



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิศวกรรมอาหาร)

ปริญญา

วิศวกรรมอาหาร

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อทำนายการอยู่รอดและการเจริญของ
Vibrio parahaemolyticus ในอาหารแปรรูป

Mathematical Modeling for Survival and Growth of *Vibrio parahaemolyticus* in Processed
White Prawn

นามผู้วิจัย นางสาวอริสรา บุญยะวันตั้ง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วราภรณ์ บุญทรัพย์ทิพย์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุดสาย ตีรวานิช, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วราภรณ์ จิรภาณกุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สืบสังวี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อทำนายการอยู่รอดและการเจริญของไวรัสโอ
พาราเฮโมไลติคัสกึ่งขาวแปรรูป

Mathematical Modeling for Inactivation and Growth of *Vibrio parahaemolyticus*
in White Prawn

โดย

นางสาวอริสรา บุญชะวันตั้ง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมอาหาร)

พ.ศ. 2555

อิสรา นุชชะวันตัง 2555: การสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อทำนายการอยู่รอดและการเจริญ
ไวรัสโ พาราเฮโมไลติคส์กุ้งขาวแปรรูป ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมอาหาร)
สาขาวิศวกรรมอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์วราภรณ์ บุญทรัพย์ทิพย์, Ph.D. 79หน้า

ไวรัสโ พาราเฮโมไลติคส์ เป็นแบคทีเรียสำคัญที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารอักเสบของมนุษย์เมื่อ
บริโภคอาหารทะเล วัตถุประสงค์ของงานวิจัยเพื่อเข้าใจพฤติกรรมของไวรัสโ พาราเฮโมไลติคส์ และวิเคราะห์หา
แบบจำลองทำนายการเปลี่ยนแปลงจำนวนก่อโรควิรัสโ พาราเฮโมไลติคส์ บนกุ้งขาวที่อุณหภูมิห้องรวมถึง
อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง การทดลองได้วิเคราะห์การอยู่รอดและการเจริญของไวรัสโ พาราเฮโมไลติคส์ สายพันธุ์
BCC 24339 ที่เพาะเลี้ยงบนกุ้งขาวที่อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ -20 ถึง 44 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ -20 ถึง
10 องศาเซลเซียส มีพฤติกรรมลดจำนวนลง และ อุณหภูมิ 15 ถึง 44 องศาเซลเซียส มีพฤติกรรมเพิ่ม
จำนวนขึ้น แบบจำลองที่ใช้การอธิบายพฤติกรรมของการอยู่รอดและการเจริญของคือ แบบจำลอง Modified
Gompertz และ Baranyi ตามลำดับ ทั้งสองแบบจำลองสามารถอธิบายพฤติกรรมของได้ดี (R^2 0.962 และ 0.954
ตามลำดับ) ส่วนของผลของอุณหภูมิการเก็บรักษาต่ออัตราการอยู่รอดและการเจริญ (μ), Asymptote (A) และ
ระยะเวลาการปรับตัว (λ) สามารถอธิบายได้ด้วยแบบจำลอง Kholer, modified Ratkowsky, Asymptote
temperature และ non linear Arrhenius ตามลำดับ โดยเสนอวิธีที่ใช้การวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิ คือวิธีการแยก
ข้อมูลและวิธีการรวมข้อมูล พบว่าทั้งสองวิธีให้ผลการทำนายที่ไม่แตกต่างกัน แต่วิธีการแยกข้อมูลพบว่า อุณหภูมิ
ต่ำสุดของการเจริญคือ 6.5 องศาเซลเซียส ซึ่งขัดแย้งกับการตายของที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ทางกลับกันการ
คิดโดยวิธีการรวมข้อมูลอุณหภูมิต่ำสุดของการเจริญคือ 10.1 องศาเซลเซียส ซึ่งตรงกับข้อมูลจากการทดลอง
นอกจากนี้อุณหภูมิต่ำสุดของการเจริญ (T_{min}) เท่ากับ อุณหภูมิสูงสุดของการอยู่รอด (T_{max}) ซึ่งสร้างความต่อเนื่อง
ของแบบจำลองที่เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิ จึงเลือกใช้วิธีการรวมข้อมูลสำหรับการอธิบายผลของอุณหภูมิ และ
ใช้อุณหภูมิ 10.1 องศาเซลเซียส เป็นจุดแบ่งแยกการเจริญและการอยู่รอด และพบว่าการทำนายการเจริญและการ
อยู่รอดของไวรัสโ พาราเฮโมไลติคส์ สายพันธุ์ BCC 24339 บนกุ้งระหว่างการเก็บรักษามีค่า R^2 เท่ากับ 0.924
และ RMSE เท่ากับ ± 0.300 (logMPN/g) การทำนายพฤติกรรมของไวรัสโ พาราเฮโมไลติคส์ภายใต้สภาวะที่ไม่
คงที่กระบวนการผลิตกุ้งแปรรูปพบว่าแบบจำลองที่พัฒนาขึ้นสามารถทำนายปริมาณได้ วิธีการทำนายจำนวน
จุลินทรีย์ที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถอธิบายอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการเจริญและการอยู่รอดของไวรัสโ พาราเฮโมไล
ติคส์ สายพันธุ์ BCC 24339 ได้ ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพการสร้างความปลอดภัยและการประเมินความ
เสี่ยงของการรับประทานกุ้งต่อไป

Arisara Boonyawantang 2012: Mathematical Modeling for Survival and Growth of *Vibrio parahaemolyticus* in Processed White Prawn. Master of Science (Food Engineering), Major Field: Food Engineering, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Assistant Professor Waraporn Boonsupthip, Ph.D. 79 pages.

Vibrio parahaemolyticus has been a major cause of human gastroenteritis associated with the consumption of seafood. The objective of this investigation was to understand the behavior and identify predictive cellular-number model of this pathogen in prawn over the ambient-to-freezing temperature range. The survival and growth of *Vibrio parahaemolyticus* BCC 24339 on white prawn at difference temperature (-20 to 44 °C) were determined. It was found that at the temperature range of -20 and 10 °C the microbial number decreased over time. On the other hand, at the temperature range of 15 and 44 °C the microbial number increased. The modified Gompertz and Baranyi models produced good fits to the observed survival and growth curves of the pathogen ($R^2 = 0.962$ and 0.954 , respectively). The effect of storage temperature on the specific growth rate (μ_m), Asymptote (A) and lag phase (λ) was modeled by Kohler, modified Ratkowsky, Asymptote temperature and non-linear Arrhenius equations, respectively. The model fitting was based on two approaches, separatating and combinating approaches. The former approach was to divide while the later was to combine the experimental data of both decreasing and growth periods in the process of the model fitting. The results showed that both the separating and combining approaches provided similar prediction quantities of the pathogenic number. However, the separating approach required the growth T_{min} to be 6.4 °C, which conflicted with the experimental death at 10 °C. On the other hand, the combination approach generated the realistic value of 10.1 °C. Moreover, the growth T_{min} was equal to the survival T_{max} which generated continuity of the temperature-dependent equations. The results showed that the combining approach provided good predictions for *V. parahaemolyticus* BCC24339 on prawn ($R^2 = 0.924$ and $RMSE = \pm 0.300$ (logMPN/g)). Predicting the survival and growth under unsteady state in processing frozen shrimp showed that the equation developed predict growth or survival developed predict growth or survival on processed white prawn at test temperatures agreed well with observed in processing. This new approach can excellently explain the effects of temperature on the growth and survival behavior of *V. parahaemolyticus* BCC 24339 on prawn. It can be an effective tool in assessing either safety or risk of prawn consumption.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. วราภรณ์ บุญทรัพย์ทิพย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
หลัก ผศ.ดร. สุธาสาย ศรีวานิช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษาการเรียน
การค้นคว้าวิจัย ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ อ.ดร. วีระเชษฐ์ จิตตานิษฐ์ ประธานการสอบ และ อ.ดร. แสงชัย
เอกประทุมชัย ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ได้ให้ความกรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอพระคุณอาจารย์ทุกท่าน ที่ได้อบรมสั่งสอนและมอบความรู้อันเป็นประโยชน์
อย่างยิ่งการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
การอาหารทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำต่างๆ

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ สาขาวิศวกรรมอาหารทุกคนที่คอยให้กำลังใจ คำแนะ
นำยามที่ท้อ หรือมีอุปสรรค และให้ความช่วยเหลือทั้งร่างกาย แรงใจ อย่างเต็มที่ อีกทั้งยังมอบ
มิตรภาพที่ดี จนข้าพเจ้ามีกำลังใจ ฝ่าฟันอุปสรรคต่างๆ จนสำเร็จเรียบร้อย

ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์และสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช) ศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพที่สนับสนุนเงินทุนสำหรับ
งานวิจัยนี้

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คุณพ่อ คุณแม่ที่ได้
อบรมและให้กำลังใจผู้วิจัยมาตลอดทุกเรื่อง

อริสรา บุญยะวันตั้ง

สิงหาคม 2555

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์การทดลอง	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	21
อุปกรณ์	21
วิธีการ	21
ผลและวิจารณ์	32
สรุปและข้อเสนอแนะ	57
สรุป	57
ข้อเสนอแนะ	57
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	58
ภาคผนวก	69
ภาคผนวก ก ตารางแสดงข้อมูลการอยู่รอดและการเจริญ	70
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	79

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณและมูลค่าการส่งออกกุ้งสายพันธุ์ต่างๆ ของไทย ไปประเทศต่าง ปี 2553	4
2	ชนิดของโมเดล	14
3	สถานะการทำปฏิกิริยา PCR	23
4	ระยะเวลาการเก็บรักษากุ้งที่อุณหภูมิระหว่างการลดจำนวน	34
5	ระยะเวลาการเก็บรักษากุ้งที่อุณหภูมิระหว่างการเจริญ	35
6	พารามิเตอร์ของแบบจำลอง First order kinetic, Modified Gompertz และ Weibull model บนกุ้งขาว	37
7	ค่าทางสถิติของแบบจำลอง Modified Gompertz, First order kinetic และ Weibull model บนกุ้งขาว	37
8	พารามิเตอร์ของแบบจำลอง Modified Gompertz, First order kinetic, modified Logistic และ Baranyi model บนกุ้งขาว	42
9	ค่าทางสถิติของแบบจำลอง Modified Gompertz, First order kinetic, modified Logistic และ Baranyi model บนกุ้งขาว	42
10	ผลการเปรียบเทียบค่าทางสถิติของค่าที่ได้จากการทดลองและจากการทำนายโดยตั้งค่าตัวแปรอุณหภูมิแตกต่างกัน	51
ตารางผนวกที่		
ก1	การเปรียบเทียบจำนวน <i>Vibrio parahaemolyticus</i> บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (หน่วย log MPN/g)	71
ก2	การเปรียบเทียบจำนวน <i>Vibrio parahaemolyticus</i> บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (หน่วย log MPN/g)	71

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ก3 การเปรียบเทียบจำนวน <i>Vibrio parahaemolyticus</i> บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (หน่วย log MPN/g)	72
ก4 การเปรียบเทียบจำนวน <i>Vibrio parahaemolyticus</i> บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (หน่วย log MPN/g)	72
ก5 การเปรียบเทียบจำนวน <i>Vibrio parahaemolyticus</i> บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (หน่วย log MPN/g)	73
ก6 การเปรียบเทียบจำนวน <i>Vibrio parahaemolyticus</i> บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ 44 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (หน่วย log MPN/g)	73
ก7 การเปรียบเทียบจำนวน <i>Vibrio parahaemolyticus</i> บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (หน่วย log MPN/g)	74
ก8 การเปรียบเทียบจำนวน <i>Vibrio parahaemolyticus</i> บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (หน่วย log MPN/g)	75
ก9 การเปรียบเทียบจำนวน <i>Vibrio parahaemolyticus</i> บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (หน่วย log MPN/g)	75
ก10 การเปรียบเทียบจำนวน <i>Vibrio parahaemolyticus</i> บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (หน่วย log MPN/g)	76
ก11 การเปรียบเทียบอัตราการอยู่รอดและการเจริญ <i>Vibrio parahaemolyticus</i> ได้จากการทดลองและการทำนาย	77

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่

หน้า

- ก12 การเปรียบเทียบค่า Asymptote และ ระยะเวลาการปรับตัวของ *Vibrio parahaemolyticus* ที่ได้จากข้อมูลจริงและข้อมูลจากการทำนาย

78



สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ระยะเวลาเจริญของจุลินทรีย์ที่ใช้การทำนาย	15
2 การเก็บตัวอย่างกึ่งภายในโรงงานแช่แข็ง	23
3 แสดงการคำนวณตัวแปรของแบบ First order kinetic	24
4 การคำนวณตัวแปรของแบบ Modified Gompertz	25
5 การคำนวณตัวแปรของแบบจำลอง Baranyi	26
6 การคำนวณตัวแปรของแบบจำลอง weibull	27
7 การคำนวณตัวแปรของแบบจำลอง Kholer	28
8 การคำนวณตัวแปรของแบบจำลอง Ratkowsky	29
9 การคำนวณตัวแปรของแบบจำลอง Asymptote temperature	29
10 การคำนวณตัวแปรของแบบจำลอง Non-linear Arrhenius	30
11 การลดลงของ <i>V. parahaemolyticus</i> ที่อุณหภูมิต่างๆ	33
12 การเจริญของ <i>V. parahaemolyticus</i> ที่อุณหภูมิต่างๆ	35
13 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จากการทดลองและจำนวนจุลินทรีย์ จากการทำนายช่วงของการอยู่รอดที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส	38
14 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จากการทดลองและจำนวนจุลินทรีย์ จากการทำนายช่วงของการอยู่รอดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	38
15 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จากการทดลองและจำนวนจุลินทรีย์ จากการทำนายช่วงของการอยู่รอดที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส	39
16 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จากการทดลองและจำนวนจุลินทรีย์ จากการทำนายช่วงของการอยู่รอดที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส	39
17 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จากการทดลองและจำนวนจุลินทรีย์ จากการทำนายช่วงของการอยู่รอดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส	40
18 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จากการทดลองและจำนวนจุลินทรีย์ จากการทำนายช่วงของการเจริญที่อุณหภูมิ 44 องศาเซลเซียส	43
19 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จากการทดลองและจำนวนจุลินทรีย์ จากการทำนายช่วงของการเจริญที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส	43

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
20	แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จากการทดลองและจำนวนจุลินทรีย์จากการทำนายช่วงของการเจริญที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส
21	แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จากการทดลองและจำนวนจุลินทรีย์จากการทำนายช่วงของการเจริญที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส
22	แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จากการทดลองและจำนวนจุลินทรีย์จากการทำนายช่วงของการเจริญที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส
23	การเปลี่ยนแปลงของอัตราการลดลงและการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ
24	การเปลี่ยนแปลงของค่า Asymptote ที่อุณหภูมิต่างๆ
25	ระยะการปรับตัวของ <i>Vibrio parahaemolyticus</i> ที่อุณหภูมิต่างๆ
26	เปรียบเทียบผลการทำนายโดยวิธีการแยกข้อมูลกับวิธีการรวมข้อมูลการทำนาย อัตรา การอยู่รอดและการเจริญของที่อุณหภูมิต่างๆ
27	ความสัมพันธ์ของค่า Asymptote ของที่ได้จากการทดลองและการทำนาย ณ อุณหภูมิต่างๆ
28	ความสัมพันธ์ของระยะเวลาการปรับตัวของที่ได้จากการทดลองและการทำนาย ณ อุณหภูมิต่างๆ
29	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกระบวนการแช่แข็ง (T1(ตัวอ่านอุณหภูมิตัวที่ 1), T2 (ตัวอ่านอุณหภูมิตัวที่ 2) และ T3 (ตัวอ่านอุณหภูมิตัวที่)) และ ปริมาณก่อโรค <i>V. parahaemolyticus</i> (#Mi1(จำนวน <i>V. parahaemolyticus</i> ซ้ำที่ 1)), #Mi2 (จำนวน <i>V. parahaemolyticus</i> ซ้ำที่ 2) และ #Mi3(จำนวน <i>V. parahaemolyticus</i> ซ้ำที่ 3)) วิเคราะห์ปริมาณตั้งแต่จุด A ถึง F ตลอดกระบวนการแช่แข็ง
30	กราฟเปรียบเทียบระหว่างปริมาณก่อโรค <i>V. parahaemolyticus</i> จากการทดลองกับ ปริมาณก่อโรค <i>V. parahaemolyticus</i> จากการทำนายกระบวนการแช่แข็ง

การสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อทำนายการอยู่รอดและการเจริญของไวรัสโอพาราเฮโมไลติคัสกุ้งขาวแปรรูป

Mathematical Modeling for Survival and Growth of *Vibrio parahaemolyticus* in Processed White Prawn

คำนำ

ผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำแช่เย็นแช่แข็งเป็นผลิตภัณฑ์ส่งออกที่สำคัญของประเทศไทยโดยเฉพาะกุ้งขาวแช่เย็นแช่แข็งทั้งนี้เนื่องจากประเทศไทยมีแหล่งเพาะเลี้ยงกุ้งเป็นจำนวนมาก และมีแรงงานที่มีคุณภาพ ปี พ.ศ. 2554 ประเทศไทยมีปริมาณการส่งออกของกุ้งขาวแช่เย็นแช่แข็งประมาณ 202,029 ตัน คิดเป็นมูลค่าการส่งออกราว 52,330 ล้านบาท (กองประมงต่างประเทศ, 2554) แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการเพาะเลี้ยง การแปรรูป และการส่งออกของกุ้งและผลิตภัณฑ์ของประเทศไทยยังประสบกับอุปสรรคหลายอย่าง เช่น การถูกกีดกันทางการค้าจากประเทศทางทวีปยุโรป และอเมริกา เนื่องมาจากสินค้าไม่ได้มาตรฐานตามข้อกำหนดของประเทศๆ เช่น มีสารไนโตรฟูแรน (Nitrofurans) ตกค้างจากการเพาะเลี้ยง หรือระหว่างกระบวนการแปรรูป มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ปริมาณสูง ซึ่งจุลินทรีย์ที่เป็นปัญหาสำคัญตัวหนึ่ง คือ ไวรัสโอพาราเฮโมไลติคัส (*Vibrio parahaemolyticus*) ซึ่งผลจากการปนเปื้อนทำให้เกิดการสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจและความเชื่อถือของประเทศคู่ค้าเป็นอย่างมาก และเนื่องจาก *Vibrio parahaemolyticus* เป็นแบคทีเรียที่มีอยู่แหล่งน้ำเค็ม และน้ำกร่อยตามธรรมชาติ สามารถพบได้สัตว์ที่อาศัยอยู่น้ำเค็มและน้ำกร่อยทั่วไป ดัง จึงไม่สามารถหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนได้ นอกจากนี้อาจมีการปนเปื้อนข้ามห่วงโซ่อุปทานกระบวนการผลิตไปจนถึงกระบวนการเก็บรักษา ดัง การผลิตกุ้งแช่เย็นแช่แข็งส่งออกจึงต้องมีการควบคุมการผลิตอย่างเคร่งครัด โดยเฉพาะคุณภาพทางจุลินทรีย์เพื่อผลิตสินค้าให้ได้มาตรฐาน และมีคุณภาพตรงตามมาตรฐานสินค้าของประเทศนำเข้า ดัง การสนับสนุนความปลอดภัยทางจุลินทรีย์ด้วยการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของ *Vibrio parahaemolyticus* กุ้งแช่เย็นแช่แข็ง จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งเพราะทำให้ทราบถึงปริมาณของที่เปลี่ยนแปลงไปตามเวลา ภายใต้ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญและการตายของจุลินทรีย์ และ นำผลที่ได้ไปปรับปรุงกระบวนการผลิตเพื่อลดความเสี่ยงทางจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้น ซึ่งการใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับทำนายการอยู่รอดและการเจริญของ *Vibrio parahaemolyticus* สามารถประเมินจำนวนจุลินทรีย์ได้อย่างรวดเร็ว

วัตถุประสงค์การทดลอง

ศึกษาและพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์การทำนายปริมาณของ *Vibrio parahaemolyticus* สายพันธุ์ BCC 24339 บนกุ้งขาวแปรรูป



การตรวจเอกสาร

1. กุ้งขาว

กุ้งขาว มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Litopenaeus vannamei* ชื่อสามัญ Pacific white shrimp ลำตัวมี 8 ปล้องและมีสีขาวใส เปลือกหุ้มสีขาวอมชมพูถึงแดง ขาสีขาว หางสีแดง โดยเฉพาะบริเวณปลายหางมีสีแดงเข้ม กริมีแนวตรงปลายงุ้มลงเล็กน้อย เมื่อโตขึ้นพื้นกรีด้านบนมี 8 พิน และด้านล่าง 2 พิน ความยาวของกริ ยาวกว่าลูกตาไม่มาก ที่สังเกตเห็นเด่นชัดที่สุดคือลำไส้ของกุ้งชนิดนี้โตเห็นได้ชัด และตัวเมียมีขนาดใหญ่กว่าตัวผู้ กุ้งสายพันธุ์นี้มีขนาดเล็กกว่ากุ้งกุลาดำ เป็นสายพันธุ์กุ้งทะเลที่มีการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายหลายประเทศ เช่น ประเทศไทย เอกวาดอร์ เม็กซิโก เปรู ปานามา โคลัมเบีย และบราซิล เป็นต้น พบอุณหภูมิน้ำเฉลี่ยสูงกว่า 22 องศาเซลเซียส กุ้งชนิดนี้อาศัยอยู่ตามแนวชายฝั่ง จนถึงบริเวณที่มีความลึก 72 เมตร มีพื้นที่ท้องทะเลเป็นเหมือนโคลนที่เหมาะสมแก่การเจริญ (กมลศิริ, 2550)

ธรรมชาติของกุ้งขาวมีอายุขัยประมาณ 36 เดือน โดยวางไข่ที่ระดับน้ำลึกประมาณ 30-60 มิลลิเมตรใกล้พื้นทรายปกติแล้วแม่กุ้งขนาด 60-120 กรัม วางไข่ประมาณ 150,000 ถึง 250,000 ฟอง ส่วนแม่กุ้งขนาด 30-45 กรัม วางไข่ประมาณไม่เกิน 100,000 ฟอง โดยวางไข่บนพื้นเวลากลางคืน แม่กุ้งว่ายน้ำอย่างรวดเร็วอยู่ประมาณ 45-60 วินาที แล้วจึงเริ่มออกไข่ขณะที่ลดความเร็วลงอย่างช้าๆ

กุ้งขาวเป็นกุ้งที่เลี้ยงได้ทั้งระบบธรรมชาติ และระบบกึ่งหนาแน่น ลักษณะพิเศษของกุ้งสายพันธุ์นี้คือสามารถสร้างความคุ้นเคยหรือปรับลักษณะนิสัยภายใต้ระบบการเพาะเลี้ยงได้เช่นสามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ทั้งน้ำที่มีระดับความเค็มที่ 5 - 35 ส่วนพันส่วนและระดับความเค็มต่ำ 0 - 5 ส่วนพันส่วน แต่ระดับความเค็มที่สามารถเจริญได้ดีคือ 10 - 22 ส่วนพันส่วน และอุณหภูมิที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีคือ 28 - 30 องศาเซลเซียส แต่สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ที่อุณหภูมิ 25 - 35 องศาเซลเซียส ระดับออกซิเจนที่ละลายน้ำควรมีค่า 4 - 9 ส่วนล้านส่วน และสำหรับค่าความเป็นกรด-เบสควรอยู่ระหว่าง 7.2 - 8.6 ซึ่งสามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ทั้งบริเวณพื้นที่ชายฝั่ง หรือบริเวณพื้นที่ที่มีความเค็มต่ำ กุ้งชนิดนี้ชอบน้ำกระด้างที่มีความกระด้างรวม 120 ส่วนพันส่วน มีนิสัยที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะของน้ำบ่อเพาะเลี้ยง ดิ้นตกใจง่าย (กมลศิริ, 2550)

การส่งออกกุ้ง

ผลิตภัณฑ์จากอุตสาหกรรมอาหารทะเลแปรรูปของประเทศไทย ส่วนใหญ่เป็นการผลิตแบบครบวงจรและมุ่งการส่งออกเป็นหลัก จึงก่อให้เกิดธุรกิจต่อเนื่องอื่นๆ ตามมา เช่น อุตสาหกรรมการแปรรูปอาหาร อุตสาหกรรมบรรจุภัณฑ์ และอุตสาหกรรมเคมีภัณฑ์ เป็นต้น ซึ่งอุตสาหกรรมกุ้งแปรรูปของไทยเน้นการผลิตเพื่อส่งออกมากกว่าการบริโภคภายในประเทศ ปัจจุบันประเทศไทยมีการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ซึ่งเป็นที่นิยมเป็นอย่างมาก โดยมีสัดส่วนผลผลิตกุ้งขาวแวนนาไมต่อกุ้งกุลาดำอัตราส่วน 99:1 ของปริมาณกุ้งที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2551) ทั้งนี้เนื่องมาจากกุ้งกุลาดำหลายพื้นที่ ยังมีปัญหาการโตช้า และผลผลิตไม่ได้ตามเป้าหมาย ทำให้การส่งออกผลิตภัณฑ์กุ้งส่วนใหญ่จึงเป็นผลิตภัณฑ์จากกุ้งขาวแวนนาไม โดยแบ่งเป็นกุ้งสดแช่แข็งร้อยละ 51 และกุ้งแปรรูป (กุ้งต้ม กุ้งกระป๋อง และกุ้งปรุงแต่ง) ร้อยละ 49 ของมูลค่าการส่งออกทั้งหมด ปี พ.ศ. 2551 และแนวโน้มการส่งออกกุ้งขาวเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ดังแสดงตารางที่ 1 ซึ่งตลาดส่งออกที่สำคัญของไทยได้แก่ สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น และสหภาพยุโรป ส่งผลให้ตลาดทั้งสองแห่งประสบปัญหาภาวะสินค้าล้นตลาดซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ตลาดคู่ค้าบีบให้ผู้ผลิตลดราคาสินค้าลงทำให้ผลผลิตกุ้งแช่เย็นแช่แข็งทุกประเทศต้องใช้กลยุทธ์ทางด้านราคาการแข่งขันเพื่อรักษาส่วนแบ่งตลาดไว้

ตารางที่ 1 ปริมาณและมูลค่าการส่งออกกุ้งสายพันธุ์ต่างๆ ของไทยตั้งแต่ปี 2552-2553

รายการ	การส่งออกกุ้งปี 2552		การส่งออกกุ้งปี 2553	
	ปริมาณ (กิโลกรัม)	มูลค่า (บาท)	ปริมาณ (กิโลกรัม)	มูลค่า (บาท)
กุ้งสดแช่เย็นแช่แข็ง	210,827,438	46,209,439,814	241,820,403	53,084,084,390
กุ้งแห้ง	388,983	93,651,495	503,090	144,971,596
กุ้งต้มสุกแช่เย็น	686,351	117,371,401	641,125	98,995,350
กุ้งกระป๋อง	15,667,714	3,541,151,476	11,662,522	2,817,649,934
กุ้งปรุงแต่ง	155,477,782	41,953,114,254	165,521,467	43,463,378,137
รวมกุ้ง	383,048,268	91,914,728,440	420,148,607	99,609,079,407

ที่มา: กลุ่มวิเคราะห์การค้าสินค้าประมงระหว่างประเทศ กองประมงต่างประเทศ กรมประมง
ประมวลข้อมูลจากกรมศุลกากร (2554)

ตลาดคู่แข่งที่สำคัญของไทยแบ่งออกเป็นสองกลุ่มหลัก ดังนี้

1. ผู้ผลิตประเทศแถบตะวันตก เช่น สหรัฐอเมริกา รัฐหลุยเซียนาก็มีการผลิตกุ้งเพื่อการบริโภคและการส่งออกด้วย หรือประเทศอิตาลีสหภาพยุโรป รวมทั้งประเทศแถบสแกนดิเนเวีย เป็นต้น แต่คุณภาพของกุ้งที่ผลิตจากประเทศทางแถบตะวันตกมีรสชาติที่แตกต่างกันเนื่องจากสภาพอากาศและสภาพภูมิประเทศที่แตกต่างกัน รวมทั้งปริมาณและวัตถุประสงค์ของการนำไปบริโภคก็แตกต่างกันออกไป โดยส่วนมากนิยมบริโภคสดภายในประเทศ เป็นต้น

2. ผู้ผลิตประเทศแถบภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ไทย เวียดนาม และอินโดนีเซีย เป็นต้น โดยการแข่งขันระหว่างประเทศภูมิภาคเดียวกันค่อนข้างรุนแรงเนื่องจากคุณภาพของวัตถุดิบ สภาพภูมิอากาศ และสภาพภูมิประเทศมีความใกล้เคียงกับประเทศไทยมาก รวมถึงตลาดส่งออกหลักเป็นตลาดเดียวกัน ราคาเป็นกลยุทธ์สำคัญของการแข่งขันทางการค้าระหว่างไทยกับประเทศแถบภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

2. จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกุ้งแช่เย็นแช่แข็ง

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกุ้งแช่เย็นแช่แข็งแบ่งได้เป็น 4 ประเภท คือ

1. แบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ (Psychotropic bacteria) เจริญได้ที่อุณหภูมิประมาณ 12 – 15 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า และ ทนต่อความเย็นจัดได้ดี อาจปนเปื้อนมากับกุ้งตั้งแต่ขั้นตอนการเลี้ยงจนกระทั่งถึงขั้นตอนการผลิตและกรณีที่ไม่สามารถกำจัดให้หมดขณะผลิตส่งผลต่ออายุการเก็บรักษากุ้งแช่แข็ง แบคทีเรียกลุ่มนี้เช่น *Pseudomonas*, *Achromobacter* และ *Flavobacterium* เป็นต้น

2. แบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิตั้งแต่ 15 องศาเซลเซียสขึ้นไป (Mesophilic bacteria) แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียที่ทำให้อาหารทะเลเน่าเสีย (Putrefactive bacteria) อาจปนเปื้อนตั้งแต่เมื่อเริ่มจับสัตว์น้ำหรือเกิดจากปนเปื้อนจากขณะบรรจุ การขนส่งไปยังโรงงานและขณะทำการผลิต การที่กุ้งแช่แข็งมีแบคทีเรียเหล่านี้มากแสดงว่าวัตถุดิบไม่สด ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้พบจากแหล่งน้ำเสียที่มีกระบวนการผลิตไม่ถูกสุขลักษณะหรือมีการละลายแล้วแช่แข็งใหม่ แบคทีเรียกลุ่มนี้ได้แก่ *Bacillus*, *Clostridium* และ *Proteus* เป็นต้น

3. แบคทีเรียที่ใช้เป็นดัชนีของการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะ (Sanitary index) เกิดการปนเปื้อนระหว่างกรรมวิธีการผลิตโดยมีสาเหตุจากคนงานหรืออุปกรณ์เครื่องใช้ เช่น Fecal Coliform, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* เป็นต้น ถ้าตรวจพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ปริมาณมากแสดงว่าโรงงานและคนงานมีความสกปรกมาก

4. แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค (Pathogenic Bacteria) เช่น โรคทางเดินอาหาร โรคอาหารเป็นพิษ หรือทำให้เกิดสาร์พิษ เป็นต้น ตัวอย่างเช่น *Salmonella spp*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus* และ *Clostridium botulinum* type E เป็นต้น หากตรวจพบแบคทีเรียเหล่านี้แสดงว่าอาหารไม่สมควรแก่การบริโภคและซื้อขาย

3. *Vibrio parahaemolyticus*

Vibrio spp. เป็นแบคทีเรียที่อาศัยได้น้ำจืดและน้ำเค็มมากที่สุดกลุ่มหนึ่งประเทศเขตร้อนและสกลนี้ มีสมาชิกกว่า 60 สปีชีส์ โดยสปีชีส์ที่ก่อโรคคนได้แก่ *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio alginolyticus* และ *Vibrio hollisae* *Vibrio* เป็นที่เจริญทั้งที่มีออกซิเจนและที่ไม่มีออกซิเจน ใช้น้ำตาลกระบวนกรหมักและกระบวนกรหายใจ จึงต้องอาศัยเกลือแร่การเจริญ เป็นแบคทีเรียเจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง แต่ที่อุณหภูมิต่ำก็สามารถเจริญได้แต่ค่อนข้างช้า

Vibrio parahaemolyticus เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง มีความยาวประมาณ 1 ถึง 3 ไมโครเมตร กว้าง 0.4 ถึง 0.6 ไมโครเมตร เป็นที่ชอบความเค็มมีแฟลเจลลา (Flagella) เพื่อช่วยการเคลื่อนที่เมื่ออยู่อาหารเหลว พบแหล่งธรรมชาติในน้ำทะเลและน้ำกร่อย แยกได้จากน้ำทะเลทั่วโลก เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรกระบบทางเดินอาหารพบอาหารทะเลกุ้ง หอย ปลา และปูหลายชนิด ก่อโรคอาหารเป็นพิษกรณีที่อาหารทะเลได้รับความร้อนไม่เพียงพอ

Vibrio parahaemolyticus เจริญได้ดีสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน อุณหภูมิที่สามารถเจริญได้คือ 10 - 44 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-เบสที่เหมาะสมคือ 6.8 - 7.8 สามารถเจริญได้ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ 1 - 8 เปอร์เซ็นต์ และช่วงที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เหมาะสมคือ 2 - 4 เปอร์เซ็นต์ ค่าปริมาณน้ำอิสระ 0.940 - 0.996 เมื่อเลี้ยงอาหารเหลวสร้างแฟลเจลลาที่มีเชื้อหุ้มขนาดใหญ่ 1 เส้น ติดอยู่กับส่วนของเชื้อหุ้มเซลล์ด้านนอกซึ่งใช้การเคลื่อนที่สภาพแวดล้อมที่เป็นของเหลวและเมื่อ

เลี้ยงอาหารแข็งแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาหลังจากถูกถ่ายจากอาหารเหลวลงสู่อาหารแข็ง แบคทีเรียหยุดการแบ่งเซลล์และเริ่มขยายตัวออก พร้อมกับสร้างแฟลเจลลาจำนวนมาก

ปัจจัยก่อความรุนแรงของ *V. parahaemolyticus*

V. parahaemolyticus มีปัจจัยก่อความรุนแรงของหลายชนิดที่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพ คือ

1. Thermostable Direct Hemolysin (TDH) เนื่องจากฮีโมไลซินมีคุณสมบัติทนต่อความร้อน และสามารถสลายเม็ดเลือดแดงโดยไม่ต้องใช้เอนไซม์ จึงเรียกสารพิษนี้ว่า TDH การทดสอบการสลายเม็ดเลือดแดงของน้ำอาหารเพาะที่ผสมเลือดคนหรือกระต่าย ที่เรียกว่า Wagatsuma ถ้ามี TDH สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงทำให้เกิดวงใสรอบโคโลนีและเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า Kanagawa Phenomenon บวก (KP+) ทำให้เกิดรูบนผนังเซลล์เม็ดเลือดแดงและทำให้เซลล์แตก นอกจากนี้อาจมีบทบาทเป็นทั้ง Enterotoxin (ทำให้เกิดการสะสมน้ำลำไส้ของสัตว์ทดลอง), Cytotoxin (ทำลายเยื่อผิวเซลล์ของลำไส้ทำให้เกิดอาการระแวงมีมูกเลือดปน), Lethal toxin และ Cardiotoxin (ทำลายกล้ามเนื้อหัวใจของหนูทดลอง)
2. TDH-Related Hemolysin (TRH) เป็นพิษที่แยกได้จากสายพันธุ์ O3:K6 ที่ให้ KP (-) จากผู้ป่วยที่กลับจากมัลดีฟเป็นสารประกอบโปรตีนมีน้ำหนักโมเลกุล 48 kDa ประกอบด้วยสองหน่วย
3. พิษอื่น ๆ เช่น Shiga-Like Toxin บางสายพันธุ์สามารถผลิต Shiga-Like Toxin ที่คล้ายกับ Shiga Toxin ซึ่งอาจมีส่วนทำให้เกิดอาการอุจจาระร่วงและมีเลือดปนคล้ายโรคบิด ส่วน Cholera Enterotoxin-Like Toxin มีปฏิกิริยาข้ามกับ GM1-Ganglioside ELISA
4. Adherence Factors สายพันธุ์ KP (+) สามารถเกาะจับกับเซลล์เยื่อผิวลำไส้กระต่ายและลำไส้ของคนได้ขณะที่สายพันธุ์ KP (-) ไม่มีคุณสมบัตินี้
5. ยูรีเอส (Urease) สำหรับ *Helicobacter pylori* มีเอนไซม์ยูรีเอสที่ช่วยให้แบคทีเรียเจริญได้กระเพาะอาหารที่มีความเป็นกรดสูงและทำให้เกิดอาการของโรคกระเพาะอาหารอักเสบ แต่สำหรับ *Vibrio parahaemolyticus* บทบาทของยูรีเอสที่เหมือนกับของ *Helicobacter pylori* ยังไม่ทราบ แต่อัตราการพบที่สร้างยูรีเอสได้จากผู้ป่วยและสิ่งแวดล้อมมีมากขึ้นและแตกต่างกันไปตามภูมิ

ประเทศเช่น สหรัฐอเมริกาพบยูรีเอสววก 58 % จากตัวอย่างสิ่งแวดล้อมและ 15 % จากผู้ป่วย สำหรับประเทศไทยพบยูรีเอสววกต่ำกว่า 1 % จากตัวอย่างสิ่งแวดล้อมและ 5 – 8 % จากผู้ป่วย เป็นต้น

6. อีโมไลซินอื่น ๆ เช่น Lecithin-Dependent Hemolysin (LDH) หรือ Phospholipase B, Phospholipase A และ C เป็นทอกซินที่ไม่ทนความร้อน ส่วน Phosphate-Regulated Hemolysin มีคุณสมบัติทนต่อความร้อนและพบทุกสายพันธุ์มีอีโมไลซินเหล่านี้

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus*

V. parahaemolyticus โดยธรรมชาติสามารถอยู่รอดสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้เป็นเวลานานโดยการปรับตัวทั้งทางสรีรวิทยา (Physiology) และสัณฐานวิทยา (Morphology) การปรับตัวเพื่อการอยู่รอดขึ้นกับปัจจัยสองประการ ได้แก่ ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ไม่มีชีวิต (Abiotic factors) และ ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีชีวิต (Biotic factors) ซึ่งปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ไม่มีชีวิต ประกอบด้วยปัจจัย เช่น อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-เบส และโซเดียมคลอไรด์ เป็นต้น ที่ทำให้เซลล์เหล่านี้ปรับตัวให้รอดหรือตายไป ส่วนปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีชีวิต ประกอบด้วยปัจจัย เช่น ผู้ผลิต ผู้บริโภค ผู้ย่อยสลาย เป็นต้น

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ไม่มีชีวิต (อรษา, 2544) คือ

1. อุณหภูมิ เป็นปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่สำคัญมากที่สุดที่มีอิทธิพลต่อการเจริญและการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของ *V. parahaemolyticus* อยู่ระหว่าง 35 ถึง 37 องศาเซลเซียส ซึ่งกระบวนการต่าง ๆ ของการใช้อาหารและการสร้าง ส่วนประกอบของแบคทีเรียหรือกระบวนการเมตาบอลิซึมทำงานได้ดีขึ้นที่มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วแต่ถ้า *V. parahaemolyticus* อยู่อุณหภูมิระหว่าง 5 - 13 องศาเซลเซียส กระบวนการเมตาบอลิซึมต่าง ๆ เซลล์เริ่มลดบทบาทลงเพื่อปรับตัวให้แบคทีเรียอยู่รอดได้สภาวะเครียด เซลล์ปกติของ *V. parahaemolyticus* ตามทฤษฎีอยู่ช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 5 - 60 องศาเซลเซียส ดังการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิมีความสัมพันธ์กับการอยู่รอดของและยังพบว่าปัจจัยอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น จำนวนหรืออาหารที่ปกป้องจากปัจจัยต่าง ๆ การศึกษาวิจัยที่พบว่า *V. parahaemolyticus* เนื้อปูที่อุณหภูมิ (-15) - 1 องศาเซลเซียส สามารถอยู่รอดได้นาน 30 วัน หอยนางรมที่เก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส พบอยู่รอดได้นาน 40 วัน และที่อุณหภูมิ (-30) - (-15) องศาเซลเซียส อยู่รอดได้

นาน 130 วัน กุ้งลอกเปลือก ที่อุณหภูมิ (-18) - 3 องศาเซลเซียส อยู่รอดได้นาน 6 วัน กุ้งบดละเอียด ที่อุณหภูมิ 60 - 80 องศาเซลเซียส อยู่รอดได้ 15 นาทีและที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อยู่รอดได้เพียง 5 นาที

2. ความเป็นกรด-เบส พบว่า *V. parahaemolyticus* ชอบความเป็นเบสสูง ค่าความเป็นกรด-เบสระหว่าง 6.8 – 7.8 เป็นช่วงที่สามารถแบ่งตัวหรือเจริญได้ดีที่สุด สำหรับสถานะความเป็นกรด หรือ สถานะที่ค่อนข้างไปทางกรดต้องปรับตัวให้อยู่รอดได้สถานะเช่นนี้

3. โซเดียมคลอไรด์ *V. parahaemolyticus* มีแหล่งกำเนิดมาจากทะเล เป็นแบคทีเรียที่ต้องการเกลือ โซเดียมคลอไรด์การเจริญ ดังโซเดียมคลอไรด์อาหารเลี้ยงที่เหมาะสมควรมีความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 2 - 4 % แต่อย่างไรก็ตามอาหารที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์มากกว่า 7 % หรือน้อยกว่า 1 % *V. parahaemolyticus* เริ่มปรับตัวให้อยู่สถานะที่ยังไม่ตายได้ อาจตายเมื่ออยู่น้ำธรรมชาติหรืออาหารที่ไม่มีส่วนประกอบของโซเดียมคลอไรด์

การเกิดพิษ

โรคที่เกิดจาก *V. parahaemolyticus* ลักษณะอาการของโรคนี้นี้คือทำให้ผู้ที่ได้รับเกิดอาการท้องเสีย เป็นตะคริวช่องท้อง มีอาการคลื่นเหียน วิงเวียน อาเจียน ปวดหัว มีไข้และหนาวสั่น อาการป่วยค่อนข้างบางเบาหรืออยู่เพียงระดับกลางๆแต่ก็มีบางรายที่ต้องเข้ารับการรักษาก็มี โรงพยาบาล ชนิดนี้มีระยะฟักตัว 4 - 96 ชั่วโมงหลังจากได้รับเข้าทางปากแต่โดยส่วนใหญ่แล้วอาการเกิดประมาณ 15 ชั่วโมงหลังจากได้รับ ผู้ป่วยแสดงอาการเมื่อรอดชีวิตไปอยู่ที่ลำไส้เล็กแล้วปล่อยสารพิษโดยยังไม่สามารถระบุชนิดของสารพิษได้ อาการท้องเสียที่เกิดขึ้นมักหยุดไปได้เอง

การแพร่ มักเกิดจากการรับประทานอาหารทะเลดิบ การปรุงไม่สุก หรือการปนเปื้อนข้ามจากการประกอบอาหารชนิดอื่น (Cross-contamination) หรือจากการสัมผัสน้ำทะเลที่มีปนเปื้อน ซึ่ง *V. parahaemolyticus* สามารถเจริญและแพร่พันธุ์ได้ดีที่อุณหภูมิห้องเนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญ เพราะจะกลุ่มเสี่ยงต่อโรคนี้เป็นกลุ่มที่ชอบรับประทานอาหารทะเลที่ปรุงไม่สุก หรือชอบรับประทานดิบ เช่น ปลาดิบ ปลาร้าดิบ หอยนางรมสด และหอยลวก เป็นต้น

การป้องกันรับประทานอาหารที่มีการปรุงสุกใหม่ๆ แยกอาหารสุกและดิบออกจากกัน รวมทั้งแยกอุปกรณ์การประกอบอาหารหรือทำความสะอาดอุปกรณ์สำหรับอาหารทะเลก่อนนำไปใช้กับอาหารชนิดอื่น

4. การทำนายการเจริญของจุลินทรีย์

ความปลอดภัยเป็นสิ่งสำคัญที่สุดต่อผู้บริโภค ดังวัตถุประสงค์หลักของการผลิตอาหาร คือ การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ และ ป้องกันการสร้างสารพิษที่เกิดจากจุลินทรีย์ซึ่งต้องมีการทดสอบหาสภาวะ และกระบวนการผลิตที่เหมาะสมที่มีการเจริญได้ยาก

โดยทั่วไปการตรวจหาการปนเปื้อนของอาหารมีอยู่หลายวิธีคือ Storage test, Microbial challenge test และ Microbial predictive model ซึ่ง storage test และ microbial challenge test เป็นการทำการทดลองหึ่งปฏิบัติกรกับตัวอย่างอาหารที่นำมาศึกษาภายใต้สภาวะที่ควบคุม ส่วน predictive microbial เป็นการประยุกต์ใช้แบบจำลองคณิตศาสตร์ เพื่ออธิบายการเจริญของจุลินทรีย์ หรือข้อมูลที่ได้จากการทดลองการป้องกันการเจริญของหรืออันตรายจากสารพิษที่อาจเกิดขึ้นจากการเจริญของจุลินทรีย์

การเจริญของจุลินทรีย์

การเจริญของจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ ตลอดจน โปรโตซัวและสาหร่ายบางชนิดที่อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว การเจริญของแบคทีเรียและยีสต์หมายถึงการเพิ่มจำนวนเซลล์ ซึ่งเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและฟิสิกส์ภายในเซลล์ การเจริญเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างยิ่งการดำรงชีวิต เซลล์แต่ละเซลล์มีช่วงอายุที่จำเพาะเจาะจงสำหรับสปีชีส์ หนึ่งๆ การเจริญของประชากรสามารถที่ตรวจสอบได้โดยการวัดการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์หรือมวลชีวภาพ (biomass) ของประชากรต่อหนึ่งหน่วยเวลา ซึ่งเรียกว่า อัตราการเจริญ (growth rate) เวลาที่ใช้การเพิ่มจำนวนประชากรจากเดิมเป็น 2 เท่า เรียกว่า generation time (doubling time) แตกต่างกันไปแต่ละ สปีชีส์ สภาวะแวดล้อมหนึ่งๆ การเจริญของจุลินทรีย์ สามารถบอกได้โดยการวัดความขุ่น (turbidity) ของ จุลินทรีย์อาหารเหลว การเพิ่มขนาดของโคโลนีบนอาหารแข็ง หรือการเพิ่มของจำนวนเซลล์ภายในกล้องจุลทรรศน์ ทั้งนี้การวัดต้องเทียบกับหน่วยเวลาจุลินทรีย์เซลล์เดี่ยวเจริญเพิ่มจำนวนด้วยการแบ่งเซลล์จาก 1 เป็น 2 (binary fission) เซลล์รุ่นลูกแต่ละเซลล์มีลักษณะเหมือนเซลล์แม่ทุกประการ เมื่อการแบ่งเซลล์สิ้นสุดลง จำนวนเซลล์หรือมวลชีวภาพ (biomass) เพิ่มขึ้น 2 เท่าของเซลล์

การเจริญของจุลินทรีย์สามารถศึกษาได้จากกราฟการเติบโต (growth curve) โดยที่กราฟการเติบโตปกติ (typical growth curve) แสดงให้เห็นถึงระยะการเติบโต 4 ขั้นตอนด้วยกัน คือ

1. ระยะการปรับตัว (lag phase) เซลล์อยู่ช่วงการปรับตัวก่อนแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวน เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เป็นต้น
2. ระยะการเพิ่มจำนวน (log/exponential phase) เซลล์มีการเจริญอย่างเต็มที่ จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นแบบ exponential
3. ระยะคงที่ (stationary phase) อัตราการเพิ่มมวลชีวภาพเป็น 0 คืออัตราการเพิ่มจำนวน และอัตราการตายมีค่าเท่ากัน
4. ระยะลดลง (decline phase) จำนวนของเซลล์ที่มีชีวิตลดลง อัตราการเพิ่มจำนวนน้อยกว่าอัตราการตายอาจเนื่องมาจาก อาหารที่ใช้การเจริญหมด เป็นต้น

การทำนายจำนวนจุลินทรีย์อาหาร เป็นแขนงความรู้หนึ่งของวิชาจุลชีววิทยาอาหาร ศาสตร์ทางด้านนี้เป็นการรวมกันของศาสตร์อื่นๆ หลายด้าน ได้แก่ คณิตศาสตร์ จุลชีววิทยา วิศวกรรมอาหารและวิทยาศาสตร์ทางเคมี เพื่อพัฒนาและประยุกต์ใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ การทำนายจำนวนจุลินทรีย์เป็น โปรแกรมแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่ออธิบายและคาดการณ์การเจริญและการอยู่รอดของจุลินทรีย์ภายใต้เวลาและสภาวะที่กำหนด ซึ่งจุลินทรีย์เจริญได้ดีหรือไม่ ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น อุณหภูมิ หรือ ปริมาณน้ำอิสระ เป็นต้น ผลที่ได้จากการวัดการเจริญของ จุลินทรีย์ที่ขึ้นกับปัจจัยต่างๆ สามารถนำมาพัฒนาเป็นแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ได้ (McDonald and Sun, 1999)

แบบจำลองทางคณิตศาสตร์สามารถอธิบายพฤติกรรมของจุลินทรีย์ได้ภายใต้สภาวะที่สนใจ อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้นี้มาจากการทำนายโดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ต้องมีการยืนยันผลที่ได้จากการทำนายกับข้อมูลการทดลองจริงซึ่งการยืนยันผล อาจใช้ความรู้ทางสถิติช่วยการตัดสินใจ การยืนยันผลมี 2 ส่วนคือ การยืนยันผลภายใน และการยืนยันผลภายนอก ซึ่งการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทำนายกับค่าจากการทดลองมีหลายวิธี (Buchanan and Bagi, 1994)

แบบจำลองทำให้เข้าใจพฤติกรรมของจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะที่ศึกษา แบบจำลองที่พัฒนาขึ้นไม่ได้มีความเหมาะสมทุกสภาวะ จึงต้องมีการทวนสอบแบบจำลองก่อนที่นำแบบจำลองไปใช้กระบวนการผลิตจริง การทวนสอบใช้ความรู้ของระบบทางชีวภาพและเครื่องมือทางสถิติ (López et al., 2004; Whitting , 1995)

ข้อดีของแบบจำลอง

1. ทำนายความปลอดภัย: ประเมินความเสี่ยงของการเจริญหรืออยู่รอดของการแปรรูปอาหาร
2. การควบคุมคุณภาพ: ใช้แบบจำลองเพื่อปรับปรุงระบบเช่น HACCP (Hazard Analysis Critical Control) เพื่อความปลอดภัยของอาหาร
3. การพัฒนาผลิตภัณฑ์: ออกแบบสูตรและกระบวนการผลิต ลำดับความสำคัญการผลิตผลิตภัณฑ์
4. การวิเคราะห์ข้อมูลและการวางแผนปฏิบัติการ: แบบจำลองสามารถประหยัดเวลาและเงิน
5. การประเมินความเสี่ยง : ประเมินความน่าเป็นที่อาหารก่อให้เกิดการเจ็บป่วย

ชนิดของโมเดล

การทำนายการเจริญของจุลินทรีย์อาหารเป็นการใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์มาอธิบายการปริมาณของภายใต้สภาวะที่สนใจโดยนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาใช้ร่วมกับแบบจำลองทางคณิตศาสตร์และแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สามารถทำนายผลการเจริญของที่สภาวะใหม่ได้ทั้งช่วงที่ทำการทดลองและนอกช่วงการทดลอง (Alzamora et al., 2000; Lebert and Lebert, 2006)

แบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับการเจริญของจุลินทรีย์แบ่งได้เป็น 3 ประเภท

1. แบบจำลองปฐมภูมิ (primary model) โดยแบบจำลองปฐมภูมิอธิบายวิวัฒนาการ

ของจุลินทรีย์ฟังก์ชันของเวลาสถานะที่คงที่ สภาวะอุณหภูมิคงที่คือ สภาวะ ณ อุณหภูมิหนึ่งที่ศึกษาปริมาณของโดยมีการเปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาการเก็บรักษา การวัดการเจริญของมีหลายวิธี เช่น จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Viable Count) และ ปริมาณสารพิษที่สร้างขึ้น เป็นต้น โดยทั่วไปการเจริญของจุลินทรีย์แบ่งออกเป็น 4 ช่วง คือ ระยะปรับตัว (lag phase), ระยะเพิ่มจำนวน (exponential phase), ระยะคงที่ (stationary phase) และ ระยะตาย (death phase)

2. แบบจำลองทุติยภูมิ (secondary model) เป็นแบบจำลองที่สามารถอธิบายการเจริญได้โดยขึ้นกับปัจจัยต่างๆที่มากกว่าปฐมภูมิ ทั้งด้านอุณหภูมิ, ปริมาณน้ำอิสระ, ค่าความเป็นกรด-เบส และกรดอินทรีย์ เป็นต้น แบบจำลองประเภทนี้ใช้การอธิบายผลของพารามิเตอร์แบบจำลองปฐมภูมิ (ระยะเริ่มต้น, อัตราการเจริญสูงสุด) เช่นปี 1992 Dickson และคณะ ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของ *Salmonella typhimurium* เนื้อวัว โดยใช้การอธิบายการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรแบบจำลองปฐมภูมิกรณีปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปและมีการศึกษาเพิ่มมากขึ้นเช่น *Morganella morganii* (Emborg and Dalgaard, 2008), *V. parahaemolyticus* (Yoon et al., 2008), *Listeria monocytogenes* (Koseki and Isobe, 2005), *Lactobacillus* (Messens et al., 2003) เป็นต้น

3. แบบจำลองตติยภูมิ (tertiary model) เป็นการนำเอาแบบจำลองปฐมภูมิและแบบจำลองทุติยภูมิมาประยุกต์ใช้ร่วมกันโดยศึกษาที่กรณีปัจจัยมีการเปลี่ยนแปลงเช่น อุณหภูมิ, ปริมาณน้ำอิสระหรือค่าความเป็นกรด-เบส เป็นต้น โดยใช้ทำนายการเจริญของจุลินทรีย์ร่วมกับการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ การใช้แบบจำลองตติยภูมิสามารถทำนายการเจริญได้ง่ายและมีประสิทธิภาพ (Buchanan, 1993; Whiting, 1995) สหรัฐอเมริกา ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร ได้ทำการพัฒนา USDA Pathogen Modelling Program เป็นโปรแกรมที่มีความหลากหลายเป็นการรวมกันระหว่าง Gompertz model กับกราฟวิเคราะห์การตอบสนองบนพื้นที่โดยใช้ข้อมูลจากการทดลองอาหารเลี้ยง ต่อมาปี 1998 มีการพัฒนาเวอร์ชันใหม่การทำนายการเจริญ *Clostridium* และการอยู่รอดของ *Clostridium* และใช้การทำนายการอยู่รอดของ *Salmonella* และ *Escherichia coli* กรณีที่มีการฉายรังสีเนื้อสัตว์ (Whiting, 1995), ต่อมา MAFF (The United Kingdom's Ministry of Agriculture, Fisheries and Food) ได้พัฒนาซอฟต์แวร์ทำนายการเจริญของจุลินทรีย์สภาพแวดล้อม (Adair et al., 1989) โดย Food MicroModel สามารถทำนายการปนเปื้อนของอาหารได้อย่างน้อย 12 ชนิด

ตารางที่ 2 ชนิดของโมเดล

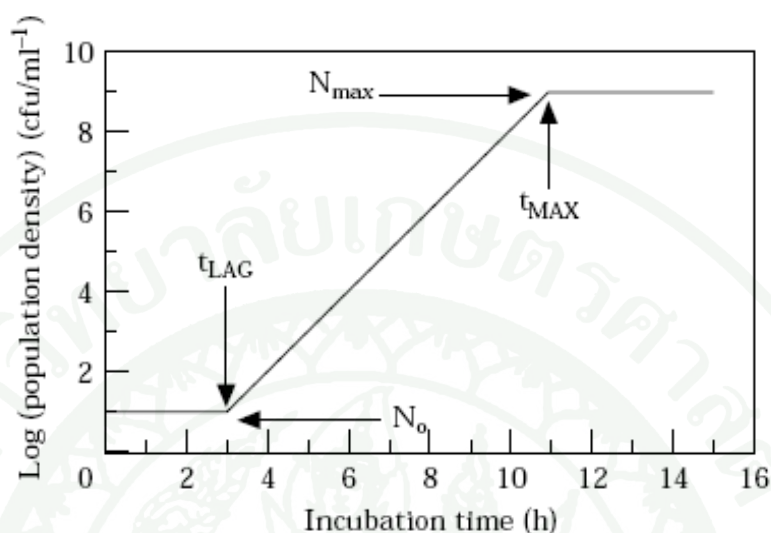
Primary model	Secondary model	Tertiary model
Model for growth	Belehradek model	USDA Pathogen
Modified Gompertz model	(<i>square-root model</i>)	Modelling Program
Logistic model	Ratkowsky model	Food MicroModel
Baranyi model	(<i>square-root model</i>)	
First-order monod model	Arrhenius model	Pseudomonas Predictor
Modified monod model	Modified Arrhenius models	Expert Systems
Three-phase linear model	(<i>Davey or Schoolfield</i>)	
Model for death	Probability models	
<i>D</i> values of thermal inactivation	<i>Z</i> values	
Growth decline model of	Polynomial or response	
Whiting and Cygnarowicz	Surface models	
First order kinetic	Williams–Landel Ferry mode	
Whiting-Buchanan model		
Modified Gompertz model		
Buchanan model		
Cerf model		

ที่มา: McDonald and Sun (1999)

โมเดลทำนายการเจริญของจุลินทรีย์

การทำนายการเจริญของจุลินทรีย์ต้องการข้อมูล ใน 3 ระยะของการเจริญของ เพื่อนำมาทำนายการเจริญของคือ ระยะปรับตัว (lag phase) ระยะเพิ่มจำนวน (exponential phase) และ ระยะคงที่ (stationary phase) แสดงภาพที่ 1 ซึ่งระยะปรับตัวกำหนดให้มีการแบ่งตัวน้อยหรือแทบไม่มีการแบ่งตัวเลยทำให้อัตราการเจริญมีค่าเท่ากับ 0 ต่อมาเซลล์เริ่มเจริญทำให้มีอัตราการ

เจริญเพิ่มขึ้นและระยะคงที่อัตราการเจริญก็คงที่เช่นกันระยะนี้ไม่มีการเจริญของทำให้อัตราการเจริญคงที่



ภาพที่ 1 ระยะการเจริญของจุลินทรีย์ที่ใช้การทำนาย

ที่มา: Buchanan and Whiting (1997)

แบบจำลองปฐมภูมิที่นิยมใช้การทำนายการเจริญของจุลินทรีย์มีดังนี้ Logistic model, Gompertz model, Baranyi model, Hills model, Buchanan model และ Mckellar model เป็นต้น Logistic model และ Gompertz model มีพื้นฐานมาจาก Sigmoidal function เนื่องจากเป็นรูปแบบฟังก์ชันที่ใช้เป็นตัวแทนข้อมูลการเจริญของจุลินทรีย์ที่ได้รับความนิยมมากที่สุด เพราะฟังก์ชันนี้ประกอบด้วย 4 ส่วนซึ่งคล้ายกับโค้งการเจริญของจุลินทรีย์จากระยะปรับตัว ถึง ระยะคงที่

แบบจำลองปฐมภูมิ เป็นแบบจำลองที่นิยมใช้การทำนายการเจริญและการลดลงของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นแบบจำลองที่ใช้ทำนายการเจริญของที่เปลี่ยนแปลงไปต่อเวลาแบบจำลองที่ใช้การทำนายเช่น

แบบจำลองลำดับที่หนึ่ง มีรูปแบบแบบจำลองดังนี้

$$N(t) = N_0 e^{-kt} \quad (1)$$

โดยที่ $N(t)$ คือจำนวนจุลินทรีย์ที่เวลาใด ๆ มีหน่วยเป็น (log MPN/g) N_0 เป็นจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น มีหน่วยเป็น (log MPN/g) k เป็นอัตราการอยู่รอดหรือการเจริญของ มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)⁻¹ และ t คือ เวลา มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง) (McKellar, 1997)

นอกจากนี้ก็มีแบบจำลองที่ไม่เป็นเส้นตรงที่ใช้การทำนายการเจริญของแบคทีเรีย คือแบบจำลองของ Modified Gompertz มีรูปแบบแบบจำลองดังนี้

Modified Gompertz

$$Y = A * \exp\{-\exp[(\mu e / A)(\lambda - t) + 1]\} \quad (2)$$

$$Y = \ln \frac{N}{N_0} \quad (3)$$

$$A = \ln \frac{N_\infty}{N_0} \quad (4)$$

โดยที่ N คือจำนวนจุลินทรีย์ที่เวลาใด ๆ มีหน่วยเป็น (log MPN/g) N_0 เป็นจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น มีหน่วยเป็น (log MPN/g) N_∞ เป็นจำนวนจุลินทรีย์ที่เข้าสู่สภาวะคงที่ มีหน่วยเป็น (log MPN/g) μ เป็นอัตราการอยู่รอดหรือการเจริญสูงสุด มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)⁻¹ λ เป็นระยะเวลาปรับตัวของแบคทีเรียเพื่อเข้าสู่ระยะการแบ่งตัว มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง) และ t คือ เวลา มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)

นักวิจัยนำแบบจำลอง Modified Gompertz เพื่อใช้อธิบายพฤติกรรมของจุลินทรีย์ที่แสดงการเจริญที่สภาวะแวดล้อมต่างๆ เช่น การทำนาย *Salmonella* (Erkmen, 2009; Tamagnini et al., 2008) และ *Vibrio parahaemolyticus* (Yoon et al., 2008) เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถประยุกต์ใช้กับการทำนายจำนวนจุลินทรีย์ 2 ชนิดที่สามารถอยู่ร่วมกันได้ เช่น *Pseudomonas* spp. กับ *Listeria* spp. (Lebert et al., 2000)

Baranyi ได้เสนอแบบจำลองที่ใช้การทำนายการเจริญจุลินทรีย์เป็นฟังก์ชันที่เกี่ยวข้องลักษณะทางกายภาพของจุลินทรีย์มีรูปแบบแบบจำลองดังนี้

$$\ln N = \ln N_0 + \mu * A_t - \frac{1}{m} * \ln \left[1 + \left[\frac{e^{\mu m A_t} - 1}{e^{\frac{m \ln \frac{N_\infty}{N_0}}}} \right] \right] \quad (5)$$

$$A(t) = t + \frac{1}{\mu} \ln(e^{-\mu t} + e^{-h_0} - e^{-\mu t - h_0}) \quad (6)$$

$$h_0 = \mu \lambda \quad (7)$$

โดยที่ N คือจำนวนจุลินทรีย์ที่เวลาใดๆ มีหน่วยเป็น (log MPN/g) N_0 เป็นจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น มีหน่วยเป็น (log MPN/g) N_∞ เป็นจำนวนจุลินทรีย์ที่เข้าสู่สภาวะคงที่มีหน่วยเป็น (log MPN/g) μ เป็นอัตราการเจริญสูงสุด มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)⁻¹ m มีค่าเท่ากับ 1 λ เป็นระยะเวลาปรับตัวของแบคทีเรียเพื่อเข้าสู่ระยะการแบ่งตัว มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง) และ t คือ เวลา มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)

Baranyi model เป็นอีกหนึ่งแบบจำลองที่ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางหมั่นกวิจยตั้งแต่ปี ค.ศ. 1990 แบบจำลองนี้เหมาะสมที่ใช้อธิบายวิวัฒนาการของจุลินทรีย์ที่อยู่ระบบเดียวกันตัวอย่างการใช้แบบจำลอง Baranyi การทำนายเช่น *Listeria monocytogenes* (McClure et al., 1997), *E. coli* (Bernaerts et al., 2000), *Y. enterocolitica* (Pin et al., 2000), *Salmonella* (Juneja et al., 2009), *V. parahaemolyticus* (Yang et al. 2009) เป็นต้น

นอกจากนี้ยังสามารถประยุกต์แบบจำลองนี้ให้เหมาะสมกับการทำนายได้อีก และยังมีการพัฒนาให้อยู่รูปแบบของโปรแกรมเช่น ดีเอ็มฟิต (DMFit) และ ไมโครฟิต (MicroFit) ซึ่งถูกสร้างโดยสถาบันวิจัยอาหารสหรัฐอเมริกา แบบจำลองของ Baranyi เคยนำมาใช้การอธิบายการเจริญของ *Escherichia coli* ที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมการเจริญ และใช้พัฒนา ไดนามิกโมเดล (Dynamic growth model) ของ *Listeria monocytogenes* นม เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างรวดเร็วและช้าต่อการเจริญของ *Listeria monocytogenes* (Lebert et al., 2000)

แบบจำลองที่ใช้การทำนายช่วงการลดลงของจุลินทรีย์เช่น

Weibull model

$$\log\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = -bt^n \quad (8)$$

โดยที่ N_t คือจำนวนจุลินทรีย์ที่เวลาใดๆ มีหน่วยเป็น (log MPN/g) N_0 เป็นจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น มีหน่วยเป็น (log MPN/g) b เป็นอัตราการอยู่รอด มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)⁻ⁿ n ลักษณะการลดลงของแบคทีเรีย และ t คือ เวลา มีหน่วยเป็น(ชั่วโมง)

แบบจำลองทุติยภูมิ เป็นแบบจำลองที่สามารถอธิบายการเจริญได้โดยขึ้นกับปัจจัยต่างๆที่มากกว่าปฐมภูมิ ทั้งด้านอุณหภูมิ, ปริมาณน้ำอิสระอาหาร, ค่าความเป็นกรด-เบส และกรดอินทรีย์ เป็นต้น ตัวอย่างแบบจำลองทุติยภูมิที่ใช้ทำนายกันอย่างกว้างขวาง เช่น Arrhenius equation และ Square Root-Type Model เป็นต้น โดย Square Root-Type Model เป็นแบบจำลองหนึ่งที่น่าสนใจกันอย่างกว้างขวางหมื่นนักวิจัยตั้งแต่ปี 1992

รูปแบบของแบบจำลองทุติยภูมิ

Kholer model

$$\mu_s = b^2(T - T_{\min})^2 \{1 - \exp[c(T - T_{\max})]\}^2 \quad (9)$$

โดยที่ μ_s คืออัตราการอยู่รอดสูงสุด มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)⁻¹ b และ c เป็นตัวแปรที่ไม่มี ความหมาย T เป็นอุณหภูมิ มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส $T_{\min}$ เป็นอุณหภูมิต่ำสุดที่แบคทีเรียสามารถอยู่รอดได้ มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส และ $T_{\max}$ เป็นอุณหภูมิสูงสุดที่แบคทีเรียสามารถอยู่รอดได้ มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส

แบบจำลองใช้อธิบายผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของโดยใช้การทำนายอัตราการเจริญช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ไม่คงที่โดยมีการนำมาใช้อย่างกว้างขวางการทำนายอัตราการเจริญของ เช่น *Vibrio parahaemolyticus* (Yoon et al. 2008), *Salmonella* (Juneja et al., 2007) เป็นต้น

Ratkowsky model

$$\mu_g = b(T - T_{\min})^2 \{1 - \exp[c(T - T_{\max})]\} \quad (10)$$

โดยที่ μ_g คืออัตราการเจริญสูงสุด มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)⁻¹ b และ c เป็นตัวแปรที่ไม่มี
ความหมาย T เป็นอุณหภูมิ มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส $T_{\min}$ เป็นอุณหภูมิต่ำสุดที่แบคทีเรียสามารถ
เจริญได้ มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส และ $T_{\max}$ เป็นอุณหภูมิสูงสุดที่แบคทีเรียสามารถเจริญได้ มี
หน่วยเป็นองศาเซลเซียส

แบบจำลองใช้อธิบายผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของโดยใช้การทำนายอัตราการ
ลดลงช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ไม่คงที่โดยมีการนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการทำนายอัตรา
การลดลงของเช่น *Brochothrix thermosphacta* (Van Impe et al., 1992), *Lactobacillus plantarum*
(Van Impe et al., 1992)

Asymptote temperature model

$$A = b\{1 - e[c(T - T_{A\max})]\} \quad (11)$$

โดยที่ A คือ ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนจุลินทรีย์ที่ตำแหน่งเข้าสู่ระยะคงที่กับจำนวน
จุลินทรีย์เริ่มต้น มีหน่วยเป็น (log MPN/g) b และ c เป็นตัวแปรที่ไม่มีความหมาย T เป็นอุณหภูมิ มี
หน่วยเป็นองศาเซลเซียส และ $T_{\max}$ เป็นอุณหภูมิสูงสุดที่จุลินทรีย์มีค่าสูงสุด มีหน่วยเป็นองศา
เซลเซียส

แบบจำลองใช้อธิบายผลของอุณหภูมิต่อจำนวนโดยใช้การทำนายปริมาณการลดลงและ
เพิ่มจำนวนของช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ไม่คงที่โดยมีการนำมาใช้การทำนายปริมาณเช่น
Lactobacillus plantarum (Zwietering et al., 1991)

Non-linear Arrhenius model

$$\lambda = A + \frac{B}{T} + \frac{C}{T^2} \quad (12)$$

โดยที่ λ คือระยะเวลาการปรับตัวเข้าสู่ระยะการแบ่งตัว A, B และ C เป็นตัวแปรที่ไม่มี
ความหมาย และ T เป็นอุณหภูมิ มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส

แบบจำลองใช้อธิบายผลของอุณหภูมิต่อระยะเวลาการปรับตัวของช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลง
อุณหภูมิที่ไม่คงที่โดยมีการนำมาใช้การทำนายปริมาณเช่น *Lactobacillus plantarum* (Zwietering et
al., 1991)



อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. คอมพิวเตอร์ระบบปฏิบัติการ Windows XP
2. โปรแกรมคอมพิวเตอร์ Microsoft office 2003
3. โปรแกรมคอมพิวเตอร์ Kyplot

วิธีการ

1. การเก็บรวบรวมข้อมูล
2. การสร้างแบบจำลองการทำนายปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus*
3. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพแบบจำลอง
4. การทวนสอบความแม่นยำของแบบจำลอง

1. การเก็บรวบรวมข้อมูล

ทำการเก็บรวบรวมข้อมูลการเจริญของไวรัส โอ พาราเฮโมไลติคัสจากห้องปฏิบัติการ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พิจิตตรา และ จิตศิริ, 2009)

1.1 สายพันธุ์แบคทีเรียและการเตรียมตัวอย่าง

สายพันธุ์ของไวรัส โอ คือ BCC 24339 เป็นสายพันธุ์ก่อโรคและมียีน *tdh* (thermostable direct hemolysin (*tdh*+/*trh*-)) ทำการแยกสายพันธุ์ที่มียีน *tdh* กู้จากภาควิชาสาธารณสุข มหาวิทยาลัยมหิดล ประเทศไทยโดยทำการทดสอบความเป็นพิษจากการวิเคราะห์จากยีนโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ (PCR, Polymerase Chain Reaction) สายพันธุ์ที่แยกออกมาได้เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส มีปริมาณประมาณ 10^9 - 10^{10} cfu/g อาหาร Tryptic soy broth (TSB; Merck, Darmstadt, Germany) ที่เติม NaCl 3% (w/v) และ 3% กลีเซอรอล(Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo, USA) โดยแต่ละการทดลองนำมา 10 ไมโครลิตรใส่ฟลasks ที่กายบรรจุ TSB และ NaCl 3% (w/v) ที่ผ่านการฆ่าแล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการบ่ม rotary shaker

(SK-300, Jeio Tech, Korea) 140 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง ถ่ายและบ่มไว้ 18 ชั่วโมงก่อนนำมาใช้ การนำมาใช้นำมา 1 มิลลิลิตร บรรจุ 9 มิลลิลิตร ของ phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4) แล้วนำไปบ่มบนตัวกึ่ง

1.2 การเตรียมกึ่งและบ่ม

กึ่งขาวแซ่แข็งซื้อมาจาก โฮม เฟรช มาร์เก็ต ห้างสรรพสินค้า เดอะมอลล์ (นนทบุรี) เดือนธันวาคม 2550 เป็นกึ่งแซ่แข็งบรรจุถุงพลาสติกภายใต้สภาวะสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างกึ่งมาทำการละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน แต่ละการทดลองนำตัวอย่างกึ่งประมาณ 500 กรัม (25-30 ชิ้น) จุ่มสารละลาย 1 ลิตรที่มี *Vibrio parahaemolyticus* จำนวน 5 log cfu/g เป็นเวลา 15 นาที ทำให้ตัวอย่างกึ่งมีเริ่มต้นประมาณ 4 CFU/g จากนั้นนำตัวอย่างกึ่ง 50 กรัมบรรจุลงถุงพลาสติกที่ผ่านการฆ่าแล้วบ่มที่อุณหภูมิ -20 และ -10 องศาเซลเซียส ดำเนินการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 7, 14, 21 และ 28 กึ่งที่เก็บรักษาที่ 0 และ 4 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุก 0 จนครบ 6 วัน การเก็บตัวอย่างกึ่งที่อุณหภูมิ 20, 37 และ 44 องศาเซลเซียส ทุก 1 ชั่วโมง จนกระทั่งครบเวลา 16, 9 และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ

1.3 การตรวจนับ *Vibrio parahaemolyticus* ด้วยวิธี MPN (Bacteriological Analytical Manual; FDA, 2006)

การนับจำนวนก่อโรค *V. parahaemolyticus* โดยใช้วิธี MPN และทวนสอบด้วยวิธี PCR (MPN-PCR) ดำเนินการเก็บตัวอย่างกึ่งที่บ่มแล้ว 50 กรัม เจือจางสารละลาย ฟอสเฟสบัฟเฟอร์ 450 ml, pH 4.7 นำมาตีปั่นด้วยเครื่องตีปั่นเป็นเวลา 60 วินาทีด้วยความเร็วสูงสุด หลังจากตีปั่นตัวอย่างด้วย phosphate buffer saline ให้ได้ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ Alkaline peptone water (APW; Merck, Darmstadt, Germany) ประกอบด้วย 3 % sodium chloride คือ 0.1, 0.01 และ 0.001 ml จาก ปิเปตแต่ละระดับความเข้มข้น ใส่ลง APW ปริมาตร 9 ml ที่ระดับความเข้มข้นละ 3 หลอด เพาะที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจาก 24 ชั่วโมง สังเกตดูความขุ่นของหลอดทดลอง จากนั้นนำตัวอย่างหลอดทดลองที่ขุ่น 0.1 ml ปิเปตใส่หลอดทดลองขนาดเล็ก (micro tube) ต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาทีและถ่ายตัวอย่าง 1 µl แล้วดำเนินการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ดังแสดงตารางที่ 3 ซึ่งเทคนิค PCR ใช้ electrophoresis 1.8% (w/v) agarose gel (Research Organic, Ohio, USA) 0.5X Tris-borate buffer

(Bioexcellence, Bangkok, Thailand) ย้อมด้วย eithidium bromide และ UV ซึ่งก่อโรค *V. parahaemolyticus* มียีน *tdh* เป็นองค์ประกอบ

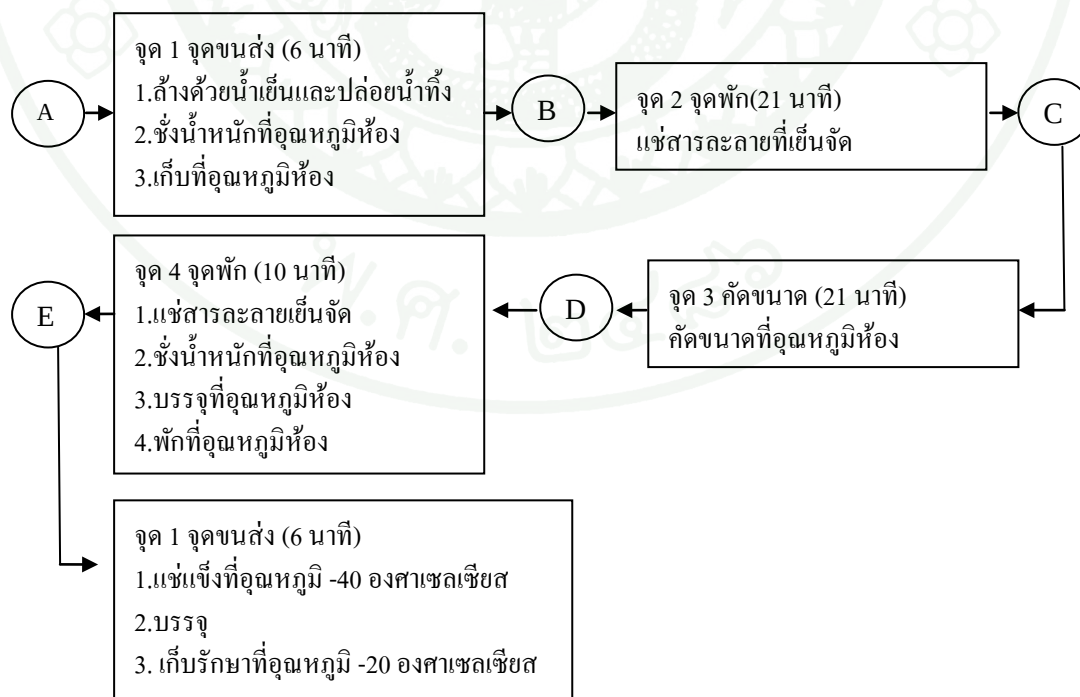
ตารางที่ 3 แสดงสถานะการทำ ปฏิกิริยา PCR

ขั้นตอน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาท)	จำนวนรอบ
1. Initial denaturation	100	10	30
2. Denaturation	94	1	30
3. Annealing	55	1	30
4. Extension	72	1	30

ที่มา: พิจิตรา และ จิตศิริ (2009)

1.4 การเก็บตัวอย่างโรงงาน

เก็บตัวอย่างกุ้ง 1 กิโลกรัม จากแต่ละจุดภายในโรงงาน ดังแสดงภาพที่ 2 จำนวน 3 ซ้ำ



ภาพที่ 2 การเก็บตัวอย่างกุ้งภายในโรงงานแช่แข็ง

2. การสร้างแบบจำลองการทำนายปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus*

การสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์การทำนายปริมาณจุลินทรีย์ดำเนินการสร้าง 3 แบบ คือ แบบจำลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ แบบจำลองการเจริญของจุลินทรีย์ และแบบจำลองรวมการอยู่รอดและการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งแบบจำลองการลดลงของจุลินทรีย์ ใช้ข้อมูล ณ อุณหภูมิ 10, 4, 0, -10 และ -20 องศาเซลเซียส แบบจำลองช่วงการเจริญใช้ข้อมูล ณ อุณหภูมิ 44, 34, 25, 20 และ 15 องศาเซลเซียส

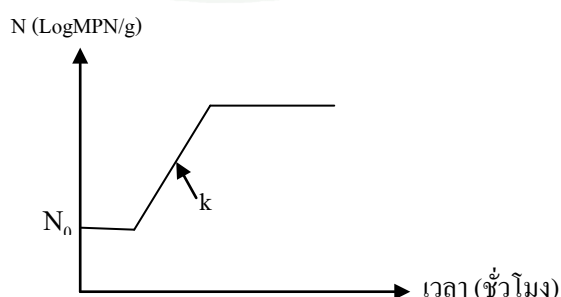
2.1 แบบจำลองปฐมภูมิ

การสร้างแบบจำลองปฐมภูมิ นำข้อมูลจากข้อ 1.3 มาจัดให้อยู่รูปความสัมพันธ์ของจำนวนจุลินทรีย์กับเวลา ณ อุณหภูมิที่ศึกษา โดยจำนวนจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น แบบจำลองที่ใช้การทำนายการลดลงและการเจริญมี 2 ลักษณะ คือแบบเส้นตรง (linear) ดังแบบจำลอง (1) และ แบบที่ไม่ใช่เส้นตรง (non-linear) ดังแบบจำลอง (2), (3), (4), (5), (6), (7) และ (8)

แบบจำลองลำดับที่หนึ่ง มีรูปแบบแบบจำลองดังนี้

$$N(t) = N_0 e^{-kt} \quad (1)$$

โดยที่ $N(t)$ คือจำนวนจุลินทรีย์ที่เวลาใด ๆ มีหน่วยเป็น (log MPN/g) N_0 เป็นจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น มีหน่วยเป็น (log MPN/g) k เป็นอัตราการอยู่รอดหรือการเจริญของ มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)⁻¹ สามารถหาได้จากความชันของกราฟระหว่าง $N(t)$ กับเวลา และ t คือ เวลา มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง) (McKellar, 1997) ดังแสดงภาพด้านล่าง



ภาพที่ 3 แสดงการคำนวณตัวแปรของแบบ First order kinetic

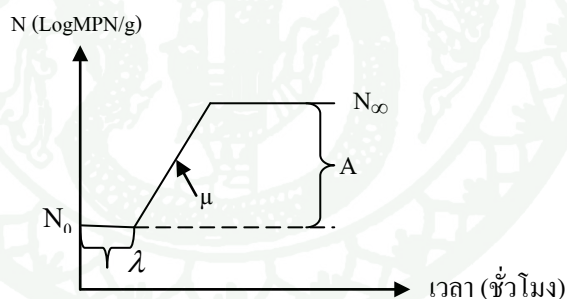
Modified Gompertz

$$Y = A * \exp\{-\exp[(\mu e / A)(\lambda - t) + 1]\} \quad (2)$$

$$Y = \ln \frac{N}{N_0} \quad (3)$$

$$A = \ln \frac{N_\infty}{N_0} \quad (4)$$

โดยที่ N คือจำนวนจุลินทรีย์ที่เวลาใดๆ มีหน่วยเป็น (log MPN/g) N_0 เป็นจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น มีหน่วยเป็น (log MPN/g) N_∞ เป็นจำนวนจุลินทรีย์ที่เข้าสู่สภาวะคงที่ มีหน่วยเป็น (log MPN/g) μ เป็นอัตราการอยู่รอดหรือการเจริญสูงสุด สามารถหาได้จากความชันของกราฟ มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)⁻¹ λ เป็นระยะเวลาปรับตัวของแบคทีเรียเพื่อเข้าสู่ระยะการแบ่งตัว มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง) และ t คือ เวลา มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง) ดังแสดงภาพด้านล่าง



ภาพที่ 4 การคำนวณตัวแปรของแบบ Modified Gompertz

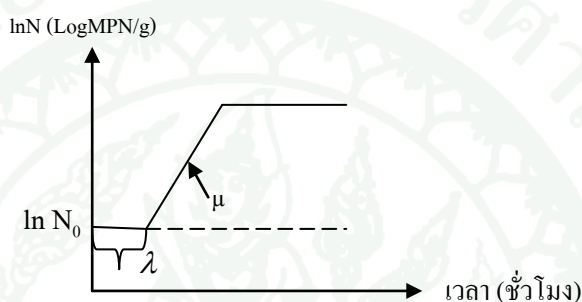
Baranyi model

$$\ln N = \ln N_0 + \mu * A_t - \frac{1}{m} * \ln \left[1 + \left[\left(\frac{e^{\mu m A_t} - 1}{e^{\frac{m \ln \frac{N_\infty}{N_0}}}} \right) \right] \right] \quad (5)$$

$$A(t) = t + \frac{1}{\mu} \ln(e^{-\mu t} + e^{-h_0} - e^{-\mu t - h_0}) \quad (6)$$

$$h_0 = \mu\lambda \quad (7)$$

โดยที่ N คือจำนวนจุลินทรีย์ที่เวลาใดๆ มีหน่วยเป็น (log MPN/g) N_0 เป็นจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น มีหน่วยเป็น (log MPN/g) N_∞ เป็นจำนวนจุลินทรีย์ที่เข้าสู่สภาวะคงที่ มีหน่วยเป็น (log MPN/g) μ เป็นอัตราการเจริญสูงสุด มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)⁻¹ m มีค่าเท่ากับ $1/\lambda$ เป็นระยะเวลาปรับตัวของแบคทีเรียเพื่อเข้าสู่ระยะการแบ่งตัว มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง) และ t คือ เวลา มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)



ภาพที่ 5 การคำนวณตัวแปรของแบบจำลอง Baranyi

แบบจำลองที่ใช้การทำนายช่วงการลดลงของจุลินทรีย์เช่น

Modified Gompertz

$$Y = A * \exp\{-\exp[(\mu e / A)(\lambda - t) + 1]\} \quad (2)$$

$$Y = \ln \frac{N}{N_0} \quad (3)$$

$$A = \ln \frac{N_\infty}{N_0} \quad (4)$$

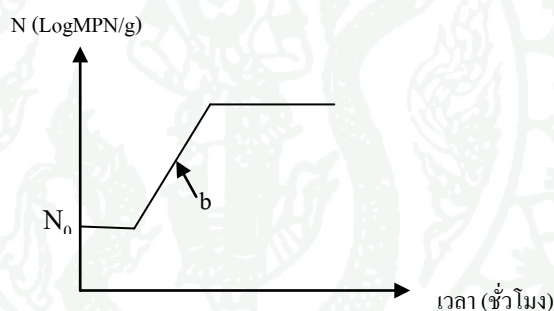
โดยที่ N คือจำนวนจุลินทรีย์ที่เวลาใดๆ มีหน่วยเป็น (log MPN/g) N_0 เป็นจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น มีหน่วยเป็น (log MPN/g) N_∞ เป็นจำนวนจุลินทรีย์ที่เข้าสู่สภาวะคงที่ มีหน่วยเป็น (log MPN/g) μ เป็นอัตราการอยู่รอดหรือการเจริญสูงสุด มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)⁻¹ λ เป็นระยะเวลา

ปรับตัวของแบคทีเรียเพื่อเข้าสู่ระยะการแบ่งตัว มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง) และ t คือ เวลา มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)

Weibull model

$$\log\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = -bt^n \quad (8)$$

โดยที่ N_t คือจำนวนจุลินทรีย์ที่เวลาใดๆ มีหน่วยเป็น (log MPN/g) N_0 เป็นจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น มีหน่วยเป็น (log MPN/g) b เป็นอัตราการอยู่รอด มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)⁻ⁿ ลักษณะการลดลงของแบคทีเรียสามารถคำนวณโดยใช้โปรแกรม solver และ t คือ เวลา มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)



ภาพที่ 6 การคำนวณตัวแปรของแบบจำลอง weibull

2.2 แบบจำลองทศนิยม

โดยวิธีการสร้างแบบจำลองทศนิยมการทำนายการเปลี่ยนแปลงของมีวิธีการทำนายอยู่

2 วิธี

วิธีที่ 1 วิธีการแยกข้อมูล (Seperating approach) วิเคราะห์ข้อมูลแยกระหว่างการอยู่รอดและการเจริญจุลินทรีย์เพื่อสร้างแบบจำลองทศนิยม

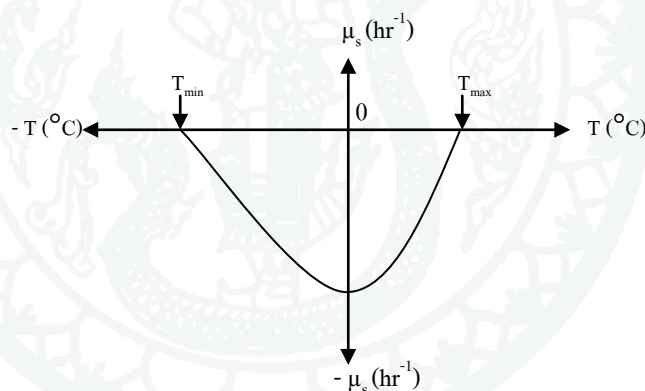
วิธีที่ 2 วิธีการรวมข้อมูล (combining approach) วิเคราะห์ข้อมูลการอยู่รอดและการเจริญของจุลินทรีย์พร้อมกันเพื่อสร้างแบบจำลองปฏิกิริยา

แบบจำลองพหุคูณที่ใช้การคำนวณ

Kholer model

$$\mu_s = b^2 (T - T_{\min})^2 \{1 - \exp[c(T - T_{\max})]\}^2 \quad (9)$$

โดยที่ μ_s คืออัตราการอยู่รอดสูงสุด มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)⁻¹ b และ c เป็นตัวแปรที่ไม่มี
ความหมาย T เป็นอุณหภูมิ มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส $T_{\min}$ เป็นอุณหภูมิต่ำสุดที่แบคทีเรียสามารถ
อยู่รอดได้ มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส และ $T_{\max}$ เป็นอุณหภูมิสูงสุดที่แบคทีเรียสามารถอยู่รอดได้ มี
หน่วยเป็นองศาเซลเซียส



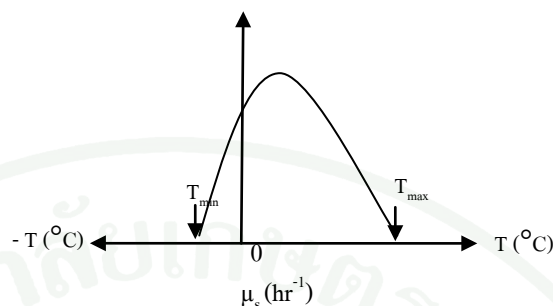
ภาพที่ 7 การคำนวณตัวแปรของแบบจำลอง Kholer

Ratkowsky model

$$\mu_g = b(T - T_{\min})^2 \{1 - \exp[c(T - T_{\max})]\} \quad (10)$$

โดยที่ μ_g คืออัตราการเจริญสูงสุด มีหน่วยเป็น (ชั่วโมง)⁻¹ b และ c เป็นตัวแปรที่ไม่มี
ความหมาย T เป็นอุณหภูมิ มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส $T_{\min}$ เป็นอุณหภูมิต่ำสุดที่แบคทีเรียสามารถ

เจริญได้ มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส และ $T_{\max}$ เป็นอุณหภูมิสูงสุดที่แบคทีเรียสามารถเจริญได้ มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส

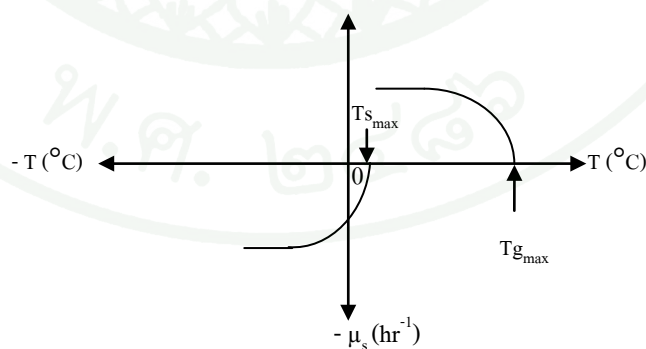


ภาพที่ 8 การคำนวณตัวแปรของแบบจำลอง Ratkowsky

Asymptote temperature model

$$A = b\{1 - e[c(T - T_{Amax})]\} \quad (11)$$

โดยที่ A คือ ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนจุลินทรีย์ที่ตำแหน่งเข้าสู่ระยะคงที่กับจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น มีหน่วยเป็น (log MPN/g) b และ c เป็นตัวแปรที่ไม่มี ความหมาย T เป็น อุณหภูมิ มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส และ $T_{\max}$ เป็นอุณหภูมิสูงสุดที่จุลินทรีย์มีค่าสูงสุด มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส

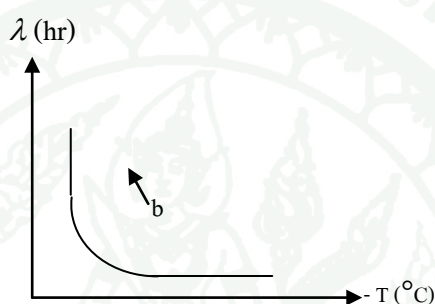


ภาพที่ 9 การคำนวณตัวแปรของแบบจำลอง Asymptote temperature

Non-linear Arrhenius model

$$\lambda = A + \frac{B}{T} + \frac{C}{T^2} \quad (12)$$

โดยที่ λ คือระยะเวลาการปรับตัวเข้าสู่ระยะการแบ่งตัว A, B และ C เป็นตัวแปรที่ไม่มี
ความหมาย ใช้โปรแกรม kypilot การคำนวณตัวแปร A, B และ C และ T เป็นอุณหภูมิ มีหน่วยเป็น
องศาเซลเซียส



ภาพที่ 10 การคำนวณตัวแปรของแบบจำลอง Non-linear Arrhenius

การศึกษาความสัมพันธ์ของพารามิเตอร์กับอุณหภูมิอยู่บนพื้นฐานทางสถิติที่ทำให้
จำนวนจุลินทรีย์ที่ทำนายได้มีค่าใกล้เคียงกับจำนวนจุลินทรีย์จากการทดลองมากที่สุด

3. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพแบบจำลอง

เปรียบเทียบความถูกต้องการทำนายและความสามารถในการใช้งานของแบบจำลองที่
นำมาใช้การทำนายการเจริญของโดยเปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อนของแบบจำลองโดยใช้ค่าทาง
สถิติการช่วยตัดสินใจซึ่งค่าที่ช่วยการตัดสินใจคือ ค่า Root Mean Square Error (RMSE) ที่บอก
ความผิดพลาดของที่เจริญจริงเปรียบเทียบกับที่ทำนายได้

$$RMSE = \sqrt{\sum_i^n \frac{(y_i - \hat{y}_i)^2}{n}} \quad (13)$$

นอกจากนี้ยังตรวจสอบความเหมาะสมของแบบจำลอง โดยตรวจสอบความถูกต้องของข้อสมมุติทางสถิติที่ว่าค่าความคลาดเคลื่อน (Residuals) ของแบบจำลองการถดถอยที่เป็นอิสระต่อกัน และมีความแปรปรวนคงที่

$$R^2 = 1 - \frac{\sum (y_i - \hat{y})^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2} \quad (14)$$

4. การทดสอบประสิทธิภาพของแบบจำลอง

การสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์การทำนายปริมาณจุลินทรีย์ดำเนินการสร้าง 3 แบบ คือ แบบจำลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ แบบจำลองการเจริญของจุลินทรีย์ และแบบจำลองรวมการอยู่รอดและการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งการทดสอบประสิทธิภาพของแบบจำลองใช้ข้อมูลการอยู่รอดและการเจริญของ *V.parahaemolyticus* โรงงานแช่แข็ง การสุ่มตัวอย่างโรงงานแช่แข็งแสดงดังข้อ 1.4

ผลและวิจารณ์

1. การเก็บรวบรวมข้อมูล

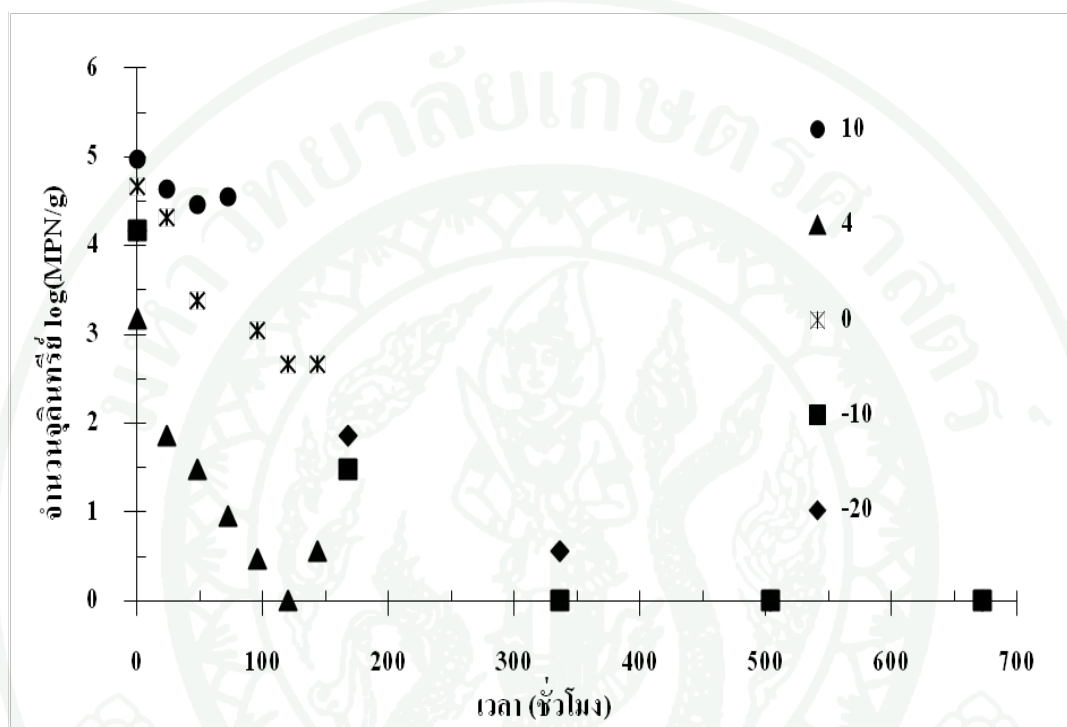
เก็บรวบรวมข้อมูลการเจริญของ *V. parahaemolyticus* จากห้องปฏิบัติการ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พิจิตตรา และ จิตศิริ, 2009) พบว่า เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20, -10, 0, 4 และ 10 มีพฤติกรรมการลดจำนวนลง และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15, 20, 25, 37 และ 44 องศาเซลเซียส มีพฤติกรรมการเพิ่มจำนวน

1.1 ลักษณะการลดลง

การยู่รอดของก่อโรค *V. parahaemolyticus* บนกุ้งที่ไม่ได้ผ่านการฆ่า เมื่อมีการเก็บกุ้งที่สภาวะอุณหภูมิกึ่งที่ 10, 4, 0, -10 และ -20 องศาเซลเซียส แสดงดังภาพที่ 11 พบว่า อุณหภูมิการเก็บรักษามีผลต่ออัตราการลดลงของที่ต่างกัน เช่น ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส มีอัตราการลดลง 0.48 log mpn/g เวลา 72 ชั่วโมง ขณะที่ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีอัตราการลดลง 3.00 log mpn/g เวลา 120 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 0, -10 และ -20 องศาเซลเซียส ตามลำดับ อัตราการลดลง 2.00 log mpn/g ระยะเวลา 120 h, 3.39 log mpn/g เวลา 336 h และ 4.18 log mpn/g เวลา 504 ชั่วโมง จึงพบว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีอัตราการลดลงของมากที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Vanderzant และ Nickelson (1972) ซึ่งพบว่าอัตราการลดลงของ *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ O ที่เจริญอยู่บนกุ้งที่ปอกเปลือกและกุ้งที่ผ่านการตีปน มีค่าสูงที่สุดที่ อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส (2.1 log cfu/g กุ้งเวลา 24 ชั่วโมง) และ ที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส (1.6 log cfu/g กุ้งเวลา 24 ชั่วโมง) ตามลำดับ โดยสรุปว่าที่อุณหภูมิ 3 และ 7 องศาเซลเซียส มีอัตราการลดลงของที่ต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาแซลมอน (Yang et al., 2009) โดยทำการศึกษาที่ 3, 6, 9 และ 12 องศาเซลเซียส พบว่าอัตราการลดลงที่สูงที่สุดพบที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ทั้งนี้งานวิจัยเหล่านี้ชี้ให้เห็นได้ว่า สายพันธุ์ของก่อโรค และ องค์ประกอบของอาหาร ที่ต่างกันส่งผลให้จุลินทรีย์มีการทนต่ออุณหภูมิต่างกันได้ต่างกัน

อัตราการลดลงของที่อุณหภูมิต่างๆมีความแตกต่างกันโดยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของ จุลินทรีย์และชนิดอาหาร เช่น งานวิจัยนี้ที่ 10 องศาเซลเซียสจุลินทรีย์ *V. parahaemolyticus* ตายด้วยอัตรา 0.0067 logmpn/h ส่วนกรณีที่ *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์อื่นที่เจริญอยู่หอยนางรมที่ผ่าน

การตีปน และ กรณีที่เจริญอยู่บนกึ่งตัวที่ปอกเปลือกแล้วทำการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส มีอัตราการลดลงเท่ากับ 0.08 log cfu/h และ 0.03 log cfu/h ตามลำดับ (Yoon et al.,2008) โดยอาหารเหลวอัตราการลดลงของมีค่าที่ต่ำกว่าเมื่ออยู่บนอาหารแข็ง Yoon และคณะ พบว่าที่ อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ JL 223 (*trh+*) อาหารเหลวที่มี 3 % เกลือ มีอัตราการลดลงของ 0.038 log cfu/h



ภาพที่ 11 การลดลงของ *V. parahaemolyticus* ที่อุณหภูมิต่างๆ (พิจิตรา และ จิตศิริ, 2009)

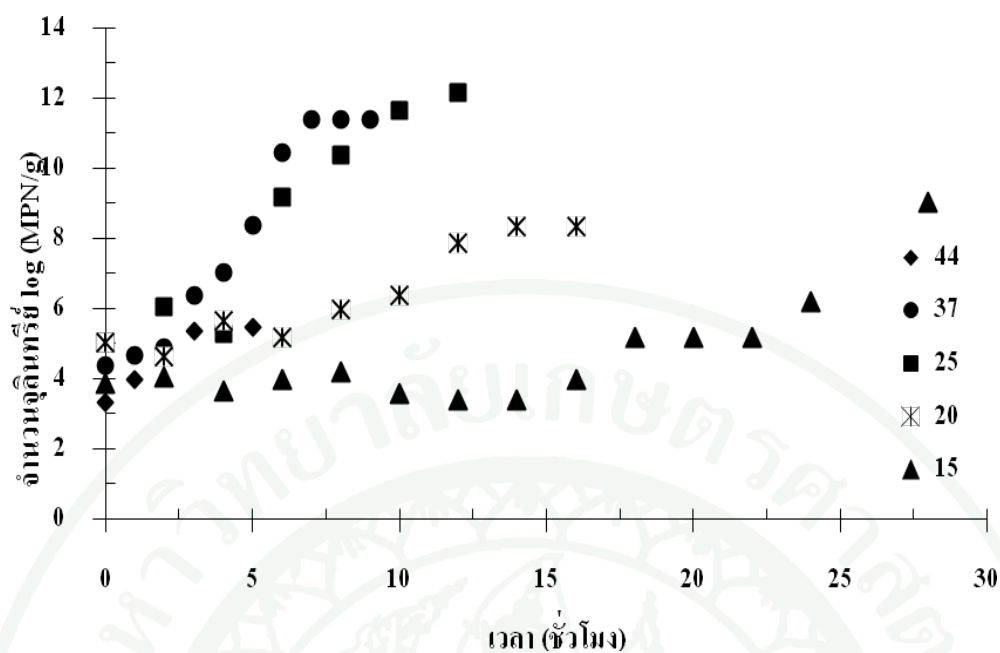
จากการทดลองพบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกันส่งผลต่อการเน่าเสียของกุ้งเวลาที่ต่างกัน (ตารางที่ 4) ซึ่งพบว่าที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาได้เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 และ 0 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาเป็นเวลา 148 ชั่วโมง โดยกุ้งมีการเน่าเสีย คือ มีลักษณะเป็นเมือกเหนียว มีสีแดงและมีกลิ่นเหม็น แต่ไม่พบลักษณะการเน่าเสียดังกล่าวที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4 ระยะเวลาเกิดการเน่าเสียของกุ้งที่อุณหภูมิช่วงการลดจำนวน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)
10	72
4	148
0	148
-10	-
-20	-

1.2 ลักษณะการเจริญ

การเจริญของก่อโรค *V. parahaemolyticus* บนกุ้งที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อ เมื่อมีการเก็บกุ้งที่สภาวะอุณหภูมิตั้งที่ 44, 37, 25, 20 และ 15 องศาเซลเซียส แสดงดังภาพที่ 12 พบว่า อุณหภูมิการเก็บรักษามีผลต่ออัตราการเจริญของที่แตกต่างกัน เช่น อุณหภูมิ 44 องศาเซลเซียส มีอัตราการเจริญ 1.95 log mpn/g ระยะเวลา 4 ชั่วโมง, ขณะที่ที่อุณหภูมิ 37 มีอัตราการเจริญ 3.34 log mpn/g ระยะเวลา 6 ชั่วโมง และที่ 25, 20 และ 15 องศาเซลเซียส ตามลำดับ มีอัตราการเจริญ 2 log mpn/g ระยะเวลา 12, อัตราการเจริญ 1.49 log mpn/g ระยะเวลา 15 ชั่วโมง และ อัตราการเจริญ 0.86 log mpn/g ระยะเวลา 28 ชั่วโมง เห็นว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีอัตราการเจริญของมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับ Desmarchelier (1997) ที่ได้สรุปไว้ว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่สามารถแบ่งตัวได้เร็วที่สุด นอกจากนี้รายงานของ Yang et.al. (2009) พบว่า อัตราการเจริญของ *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ TGqx01 ที่เจริญอยู่บนแชลมอนมีอัตราการเจริญสูงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราการเจริญ 0.912 ต่อชั่วโมง Yang (2009) ได้ทำการศึกษาช่วงอุณหภูมิ 16-35 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 12 การเจริญของ *V. parahaemolyticus* ที่อุณหภูมิต่างๆ (พิจิตรา และ จิตศิริ, 2009)

จากการทดลองพบว่าการเก็บรักษากุ้งที่อุณหภูมิต่างกันส่งผลต่อการเน่าเสียของกุ้งเวลาที่ต่างกัน (ตารางที่ 5) ซึ่งพบว่าที่อุณหภูมิ 44 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษากุ้งได้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 สามารถเก็บกุ้งได้เป็นเวลา 9 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 25, 20 และ 15 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาเป็นเวลา 12, 16 และ 28 ชั่วโมงตามลำดับ โดยกุ้งมีการเน่าเสีย คือ มีลักษณะเป็นเมือกเหนียว มีสีแดงที่ตัวกุ้งและมีกลิ่นเหม็น

ตารางที่ 5 ระยะเวลาการเก็บรักษากุ้งที่อุณหภูมิช่วงการเจริญ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)
44	6
37	9
25	12
20	16
15	28

2. การสร้างแบบจำลองปฏิกิริยาการทำนายปริมาณ *V. parahaemolyticus*

2.1 แบบจำลองปฏิกิริยาสำหรับการลดลงของ *V. parahaemolyticus*

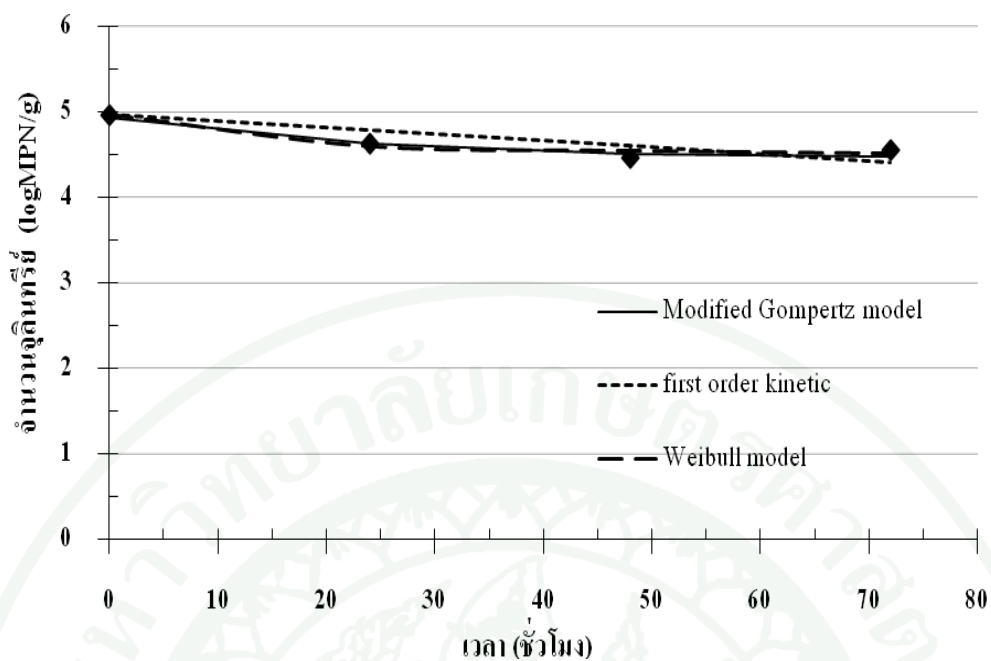
ข้อมูลจากการทดลองทำการศึกษาการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* ช่วงอุณหภูมิ 10, 4, 0, -10 และ -20 องศาเซลเซียส แบบจำลองที่ถูกใช้การทำนายการลดลงของ *V. parahaemolyticus* คือ First order kinetic model, Modified Gompertz model และ Weibull model โดยทั้ง 3 แบบจำลองใช้การทำนายปริมาณที่ลดลงภายใต้สภาวะอุณหภูมิกงที่ โดยค่าพารามิเตอร์ของแบบจำลองเหล่านี้ถูกแสดงตารางที่ 6 และเส้นการทำนายแสดงภาพที่ 13-17 จากกราฟพบว่า First order kinetic model ไม่สามารถใช้อธิบายการลดลงของก่อกำไรบนกึ่งทั้งตัวได้ ตรงกันข้ามกับ Modified Gompertz model และ Weibull model สามารถใช้อธิบายการลดลงของก่อกำไรบนตัวกึ่งได้อย่างดี โดยจากกราฟพบว่าเส้นจากการทำนายและเส้นจากการทดลองซ้อนทับกันเกือบพอดี นอกจากนี้ยังใช้ค่าทางสถิติเป็นตัววิเคราะห์ว่าแบบจำลองใดสามารถทำนายการลดลงของได้ดีกว่ากันพบว่า Modified Gompertz model สามารถอธิบายการลดลงของได้ดีกว่าของ Weibull model โดยสังเกตจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ดังแสดงตารางที่ 7 โดยพบว่า R^2 ของแบบจำลอง Modified Gompertz และ แบบจำลองของ Weibull มีค่าเฉลี่ยที่อุณหภูมิต่างๆเท่ากับ 0.954 และ 0.951 ตามลำดับ R^2 ที่มีค่าสูงนี้แสดงว่าแบบจำลองทั้งสองนี้สามารถอธิบายการลดลงของได้ดี งานวิจัยของ Yoon และคณะ (2008) ที่ทำนายการลดลงของบนหอยนางรมพบว่าให้ค่า R^2 เท่ากับ 0.96 ช่วงอุณหภูมิ 10- 20 องศาเซลเซียส และงานวิจัยของ Yang และคณะ (2009) ที่ทำนายการลดลงของบนแซลมอนพบว่าให้ค่า R^2 เท่ากับ 0.973 ช่วงอุณหภูมิ 0- 9 องศาเซลเซียส และการใช้แบบจำลองของ Weibull การทำนายบนแซลมอนช่วงอุณหภูมิ 0-12 องศาเซลเซียสพบว่ามีค่า R^2 เท่ากับ 0.953

ตารางที่ 6 พารามิเตอร์ของแบบจำลอง Modified Gompertz, First order kinetic และ Weibull Model บนกุ้งขาว

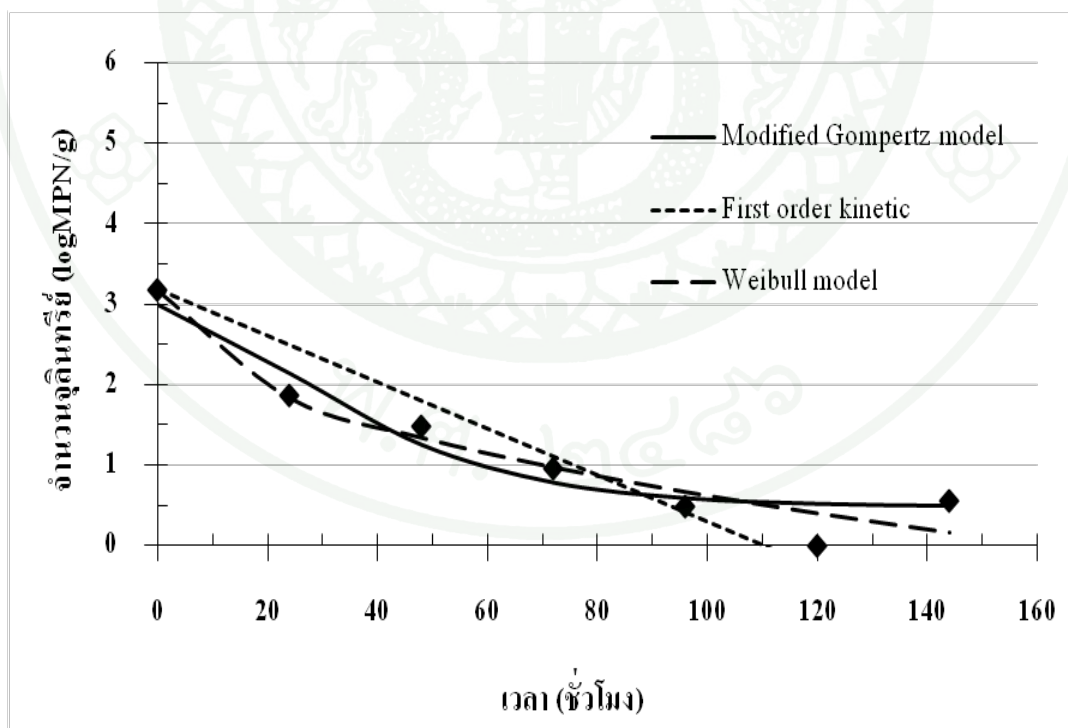
อุณหภูมิ	First order Kinetic	Modified Gompertz		Weibull	
องศาเซลเซียส	μ_m	A	μ_m	b	n
10	-0.018	-1.12	-0.035	0.209	0.184
4	-0.066	-6.2	-0.099	0.318	0.453
0	-0.035	-9.2	-0.071	0.067	0.734
-10	-0.03	-9.62	-0.04	0.732	0.277
-20	-0.022	-9.62	-0.032	0.335	0.397

ตารางที่ 7 ค่าทางสถิติของแบบจำลอง Modified Gompertz, First order kinetic และ Weibull model บนกุ้งขาว

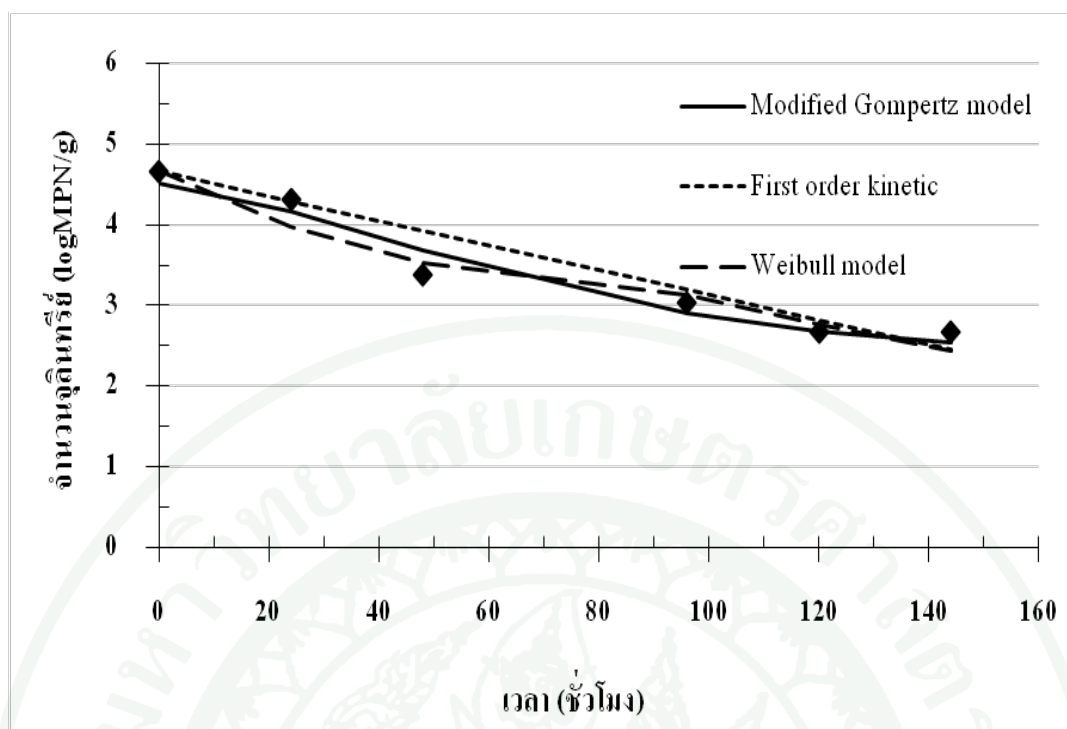
อุณหภูมิ	First order kinetic		Modified Gompertz		Weibull	
องศาเซลเซียส	R^2	$\pm RMSE$	R^2	$\pm RMSE$	R^2	$\pm RMSE$
10	0.784	0.099	0.963	0.079	0.960	0.025
4	0.703	0.63	0.891	0.42	0.910	0.382
0	0.932	0.228	0.954	0.208	0.944	0.199
-10	0.585	1.07	0.985	0.205	0.967	0.305
-20	0.699	0.841	0.978	0.219	0.975	0.247
Ave.	0.741	0.574	0.954	0.226	0.951	0.232



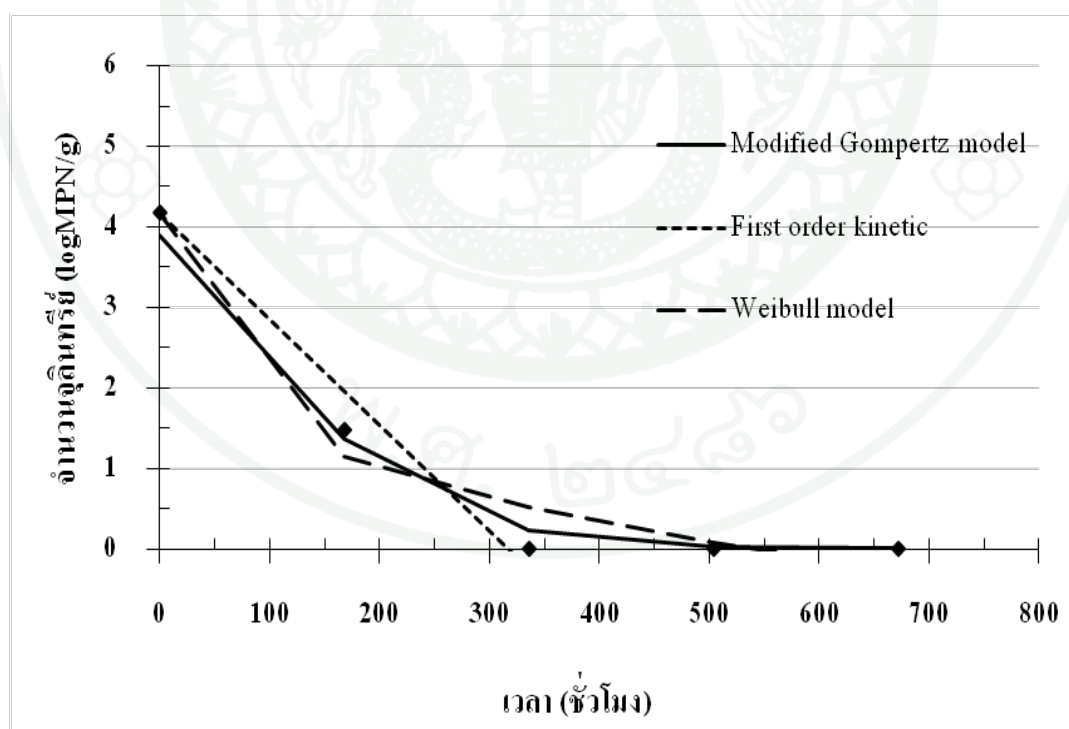
ภาพที่ 13 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จากการทดลองและจำนวนจุลินทรีย์จากการทำนายช่วงของการอยู่รอดที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส



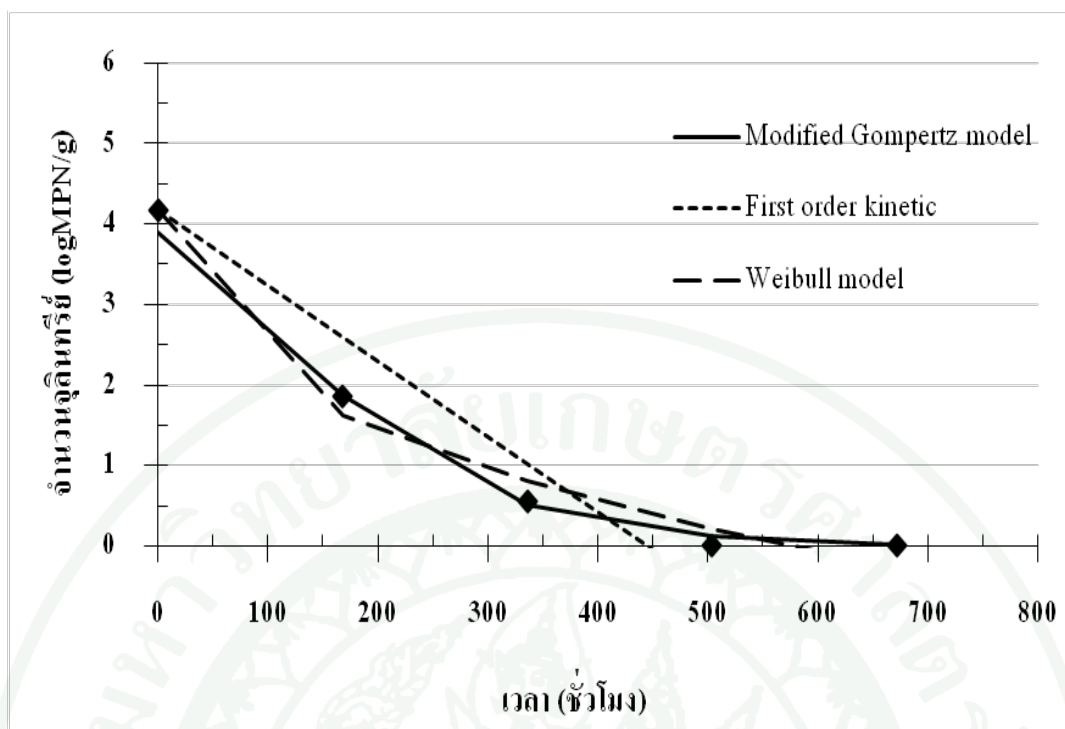
ภาพที่ 14 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จริงและจำนวนจุลินทรีย์จากการทำนายปริมาณที่ได้จากการทำนายช่วงของการอยู่รอดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 15 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จริงและจำนวนจุลินทรีย์ที่ได้จากการทำนาย ช่วงของการอยู่รอดที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 16 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จริงและจำนวนจุลินทรีย์ที่ได้จากการทำนาย ช่วงของการอยู่รอดที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 17 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จริงและจำนวนจุลินทรีย์ที่ได้จากการทำนายช่วงของการยู่รอดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

First order kinetic model ให้ค่า R^2 ที่ต่ำคือ 0.741 หมายความว่าแบบจำลอง First order kinetic ไม่สามารถอธิบายการยู่รอดของได้ แต่อย่างไรก็ตาม งานวิจัยของ Yang และคณะ (2009) พบว่า First order kinetic model สามารถอธิบายการลดลงของแชลมอนได้โดยให้ค่า R^2 เท่ากับ 0.953 ช่วงอุณหภูมิ 0-12 องศาเซลเซียส แต่ไม่ได้ครอบคลุมไปถึงช่วงอุณหภูมิแช่แข็ง คือ (-10) – (-20) องศาเซลเซียส

จากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยค่า RMSE ตารางที่ 7 พบว่าแบบจำลอง Modified Gompertz และ แบบจำลองของ Weibull สามารถอธิบายการลดลงของได้ดีกว่าแบบจำลอง First order kinetic โดยพบว่าที่อุณหภูมิ 10 และ 0 องศาเซลเซียส แบบจำลองของ Weibull สามารถอธิบายการลดลงของได้ดีกว่า แบบจำลอง Modified Gompertz แต่ที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส แบบจำลอง Modified Gompertz สามารถอธิบายการลดลงของได้ดีกว่า เมื่อทำการหาค่าเฉลี่ยของค่า RMSE ของทั้งสองแบบจำลองพบว่า แบบจำลอง Modified Gompertz ให้ค่า RMSE (± 0.226) ที่ต่ำกว่า แบบจำลองของ Weibull (± 0.232) ดังนั้นจึงใช้ข้อมูลของพารามิเตอร์แบบจำลองของ Modified Gompertz เพื่อใช้ในการสร้างแบบจำลองทุติยภูมิ (secondary model)

ตัวแปรแบบจำลอง Modified Gompertz ที่เปลี่ยนแปลงเมื่ออุณหภูมิมีการเปลี่ยนแปลง มี 2 ตัวแปร ดังแสดงตารางที่ 5 คือ อัตราการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ (μ_m) และ asymptote (A) โดยระยะเวลาการปรับตัวของ (λ) ถูกกำหนดให้มีค่าเท่ากับ 0 เนื่องจากลักษณะการลดลงของไม่ปรากฏระยะเวลาการปรับตัว สาเหตุอาจเนื่องมาจากที่อุณหภูมิต่ำเป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะต่อการอยู่รอดจึงทำให้ไม่สามารถปรับตัวจึงมีการลดลงอย่างรวดเร็ว ค่าพารามิเตอร์ A เป็นความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นและจำนวนจุลินทรีย์ที่ระยะเวลาสุดท้ายซึ่งพบว่าค่า A มีค่าคิดลบมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิลดลง

2.2 แบบจำลองปฏิกิริยาสำหรับการเจริญของ *Vibrio parahaemolyticus*

ข้อมูลจากการทดลองทำการศึกษาการเจริญของ *V. parahaemolyticus* ช่วงอุณหภูมิ 44, 37, 25, 20 และ 15 องศาเซลเซียส แบบจำลองที่ถูกใช้การทำนายการเจริญของ *V. parahaemolyticus* คือ First order kinetic model, Modified Gompertz model และ Baranyi model โดยทั้ง 3 แบบจำลองใช้การทำนายปริมาณการเจริญของภายใต้สภาวะอุณหภูมิกึ่งที่โดยค่าพารามิเตอร์เหล่านี้แสดงดังตารางที่ 8 และเส้นการทำนายแสดงภาพที่ 18-22 จากกราฟพบว่า First order kinetic model สามารถใช้อธิบายการเจริญของก่อโรคบนกุ้งทั้งตัวได้ โดยเฉพาะช่วงที่มีการเจริญระยะที่มีการเจริญแบบเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว (exponential phase) ตรงกันข้ามกับ Modified Gompertz model และ Baranyi model ซึ่งสามารถอธิบายการเจริญของก่อโรคบนตัวกุ้งได้ตั้งแต่ระยะเวลาการปรับตัว จนถึง ระยะคงที่ โดยจากกราฟพบว่า เส้นจากการทำนายซ้อนทับค่าจากการทดลองเกือบพอดี นอกจากนี้ยังใช้ค่าทางสถิติเป็นตัววิเคราะห์การทำนายการเจริญของโดยพบว่า Baranyi model สามารถอธิบายการเจริญของได้ดีกว่าแบบจำลองของ Modified Gompertz โดยสังเกตจากค่า R^2 ดังแสดงตารางที่ 9 โดยพบว่าค่า R^2 ของแบบจำลอง Baranyi model (0.936) มีค่าสูงกว่าค่า R^2 ของแบบจำลอง Modified Gompertz (0.931) เล็กน้อยแต่นงานวิจัยของ Yang et al. (2009) ที่ทำนายการเจริญของบนแซลมอนพบว่า Modified Gompertz ให้ค่า สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูงสุด (0.990) ช่วงอุณหภูมิ 16-30 องศาเซลเซียส

จากค่า RMSE (ตารางที่ 9) พบว่าแบบจำลอง Baranyi สามารถอธิบายการเจริญของได้ดีกว่า Modified Gompertz model และ First order kinetic model ดังนั้นจึงใช้ข้อมูลพารามิเตอร์ที่เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิจากแบบจำลอง Baranyi เพื่อใช้การสร้างแบบจำลองทุติยภูมิ (secondary

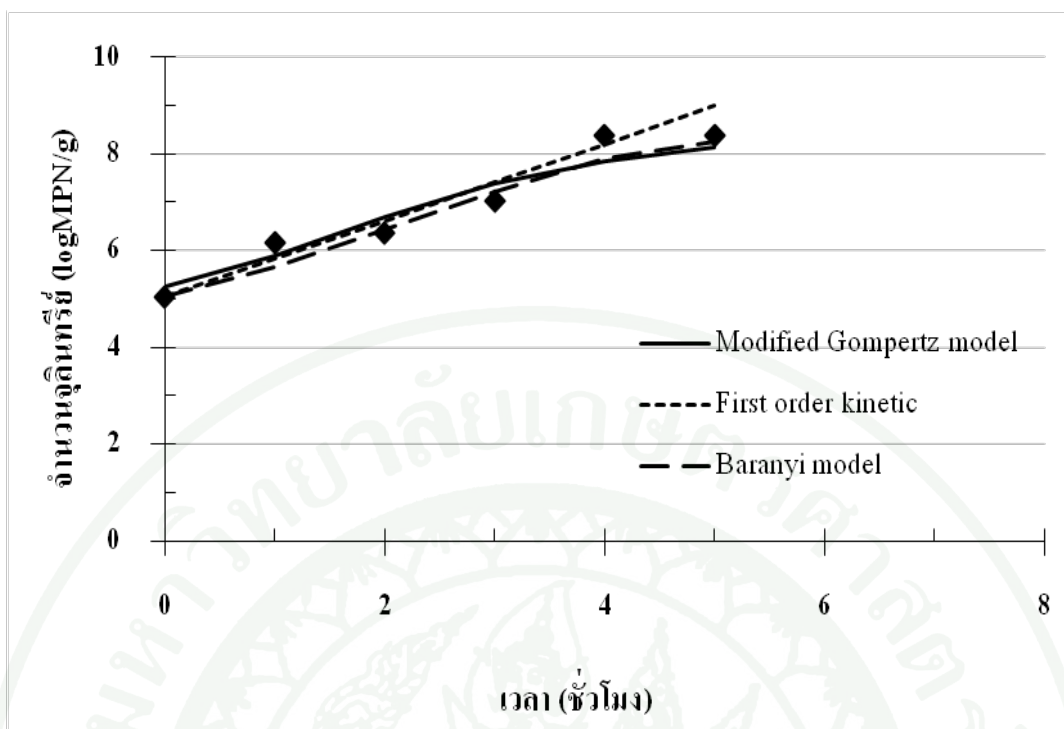
model) พารามิเตอร์แบบจำลอง Baranyi ที่เปลี่ยนแปลงไปตามอุณหภูมิพบว่ามี 3 ตัวแปร คือ อัตราการเจริญ (μ), asymptote (A) และ ระยะเวลาการปรับตัว (λ) ดังแสดงตารางที่ 8

ตารางที่ 8 พารามิเตอร์ของแบบจำลอง Modified Gompertz, First order kinetic และ Baranyi model บนกุ้งขาว

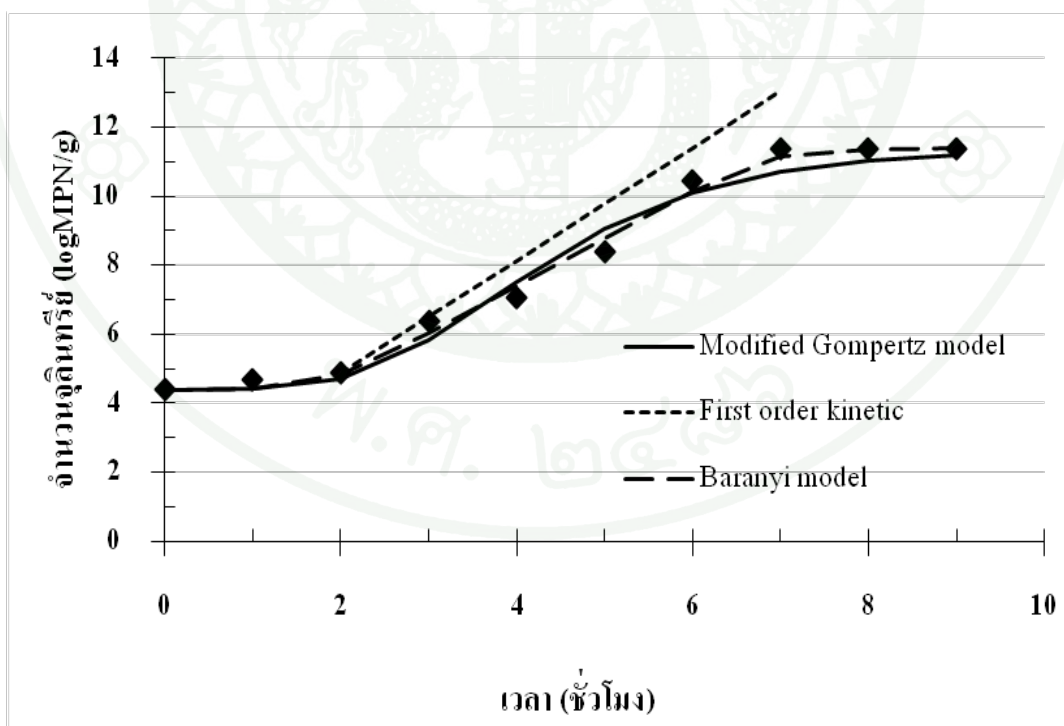
อุณหภูมิ (°C)	Linear	Modified Gompertz			Baranyi		
	μ_m	λ	A	μ_m	λ	A	μ_m
44	1.599	0.000	4.960	1.845	0.300	4.963	1.870
37	3.762	2.910	16.120	4.022	1.000	16.120	3.187
25	1.338	3.760	16.430	3.737	3.390	16.430	2.875
20	1.923	7.980	16.120	2.658	6.300	16.120	1.722
15	0.860	17.600	11.880	1.039	17.420	16.000	0.999

ตารางที่ 9 ค่าทางสถิติของแบบจำลอง Modified Gompertz, First order kinetic และ Baranyi model บนกุ้งขาว

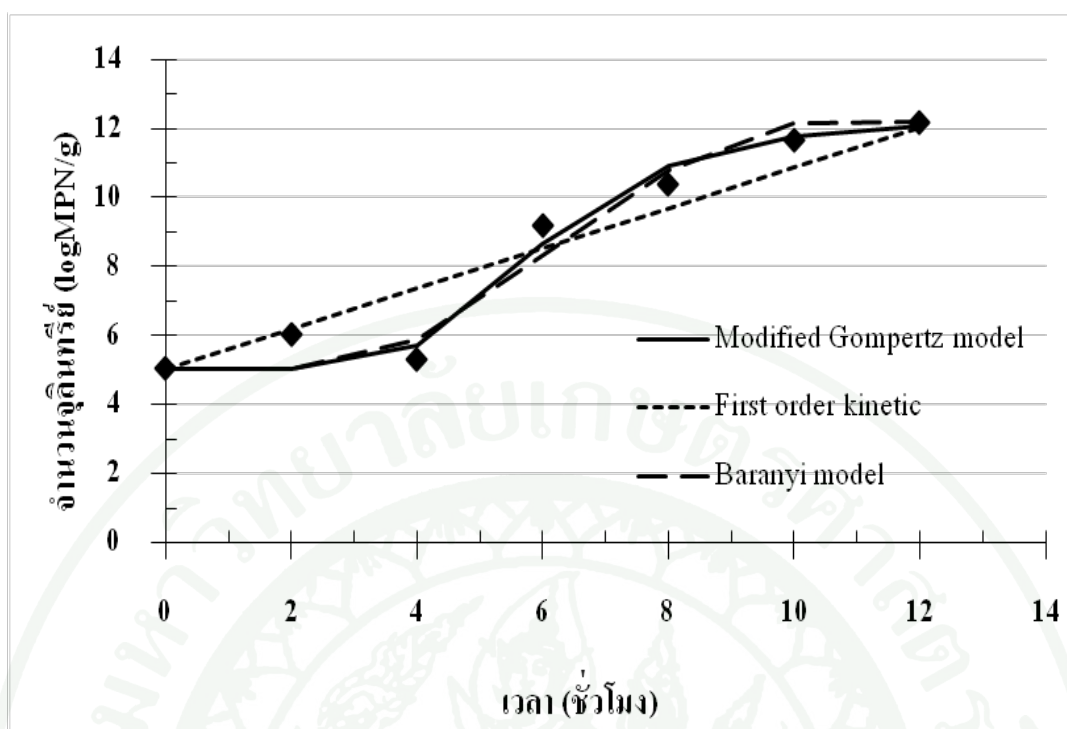
อุณหภูมิ (°C)	First order kinetic		Modified Gompertz		Baranyi	
	R^2	$\pm$ RMSE	R^2	$\pm$ RMSE	R^2	$\pm$ RMSE
44	0.740	0.644	0.888	0.223	0.916	0.195
37	0.842	1.078	0.962	0.600	0.981	0.417
25	0.895	0.916	0.969	0.499	0.956	0.594
20	0.961	0.382	0.950	0.430	0.915	0.511
15	0.870	0.620	0.885	0.496	0.912	0.434
ค่าเฉลี่ย	0.862	0.728	0.931	0.449	0.936	0.430



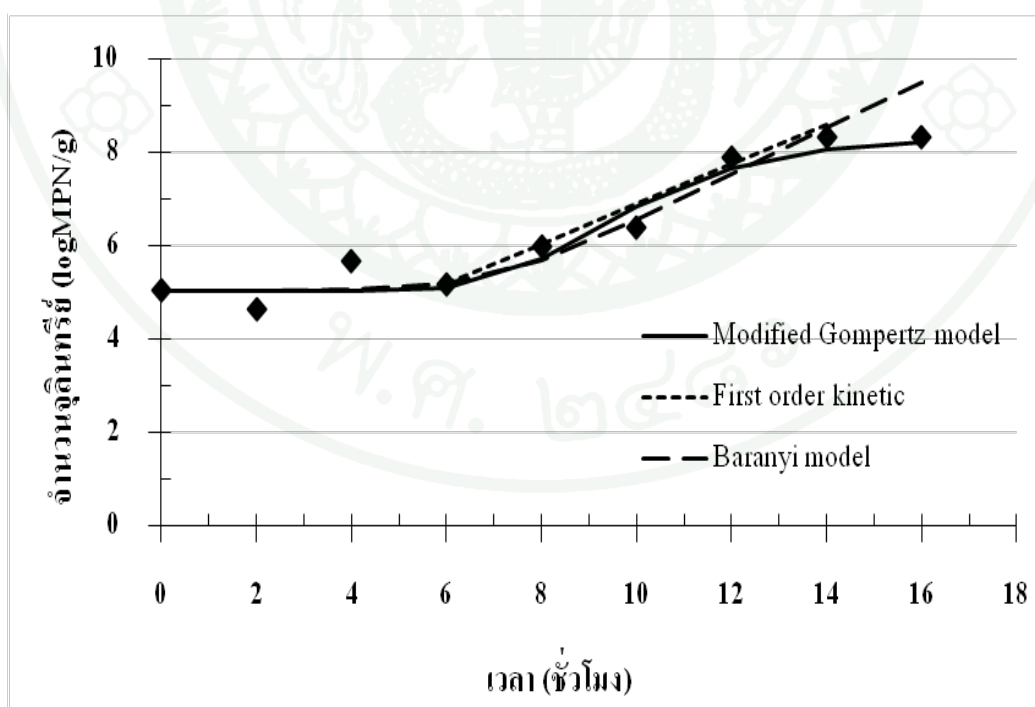
ภาพที่ 18 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จริงและจำนวนจุลินทรีย์ที่ได้จากการทำนาย ช่วงของการเจริญที่อุณหภูมิ 44 องศาเซลเซียส



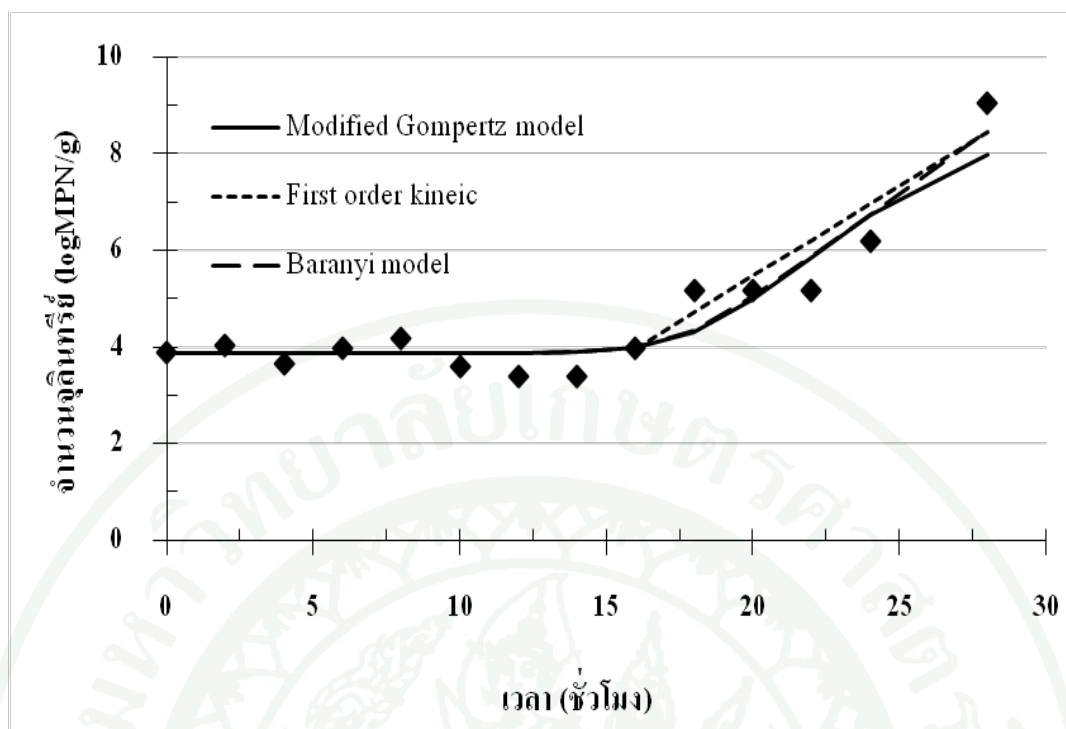
ภาพที่ 19 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จริงและจำนวนจุลินทรีย์ที่ได้จากการทำนาย ช่วงของการเจริญที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 20 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จริงและจำนวนจุลินทรีย์ที่ได้จากการทำนายช่วงของการเจริญที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 21 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จริงและจำนวนจุลินทรีย์ที่ได้จากการทำนายช่วงของการเจริญที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 22 แผนภาพระหว่างค่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์จริงและจำนวนจุลินทรีย์ที่ได้จากการทำนายช่วงของการเจริญที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

3. การสร้างแบบจำลองทุติยภูมิ

3.1 ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการลดลงและการเจริญของ *Vibrio parahaemolyticus*

การทดลองช่วงอุณหภูมิ -20 ถึง 10 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อมีพฤติกรรมด้านอัตราการลดจำนวนลง ดังกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าอัตราการลดลงกับอุณหภูมิดังแสดงภาพที่ 23 ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างค่าอัตราการลดลงของและอุณหภูมิมิมีลักษณะเป็นโค้งหงายเล็กน้อยโดยเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 20 องศาเซลเซียส อัตราการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์มีค่าเพิ่มขึ้นโดยอัตราการลดลงของเชื้อมีค่าสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (-0.099 ต่อชั่วโมง) หลังจากค่าอัตราการลดลงของมีค่าลดลง ซึ่งคล้ายคลึงกับการรายงาน ของ Yang et al. (2009) พบว่าที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียสมีอัตราการลดลงที่สูงที่สุดคือ -0.0152 ต่อชั่วโมง ช่วงอุณหภูมิ 3- 12 องศาเซลเซียส

การทดลองช่วงอุณหภูมิ (-15) - 44 องศาเซลเซียส พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าอัตราการเจริญของและอุณหภูมิมิมีลักษณะเป็นโค้งระฆังคว่ำ ดังแสดงภาพที่ 23 โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 15 องศาเซลเซียส อัตราการเจริญมีค่าเพิ่มขึ้นโดยอัตราการเจริญของมีค่าสูงที่สุดที่

อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (3.33 ต่อชั่วโมง) หลังจากค่าอัตราการเจริญของมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งคล้ายคลึงกับการรายงานของ Yang et al. (2009) ซึ่งพบว่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสมีอัตราการลดลงที่สูงที่สุดคือ 0.912 ต่อชั่วโมง ช่วงอุณหภูมิ 16-35 องศาเซลเซียส

3.2 ผลของอุณหภูมิต่อค่า Asymptote ของ *V. parahaemolyticus*

การทดลองช่วงอุณหภูมิ -20 ถึง 10 องศาเซลเซียส พบว่ามีพฤติกรรมของการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์ A ตามอุณหภูมิช่วงการลดลงดังแสดงภาพที่ 24 ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างค่า A ตามอุณหภูมิ มีค่าสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิการเก็บรักษาต่ำลงและคงที่ช่วงอุณหภูมิ 0 ถึง -20 องศาเซลเซียส โดยช่วงอุณหภูมิ 4 ถึง 10 องศาเซลเซียส มีการเปลี่ยนแปลงของค่า A มาก โดยพบว่ามีค่าสูงสุดที่ 4 องศาเซลเซียส หมายความว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีการลดจำนวนลงมากที่สุด

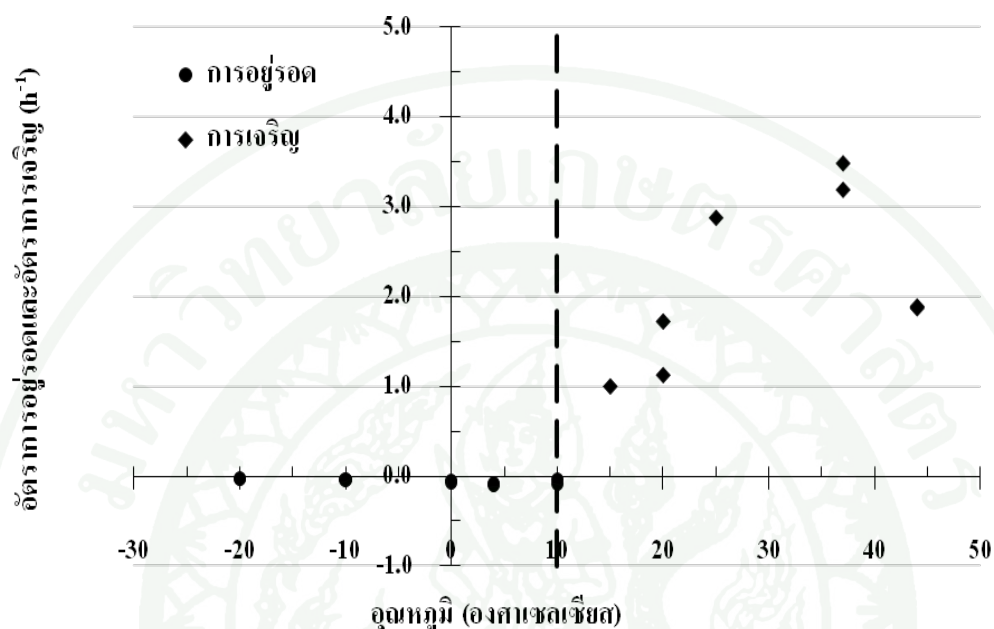
การทดลองช่วงอุณหภูมิ 15 ถึง 44 องศาเซลเซียส พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างค่า A ตามอุณหภูมิ ดังแสดงภาพที่ 25 โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจาก 15 องศาเซลเซียสค่า A มีค่าที่ไม่เปลี่ยนแปลงมากนักอยู่ช่วงประมาณ 16 หลังจากค่า A มีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 37 องศาเซลเซียส ซึ่งคล้ายคลึงกับการรายงานของ Zwietering et al. (1991)

3.3 ผลของอุณหภูมิต่อระยะเวลาการปรับตัว (lag phase) ของ *V. parahaemolyticus*

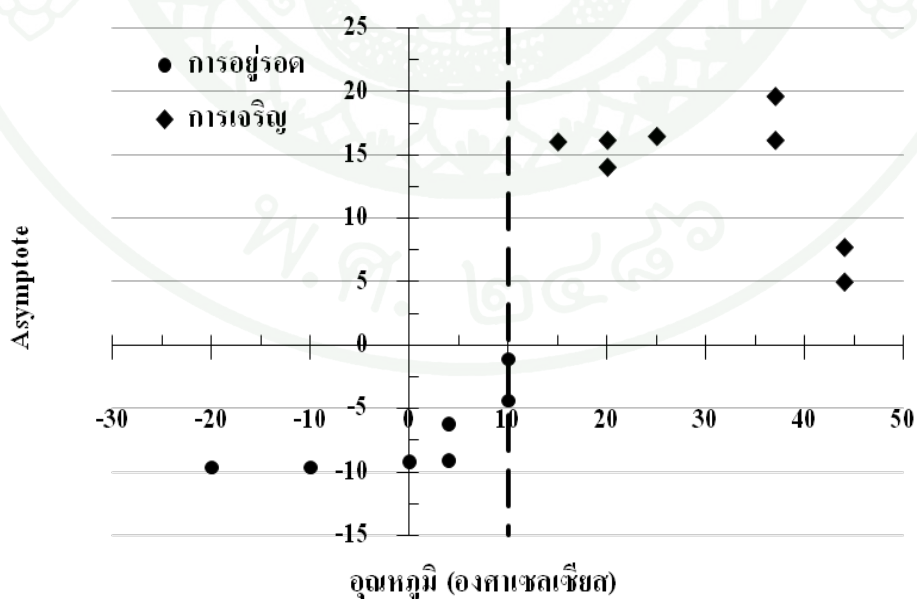
การทดลองช่วงอุณหภูมิ -20 ถึง 10 องศาเซลเซียส พบว่าระยะเวลาการปรับตัวสภาวะใหม่ตามอุณหภูมิ ดังแสดงภาพที่ 25 พบว่าช่วงอุณหภูมิ -20 ถึง 10 องศาเซลเซียส ไม่แสดงพฤติกรรมเข้าสู่ระยะการปรับตัวแต่แสดงพฤติกรรมลดจำนวนลงอย่างรวดเร็วจึงกำหนดให้มีค่าเท่ากับ 0 สาเหตุที่ไม่พบระยะเวลาการปรับตัวอาจเนื่องมาจากการเป็นอุณหภูมิที่ต่ำไม่เหมาะต่อการอยู่รอดของเซลล์เดียวกับรายงานของ Vanderzant และ Nickelson (1972) ที่ทำการศึกษาช่วงอุณหภูมิ -18 ถึง 3 องศาเซลเซียส ก็ไม่พบระยะเวลาการปรับตัว

การทดลองช่วงอุณหภูมิ 15 ถึง 44 องศาเซลเซียส ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการปรับตัวตามอุณหภูมิ ดังแสดงภาพที่ 25 โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจากอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการปรับตัวมีค่าลดลง ซึ่งระยะเวลาการปรับตัวมีค่าสูงที่สุดที่อุณหภูมิ

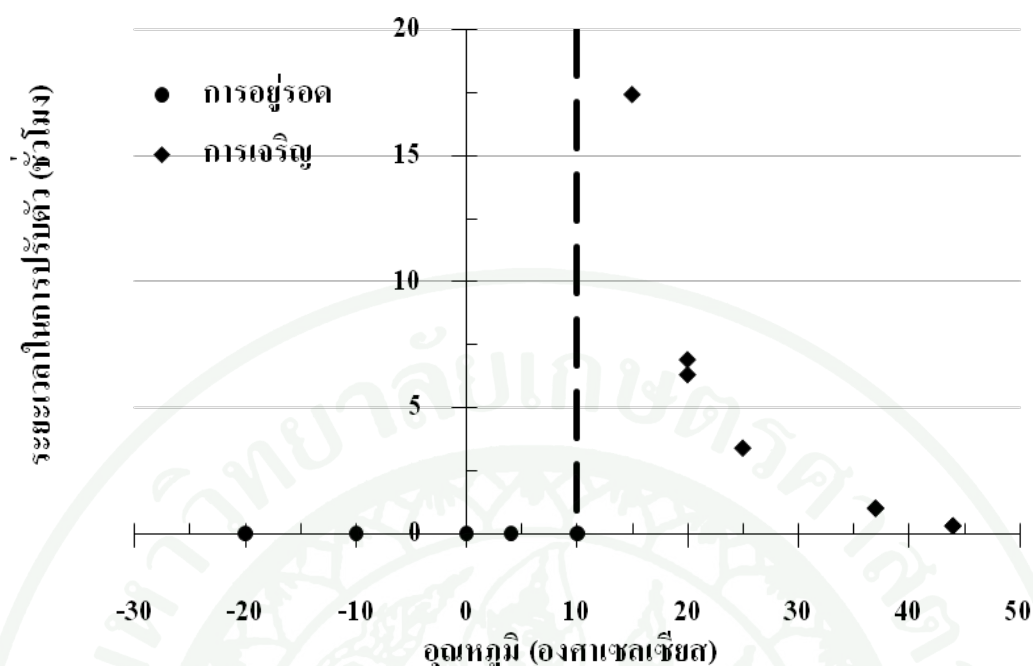
15 องศาเซลเซียส (17.42 ชั่วโมง) โดยมีค่าระยะเวลาการปรับตัวต่ำที่สุดที่ 44 องศาเซลเซียส (0.57 ชั่วโมง) คล้ายคลึงกับรายงานของ Yang et al. (2009) ที่ทำการทดลองช่วงอุณหภูมิ 16 ถึง 35 องศาเซลเซียส พบว่าระยะเวลาการปรับตัวของสูงสุดที่ 35 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 23 การเปลี่ยนแปลงของอัตราการลดลงและการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ



ภาพที่ 24 การเปลี่ยนแปลงของค่า Asymptote ที่อุณหภูมิต่างๆ



ภาพที่ 25 ระยะการปรับตัวของ *Vibrio parahaemolyticus* ที่อุณหภูมิต่างๆ

3.4 การสร้างแบบจำลองทุติยภูมิทำนายอัตราการลดลงและการเจริญของ *V. Parahaemolyticus*

3.4.1 การสร้างแบบจำลองทุติยภูมิโดยวิธีการแยกข้อมูล

การสร้างแบบจำลองทุติยภูมิโดยวิธีการแยกข้อมูลทำการแบ่งข้อมูลจากการทดลองเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงอัตราการลดลง (-20 ถึง 10 องศาเซลเซียส) และ ช่วงอัตราการเจริญ (15 ถึง 44 องศาเซลเซียส) โดยช่วงอัตราการลดลงของที่เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิใช้แบบจำลองของ Kholer เพื่อวิเคราะห์หาค่าคงที่แบบจำลอง ดังแบบจำลองที่ 15

$$\mu_s = (6.6 \times 10^{-3})^2 (T - (-40.2))^2 (1 - \exp(4.1138(T - 10.1)))^2 \quad (15)$$

จากการสร้างแบบจำลองอธิบายอัตราการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* พบว่าอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดที่อยู่ช่วงของการลดจำนวนลง คือ 10.1 และ -40.2 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แบบจำลองที่สร้างขึ้นนี้ให้ผลการทำนายใกล้เคียงกับค่าจากการทดลอง (ภาพที่ 26) โดยมีค่า RMSE ที่ต่ำ 0.0142 (log MPN/g)

ช่วงอัตราการเจริญของที่เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิใช้แบบจำลอง Ratkowsky เพื่ออธิบายอัตราการเจริญของ *V. parahaemolyticus* ที่เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิโดยทำการหาค่าคงที่แบบจำลองของ Ratkowsky ดังแบบจำลองที่ 16

$$\mu_g = 0.2547(T - 6.5)^2 (1 - \exp(0.0013(T - 48))) \quad (16)$$

พบว่าอุณหภูมิต่ำสุดและสูงสุดที่ *V. parahaemolyticus* สามารถเจริญได้คือ 6.5 และ 48 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยแบบจำลองที่สร้างขึ้นนี้ให้ผลการทำนายใกล้เคียงกับค่าจากการทดลอง (ภาพที่ 26) โดยมีค่า RMSE ± 0.245 (log MPN/g)

จากผลการทดลองเป็นที่น่าสังเกตว่าที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส แสดงพฤติกรรมการลดจำนวนลง แต่เมื่อใช้แบบจำลองของ Ratkowsky ดังแสดงข้างต้น พบว่าอุณหภูมิต่ำสุดที่ *V. parahaemolyticus* สามารถเจริญได้คือ 6.5 องศาเซลเซียส ซึ่งขัดแย้งกับผลการทดลอง ดังจึงเสนอวิธีการสร้างแบบจำลองทุติยภูมิโดยวิธีการรวมข้อมูลทั้งอัตราการอยู่รอดและอัตราการเจริญด้วยกันแล้ววิเคราะห์หาอุณหภูมิต่ำที่สุดที่ *V. parahaemolyticus* สามารถเจริญได้

3.4.2 การสร้างแบบจำลองทุติยภูมิโดยการรวมข้อมูล

การสร้างแบบจำลองทุติยภูมิโดยวิธีการรวมข้อมูลของอัตราการอยู่รอดและอัตราการเจริญ ช่วงอัตราการอยู่รอดของใช้แบบจำลอง Kholer และ ช่วงอัตราการเจริญของที่เปลี่ยนไปตามอุณหภูมิใช้แบบจำลองของ Ratkowsky โดยกำหนดให้ค่าอุณหภูมิสูงสุดที่ *V. parahaemolyticus* อยู่ช่วงการอยู่รอดของแบบจำลอง Kholer ($T_{\max}$) มีค่าเท่ากับ อุณหภูมิต่ำสุดที่ *V. parahaemolyticus* สามารถเจริญได้แบบจำลองของ Ratkowsky ($T_{\min}$) และกำหนดให้มีค่าอยู่ช่วง 10.1- 14.9 องศาเซลเซียส สาเหตุที่กำหนดให้อยู่ช่วงอุณหภูมิ ดังกล่าว เนื่องจากผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส *V. parahaemolyticus* มีพฤติกรรมแสดงการลดจำนวนลง และที่ 15 องศาเซลเซียส *V. parahaemolyticus* มีพฤติกรรมการเพิ่มจำนวน จากทำการเปรียบเทียบผลการทำนายอัตราการอยู่รอดและอัตราการเจริญกับผลการทดลองโดยใช้ค่าทางสถิติดังแสดงตารางที่ 9 พบว่า การกำหนดให้ค่า $T_{\min}$ มีค่าเท่ากับ 10.1 องศาเซลเซียส มีความเหมาะสมมากที่สุด (ภาพที่ 18) เนื่องจากค่า RMSE ที่ได้มีค่าต่ำสุดคือ ± 0.182 และค่า R^2 สูงสุด (0.761) ซึ่งค่า RMSE การวิเคราะห์โดยวิธีการรวมข้อมูลไม่ต่างจากการวิเคราะห์โดยวิธีการแยกข้อมูลมากนัก เป็นที่น่าสังเกตว่าค่าอุณหภูมิที่วิเคราะห์ได้มีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Yang et al. (2009) ซึ่งศึกษาปริมาณก่อโรค

V. parahaemolyticus สายพันธุ์ TGqx01 บนแชลมอน พบว่าอุณหภูมิตามทฤษฎีสูงสุดที่สามารถเจริญได้คือ 12.1 องศาเซลเซียส ซึ่งแตกต่างจากค่าอุณหภูมิต่ำสุด (T_{min}) การทดลองนี้เพียง 2 องศาเท่า สาเหตุที่ทำให้ค่า T_{max} มีค่าต่างกันอาจเนื่องมาจากการทดลองเป็นสายพันธุ์ และ แหล่งอาหารที่ใช้การเจริญต่างกันจึงส่งผลให้ค่าที่ทำนายได้มีความแตกต่างด้วย

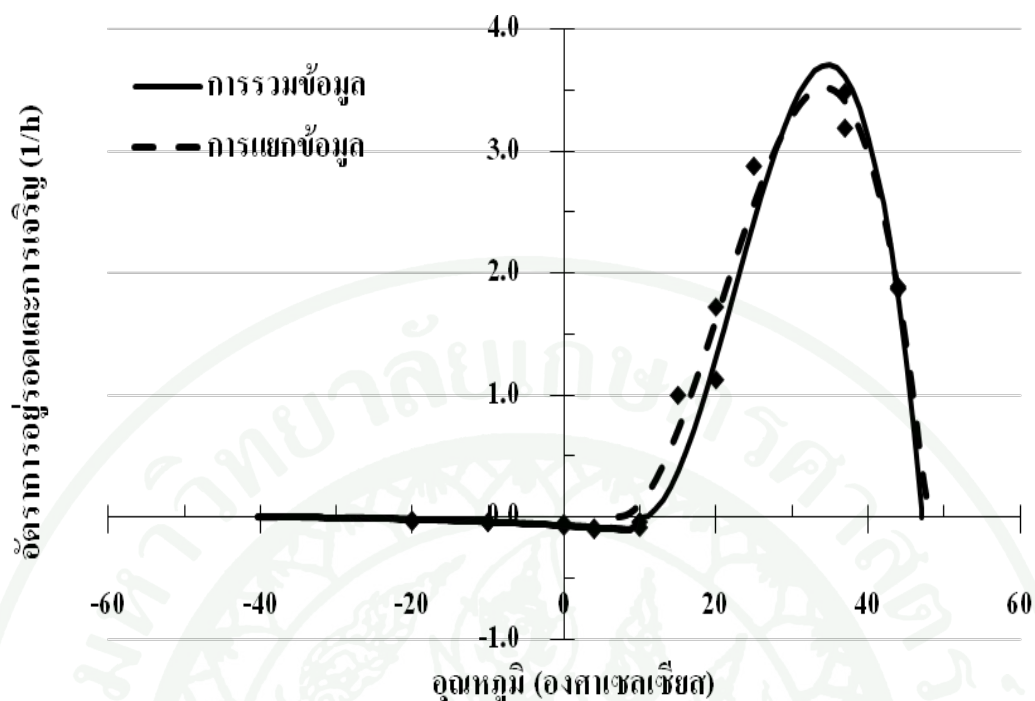
การทำนายโดยวิธีการรวมข้อมูลพบว่าอุณหภูมิสูงสุดที่สามารถเจริญได้คือ 47.1 องศาเซลเซียส ซึ่งมีข้อมูลสนับสนุนจากรายงานของ Lake (2003) ที่พบว่า *V. parahaemolyticus* สามารถเจริญได้ที่ 43 องศาเซลเซียส และไม่ทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 65 องศาเซลเซียส และส่วนอุณหภูมิต่ำสุดที่สามารถอยู่รอดได้ -40.2 องศาเซลเซียส ซึ่งมีข้อมูลสนับสนุนการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* รายงานของ Shen (2009) พบว่า *V. parahaemolyticus* มีการลดจำนวนลงหย่อนางรมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 และ -30 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส ลดจำนวนลงจาก 5.46 เป็น 0.38 MPN / g หลังจาก 75 วัน ดังแบบจำลองทำนายช่วงอัตราการอยู่รอดและแบบจำลองทำนายช่วงอัตราการเจริญแสดงดังแบบจำลองที่ 15 และ 17 ตามลำดับ

แบบจำลองทำนายช่วงอัตราการอยู่รอด

$$\mu_m = (6.6 \times 10^{-3})^2 (T - (-40.2))^2 (1 - \exp(4.1138(T - 10.1)))^2 \quad (15)$$

แบบจำลองทำนายช่วงการเจริญ

$$\mu_g = 6.5528(T - 10.1)^2 (1 - \exp(0.0001(T - 47.1))) \quad (17)$$



ภาพที่ 26 เปรียบเทียบผลการทำนายโดยวิธีการแยกข้อมูลกับวิธีการรวมข้อมูลการทำนายอัตรา
การอยู่รอดและการเจริญของที่อุณหภูมิต่างๆ

ตารางที่ 10 ผลการเปรียบเทียบค่าทางสถิติของค่าที่ได้จากการทดลองและจากการทำนายโดยตั้ง
ค่าตัวแปรอุณหภูมิแตกต่างกัน

อุณหภูมิ (Tmin)	±RMSE	R ²
10.1	0.182	0.761
11.0	0.215	0.728
12.0	0.257	0.463
13.0	0.298	0.405
14.0	0.341	0.336
14.9	0.383	0.266

3.5 การสร้างแบบจำลองทฤษฎีทำนายค่า Asymptote (A) ของ *V. parahaemolyticus*

การทำนายค่า A ที่เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิโดยใช้แบบจำลอง Asymptote Temperature วิเคราะห์หาค่าคงที่แบบจำลอง การเปลี่ยนแปลงของค่า A ตามอุณหภูมิดังแสดงภาพที่ 27 ซึ่งแบบจำลองที่ใช้การทำนายช่วงการอยู่รอดของและช่วงการเจริญของแสดงดังแบบจำลองที่ 18 และ 19 ตามลำดับ ซึ่งแบบจำลองทั้งสองนี้อธิบายความสัมพันธ์ของค่า A ที่เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิ ได้เป็นอย่างดี โดยที่ค่า RMSE ของการทำนายค่า (± 3.479 และ ± 2.274 9 สำหรับช่วงการอยู่รอดและการเจริญ ตามลำดับ)

ค่า A ช่วงการอยู่รอด

$$A = -9.671(1 - \exp(0.27(T - 10.1))) \quad (18)$$

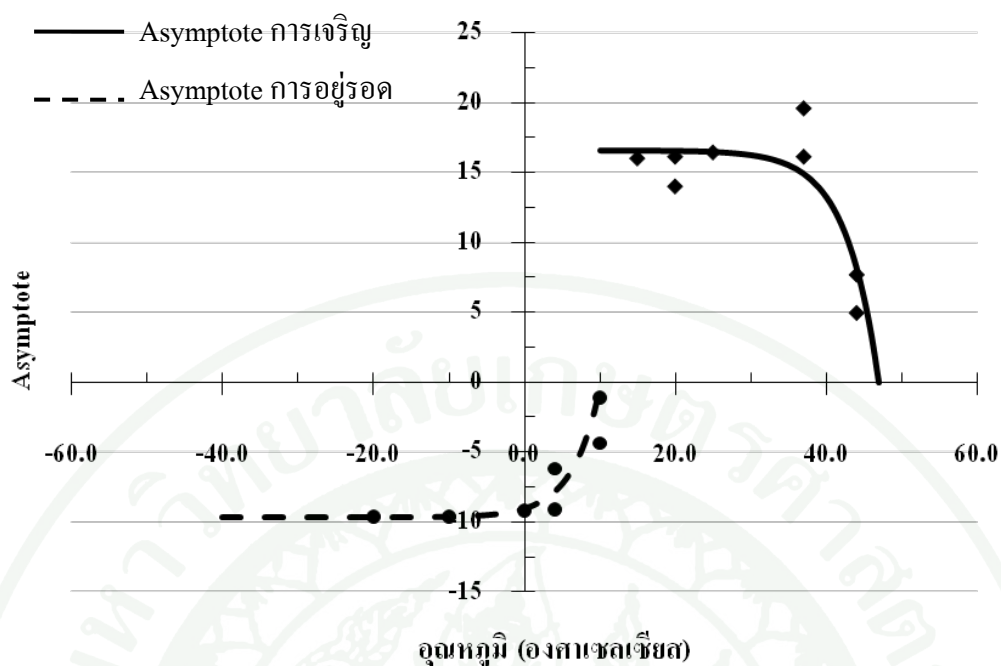
ค่า A ช่วงการเจริญ

$$A = 16.541(1 - \exp(0.230(T - 47))) \quad (19)$$

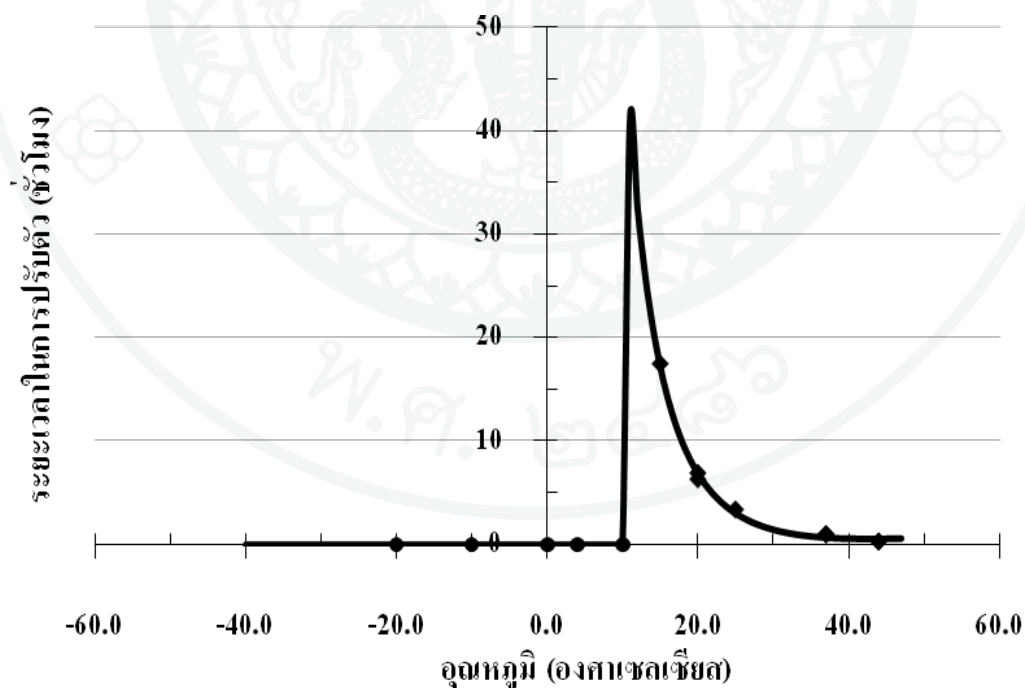
3.6 การสร้างแบบจำลองทฤษฎีทำนายระยะเวลาการปรับตัว (Lag phase, λ) ของ *V. parahaemolyticus*

การทำนายระยะเวลาการปรับตัวที่เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิโดยใช้แบบจำลอง non-linear Arrhenius ทำการวิเคราะห์หาค่าคงที่แบบจำลอง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของระยะเวลาการปรับตัว ดังแสดงภาพที่ 28 โดยแบบจำลองที่ใช้ทำนายแสดงดังแบบจำลองที่ 20 อธิบายความสัมพันธ์ของระยะเวลาที่เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิได้เป็นอย่างดี โดยที่ค่า RMSE ของการทำนายค่า (± 0.330)

$$\lambda = 5.4 + \left(\frac{-413}{T} \right) + \frac{8876.63}{T^2} \quad (20)$$



ภาพที่ 27 ความสัมพันธ์ของค่า Asymptote ของที่ได้จากการทดลองและการทำนาย ณ อุณหภูมิต่างๆ



ภาพที่ 28 ความสัมพันธ์ของระยะเวลาการปรับตัวของที่ได้จากการทดลองและการทำนาย ณ อุณหภูมิต่างๆ

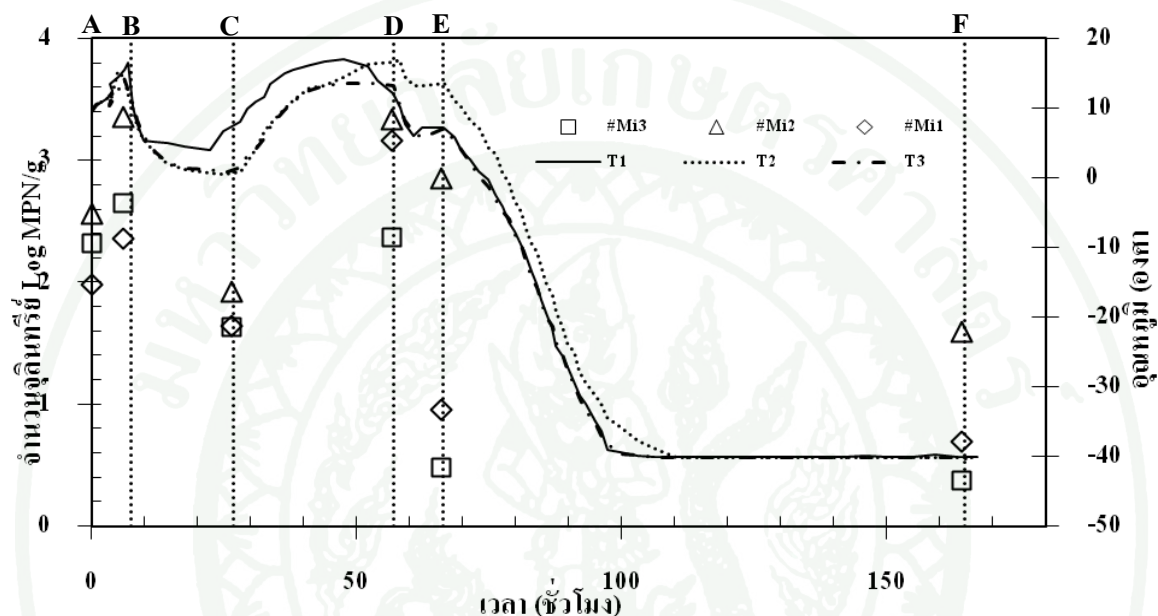
4. การประเมินผลของการสร้างแบบจำลองการทำนายปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus* โรงงานผลิตกุ้งแช่แข็ง

พฤติกรรมของ *Vibrio parahaemolyticus* โรงงานแช่แข็งตั้งแต่กระบวนการขนส่ง จากระบบขนส่งเข้าสู่โรงงานผลิตกุ้งแช่แข็ง พบว่ากระบวนการผลิตมีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ตลอดกระบวนการ อุณหภูมิอยู่ช่วง -18 ถึง 13 องศาเซลเซียส โดยตลอดกระบวนการผลิตใช้เวลา ประมาณ 4 ชั่วโมง และสุ่มเก็บตัวอย่าง *Vibrio parahaemolyticus* ตลอดกระบวนการทั้งหมด 6 จุด ดังแสดงภาพที่ 29 โดยเริ่มจากจุด A คือรถขนส่งกุ้งไปยังจุดที่ B จุดล้างคลอรีน พบว่า *Vibrio parahaemolyticus* มีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก 0.5 เป็น 1 log cycle เช่นเดียวกับการศึกษาพฤติกรรมของ ห้องปฏิบัติการทางด้านจุลินทรีย์เนื่องจาก อุณหภูมิจากระบบขนส่งไปยังจุดล้างคลอรีนเป็นอุณหภูมิที่สูงกว่า 10 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ *Vibrio parahaemolyticus* สามารถเจริญได้ จากเมื่อผ่าน กระบวนการล้างคลอรีนไปยังจุดชั่งน้ำหนัก (จุด C) เป็นสภาวะอุณหภูมิต่ำ (0 – 6 องศาเซลเซียส) มี พฤติกรรมลดจำนวนลง 1 – 1.5 log cycle ซึ่งเป็นช่วงที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส และ คลอรีนเป็นสารเคมีที่มีคุณสมบัติเป็นสารฆ่าแบคทีเรียรายงานของ Husnah, 2001 และ Chaiyakosa, 2006 หลังจากจุดชั่งน้ำหนัก ไปยังจุดคัดขนาดกุ้ง (จุด D) พบว่าอุณหภูมิกระบวนการ ผลิตมากกว่า 10 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ *Vibrio parahaemolyticus* สามารถเจริญได้ โดยมี พฤติกรรมการเพิ่มจำนวนประมาณ 1 – 1.5 log cycle เมื่อถึงกระบวนการคัดขนาดไปยังจุดพัก ก่อนแช่แข็ง (จุด E) พบว่าอุณหภูมิ ณ ช่วงนี้ต่ำลงอีกครั้ง ตั้งแต่กระบวนการชั่งน้ำหนักจนถึง กระบวนการแพค (จุด D และ F ตามลำดับ) พบว่า *Vibrio parahaemolyticus* มีจำนวนลดลง 0.5 – 2 log cycle เมื่อผ่านกระบวนการแช่แข็ง

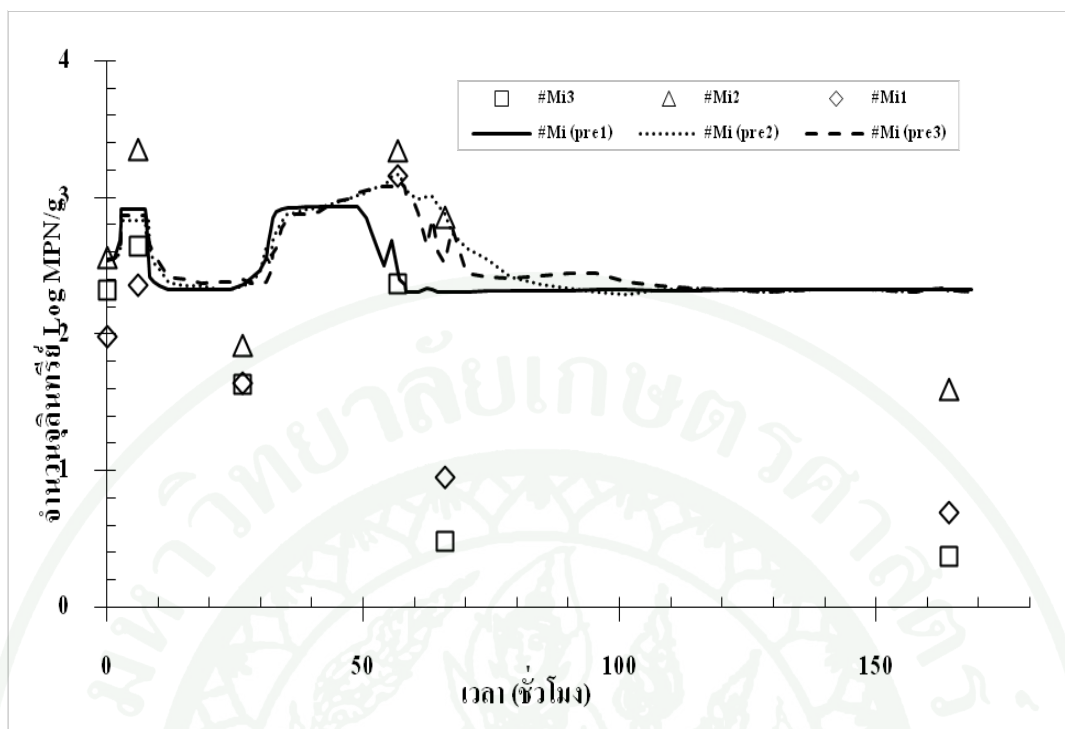
จากการศึกษาการปนเปื้อนของ *Vibrio parahaemolyticus* ของกุ้งโรงงานแช่แข็ง พบว่าพฤติกรรมของที่ปนเปื้อนมากับตัวกุ้งตั้งแต่กระบวนการขนส่งจนถึงกระบวนการบรรจุมี พฤติกรรมเช่นเดียวกันกับ *Vibrio parahaemolyticus* ห้องปฏิบัติการ ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทางเพื่อ สร้างความมั่นใจแก่ผู้บริโภคและผู้ประกอบการได้

แบบจำลองปฐภูมิและแบบจำลองทุติยภูมิที่ใช้การทำนายปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus* กระบวนการแช่แข็งกุ้งพบว่าทำนายปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus* ได้ มากกว่าค่าจากการทดลองดังแสดงภาพที่ 30 อย่างไรก็ตามอุณหภูมิกระบวนการแช่แข็งเป็นปัจจัย สำคัญที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Vibrio parahaemolyticus* ได้ จากการทำนายที่ช่วงเวลา 70 – 170 นาที พบว่า *Vibrio parahaemolyticus* ที่ทำนายได้มีค่าสูงกว่าปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus*

ที่ได้จากการทดลอง อาจเนื่องมาจากค่าที่ได้จากการทำนายมีปัจจัยของอุณหภูมิที่ส่งผลต่อปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus* เพียงปัจจัยเดียว แต่กระบวนการแช่แข็งก็ยังมีกระบวนการฆ่าด้วยสารเคมี ซึ่งส่งผลให้ *Vibrio parahaemolyticus* ที่ผ่านกระบวนการนี้มีปริมาณลดลงเนื่องจากการบาดเจ็บจากการฆ่า และ อุณหภูมิที่ใช้การแช่แข็งด้วย



ภาพที่ 29 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกระบวนการแช่แข็ง (T1(ตัวอ่านอุณหภูมิตัวที่ 1), T2 (ตัวอ่านอุณหภูมิตัวที่ 2) และ T3 (ตัวอ่านอุณหภูมิตัวที่ 3)) และปริมาณก่อโรค *V. parahaemolyticus* (#Mi1(จำนวน *V. parahaemolyticus* ซ้ำที่ 1)), #Mi2 (จำนวน *V. parahaemolyticus* ซ้ำที่ 2) และ #Mi3(จำนวน *V. parahaemolyticus* ซ้ำที่ 3)) วิเคราะห์ปริมาณตั้งแต่จุด A ถึง F ตลอดกระบวนการแช่แข็ง



ภาพที่ 30 กราฟเปรียบเทียบระหว่างปริมาณก่อโรค *V. parahaemolyticus* จากการทดลองกับ ปริมาณก่อโรค *V. parahaemolyticus* จากการทำนยกระบวนกรแช่แข็งกุ้ง

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

พฤติกรรมการอยู่รอดและการเจริญของ *V. parahaemolyticus* บนตัวกุ้ง เมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 ถึง 44 องศาเซลเซียส สามารถอธิบายได้ด้วยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ พบว่าอุณหภูมิต่ำสุดที่สามารถเจริญได้คือ 10.1 องศาเซลเซียส กรณีที่เก็บรักษากุ้งแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10.1 องศาเซลเซียส มีพฤติกรรมลดจำนวนลง แบบจำลอง Modified Gompertz และแบบจำลอง Barany ใช้ทำนายการอยู่รอดและการเจริญของ *V. parahaemolyticus* โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.954 และ 0.936 ตามลำดับ

การทำนายอัตราการอยู่รอดและการเจริญของโดยวิธีการรวมข้อมูลการวิเคราะห์ให้ผลการทำนายไม่แตกต่างกับการใช้วิธีการแยกข้อมูล นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้แบบจำลองทุติยภูมิทำนายอัตราการอยู่รอดและการเจริญของพบว่า อุณหภูมิต่ำสุดตามทฤษฎีที่แสดงพฤติกรรมการเจริญคือ 10.1 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดตามทฤษฎีที่สามารถเจริญได้คือ 47.1 องศาเซลเซียส

แบบจำลองที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้ทำนายการปนเปื้อนของ *V. parahaemolyticus* กระบวนการผลิตได้ ซึ่งมีความสำคัญกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแช่แข็งและเป็นประโยชน์ต่อผู้ผลิตอาหารทะเลเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและช่วยลดความเสี่ยงของ *Vibrio parahaemolyticus* ที่อาจปนเปื้อนไปอาหารได้

ข้อเสนอแนะ

แบบจำลองที่พัฒนาขึ้นสามารถทำนายปริมาณ *V. parahaemolyticus* ที่เจริญบนตัวกุ้งได้ แต่การทำนายกระบวนการผลิตกุ้งแช่แข็งโรงงาน ควรศึกษาถึงปัจจัยอื่นที่ส่งผลกระทบต่อปริมาณ *V. parahaemolyticus* กระบวนการผลิต เช่น ความเข้มข้นของคลอรีน เป็นต้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กนกรัตน์ ศิริพานิชกร. 2541. โรคติดเชื้อ, คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

กมลศิริ พันธนิยะ. 2550. กุ้งขาวลิทอพีเนียส แวนาไม. แหล่งที่มา: <http://www.shrimpcenter.com/t-shrimp051.html>, 5 กุมภาพันธ์ 2555.

กระทรวงพาณิชย์. 2551. จุลสารเศรษฐกิจการประมง. แหล่งที่มา: http://fishco.fisheries.go.th/economic_divition/magazine/Y2008March/1.pdf, 24 มีนาคม 2551.

กรมประมงต่างประเทศ. 2554. ปริมาณและมูลค่าการส่งออกสินค้าประมงของไทย. แหล่งที่มา: <http://www.fisheries.go.th>, 13 เมษายน 2554.

กองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ กรมประมง. 2549. มาตรฐานผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ. แหล่งที่มา: http://www.fisheries.go.th/quality/standard_49.html, 24 มีนาคม 2551.

ผดุงเดช พลสุข และ รวิพิมพ์ ฦวิสุข. 2552. แบบจำลองเชิงปริมาณเพื่อการทำนายปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus* กุ้งขาวแหย่เยือกแข็ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พิจิตตา ตั้งเทียนพันธ์ และ จิตศิริ ราชตะนะพันธ์. 2552. อิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อก่อโรค *Vibrio parahaemolyticus* กุ้งขาวสด, น. 117-121. ใน เรื่องเติมการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 49. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร

สุครัตน์ พยัมิเชียร, ตดาวัลย์ จึงสมานกุล, กรองแก้ว สุภวัฒน์ และสุนันทา รามศิริ, 2533, การศึกษาวิธีการตรวจนับ *Vibrio parahaemolyticus* ผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแช่เยือกแข็ง เพื่อการส่งออกโดยวิธี Most Probable Number (MPN) อาหาร. กรุงเทพมหานคร

สุวณี สุกเวชย์ และ มาลัย วรจิตร. 2536. แบคทีเรียพื้นฐาน. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์สรีรียอด.
กรุงเทพมหานคร

อรษา สุตธีรกุล. 2544. *Vibrio parahaemolyticus*, น. 44-51. ใน รายงานการประชุมปฏิบัติการ
โรคอุจจาระร่วงปัญหาและแนวทางการแก้ไขทศวรรษหน้า. ครั้งที่ 12. กรุงเทพมหานคร

Adair, C. and P.A. Briggs. 1993. The concept and application of expert systems in the field of
microbiological safety. **International Journal of Food Microbiology** 12: 263–267.

Adair, C., D. C. Kilsby and P. T. Whittall. 1989. Comparison of the Schoolfield (non-
linear Arrhenius) model and the Square Root model for predicting bacterial growth in
foods. **Food Microbiology** 6 (1): 7-18.

Alam, M. J., S.-I. Miyoshi and S. Shinoda. 2003. Studies on pathogenic *Vibrio*
parahaemolyticus during a warm weather season in the Seto Inland Sea, Japan.
Environmental Microbiolog. 5 (8): 706-710.

Alzamora, S.M., M.S. Tapia and A. López-Malo. 2000. Overview. In Minimally Processed
Fruits and Vegetables. **In Fundamental Aspects and Applications**, edited by G.
Barbosa-Cánovas and M.S. Tapia. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, Inc

Andrews, W. H. and T. S. Hammack. 1998. *Vibrio*. **Bacteriological analytical
manual**. Washington, D.C.: U.S. Food and Drug Administration.

Baranyi, J. and T. A. Roberts. 1994. A dynamic approach to predicting bacterial
growth in food. **International Journal of Food Microbiology** 23 (3-4): 277-294.

- Bej, A. K., D. P. Patterson, C. W. Brasher, M. C. L. Vickery, D. D. Jones and C. A. Kaysner. 1999. Detection of total and hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish using multiplex PCR amplification of *tl*, *tdh* and *trh*. **Journal of Microbiological Methods** 36: 215-225.
- Bernaerts, K., K. J. Versyck and J. F. Van Impe. 2000. On the design of optimal dynamic experiments for parameter estimation of a Ratkowsky-type growth kinetics at suboptimal temperatures. **International Journal of Food Microbiology** 54: 27-38.
- Blackstone, G. M., J. L. Nordstrom, M. C. L. Vickery, M. D. Bowen, R. F. Meyer and A. Depaola. 2003. Detection of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in oyster enrichments by real time PCR. **Journal of Microbiological Methods** 53 (2): 149-155.
- Boonsupthip, W., and T-C. Lee. 2003. Ice crystal kinetics. pp. 509–516. In D. S. Heldman (Ed.), **The Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering (EAFE)**. New York: Marcel Dekker.
- Buchanan, R.L. 1993. Predictive food microbiology. Trends growth rate of food spoilage moulds. **Applied Environmental Microbiology Food Science Technology**. 4: 6–11
- Buchanan, R. L. and L. K. Bagi. 1994. Expansion of response surface models for the growth of *Escherichia coli* O157: H7 to include sodium nitrite as a variable. **International Journal of Food Microbiology**. 23(3-4): 317-332.
- Buchanan, R.L. and R.C. Whiting. 1997. Concepts in predictive microbiology. pp 93–97. In: Reciprocal Meat Conference Proceedings 50. **American Meat Science Association Kansas**.

- Chaiyakosa, S., W. Charernjiratragul, K. Umsakul and V. Vuddhakul. 2007. Comparing the efficiency of chitosan with chlorine for reducing *Vibrio parahaemolyticus* in shrimp. **Food Control**. 18: 1031-1035.
- Davey, K. R. 1989. A predictive model for combined temperature and water activity on microbial growth during the growth phase. **Journal of Applied Bacteriology**. 67: 483-488.
- Davey, K. R. 1994. Modeling the combined effect of temperature and pH on the rate coefficient for bacterial growth. **International Journal of Food Microbiology**. 23(3-4): 295-303.
- DePaola, A., J. Ulaszek, C. A. Kaysner, B. J. Tenge, J. L. Nordstrom, J. Wells, N. Puhre and S. M. Gendel. 2003. Molecular, serological, and virulence characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from environmental, food, and clinical sources in North America and Asia. **Applied and Environmental Microbiology**. 69 (7): 3999-4005.
- Desmarchelier, P. M. 1997. Pathogenic vibrios. pp 285-312. **In: Foodborne microorganisms of public health importance**. A. D. Hocking, G. Arnold, I. Jensen, K. Newton and P. Sutherland. Sydney, Australia, AIFST (NSW Branch)
- Diez-Gonzalez, F., D. Belina, T. P. Labuza, and A. Pal. 2007. Modeling the growth of *Listeria monocytogenes* based on a time to detect model in culture media and frankfurters. **International Journal of Food Microbiology**. 113(3): 277-283.
- Dickson, J.S., G.R. Siragusa, Jr. J.E. Wray. 1992. Predicting the growth of *Salmonella typhimurium* on beef by using the temperature function integration technique. **Applied Environment Microbiology**. 58: 3482-3487.

- Dupray, E. and M. Cormier. 1983. Optimal enrichment time for isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from seafood. **Applied Environmental Microbiology**. 46: 1234-1235.
- Emborg, J. and P. Dalgaard. 2008. Growth, inactivation and histamine formation of *Morganella psychrotolerans* and *Morganella morganii* development and evaluation of predictive models. **International Journal of Food Microbiology**. 128: 234-243.
- Erkmen, O. 2009. Mathematical modeling of *Salmonella typhimurium* inactivation under high hydrostatic pressure at different temperatures. **Food and Bioproducts Processing**. 87: 68-73.
- Fujikawa, H., K. Bon and F. Tateo. 2009. Development of a predictive program for *Vibrio parahaemolyticus* growth under various environmental conditions. **Biocontrol Science**. 14 (3): 127-131.
- Gill, C.O. 1996. Cold storage temperatures fluctuations and predicting microbial growth. **Journal of Food Protection**. 59: 43-47.
- Husnah Lin, C-K. 2001. Chlorine demand and bacteria of low salinity shrimp pond sediment treated with different chlorine doses. **Aquacultural Engineering**. 25 (3): 165-174.
- Iwahori, J. I., A. Yamamoto, H. Suzuki, T. Yamamoto, T. Tsutsui, K. Motoyama, M. Sawada, T. Matsushita, A. Hasegawa, K. Osaka, H. Toyofuku and F. Kasuga. 2010. Quantitative Risk Assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in Finfish: A Model of Raw Horse Mackerel Consumption in Japan. **Risk Analysis**. 30: 1817- 1832.

- Jiang, X. and T. J. Chai. 1996. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* at low temperatures under starvation conditions and subsequent resuscitation of viable nonculturable cells. **Applied and Environmental Microbiology**. 62: 1300-1305.
- Juneja, V. K., H. Marks, and H. Thippareddi. 2009. Predictive model for growth of *Clostridium perfringens* during cooling of cooked ground chicken. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. 10(2): 260-266.
- _____, M. V. Melendres, L. Huang, J. Subbiah and H. Thippareddi. 2009. Mathematical modeling of growth of *Salmonella* in raw ground beef under isothermal conditions from 10 to 45 °C. **International Journal of Food Microbiology**. 131: 106-111.
- _____, _____, _____, V. Gumudavelli, J. Subbiah, and H. Thippareddi. 2007. Modeling the effect of temperature on growth of *Salmonella* in chicken. **Food Microbiology**. 24(4): 328-335.
- Kaneko, T. and R. R. Colwell. 1973. Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. **Journal Bacteriology**. 113: 24-32.
- Kaysner, C. A. and A. DePaola. 2001. A: *Vibrio*. In U.S Food and Drug Administration (Eds.), **Bacteriological analytical manual online**. Volume Chapter 9.9th edition. Rockville, MD: U.S Food and Drug Administration.
- Koseki, S. and S. Isobe. 2005. Prediction of pathogen growth on iceberg lettuce under real temperature history during distribution from farm to table. **International Journal of Food Microbiology**. 104: 239-248.
- Lake, R., A. Hudson and P. Cressey. 2003. Risk profile: *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. **Institute of Environmental Science and Research Ltd**, Christchurch, New Zealand.

- Lebert, I. and A. Lebert. 2006. Quantitative prediction of microbial behaviour during food processing using an integrated modelling approach: a review. **International Journal of Refrigeration**. 29: 968-984.
- Lebert I, V. Robles-Olvera and A. Lebert. 2000. Application of polynomial models to predict growth of mixed cultures of *Pseudomonas* spp. and *Listeria* in meat. **International Journal of Food Microbiology**. 61: 27-39.
- Liu, X., Y. Chen, X. Wang and R. Ji. 2004. Foodborne disease outbreaks in China from 1992 to 2001 national foodborne disease surveillance system. **Journal of Hygiene Research**. 33(6): 725-727.
- López, S., M. Prieto, J. Dijkstra, M. S. Dhanoa and J. France. 2004. Statistical evaluation of mathematical models for microbial growth. **International Journal of Food Microbiology**. 96: 289-300.
- Lozano-León A, J. Torres, C. R. Osorio, and J. Martinez-Urtaza. 2003. Identification of tdh-positive *Vibrio parahaemolyticus* from an outbreak associated with raw oyster consumption in Spain. **FEMS microbiology Letters**. 226: 281-284.
- Magalhães, T. F., R.H. Silva dos Fernandes Vieira, S.H. Ferreira Façanha, E. Hofer and A. M. Martin. 2000. Note. Growth of *Vibrio parahaemolyticus* in lobster homogenates at different temperatures / Nota. Crecimiento de *Vibrio parahaemolyticus* en langosta a diferentes temperaturas. **Food Science Technology and International**. 6(2): 145-150.
- Matches, J. R., J. Liston. and L. P. Daneault. 1971. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in Fish Homogenate During Storage at Low Temperatures. **Applied Microbiology**. 21(5): 951-952.

- Martinez-Urtaza, J., L. Simental, D. Velasco, A. DePaola, M. Ishibashi, Y. Nakaguchi, M. Nishibuchi, D. Carrera-Flores, C. Rey-Alvarez, and A. Pousa. 2005. Pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6, Europe. **Emerging Infectious Diseases**. 11 (8): 1319-1320.
- McClure, P. J., Beaumont A. L., Sutherland J. P. and T. A. Roberts. 1997. Predictive modelling of growth of *Listeria monocytogenes* The effects on growth of NaCl, pH, storage temperature and NaNO₂. **International Journal of Food Microbiology**. 34: 221-232.
- McDonald, K. and D.-W. Sun. 1999. Predictive food microbiology for the meat industry: a review. **International Journal of Food Microbiology**. 52(1-2): 1-27.
- McLaughlin, J. B., A. DePaola, C. A. Bopp, K. A. Martinek, N. P. Napolilli, C. G. Allison, S. L. Murray, E. C. Thompson, M. M. Bird, and J.P. Middaugh. 2005. Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis associated with Alaskan oysters. **The New England Journal Medicine**. 353: 1463-1470.
- Mickley, H. S., T. S. Sherwood, and R. C. E. 1957. **Applied mathematics in chemical engineering**. New York: McGraw-hill.
- Messens, W., J. Verluyten, F. Leroy and L. De Vuyst. 2003. Modelling growth and bacteriocin production by *Lactobacillus curvatus* LTH 1174 in response to temperature and pH values used for European sausage fermentation processes. **International Journal of Food Microbiology**. 81: 41-52.
- Pin, C., J. Baranyi and G. D. Fernando. 2000. Predictive model for the growth of *Yersinia enterocolitica* under modified atmospheres. **Applied Environmental Microbiology**. 68: 521
- Ratkowsky, A. D., J. Olley, T. A. McMeekin and A. Ball. 1982. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. **Journal of Bacteriology**. 149 (1): 1-5.

- Robinson, R. 1985. Microbiology of Frozen Foods. New York: **Elsevier Applied Science**. 290
- Ross, T. and T. A. McMeekin. 1994. Predictive microbiology. **International Journal of Food Microbiology**. 23(3-4): 241-264.
- Sriwimon W. and W. Boonsupthip. 2011. Utilization of partially ripe mangoes for freezing preservation by impregnation of mango juice and sugars. **LWT - Food Science and Technology**. 44(2): 375-383.
- Tamagnini, L. M., G. B. de Sousa, R. D. González and C. E. Budde. 2008. Behavior of *Enterobacter amnigenus* and *Salmonella typhimurium* in Crottin goat's cheese: Influence of fluctuating storage temperature. **Small Ruminant Research**. 76: 177-182.
- Taoukis, P. S., K. Koutsoumanis, and G. J. E. Nychas. 1999. Use of time-temperature integrators and predictive modelling for shelf life control of chilled fish under dynamic storage conditions. **International Journal of Food Microbiology**. 53(1): 21-31.
- Tsironi, T., E. Dermesonlouoglou, M. Giannakourou, and P. Taoukis. 2009. Shelf life modelling of frozen shrimp at variable temperature conditions. **LWT - Food Science and Technology**. 42(2): 664-671.
- Tuyet, D. T., V. D. Thiem, L. V. Seidlein, A. Chowdhury, E. Park, D. G. Canh, B. T. Chien, T. V. Tung, A. Naficy, M. R. Rao, H. Mohammad Ali Lee, T. H. Sy, M. Nichibuchi, J. Clemens and D. D. Trach. 2002. Clinical, Epidemiological and Socioeconomic Analysis of an Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* in Khanh Hoa Province, Vietnam. **Journal of Infectious Diseases**. 186: 1615-1620.
- Van Den Broek, M. J. and D. A. A. Mossel. 1977. Sublethal Cold Shock in *Vibrio parahaemolyticus*. **Applied and Environmental Microbiology**. 34(1): 97-98.

- Van Impe, J. F., B. M. Nicolai, T. Martens, J. De Baerdemaeker and J. Vandewalle. 1992. Dynamic mathematical model to predict microbial growth and inactivation during food processing. **Applied and Environmental Microbiology**. **58**: 2901-2909.
- Vanderzant, C. and R. Nickelson. 1972. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in Shrimp Tissue Under Various Environmental Conditions. **Applied Microbiology**. **23**(1): 34-37.
- Wong, H.-C. and P. Wang. 2004. Induction of viable but non culturable state in *Vibrio parahaemolyticus* and its susceptibility to environmental stresses. **Journal of Applied Microbiology**. **96**: 359-366.
- Wong, H.-C., S.-H. Liu, L.-W. Ku, I. Y. Lee, T.-K. Wang, Y.-S. Lee, C.-L. Lee, L.-P., K. and Y.-C. S. D. 2000. Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolates obtained from foodborne illness outbreaks during 1992 through 1995 in Taiwan. **Journal of Food Protection**. **63**: 900-906.
- Whiting, R. C. 1995. Microbial modelling in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. **35**(6): 467-494.
- Yang, Z.-q., X.-a. Jiao, X.-H. Zhou, G.-X. Cao, W.M. Fang and R.-X. Gu. 2008. Isolation and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* 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.
- _____, _____, P. Li, Z.-m. Pan, J.-l. Huang, R.-x. Gu, W.-m. Fang. and G.-x. Chao. 2009. Predictive model of *Vibrio parahaemolyticus* growth and survival on salmon meat as a function of temperature. **Food Microbiology**. **26**(6): 606-614.
- Ying, Y. and N. Xi-bin. 2006. The risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in prawn. **Modern Food Science and Technology**. **3**: 323-331.

- Yoon, K. S., K. J. Min, Y. J. Jung, K. Y. Kwon, J. K. Lee and S. W. Oh. 2008. A model of the effect of temperature on the growth of pathogenic and nonpathogenic *Vibrio parahaemolyticus* isolated from oysters in Korea. **Food Microbiology**. 25(5): 635-641.
- Zamora, M.C. and N.E. Zaritzky. 1985. Modelling of microbial growth in refrigerated packaged beef. **Journal of food science**. 50: 1003–1006.
- Zimmerman, A. M., A. DePaola, J. C. Bowers, J. A. Krantz, J. L. Nordstrom, C. N. Johnson and J., G. D. 2007. Variability of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* densities in northern Gulf of Mexico water and oysters. **Applied Environmental Microbiology**. 73: 7589-7596.
- Zwietering, M. H., J. T. De Koos, B. E. Hasenack, J. C De Witt and K. V. t. R. 1991. Modeling of bacterial growth as a function of temperature. **Applied and Environmental Microbiology**. 57: 1094-1101.





ตารางผนวกที่ ก1 การเปรียบเทียบจำนวน *Vibrio parahaemolyticus* บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ
10 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง
(หน่วย log MPN/g)

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนจุลินทรีย์จาก ผลการทดลอง (log MPN/g)	จำนวนจุลินทรีย์จากการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (log MPN/g)		
		First order kinetic	Modified Gompertz	Weibull
0	4.9685	4.9694	4.9373	4.9685
24	4.6335	4.7848	4.6252	4.5937
48	4.4624	4.6003	4.5039	4.5427
72	4.5563	4.4157	4.4857	4.5098

ตารางผนวกที่ ก2 การเปรียบเทียบจำนวน *Vibrio parahaemolyticus* บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ
4 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง
(หน่วย log MPN/g)

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนจุลินทรีย์จาก ผลการทดลอง (log MPN/g)	จำนวนจุลินทรีย์จากการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (log MPN/g)		
		First order kinetic	Modified Gompertz	Weibull
0	5.3802	5.3812	5.1204	5.1204
24	3.9685	4.5622	4.4876	4.4876
48	4.4624	3.7432	3.6287	3.6287
72	3.4771	2.9243	2.8481	2.8481
96	1.4771	2.1053	2.2826	2.2826
120	1.4771	1.2863	1.9215	1.9215
144	1.4771	0.4674	1.7065	1.7065

ตารางผนวกที่ ก3 การเปรียบเทียบจำนวน *Vibrio parahaemolyticus* บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (หน่วย log MPN/g)

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนจุลินทรีย์จาก ผลการทดลอง (log MPN/g)	จำนวนจุลินทรีย์จากการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (log MPN/g)		
		First order kinetic	Modified Gompertz	Weibull
0	4.6628	4.6636	4.5117	4.6628
24	4.3222	4.2956	4.1596	3.9765
48	3.3802	3.9276	3.6784	3.5217
96	3.0414	3.1917	2.8976	3.1264
120	2.6628	2.8237	2.6785	2.7655
144	2.6628	2.4557	2.5446	2.4281

ตารางผนวกที่ ก4 การเปรียบเทียบจำนวน *Vibrio parahaemolyticus* บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (หน่วย log MPN/g)

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนจุลินทรีย์จาก ผลการทดลอง (log MPN/g)	จำนวนจุลินทรีย์จากการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (log MPN/g)		
		First order kinetic	Modified Gompertz	Weibull
0	4.1761	4.1768	3.9012	4.1761
168	1.4771	1.9666	1.3755	1.1543
336	0.0000	-0.2436	0.2381	0.5156
504	0.0000		0.0359	0.0812

ตารางผนวกที่ ก5 การเปรียบเทียบจำนวน *Vibrio parahaemolyticus* บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ
-20 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง
(หน่วย log MPN/g)

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนจุลินทรีย์จาก ผลการทดลอง (log MPN/g)	จำนวนจุลินทรีย์จากการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (log MPN/g)		
		First order kinetic	Modified Gompertz	Weibull
0	4.1761	4.1768	3.9012	4.1761
168	1.8633	2.5997	1.8675	1.6174
336	0.5563	1.0225	0.5062	0.8072
504	0.0000	-0.5547	0.1160	0.2190
672	0.0000		0.0256	-0.2597

ตารางผนวกที่ ก6 การเปรียบเทียบจำนวน *Vibrio parahaemolyticus* บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ
44 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง
(หน่วย log MPN/g)

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนจุลินทรีย์จาก ผลการทดลอง (log MPN/g)	จำนวนจุลินทรีย์จากการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (log MPN/g)		
		First order kinetic	Modified Gompertz	Baranyi
0	3.3222	3.3228	3.4650	3.3228
1	3.9590	4.0173	4.1239	3.9296
2	4.8062	4.7119	4.8259	4.6452
3	5.3617	5.4064	5.2131	5.1974
4	5.4563	6.1009	5.3776	5.4211
5	5.4771	6.7954	5.4409	5.4688
6	5.4771	7.4899	5.4645	5.4767

ตารางผนวกที่ ก7 การเปรียบเทียบจำนวน *Vibrio parahaemolyticus* บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ
37 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง
(หน่วย log MPN/g)

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนจุลินทรีย์จาก ผลการทดลอง (log MPN/g)	จำนวนจุลินทรีย์จากการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (log MPN/g)		
		First order kinetic	Modified Gompertz	Baranyi
0	2.5000	0.0000	2.5064	2.5005
1	2.5000	2.5005	2.6743	2.7947
2	4.5000	3.7397	3.5604	4.0251
3	5.5000	4.9790	5.2896	5.5246
4	5.7000	6.2182	7.1821	7.0360
5	8.3000	7.4575	8.6778	8.5464
6	11.0000	8.6968	9.6661	10.0128
7	11.0000	9.9360	10.2586	10.8984
8	11.0000	0.0000	10.5956	10.9984
9	10.5000	0.0000	10.7820	11.0019

ตารางผนวกที่ ก8 การเปรียบเทียบจำนวน *Vibrio parahaemolyticus* บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ
25 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง
(หน่วย log MPN/g)

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนจุลินทรีย์จาก ผลการทดลอง (log MPN/g)	จำนวนจุลินทรีย์จากการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (log MPN/g)		
		First order kinetic	Modified Gompertz	Baranyi
0	5.0414	5.0423	5.0423	5.0423
2	6.0414	6.2043	5.0445	5.0501
4	5.3010	7.3663	5.7261	5.8699
6	9.1761	8.5283	8.6533	8.2976
8	10.3802	9.6903	10.8974	10.7771
10	11.6628	10.8523	11.7798	12.1461
12	12.1761	12.0143	12.0602	12.1782

ตารางผนวกที่ ก9 การเปรียบเทียบจำนวน *Vibrio parahaemolyticus* บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ
20 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง
(หน่วย log MPN/g)

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนจุลินทรีย์จาก ผลการทดลอง (log MPN/g)	จำนวนจุลินทรีย์จากการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (log MPN/g)		
		First order kinetic	Modified Gompertz	Baranyi
0	4.6628	0.0000	4.6636	4.6636
2	4.8751	0.0000	4.6636	4.6639
4	5.6628	0.0000	4.6636	4.6718
6	4.1761	4.1768	4.6730	4.8668
8	5.9685	5.8468	5.1354	5.9573
10	6.4624	7.5167	6.9928	7.4306
12	9.0792	9.1867	9.1320	8.9245
14	10.6628	10.8566	10.4927	10.3965
16	11.6628	12.5266	11.1605	11.4714

ตารางผนวกที่ ก10 การเปรียบเทียบจำนวน *Vibrio parahaemolyticus* บนกุ้ง ณ อุณหภูมิ
15 องศาเซลเซียส ที่ได้จากการทดลองและการทำนายโดยใช้แบบจำลอง
(หน่วย log MPN/g)

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนจุลินทรีย์จาก ผลการทดลอง (log MPN/g)	จำนวนจุลินทรีย์จากการทำนายโดยใช้แบบจำลอง (log MPN/g)		
		First order kinetic	Modified Gompertz	Baranyi
0	3.8800	0.0000	3.8807	3.8807
2	4.0400	0.0000	3.8807	3.8807
4	3.6600	0.0000	3.8807	3.8807
6	3.9700	0.0000	3.8807	3.8807
8	4.1800	0.0000	3.8807	3.8807
10	3.5900	0.0000	3.8807	3.8810
12	3.3800	0.0000	3.8809	3.8826
14	3.3800	0.0000	3.8893	3.8947
16	3.9700	3.9707	3.9771	3.9747
18	5.1800	4.7176	4.3154	4.3251
20	5.1800	5.4645	4.9893	5.0314
22	5.1800	6.2114	5.8645	5.8718
24	6.1800	6.9583	6.7291	6.7358
28	9.0400	8.4521	7.9826	8.4691

ตารางผนวกที่ ก11 การเปรียบเทียบอัตราการอยู่รอดและการเจริญของ *Vibrio parahaemolyticus* ที่ได้จากการทดลองและการทำนาย

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อัตราการอยู่รอดและ การเจริญ (ต่อชั่วโมง)	การทำนายอัตราการอยู่รอดและการเจริญ (ต่อชั่วโมง)	
		วิธีรวมข้อมูล	วิธีการแยกข้อมูล
-20	-0.0271	-0.0582	-0.0582
-10	-0.0385	-0.0844	-0.0844
0	-0.0593	-0.0698	-0.0698
4	-0.0916	-0.0393	-0.0393
10	-0.0583	-0.0174	-0.0174
15	0.9991	0.7755	0.3919
20	1.4236	1.6615	1.3240
25	2.8752	2.5662	2.4304
37	3.3343	3.3554	3.6062
44	1.8795	1.8747	1.7672

ตารางผนวกที่ ก12 การเปรียบเทียบค่า Asymptote และ ระยะเวลาการปรับตัวของ *Vibrio Parahaemolyticus* ที่ได้จากข้อมูลจริงและข้อมูลจากการทำนาย

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	Asymptote		ระยะเวลาการปรับตัว (ชั่วโมง)	
	ข้อมูลจริง	ข้อมูลจากการทำนาย	ข้อมูลจริง	ข้อมูลจากการทำนาย
-20	-9.62	-9.67	0	0
-10	-9.62	-9.63	0	0
0	-9.2	-9.04	0	0
4	-7.65	-7.81	0	0
10	-2.75	-0.26	0	0
15	16	16.53	17.42	17.25
20	15.06	16.51	6.3	6.89
25	16.43	16.44	3.39	3.04
37	17.85	14.88	1	0.69
44	6.33	8.24	0.33	0.57

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวอริสรา บุญยะวันตั้ง
วัน เดือน ปี ที่เกิด	9 ตุลาคม 2527
สถานที่เกิด	พัทลุง
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร) ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร สาขาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	Boonyawantang, A. and W. Boonsupthip. 2012. Behavior of pathogenic <i>Vibrio parahaemolyticus</i> in prawn in response to temperature in laboratory and factory. Food control. 26: 479-485. เข้าร่วมการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 21 นำเสนอผลงานเรื่องแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ เพื่อทำนายปริมาณเชื้อไวรัส โอ พาราเฮโมไลติคัสในกุ้งขาว เมื่อวันที่ 26 พฤษภาคม พ.ศ. 2554
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนสนับสนุนงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา เพื่อการตีพิมพ์ ในวารสารระดับชาติและนานาชาติ จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2552 ทุนวิจัยโครงการการประเมินความเสี่ยงของเชื้อก่อโรค <i>Vibrio parahaemolyticus</i> ในกุ้งแช่เย็นและแช่แข็งใน ประเทศไทยและการพัฒนาการสร้างแบบจำลองทาง คณิตศาสตร์ สำหรับการลดปริมาณการปนเปื้อนใน กรรมวิธีการผลิต สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีแห่งชาติพันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพ แห่งชาติ