, K. and Tangwongsupang, S., 1986. Improvement of bacteriological quality of frozen chicken by gamma radiation. OAEP-1-124. Office of Atomic Energy for Peace, Bangkok.
5. Nouchpramool, K., Pungsilpa, S., and Adulyatham, P., 1985. Improvement of bacteriological quality of frozen shrimp by gamma radiation. OAEP-1-120. Office of Atomic Energy for Peace, Bangkok.
6. Clavers, M.R., MONK, J.D., Beuchat, L.R., Doyle, M.P., and Brackett, R.E., 1994. Inactivation of *Escherichia coli* O 157:H7, *Salmonellae*, and *Campylobacter jejuni* in raw ground beef by gamma irradiation. Appl. Environ. Microbiol. 60, 2069-2075.

7. Mossel, D.A.A., Van Schothorst, M., and Kampelmacher, E.H., 1968. Prospects for the salmonella radication on some foods and feeds with particular reference to the estimation of the dose required. In Elimination of harmful organisms from food and feed by irradiation, p.43-57, IAEA, Vienna.