การตอบสนองต่อความเครียดต่างชนิดกันของ *Vibrio parahaemolyticus*

วรินธร ไชยปัดชา*

บทคัดย่อ

การศึกษาการตอบสนองต่อความเครียดต่างชนิดกันของ *Vibrio parahaemolyticus* โดยแยกเชื้อมาจากอาหารทะเล คือ กุ้งขาว ปลาทู ปลาหมึกกล้วย หอยแมลงภู่มีเปลือกและแกะเปลือก เมื่อตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) และตรวจสอบ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเล พบว่า หอยแมลงภู่สด (มีเปลือก) มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและจำนวน *V. parahaemolyticus* มากที่สุด รองลงมาคือหอยแมลงภู่ (แกะเปลือก) ปลาหมึกกล้วย กุ้งขาว และปลาทู ตามลำดับ และจากการตรวจวิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบ API 20E ร่วมกับการย้อมแกรม ความสามารถในการเคลื่อนที่ และการสร้างเอนไซม์ พบว่า สามารถจำแนกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 3 ชนิด คือ *Vibrio parahaemolyticus*, *V. fluvialis* และ *Aeromonas sobria* จากนั้นนำเชื้อ*V. parahaemolyticus* ที่มีการเจริญอยู่ในช่วง Log phase (อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 5 ชั่วโมง) มาศึกษาผลของความเครียด ได้แก่ ความเย็น การขาดอาหาร ความร้อน การช็อคและการปรับตัวด้วยกรด และคลอรีน ที่มีต่อ *V. parahaemolyticus* ดังนี้ คือ เมื่อนำเชื้อมาช็อคด้วยความเย็นที่อุณหภูมิ 15 และ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 และ 4 ชั่วโมง ในแต่ละอุณหภูมิ โดยเปรียบเทียบกับเชื้อควบคุม (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลา 4 ชั่วโมง) จากนั้นนำมาทดสอบความทนทานต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที อุณหภูมิต่ำที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน และการแช่เยือกแข็งสลับกับการละลายที่อุณหภูมิ -18/25 องศาเซลเซียส จำนวน 6 ไซเคิล พบว่า เชื้อที่ผ่านการช็อคด้วยความเย็นจะมีความทนทานต่อความร้อนต่ำกว่าเชื้อควบคุม แต่จะมีความทนทานต่ออุณหภูมิต่ำและการแช่เยือกแข็งสลับกับการละลายสูงกว่าเชื้อควบคุม เมื่อนำเชื้อมาผ่านขั้นตอนการขาดอาหารโดยถ่ายเชื้อลงใน NaCl 3% แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทดสอบความทนทานต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 45องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และการแช่เยือกแข็งสลับกับการละลายที่อุณหภูมิ -18/25 องศาเซลเซียส จำนวน 6 ไซเคิล โดยเปรียบเทียบกับเชื้อควบคุม (TSB+NaCl 3%) พบว่าเชื้อที่ผ่านการขาดอาหาร จะมีความทนทานต่อทั้งความร้อน และการแช่เยือกแข็งสลับกับการละลายได้มากกว่าเชื้อควบคุม เมื่อนำเชื้อมาช็อคด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที โดยเทียบกับเชื้อควบคุม (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลา 45 นาที) จากนั้นนำมาทดสอบความทนทานต่อกรดอินทรีย์ (กรดซิตริก) อุณหภูมิต่ำที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน และการแช่เยือกแข็งสลับกับการละลายที่อุณหภูมิ -18/25 องศาเซลเซียส จำนวน 6 ไซเคิล พบว่า เชื้อที่ผ่านการช็อคด้วยความร้อนจะมีความทนทานต่อกรดอินทรีย์ (กรดซิตริก) ต่ำกว่าเชื้อควบคุม แต่จะมีความทนทานต่ออุณหภูมิต่ำและการแช่เยือกแข็งสลับกับการละลายสูงกว่าเชื้อควบคุม เมื่อนำเชื้อมาผ่านการช็อคและการปรับตัวด้วยกรด นั่นคือการช็อคด้วยกรด ที่ระดับพีเอช 5.0 เป็นเวลา 15, 30 และ 60 นาที ส่วนการปรับตัวด้วยกรด ใช้ระดับพีเอช 5.8 เป็นเวลา 30 นาที และ 5.0 เป็นเวลา 30 นาที โดยเทียบกับเชื้อควบคุม (พีเอชประมาณ 7.2) จากนั้นนำมาทดสอบความทนทานต่อกรดที่พีเอช 2.0 เป็นเวลา 60 นาที และความร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที พบว่า เชื้อที่ผ่านการช็อคและการปรับตัวด้วยกรด จะมีความทนทานต่อทั้งกรดและความร้อนได้มากกว่าเชื้อควบคุม นอกจากนี้ เมื่อนำเชื้อมาช็อคด้วยคลอรีน

---

* วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการอาหาร) คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 126 หน้า.

เข้มข้น 2 mg/L เป็นเวลา 5 และ 10 นาที โดยเทียบกับเชื้อ ควบคุม (ปราศจากการเติมคลอรีน) จากนั้นนำมาทดสอบความทนทานต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และการแช่เยือกแข็งสลับกับการละลายที่อุณหภูมิ -18/25 องศาเซลเซียส จำนวน 6 ไซเคิล พบว่า เชื้อที่ผ่านการช็อคด้วยคลอรีนจะมีความทนทานต่อทั้งความร้อนและการแช่เยือกแข็งสลับกับการละลายมากกว่าเชื้อควบคุม

Responses to Different Stresses of *Vibrio parahaemolyticus*

Warinthon Chaiputcha*

Abstract

Responses to Different Stresses of *Vibrio parahaemolyticus* were firstly studied by culture isolation from seafoods including shrimp fish squid and clam w/ and w/o shells and total plate count was determined along with *V. parahaemolyticus* and found that shelled clam had the highest numbers of TPC and *V. parahaemolyticus* compared to clam w/o shells, squid shrimp and fish respectively. Then, the culture isolates were subjected to the API gallery system along with gram reaction motility and enzyme activity for identification and found that there were three strains of bacteria identified including *Vibrio parahaemolyticus*, *V. fluvialis* and *Aeromonas sobria*. After that, *V. parahaemolyticus* growing into log phase (37ºC, 5 hrs) was used to investigate the effects of stresses i.e. cold shock, starvation, heat shock, acid shock / adaptation and chlorine shock on *V. parahaemolyticus* as followings. Then, the cells were cold shocked at 15 and 20ºC for 2 and 4 hrs each compared to control cells (25ºC 4hrs). After that, heat tolerance at 45C for 60 mins, cold tolerance at 5ºC for 6 days and freeze-thaw tolerance at -18/25ºC for 6 cycles were determined and found that cold shock cells had less heat tolerance but more cold and freeze-thaw tolerance than control cells. Also, starvation in 3% NaCl at 25ºC for 24 hrs was conducted compared to control cells in TSB+3% NaCl and then heat tolerance at 45ºC for 60 mins and also freeze-thaw tolerance at -18/25ºC for 6 cycles were determined and found that starved cells had more heat and freeze-thaw tolerance than control cells. Moreover, the cells were heat shocked at 42ºC for 45 mins compared to control cells (25ºC, 45 mins). After that, organic acid (citric acid) tolerance cold tolerance at 5ºC for 6 days and freeze-thaw tolerance at -18/25ºC for 6 cycles were determined and found that heat shocked cells had less organic acid tolerance but more cold and freeze-thaw tolerance than control cells . Also, the cells were acid shocked at pH 5.0 for 15, 30 and 60 mins and acid adapted at pH 5.8 for 30 mins and pH 5.0 for 30 mins compared to control cells (pH 7.2), then acid tolerance at pH 2.0 for 60 mins and heat tolerance at 45ºC for 60 mins were determined and found that acid shocked and adapted cells had more acid and heat tolerance than control cells. Finally, the cells were chlorine shocked at 2 mg/L for 5 and 10 mins compared to control cells (no chlorine). After that, heat tolerance at 45ºC for 60 mins and freeze-thaw tolerance at –18/25ºC for 6 cycles were determined and found that chlorine shocked cells had more heat and freeze-thaw tolerance than control cells.

---

* Master of Science (Food Technology), Faculty of Technology, Khon Kaen University. 126 pages.