14921

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาผลการควบคุมอุณหภูมิในการดองน้ำแข็งต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในกุ้งสด

Study on effect of temperature control on bacteria growth in ice storing of raw shimp

โดย

นางสาว สุภาวดี สุพงษ์
นางสาว พงษ์สุดา จันทร์บ้วย

T096871

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 21/3/40 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

( )

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

ผศ. ดร. ระดิพร หาเรือนกิจ
(หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร)
หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 30 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2540

ปพ.
ส839ก
2540

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 96871
วัน,เดือน,ปี - 5 JUN 2009

ปพ.
ส839ก
2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุภาวดี สุพงษ์ และ พงษ์สุดา จันทร์บ้วย :
การศึกษาผลของการควบคุมอุณหภูมิในการดองน้ำแข็งต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในกุ้งสด (Study on effect of temperature control on bacteria growth in ice storing of raw shimp).ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ. ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ , 29หน้า

บทคัดย่อ

ในขบวนการผลิตกุ้งแช่แข็ง ปัจจัยสำคัญในการป้องกัน การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในวัตถุดิบคือการควบคุมอุณหภูมิในระหว่างการเก็บรักษากุ้งดิบเพื่อรอการผลิต ดังนั้นการกำหนดค่าอุณหภูมิ จึงเป็นสิ่งจำเป็นและสำคัญที่ต้องควบคุม ซึ่งโรงงานผลิตกุ้งแช่แข็งบางโรงงานอาจกำหนดขั้นตอนนี้เป็นจุดควบคุมวิกฤต (Critical Control Point) การทดลองนี้จึงเป็นการศึกษาการ ควบคุมอุณหภูมิการ ดองกุ้งด้วยน้ำแข็งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยควบคุมอุณหภูมิในการดองน้ำแข็งกุ้งสดที่ 0, 5, 10, 15 20 องศาเซลเซียสและที่อุณหภูมิที่ห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างดังกล่าวไปตรวจหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (Total Count) , Colifrom , *Staphylococcus aureus* และ Samonella ผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 0, 5, และ10 องศาเซลเซียสสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในกุ้งได้ดีกว่าการดองน้ำแข็งที่อุณหภูมิ15 และ20 องศาเซลเซียส ผลจากการทดลองนี้สามารถ นำมาใช้เป็นค่าจำกัดวิกฤต (Critical limit) ในระบบ HACCP ของอุตสาหกรรมกุ้งแช่เยือก แข็งต่อไปได้

ลายมือชื่อนักศึกษา	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา	วัน เดือน ปี
		21/3/40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้จัดทำรายงานขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่อ ผศ.ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้ให้คำปรึกษาและแนวทางต่างๆ อันเป็นประโยชน์ต่องานวิจัย และขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่งและอาจารย์ วิไล สนธิเพิ่มพูน ที่ได้เป็นกรรมการ และได้ให้คำปรึกษาแนะแนวทางอันเป็นประโยชน์ต่อข้อมูลของงานวิจัย จนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ พี่ๆ เจ้าหน้าที่ห้องวิทยาศาสตร์ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการเบิก ยืม อุปกรณ์และสารเคมี ทำให้งานวิจัยมีความสะดวก และดำเนินไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ๆ ที่คอยช่วยเหลือสนับสนุน ทั้งกำลังทรัพย์ และกำลังใจ และขอบคุณเพื่อนๆ และน้องๆที่คอยช่วยเหลือเป็นกำลังใจในการทำงาน ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วง ไปได้ด้วยดี

สุภาวดี สุพงษ์

พงษ์สุดา จันทร์บ้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทนำ	1
วารสารปริทัศน์	
- จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวกำหนดคุณภาพอาหาร	2
- การเสื่อมเสียของกุ้งเนื่องจากแบคทีเรีย	6
- การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด	7
- การวิเคราะห์ Staphylococcus aureus	8
- การวิเคราะห์ Salmonella	9
- การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์โดยวิธี Most Probable Number (MPN)	10
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	11
ผลการทดลอง	16
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	23
เอกสารอ้างอิง	24
ภาคผนวก	
- วิธีการทดลองอย่างละเอียด	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ประกาศเกี่ยวกับเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร กระทรวงสาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	5
2. แสดงการแบ่งกลุ่มตัว อย่างกุ้งในการทดลอง	12
3. แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ของกุ้งภายหลังการดองน้ำแข็งที่อุณหภูมิต่างๆ	17
4. แสดงการทดลองหาจำนวนจุลินทรีย์ในกุ้งดิบที่สภาวะเริ่มต้น	17
5. แสดงการประเมินผลทางสถิติของจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในสภาวะการเก็บที่อุณหภูมิต่างๆกัน	18
6. ค่า MPN ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อใช้ระดับความเจือจางละ 3หลอด	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1. แสดงผลของจำนวนจุลินทรีย์ Total Plate Count ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ของน้ำแข็งในการดองกุ้งดิบ	19
2. แสดงผลของจำนวนจุลินทรีย์ Total Plate Count ที่อุณหภูมิห้องในการดองกุ้งดิบ	20
3. แสดงผลของการนับจำนวนจุลินทรีย์ Coliform ที่อุณหภูมิต่าง ๆของน้ำแข็งในการดองกุ้งดิบ	21
4. แสดงผลของจำนวนจุลินทรีย์ Staphylococcus aureus ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ของน้ำแข็งในการดองกุ้งดิบ	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทนำ

กุ้งเป็นอาหารที่เสียได้ง่ายทั้งนี้เพราะเหตุว่ากุ้งมีสารอาหารที่จุลินทรีย์นำมาใช้เป็นอาหารได้ดีสาร ได้แก่ โปรตีน,สารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ คาร์โบไฮเดรท, ไขมัน, ความชื้นและมี pH ค่อนข้างเป็นกลาง จึงทำให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียหลายชนิด แบคทีเรียที่มักพบอยู่เสมอในกุ้งและอาหารทะเลอื่น ๆ ได้แก่ Achromobacter *sp, Aeromonas sp, Alcallgenes sp, Bacterium sp, Clostridium sp, Escherichia sp, Flavobacterium sp, Micrococcus sp, Salmonella sp, Shigella sp,Staphylococcus sp, Streptococcus sp, Pseudomonas sp, Bacillus sp, และ Vibrio sp,* เป็นต้น (Frazier 1976, Jay 1970)

ในประเทศไทยกุ้งสดที่วางขายตามท้องตลาดโดยทั่ว ๆ ไป มักจะมีแบคทีเรียปะปนมาอยู่มากมายหลายชนิด แบคทีเรียเหล่านี้อาจมาจากน้ำที่กุ้งอาศัยอยู่ เรือ ภาชนะบรรจุ น้ำที่ใช้ล้างกุ้ง คนจับกุ้ง พ่อค้าและแม่ค้า นอกจากนี้อุณหภูมิภายในประเทศก็เหมาะต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียหล่านั้น โดยเฉพาะแบคทีเรียพวก mesophile และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษต่างๆ เช่น *Vibrio parahaemolyticus* ซึ่งพบทั่วไปในกุ้งทะเล (Vanderzant และ คณะ. 1970) จะเจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิประมาณ 30-37 องศาเซลเซียส (Buchanan และคณะ,1974) เป็นต้น ดังนั้นถ้าไม่ทำการเก็บกุ้งไว้ที่อุณหภูมิเหมาะสมแล้ว แบคทีเรียต่าง ๆ ก็จะเจริญเติบโตได้เร็วแล้วทำให้กุ้งเสียเร็วขึ้นและเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษได้ วิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย หรือเพื่อรักษาคุณภาพของกุ้งให้เหมือนกับของสดที่จับได้ใหม่ ๆ คือการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ เช่น การแช่เย็น หรือการแช่เยือกแข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วารสารปริทัศน์

จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวกำหนดคุณภาพอาหาร

โดยทั่วไปในการผลิตอาหารมักจะมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในวัตถุดิบโดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มต่างๆขั้นต้นในปริมาณสูง การใช้กระบวนการผลิตในรูปแบบต่างๆเช่น การล้างทำความสะอาดวัตถุดิบ การแช่เย็น การลวกต้ม การใช้ความร้อนในรูปแบบต่างๆ การทำแห้ง การฉายรังสี ฯลฯ จะช่วยลดยับยั้งและทำลายเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ให้ลดลง หรือหมดไปได้ ซึ่งการใช้กระบวนการผลิตในรูปแบบต่างๆนั้นมักมุ่งเน้นไปถึงการทำลายจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ทำให้อาหารเน่าเสียในสภาพที่เก็บ ตามแต่ลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการผลิต รวมถึงจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เพื่อยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ให้ยาวนานขึ้น และผลิตภัณฑ์นั้นมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค การควบคุมการผลิตที่ไม่มีประสิทธิภาพ หรือแหล่งผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะ จะมีผลทำให้จุลินทรีย์ในกลุ่มต่างๆดังกล่าว กลับเข้าไปปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ เป็นผลทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารที่ผลิตไม่ได้มาตรฐาน และก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค ได้ดังนั้นในการควบคุมคุณภาพทางจุลชีววิทยา มักใช้จุลินทรีย์ที่จะกล่าวถึงเป็นดัชนีบ่งชี้สิ่งต่างๆดังต่อไปนี้

1. Aerobic mesophilic plate count บ่งบอกถึงปริมาณของเชื้อในกลุ่มที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ซึ่งถ้ามีในปริมาณมากจะมีผลต่อคุณภาพอาหารและอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้น

2. Anaerobic plate count เช่นเดียวกับaerobic plate count แต่เน้นถึงคุณภาพอาหารและอายุการเก็บของอาหารที่บรรจุในสภาพ obligate anaerobic และ facultative anaerobic โดยมุ่งเน้นถึงแบคทีเรียที่ต้องการอากาศน้อย หรือไม่ต้องการอากาศในการเจริญเท่านั้น เพราะลักษณะของภาชนะบรรจุสามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.Enterobacteriaceae และ Colifrom ถ้าพบเชื้อกลุ่มนี้ในปริมาณสูงแสดงว่าการปฏิบัติในกระบวนการผลิตไม่เพียงพอที่จะทำลายเชื้อในกลุ่มนี้ให้หมดไปได้ เช่น ให้ความร้อนไม่เพียงพอ วัตถุดิบมีเชื้อปนเปื้อนในปริมาณสูงหรืออาจมีการปนเปื้อนภายหลัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากแหล่งผลิตที่มีสุขลักษณะส่วนบุคคลและโรงงานไม่ดี เกิดการปนเปื้อนจากอุปกรณ์ที่ล้างไม่สะอาด เกิดการปนเปื้อน จากมือของผู้สัมผัสอาหาร เป็นต้น นอกจากนี้การตรวจพบเชื้อดังกล่าวในผลิตภัณฑ์ ยังแสดงถึงยัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคทางเดินอาหารจากจุลินทรีย์ ทั้งในแบบ Food infection และ Food intoxication กับผู้บริโภคอาหารด้วย

4. Escherichia coli เป็นตัวบ่งชี้ว่ามีการปนเปื้อนของอุจจาระ เพราะเชื้อดังกล่าวพบมากในลำไส้ของคนและสัตว์ การตรวจพบเชื้อนี้แสดงให้เห็นถึงสุขลักษณะของการผลิตที่ไม่ดี นอกจากนี้การตรวจพบเชื้อ E coli ยังเป็นตัวบ่งชี้ถึงโอกาสที่จะมีการปนเปื้อนของเชื้อโรคทางเดินอาหารอื่น เช่น *Salmonellae, Shigellae* เป็นต้นซึ่งเป็นเชื้อที่พบในลำไส้ของคนและสัตว์ด้วยเช่นเดียวกัน

5. Coagulase positive staphylococci บ่งชี้ถึงว่าโรงงานผลิตมีสุขลักษณะส่วนบุคคลในการผลิตไม่ดี เกิดการปนเปื้อนในระหว่างการผลิตอาหาร เพราะเชื้อนี้พบมากตามผิวหนัง โพรงจมูก ลำคอ ของมนุษย์เชื้อนี้ จัดว่าเป็น skin index microorganism คือถ้าพบเชื้อนี้ในอาหารมักจะบอกได้ว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจากผู้สัมผัสอาหาร ในขณะผลิต นอกจากนี้ ถ้าตรวจพบเชื้อนี้ในปริมาณมากในอาหาร ผู้บริโภคอาจเกิดโรคอาหารเป็นพิษในแบบ food intoxication ได้ เนื่องจากเชื้อในกลุ่มนี้จะผลิตสารพิษที่เรียกว่า enterotoxin ขณะที่เจริญในอาหาร

6. Enterococci ถ้าพบเชื้อนี้ในผลิตภัณฑ์ จะบ่งชี้ถึงสุขลักษณะของโรงงานการผลิตที่ไม่ดี มีการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะ มีการล้างอุปกรณ์ ภาชนะที่ใช้ในการผลิตไม่เหมาะสม ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อดังกล่าวสามารถทนต่อการขาดน้ำ การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิดี ทนต่อน้ำยาซักล้างและน้ำยาฆ่าเชื้อได้ดี นอกจากนี้เชื้อยังสามารถทนต่ออุณหภูมิต่ำ ทนต่อความร้อนในกรรมวิธีพาสเจอร์ไรส์ และการทำแห้งได้ดี

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. Yeast and mold count ถ้าพบเชื้อนี้ปนเปื้อนในอาหารเป็นจำนวนมาก บ่งชี้ถึงคุณภาพในการเก็บรักษาอาหารไม่ดี อาหารเน่าเสียมาก และมีอัตราการเสี่ยงต่อการบริโภคสารพิษจากเชื้อราที่ปนเปื้อนมากับอาหารด้วย เช่น อะฟาท็อกซิน เป็นต้น

8. Salmonellae ถ้าพบเชื้อดังกล่าวปนเปื้อนในอาหาร แสดงว่าสุขลักษณะส่วนบุคคลและสุขลักษณะของโรงงานผลิตไม่ดี อาจมีปนเปื้อนจากคนที่เป็นพาหะของโรคมาผลิตและสัมผัสอาหาร หรืออาจมีสัตว์หรือแมลงที่เป็นพาหะของโรคอยู่ในโรงงานผลิตทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อลงสู่ผลิตภัณฑ์อาหาร หรืออาจเกิดการปนเปื้อนข้าม (Cross contamination) ของเชื้อจากวัตถุดิบกลับลงสู่ผลิตภัณฑ์ ในโรงงานที่มีสุขลักษณะการผลิตที่ไม่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ประกาศเกี่ยวกับเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร กระทรวงสาธารณาสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

อาหารทะเลที่เตรียมเพื่อบริโภคดิบ เช่น ปลา กุ้ง ปลาหมึก หอยดิบ เป็นต้น	ค่ากำหนด จำนวนจุลินทรีย์/กรัม น้อยกว่า $1x10^6$ MPN faecal Coliform/กรัม น้อยกว่า 20 *S. aureus*/ กรัม น้อยกว่า 20 *B. cereus*/ กรัม น้อยกว่า 100 *V. parahaemolyticus*/ กรัม น้อยกว่า 100 *C. perfringens*/ 0.01 กรัม ไม่พบ *Salmonella*/ 25 กรัม ไม่พบ *V. cholerae*/ 25 กรัม ไม่พบ
อาหารดิบ หมายถึง อาหารที่ยังบริโภคไม่ได้ต้องผ่านการทำสุกหรือ การเตรียมด้วยกรรมวิธีใดๆ ก่อนบริโภค ได้แก่เนื้อสด ปลาสด ไส้กรอกอิสานดิบ ปลาแห้ง เนื้อเค็มดิบ ไข่ เครื่องแกง	ค่ากำหนด *MPN E.coli*/ กรัม น้อยกว่า 50 *S, aureus*/ กรัม น้อยกว่า 200 *B. cereus*/ กรัม น้อยกว่า 200 *V. parahaemolyticus*/ กรัม น้อยกว่า 200 *C. perfrigen*/ 0.001 กรัม ไม่พบ *Samonella*/ 25 กรัม ไม่พบ *V. cholerae* / 25 กรัม ไม่พบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเสื่อมเสียของกุ้งเนื่องจากแบคทีเรีย

เป็นสาเหตุที่สำคัญที่สุด ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพทุกๆด้านเช่นลักษณะที่มองเห็น กลิ่นรส การที่จุลินทรีย์เป็นปัญหาที่สำคัญในการเสื่อมเสียของกุ้งเนื่องจาก

1. กุ้งเป็นอาหารประเภทที่มีองค์ประกอบและคุณค่าทางอาหารสมบูรณ์เหมาะสำหรับที่จะเป็นอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี
2. อาหารประเภทนี้ไม่มีการเติมสารอื่นใดที่พอจะเป็นตัวยับยั้งปฏิกิริยาการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้
3. ถ้าเป็นอาหารที่อยู่ในสภาพดิบ ไม่มีการผ่านความร้อนในขณะทำอาหารด้วยแล้ว ดังนั้นเชื้อจุลินทรีย์ที่ปะปนอยู่กับผลิตภัณฑ์จึงไม่ถูกลดจำนวนลง

ชนิดของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกุ้ง

เมื่อกุ้งถูกจับขึ้นมาจากทะเลนั้น จะมีจุลินทรีย์จำนวนหนึ่งติดขึ้นมาแล้วเมื่อกุ้งเดินทางจาก ท่าเรือม าถึงโรงงานพบว่ามีจำนวนจุลิทรีย์ประมาณ 10 - 15 cell / gm ปริมาณเชื้อจะแตกต่างกันตามแหล่งที่มาและระดับท้องทะเลที่กุ้งนั้นอาศัยอยู่ ถ้ากุ้งมาจากแหล่งที่เป็นพื้นโคลน (Muddy bottom) พบว่าจะมีเชื้อจุลินทรีย์ที่ ปริมาณสูงกว่ากุ้งที่มาจากพื้นทราย (Sandy buttom) (C arrol et . al . 1968)

จุลินทรีย์ที่ติดมากับกุ้งนั้นจะเริ่มติดเชื้อตั้งแต่กุ้งอยู่ในน้ำและเพิ่มจำนวนมากขึ้นเมื่อกุ้งมาถึงท่าเรือ และระหว่าการขนส่งจากท่าเรือมาสู่ท้องตลาดหรือโรงงาน เชื้อเหล่านี้อาจติดมาจากน้ำที่ใช้ล้างกุ้ง ตัวผู้คัดเลือกกุ้ง ภาชนะบรรจุและขบวนการต่างๆที่ปฏิบัติต่อกุ้งที่ไม่สะอาดทำให้กุ้งติดเชื้อมากขึ้น ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมาในช่วงนี้ เช่น พวก Micrococcus sp., Staphylococcus sp. Acinetobacter sp. Bacillus sp. Moraxella sp. Coliform แต่สำหรับในอุตสาหกรรมกุ้งแช่เยือกแข็งก็ยังมีจุลินทรีย์ที่ยังหลงเหลืออยู่ในขณะที่ทำการแช่แข็ง เช่นพวก Flavobacterium - Cytophage สำหรับการแช่น้ำแข็งกุ้งแล้วจุลินทรีย์จะไม่ถูกทำลายแต่จะหยุดชะงักการเจริญในช่วงระยะหนึ่งเท่านั้น แต่พออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเพิ่มขึ้นเมื่อไร ขบวนการต่างๆของจุลินทรีย์ก็เริ่มขึ้นทันที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Aerobic Plate Count)

การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในปริมาณอาหารเพื่อเป็นการบ่งบอกถึงคุณภาพทางจุลวิทยาของผลิตภัณฑ์ ซึ่งการตรวจหาจุลินทรีย์ทั้งหมดในปัจจุบันส่วนมากยังคงใช้วิธี Shakc platc /pour platc tcchnic และ sprcad platc tcchnic ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้กันมานาน โดยอาศัยการเจือจางผลิตภัณฑ์อาหารที่ใช้เป็นตัวอย่างทดสอบให้ได้ปริมาณจุลินทรีย์อยู่ในระดับที่จะตรวจได้ด้วยวิธีนั้นๆ และถูกต้องแม่นยำ จะต้องทำให้ตัวอย่างอาหารกระจายอยู่ในน้ำยาสำหรับเจือจาง (Diluent) อย่างทั่วถึง จนเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogcnous) ซึ่งเรียกตัวอย่างอาหารที่ถูกทำให้เจือจางเป็นเนื้อเดียวกันนี้ว่า (Food homogenate)

ในการวิเคราะห์กุ้งลองน้ำแข็งนี้เป็นอาหารชนิดที่ไม่มีความเป็นเนื้อเดียวกันในการสุ่มตัวอย่างอาหารนั้นมักจะใช้ตัวอย่างอาหารที่มีน้ำหนักไม่น้อยกว่า 25 กรัม (โดยทั่วไปนิยม ใช้ตัวอย่างน้ำหนักประมาณ25 - 50 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียมีเซลรูปร่างแบบ cocci อยู่เป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ติดสีแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ เป็นพวก facultative anaerob และ mesophile อุณหภูมิที่เหมาะในการเจริญ 37-40 องศาเซลเซียส ทนต่อความแห้งได้สูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อปนเปื้อนอยู่ในสารอินทรีย์ เช่น เลือด น้ำเหลือง สามารถทนเกลือได้ดี pH ที่เหมาะแก่การเจริญคือ 4.5 - 9.3 ไม่สร้างสารพิษที่ pH ต่ำกว่า 5.2 เป็นทั้งเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ (food - borne disease bacteria) และเป็นเชื้อดัชนีบ่งชี้สุขวิทยาของอาหาร(indicator microiorganism) ทำให้เกิดอาการ *Staphylococcal intoxication* หรือ Staphlococcus food poisoning โดยเชื้อจะเจริญอยู่ในอาหารและสร้างสารพิษ enterotoxin ออกมาสะสมอยู่ในอาหาร โดยจะเริ่มสร้างสารพิษเมื่อเจริญได้ปริมาณเซลไม่น้อยกว่า 10 เซล เมื่อบริโภคอาหารที่มีสารพิษนี้เพียง 1 ไมโครกรัม ก็เพียงพอที่จะทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียร และท้องร่วงเป็นเวลา 1 - 2 วัน โดยเริ่มมีอาการหลังการบริโภคเพียง 1-6 ชั่วโมง เซลถูกทำลายด้วยความร้อน 60 องศาเซลเซียสขึ้นไป แต่สารพิษ enterotoxin ของมันไม่สามารถถูกทำลายด้วยความร้อนโดยการหุงต้ม แม้แต่อุณหภูมิที่ใช้ในการฆ่าเชื้อในการทำอาหารกระป๋อง ก็ยังไม่สามารถทำลายสารพิษ enterotoxin นี้ได้ ดังนั้นวัตถุดิบหรืออาหารที่ อาจมีการปนเปื้อนด้วยเชื้อนี้โดยวิธีนี้ ไม่ควรเก็บ ในช่วงของอุณหภูมิที่เสี่ยงต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (dangerous zone temperature) คือ 5-63 องศาเซลเซียส เชื้อจะเจริญและสร้างสารพิษสะสมอยู่ในอาหาร นอกจากนี้การตรวจพบ *Staphylococcus aureus* ในอาหารยังบ่งถึงการประกอบอาหารไม่ถูกสุขลักษณะ เนื่องจากเชื้อนี้จากผิวหนัง ปาก จมูก บาดแผลที่เป็นหนอง ปนเปื้อนลงในอาหาร มักพบเชื้อนี้ในอาหาร เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เช่น แฮม เนื้อไก่ ปลา กุ้ง ในแหนม ส้มตำ ไส้กรอก เนยแข็ง

Staphylococcus aureus สามารถสร้างเอนไซม์ coagulase ซึ่งทำให้ plasma แข็งตัว สร้าง hemolysin ที่ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ Salmonella

Salmonella เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ(Food bome disease) ที่สำคัญชนิดหนึ่ง ซึ่งอยู่ใน family Enterobacteriaceae ซึ่งมีสายพันธุ์ต่างๆกันมากมายกว่า 2000 serotype แบคทีเรียในกลุ่มนี้มีรูปร่างเป็นแท่งสั้น ขนาดประมาณ 0.5 x 1-3 ไมครอน ติดสีแกรมลบ หรือติดสีแดง สามารถเจริญได้ทั้งในที่มีอากาศและมีอากาศน้อย (facultative anaerobe) ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนไหวได้ด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบเซลล์ เชื้อที่ไม่สามารถเคลื่อนไหวได้ เช่น *Samonella gallinarum* และ *Samonella pullorum* เชื้อชาไมแนลลา สามารถเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อทำการย้อมเซลล์โดยวิธีแกรม โดยทั่วไปเชื้อนี้สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส และแมนิทอลได้ แต่ไม่สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลซูโครส แลคโตส และเซอร์โบสในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีฟีนอลเฟส แบคทีเรียกลุ่มนี้ไม่สามารถสร้าง indole และไม่สามารถย่อยสลายยูเรีย มีปฏิกิริยา oxidase เป็นลบ ส่วนใหญ่สามารถใช้ citrate เป็นแหล่งของคาร์บอนเพียงอย่างเดียวในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Samonella เป็นสาเหตุของการเกิดโรคทางเดินอาหารกับมนุษย์และสัตว์ โดยที่เชื้อมักปนมากับวัตถุดิบประเภทเนื้อสัตว์ที่มาจากการสุขลักษณะไม่ดี การเกิดโรคสามารถแบ่งออกได้เป็น 3กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่

1. กลุ่มที่ทำให้เกิดโรคเฉพาะกับคน ได้แก่ *Samonella typhi* และ *Samonella paratyphi* ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคไทฟอยด์และพาราไทฟอยด์
2. กลุ่มที่ทำให้เกิดโรคเฉพาะกับสัตว์ เช่น โรคแท้งติดต่อในสัตว์
3. กลุ่มที่ไม่มีความเฉพาะกับโฮสต์ (host) กล่าวคือสามารถทำให้เกิดโรคได้ทั้งกับคนและสัตว์ ซึ่งมีมากกว่า 2000 เซโลวาร์ และทุกเซโลวาร์เป็นสาเหตุของการเกิดโรคที่เรียกว่า Salmonellosis

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์โดยวิธี Most Probable Number (MPN)

หลักการ

วิธี MPN เป็นการตรวจหาจุลินทรีย์ ที่มีชีวิตอยู่ในอาหารหรือน้ำ ซึ่งการใช้วิธีดังกล่าวนี้ ใช้หลักการทางสถิติในการประเมินปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ ตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์โดยวิธีนี้ มักนำมาทำให้เจือจางระดับละ 10 เท่า เลือกระดับความเจือจางที่จะใช้ให้เหมาะสมกับตัวอย่างอาหาร ซึ่งทางปฏิบัติโดยทั่วไป การเลือกใช้ระดับความเจือจางใดนั้น มักอาศัยข้อมูลต่างๆของการตรวจวิเคราะห์อาหารนั้นๆ เป็นเกณฑ์ตัดสิน โดยเลือกความเจือจาง 3 ระดับติดกัน ใส่ตัวอย่างอาหารที่เจือจางในระดับต่างๆนั้นตามปริมาณที่เหมาะสม เช่น 1 มิลลิตร ลงในอาหารเหลวเพาะเชื้อระดับความเจือจางละ 3 หรือ 5 หลอดแล้วแต่จะเลือกใช้ ในกรณีที่ตัวอย่างอาหารมีจุลินทรีย์ที่จะตรวจปนเปื้อนในปริมาณน้อย อาจเพิ่มปริมาณตัวอย่างอาหารที่จะตรวจขึ้นเป็น 10 มิลลิลิตร แต่ต้องใช้อาหารลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าของปกติ จุลินทรีย์ที่นิยมตรวจนับปริมาณด้วยวิธีดังกล่าวมักได้แก่ จุลินทรีย์ในกลุ่ม Coliforms ,Faecal coliforms และ *E. coli*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์ในการทดลอง

วัตถุดิบ

1. กุ้งสด
2. น้ำแข็งยูนิต

สารเคมี

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ
   - 1.1 Plate Count agar (PCA)
   - 1.2 10% NaCl Trpticase soy broth (TSB)
   - 1.3 Mannitol salt agar (MS medium)
   - 1.4 Tetrsthonate broth (TTB)
   - 1.5 Selenite cystine broth (SCB)
   - 1.6 Salenite-Shigella (SS agar)
   - 1.7 Xylose-Lysin-Desoxycholate (XLD agar)
   - 1.8 Lauryl sulphate tryptose broth (LSTB)
   - 1.9 2% Brilliant green lactose bile broth (BGLB)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Hot air oven
2. Incubator
3. Water bath
4. Stomacher
5. Pipete
6. Loop
7. Spreader
8. Duram

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. Test tube

10. Plate

11. ถุงพลาสติก

ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

1. การเตรียมตัวอย่าง

นำกุ้งกุลาดำ ประมาณ 1 กิโลกรัม มาแบ่งเป็น 7 กลุ่ม กลุ่มละ 140 กรัม โดย 6 กลุ่มจะนำมาดองน้ำ ผสมน้ำแข็ง ที่ควบคุมอุณหภูมิ ดังแสดงข้างล่างนี้ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และกลุ่มที่ 7 จะนำมาตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียทันที โดยไม่ดองน้ำแข็งเพื่อเป็นการหาปริมาณเชื้อเบื้องต้น

ตารางที่ 2 แสดงการแบ่งกลุ่มตัวอย่างกุ้งในการทดลอง

กลุ่มที่	ควบคุมอุณหภูมิ ($^{\circ}C$) ในการเก็บเป็นเวลา 4 ชม.
1	0
2	5
3	10
4	15
5	20
6	วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2. **การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย**

นำตัวอย่างกุ้งจากแต่ละกลุ่มมาตรวจสอบหาปริมาณแบคทีเรียดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1 การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count)

2.1.1นำกุ้งที่ควบคุมอุณหภูมิทั้ง 6 สภาวะ ทำการเจือจางกุ้งที่ระดับความเจือจาง 6 ระดับ คือ 1:10, 1:100, 1:1,000, 1:10,000, 1:100,000, 1:1,000,000

2.1.2นำกุ้งที่เจือจางมาวิเคราะห์หา aerobic plate count โดยวิธี pour plate technic โดยปฏิบัติดังนี้ ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารในแต่ละระดับความเจือจาง โดยเริ่มจาระดับความเจือจางมากที่สุด ใส่ในจานเพาะเชื้อจานละ 1 มิลลิลิตร ควรทำอย่างน้อย 2 จานในแต่ละระดับความเจือจาง

เทอาหารเพาะเชื้อ PCA ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วและเก็บอยู่ในตู้หรือ Water bath อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส โดยเทอาหารเพาะเชื้อให้มีปริมาตร 12-15 มิลลิลิตร ต่อจานเพาะเชื้อ

ใช้มือเขย่าจานเพาะเชื้อหมุนวนไปมาซ้าย-ขวา ด้านละ 15 รอบ ตั้งทิ้งไว้จนจานเพาะเชื้อแข็ง

กลับจานเพาะเชื้อแล้วนำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

อ่านผลโดยการนับจำนวนเชื้อที่เจริญในอาหารเพาะเชื้อ ซึ่งจะเลือกนับเฉพาะระดับความเจือจางของตัวอย่างที่มีเชื้อเจริญอยู่ในช่วง 30-250 โคโลนี เท่านั้น

รายงานผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมหรือมิลลิลิตรของตัวอย่างอาหารโดยดูจำนวนที่นับได้ด้วยระดับความเจือจางที่ตรวจนับ ในกรณีที่จำนวนที่นับได้ในระดับความเจือจางนั้นเป็นเลข 3 หลักให้ปัดหรือตัดเลขหลักหน่วยขึ้นเป็นหลักสิบ โดยอาศัยหลักวิธีทางเลขคณิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus aureus*

เจือจางอาหาร 3 dilutions

↓

ใส่ใน 1 ml ใน 10% NaCl Trypticase soy broth (TSB)

ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

บ่มที่ 35-37 °ซ เวลา 18-24 ชั่วโมง

↓

Mannitol salt agar (MS medium) หรือ

Baird-Parker (BP medium) + ไข่แดงปราศจากเชื้อ

บ่มที่ 35-37 °ซ เวลา 24-48 ชั่วโมง

↓

ดูลักษณะโคโลนี สีขาวครีมหรือเหลืองอ่อน

มีตะกอนสีขาวขุ่นรอบ ๆ โคโลนี

2.3 การตรวจหาเชื้อ Salmonella

ตัวอย่าง 25 g ใส่ใน Trypticase soy broth (TSB) 225 ml

บ่มที่ 35-37 °ซ เวลา 18-24 ชั่วโมง

↓

1 ml ใส่ Tetrsthonate broth (TTB)

และใส่ใน Selenite cystine broth (SCB)

บ่มที่ 35-37 °ซ เวลา 18-24 ชั่วโมง

↓

SS agar โคโลนีจะกลมใส มีหรือไม่มีจุดดำของการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์

XLD agar โคโลนีจะกลมสีชมพู มีหรือไม่มีจุดดำของการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์

↓

↓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Salenite-Shigella (SS agar) และ
Xylose-Lysin-Desoxycholate (XLD agar)
บ่มที่ 35-37 °ซ เวลา 18-24 ชั่วโมง

2.4 การตรวจหาเชื้อ Coliform

เจือจางอาหาร 3 dilutions
↓
ใส่ 1 ml ใน Lauryl sulphate tryptose broth (LSTB)
ระดับความเจือจางละ 3 หลอด
บ่มที่ 35 °ซ เวลา 24-48 ชั่วโมง
↓
ใช้ 1 loop → 2% Brilliant green lactose bile broth (BGLB)
บ่มที่ 35-37 °ซ เวลา 48 ชั่วโมง
↓
นับจำนวนที่เกิด gas และมีปริมาณค่า MPN จากตาราง
Coliform

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

ผลของอุณหภูมิในการดองน้ำแข็งต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกุ้งดิบ

จากตารางหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด Total count ในกุ้งดิบภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 0, 5, 10, 15, 20, องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมงพบว่าที่อุณหภูมิ0 ,5 องศาเซลเซียสมีค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่าที่อุณหภูมิ 10, 15, 20 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้องดังแสดงผลตามตารางที่ 3 และที่5 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

ผลของอุณหภูมิในการดองน้ำแข็งต่อจำนวนเชื้อ Staphylococcus aureus ในกุ้งดิบ

จากตารางการหาเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในกุ้งดิบหลังจากการเก็บที่อุณหภูมิ 0,5,10,15,20 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่งโมงพบว่าที่อุณหภูมิไม่เกิน 10 องศาเซลเซียสสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าที่อุณหภูมิ15 และ20องศาเซลเซียสดังแสดงผลในตารางที่ 3 และ5 ตามลำดับ

ผลของอุณหภูมิในการดองน้ำแข็งต่อจำนวน Coliform ในกุ้งดิบ

จากตารางการหาเชื้อ Coliformในกุ้งดิบภายหลังจากการเก็บที่อุณหภูมิ 0,5,10,15,20 องศาเซลเซียสและที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา4 ชั่วโมงพบว่า ที่อุณหภูมิ 0 และ 5 องศาเซลเซียสสามารถยับยั้งการเจริญของColifrom ได้ดีซึ่งมีค่าตามตารางที่ 3 และ 5ตามลำดับ

ผลของอุณหภูมิในการดองน้ำแข็งต่อจำนวนเชื้อ Samonella ในกุ้งดิบ

ผลจากตารางที่ 3 และ 4 ปริมาณเชื้อ Samonella ไม่พบทั้งในที่อุณหภูมิเริ่มต้นและที่อุณหภูมิในการดองน้ำแข็งที่ 0,5,10,15,20 องศาเซลเซียส

ผลการประเมินทางสถิติการหาจำนวนจุลินทรีย์ในการดองน้ำแข็งกุ้งดิบ

จากตารางที่5 พบว่าที่อุณหภูมิ 0, 5, 10 ,15และ20 องศาเซลเซียสในการดองน้ำแข็งกุ้งดิบไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%เราสามารถเลือกใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมในการดองน้ำแข็งกุ้งดิบได้ แต่ที่อุณหภูมิห้องมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%จึงไม่ควรนำอุณหภูมินี้มาดองน้ำแข็งกุ้งดิบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ของกุ้งภายหลังการดองน้ำแข็งที่อุณหภูมิต่างๆ

จุลินทรีย์	จำนวนจุลินทรีย์ภายหลังการดองที่อุณหภูมิ (° ซ cfu/กรัม)					
	อุณหภูมิห้อง	0	5	10	15	20
Total Count	5.4×10^{6}	2.19×10^{2}	2.21×10^{2}	7.7×10^{3}	9.1×10^{3}	9.3×10^{3}
Coliform	> 1100	45	1.2×10^{1}	2.0×10^{1}	1.9×10^{2}	1.3×10^{2}
S. aureus	. 1100	3.7×10^{2}	1.1×10^{2}	8.4×10^{1}	3.8×10^{2}	3.9×10^{2}
Salmonella	ไม่พบ					

ตารางที่ 4 แสดงผลการทดลองหาจำนวนจุลินทรีย์ในกุ้งดิบที่สภาวะเริ่มต้น

แบคทีเรีย	จำนวนจุลินทรีย์ (cfu/ กรัม)
Total count	1.3×10^{5}
Coliform	> 1100
S. aureus	> 1100
Salmonella	ไม่พบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96871

ตาราง5 แสดงการประเมินผลทางสถิติของจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในสภาวะการเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ กัน

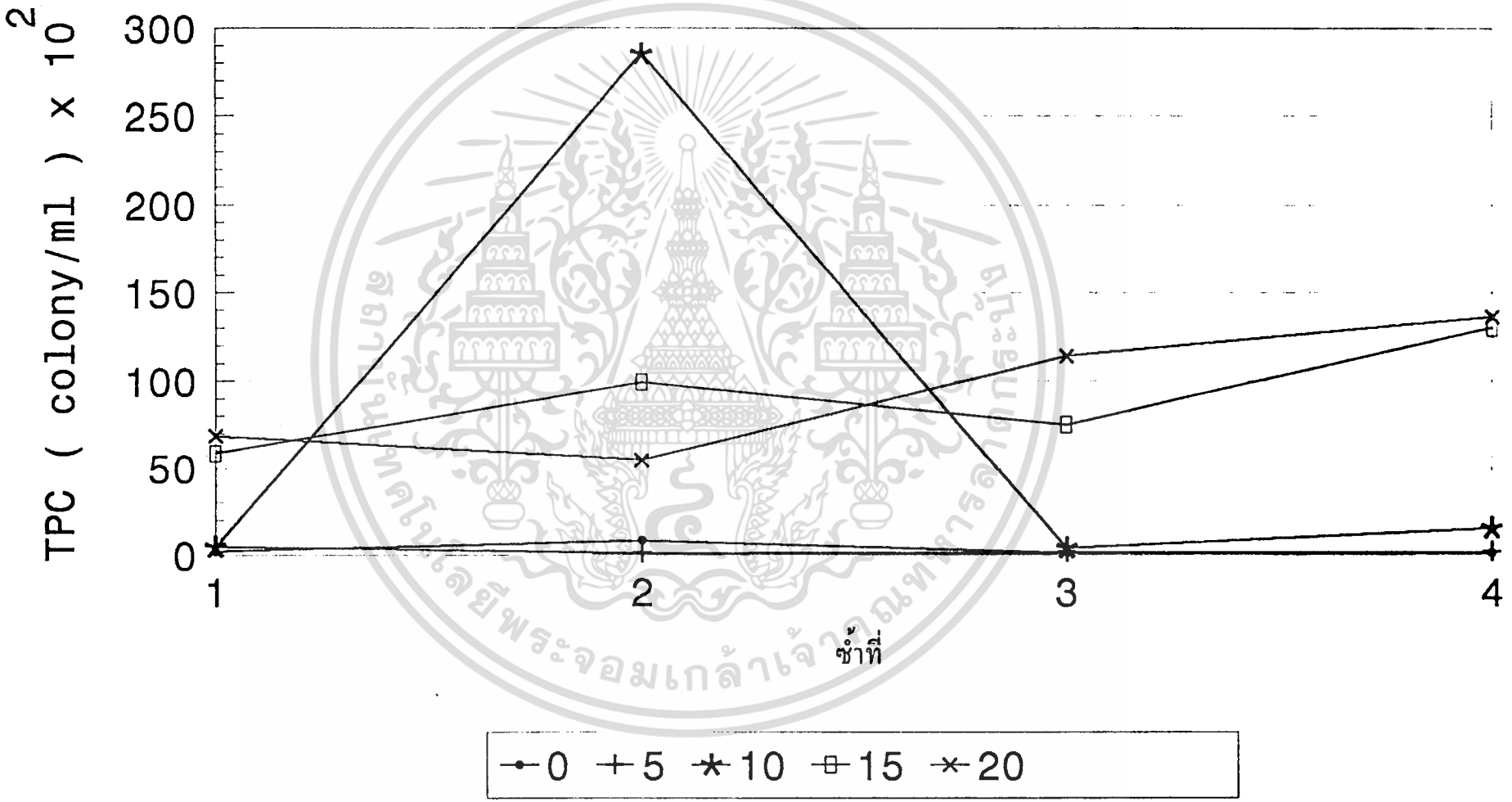
Temperature (^{o}C)	ค่า Mean (โคโลนี/มิลลิลิตร)		
	TPC	Coliform	Stap.
0	277.25 [a]	4.525 [a]	277.25 [a]
5	85.275 [a]	12.325 [a]	85.275 [a]
10	66.375 [a]	19.825 [a]	66.375 [a]
15	291 [a]	19.05 [a]	291 [a]
20	308.25 [a]	131.5 [a]	308.25 [a]
Room Temp.	1100 [b]	1100 [b]	1100 [b]

หมายเหตุ

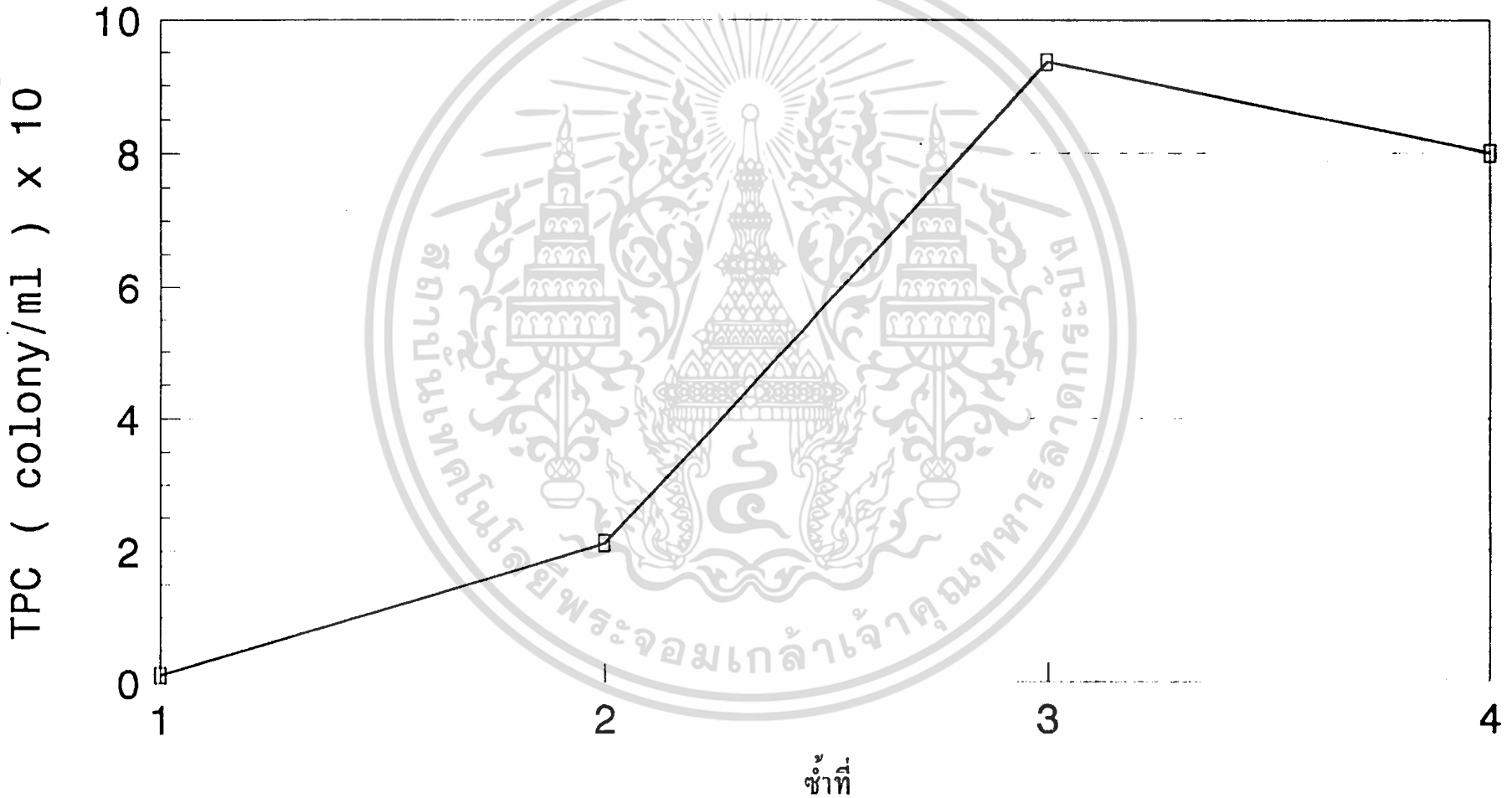
1. ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
2. TPC = Total Plate Count

   Stap. = Staphylococcus aureus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

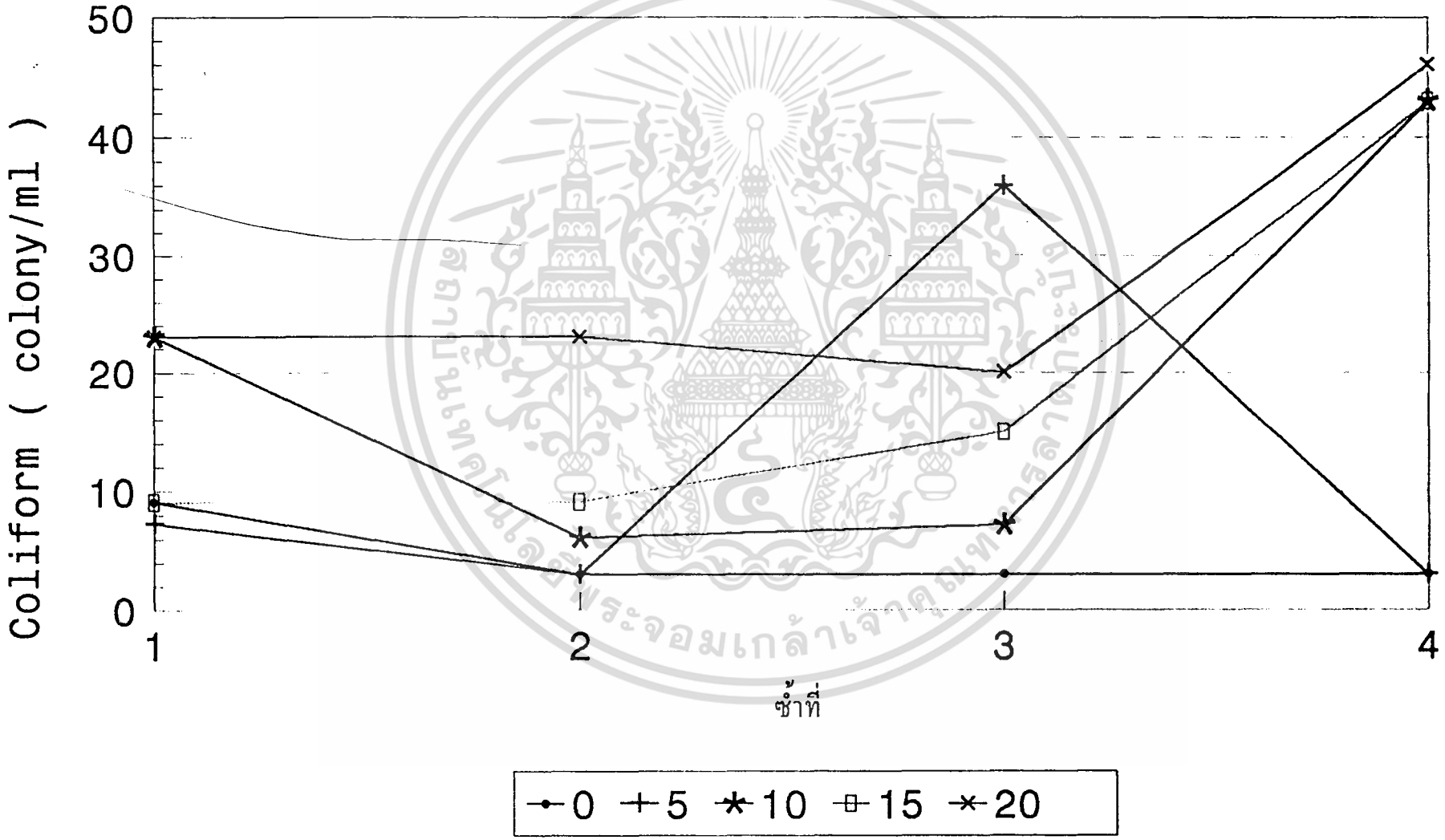


รูปที่ 1 แสดงผลของจำนวนจุลินทรีย์ Total Plate Count ที่อุณหภูมิต่างๆ ของน้ำแข็งในการดองกุ้งดิบ



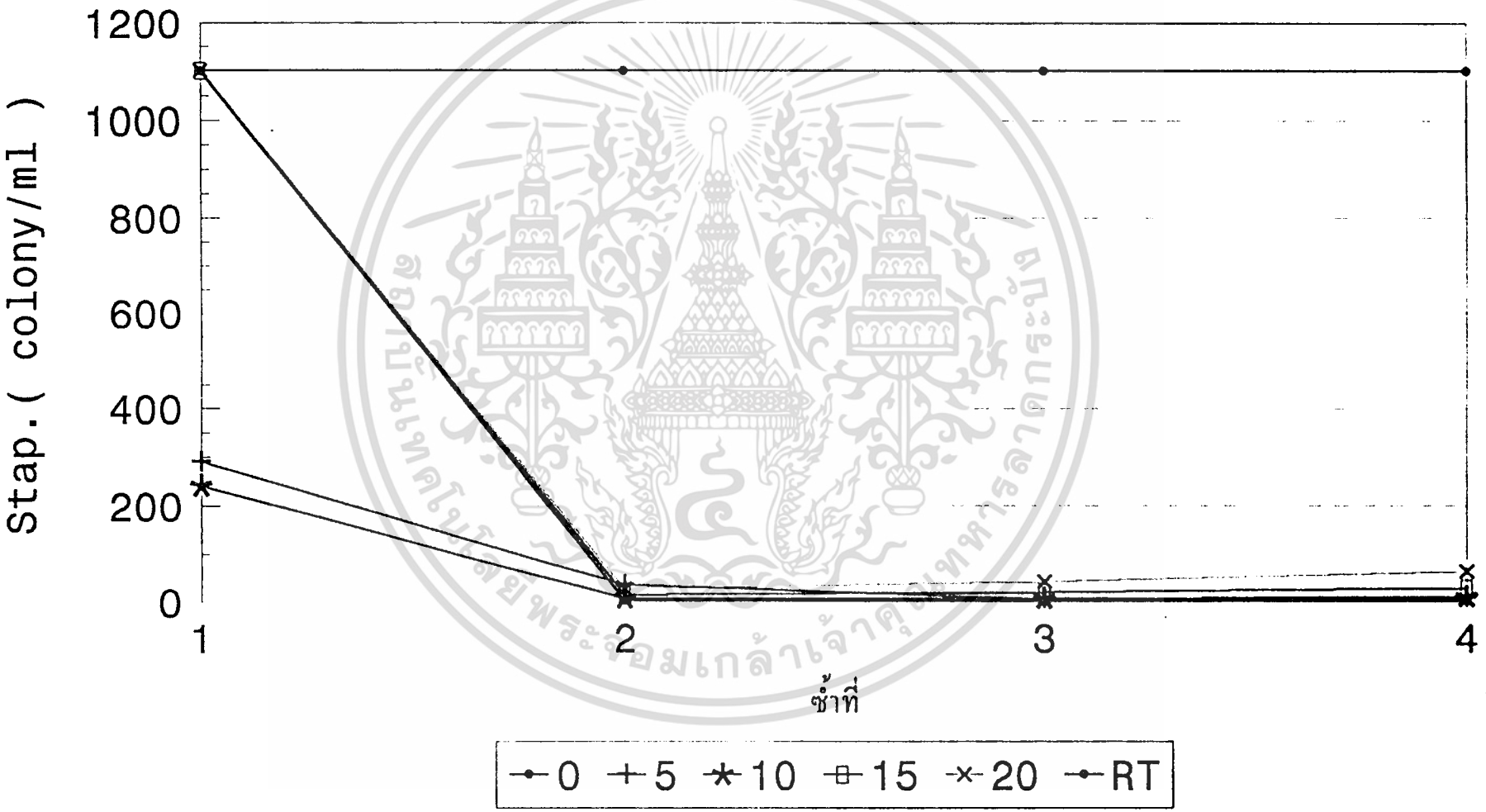
รูปที่ 2 แสดงผลของจำนวนจุลินทรีย์ Total Plate Count ที่อุณหภูมิห้องในการดองกุ้งดิบ

14921



รูปที่ 3 แสดงผลของจำนวนจุลินทรีย์ Coliform ที่อุณหภูมิต่างๆ ของน้ำแข็งในการดองกุ้งดิบ

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร



รูปที่ 4 แสดงผลของจำนวนจุลินทรีย์ Stapphylococcus aureus ที่อุณหภูมิต่างๆ ในการดองน้ำแข็งของกุ้งดิบ

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลอง การดองน้ำแข็งกุ้งที่ อุณหภูมิ 0 , 5 , 10 , 15 และ 20 องศาเซลเซียส พบว่า ที่อุณหภูมิ 0 , 5 , 10 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งหรือชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าที่ 15 และ 20 องศาเซลเซียส อุณหภูมิในการดองน้ำแข็งกุ้งสด ควรจะอยู่ในช่วงอุณหภูมิไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส ผลที่ได้จากการศึกษานี้พบว่า ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สามารถชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด และสามารถควบคุมอุณหภูมิในช่วงนี้ได้ง่ายกว่าการดองน้ำแข็งกุ้งดิบที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เราจึงควรใช้ค่านี้เป็นจุดควบคุมวิกฤตในโรงงานกุ้งแช่แข็งส่งออกได้ต่อไป

ผลจากการศึกษาการควบคุมอุณหภูมิในการดองน้ำแข็ง พบว่าอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ เราสามารถนำผลการศึกษานี้ไปไว้เป็นแนวทางปฏิบัติใน อาหารทะเลแช่แข็งส่งออกชนิดอื่นได้อีก อาทิเช่น ปลา ปลาหมึก หอย ต่างๆ เป็นต้น

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กุ้งแช่เยือกแข็ง มอก.115 - 2529 กระทรวงอุตสาหกรรม ZSBN 974 -8113-79-5

วารสารการประชุมสัมมนาทางวิชาการ แนวทางการพัฒนาและลงทุนในอุตสาหกรรมอาหารแช่เยือกแข็ง . ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ .

วารสารเศษฐกิจการพานิชย์ กุ้งสดแช่เย็นแช่แข็ง. กองวิจัยสินค้าและการตลาด กรมวิทยาศาสตร์บริการ กรุงเทพ ฯ . 47-51.

อดิศร เศวตวิวัฒน์ คุณภาพอาหารทางจุลวิทยาวิธีการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ดัชนีบ่งชี้ถึงสุขลักษณะการผลิตอาหาร ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

Buchanan, RE., and others, Berey' smanual of determinative bacterioloy. 8th ed. Baltimore. The William and Wilkins Co., 1974

Fraier, W.C. Food microbiology. 2nd ed. New Delhi. Tata McGraw-Hill prublishing Co., 1976 .537 pp.

Ratiporn Haruenkit , 1982/83 Biochemical andd Microbial changes during storage of shrimp . Norad - course "Fishing and Fish technology" The Norwegian institute of Technology. The University of C.S. C.S. 1976 , Effect of ice storage on microbiological gnd chemical changes in chrimp and melting ice in a model system Jr. Food Sc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

วิธีการทดลองอย่างละเอียด

1. Total Plate Count

- ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารในแต่ละระดับความเจือจาง โดยเริ่มจากระดับเจือจางมากที่สุด ใส่ในจากเพาะเชื้อจานละ 1 มิลลิลิตร ควรทำอย่างน้อย 2 จานในแต่ละระดับความเจือจาง
- เทอาหารเพาะเชื้อ PCA ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วและเก็บอยู่ในตู้ water bath อุณหภูมิ 45-50 °ซ โดยเทอาหารเพาะเชื้อให้มีปริมาตร 12-15 มิลลิลิตร ต่อจานเพาะเชื้อ
- ใช้มือเขย่าจานเพาะเชื้อหมุนวนไปมาซ้ายขวาด้านละ 15 รอบ
- ตั้งทิ้งไว้จนอาหารเพาะเชื้อแข็ง
- กลับจานเพาะเชื้อแล้วนำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 °ซ เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
- อ่านผลโดยนับจำนวนเชื้อที่เจริญเติบโตในอาหารเพาะเชื้อ ซึ่งจะเลือกนับเฉพาะระดับความเจือจางของตัวอย่างที่มีเชื้อเจริญอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนีเท่านั้น
- รายงานผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมหรือมิลลิลิตรของตัวอย่างอาหารโดยดูณจำนวนที่นับได้ด้วยระดับความเจือจางที่ตรวจนับ ในกรณีที่จำนวนที่นับได้ในระดับความเจือจางนั้นเป็นเลข 3 หลัก ให้ปัดหรือตัดเลขหลักหน่วยขึ้นเป็นหลักสิบสองโดยอาศัยหลักวิธีทางเลขคณิตดังแสดงไว้ในตารางดังนี้

2. Staphylococcus aureus

- เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัมในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ
- เทน้ำยาสำหรับเจือจาง 255 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วย stomacher
- ทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับตามความเหมาะสมด้วยน้ำยาสำหรับเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร (ถ้าเป็นอาหารที่สงสัยว่าก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษจาก S.aureus อาจต้องเจือจางถึงระดับ 10^{-6})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ดูดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางหยดบน BP medium หรือ MS agar ที่มีการเติมไข่แดงที่ปราศจากเชื้อ ระดับความเจือจางละ 2 จานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร
- ใช้แท่งแก้วรูปตัว L ทำการเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ทั่วตามวิธี spread plate ให้ครบทุกระดับความเจือจางที่ต้องการ
- บ่มเพาะเชื้อทั้งหมดในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 °ซ เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
- ตรวจนับโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น S.aureus ตามลักษณะที่เจริญในอาหารแต่ละชนิด (S.aureus โดยมากจะมีเอนไซม์ lecithinase ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับเลซิทินในไข่แดงที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้เกิดตะกอนของเกลือฟอสเฟต เห็นเป็นตะกอนขุ่น (oplaque/ creamy zone) รอบโคโลนีของเชื้อที่เจริญบนอาหาร)

3. Salmonellae

- เตรียมตัวอย่าง 25 กรัมใส่ลงในภาชนะปิดที่ปลอดเชื้อ (พลาสติดหรือถุงพลาสติกอุดจุกสำลี
- เติม TSB 225 มิลลิลิตร เขย่าหรือปั่นให้ตัวอย่างอาหารกระจายในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ TSB อย่างสม่ำเสมอ
- นำไปบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 °ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

Selective enrichment

- ใช้ปิเปตปลอดเชื้อถ่ายเพาะเชื้อจาก TSB ลงในหลอดทดสอบที่มีอาหารเหลวเพาะเชื้อ TTB (9 มิลลิลิตร) และ SCB (9 มิลลิลิตร) หลอดละ 1 มิลลิลิตร
- นำหลอดทั้งหมดไปบ่มในตู้อุณหภูมิ 35-37 °ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

Planting on selective and differential media

- เขี่ยจานเพาะเชื้อจากหลอด TTB และ SCB ลงบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อ SS และ XLD agar
- คว่ำจานและบ่มจานเพาะเชื้อทั้งหมดในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 °ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ดูลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อ SS และ XLD agar ซึ่งโคโลนีของซาลโมเนลลาบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อทั้งสองจะมีลักษณะดังนี้

  SS agar ลักษณะโคโลนีของซาลเมเนลลาจะกลมใส มีหรือไม่มีจุดสีดำของการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในโคโลนี

  XLD agar ลักษณะโคโลนีจะกลมมีสีชมพู มีหรือไม่มีจุดโคโลนีสีดำของการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในโคโลนี

4. Coliform

1. เตรียมตัวอย่างอาหารระดับความเจือจางละ 10 เท่า ต่อเนื่องกัน 3 ระดับ คือ 1:10, 1:100, 1:1,000
2. ใส่ตัวอย่างอาหารแต่ละระดับความเจือจางลงใน LSTB ระดับความเจือจางละ 3 หลอด หลอดละ 1 มิลลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35-35 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
3. ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ (loop) จากหลอดที่มีแก๊สเกิดขึ้นในหลอดดักแก๊สของ LSTB ถ่ายเชื้อลงใน EC broth และ 2:BGLB บ่มหลอด EC broth ใน water bath ที่อุณหภูมิ 44.5 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และ บ่มหลอด 1 : BGLB ที่อุณหภูมิ 35-37 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
4. นับจำนวนหลอดที่มีแก๊สในหลอดดักแก๊สของหลอด EC broth นำผลไปอ่านค่า MPN จากตารางที่ 1 ค่า MPN ที่ได้ เป็นค่า MPN ของ faecal coliform
5. นับจำนวนหลอดที่มีแก๊สในหลอดดักแก๊สของหลอด 2:BGLB นำผลไปอ่านค่า MPN จากตารางที่ 1 ค่า MPN ที่ได้เป็น เป็นค่า MPN ของ coliform

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 6 ค่าMPN ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อใช้ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

หลอดที่ให้ผลบวก				หลอดที่ให้ผลบวก				หลอดที่ให้ผลบวก				หลอดที่ให้ผลบวก			
0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN
0	0	0	<3	1	0	0	36	2	0	0	9.1	3	0	0	23
0	0	1	3	1	0	1	7.2	2	0	1	14	3	0	1	39
0	0	2	6	1	0	2	11	2	0	2	20	3	0	2	64
0	0	3	9	1	0	3	16	2	0	3	26	3	0	3	95
0	1	0	3	1	1	0	7.3	2	1	0	15	3	1	0	43
0	1	1	6.1	1	1	1	11	2	1	1	20	3	1	1	75
0	1	2	9.2	1	1	2	15	2	1	2	27	3	1	2	120
0	1	3	12	1	1	3	19	2	1	3	34	3	1	3	160
0	2	0	6.2	1	2	0	11	2	2	0	21	3	2	0	93
0	2	1	9.3	1	2	1	15	2	2	1	28	3	2	1	150
0	2	2	12	1	2	2	20	2	2	2	35	3	2	2	210
0	2	3	16	1	2	3	20	2	2	3	42	3	2	3	290
0	3	0	9.4	1	3	0	16	2	3	0	29	3	3	0	240
0	3	1	13	1	3	1	20	2	3	1	36	3	3	1	460
0	3	2	16	1	3	2	24	2	3	2	44	3	3	2	1100
0	3	3	19	1	3	3	29	2	3	3	53	3	3	3	>1100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาว พงษ์สุดา จันทร์บ้วย
ภูมิลำเนา	จังหวัด เพชรบุรี
เกิดวันที่	10 เมษายน 2518
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาจากประถมศึกษาจากโรงเรียนบ้านท่ายางประชาสรรค์ เมื่อปีพ.ศ. 2529 สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจาก โรงเรียนพรหมานุสรณ์ จังหวัดเพชรบุรี พ.ศ. 2535 สำเร็จการศึกษาระดับอนุปริญญา (สาขาเทคโนโลยีการอาหาร) จากสถาบันราชภัฏเพชรบุรี เมื่อปี พ.ศ. 2537 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาตร์บันฑิต สาขาอุตสากรรมเกษตร จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ เมื่อปีพ.ศ 2539
ชื่อ	นางสาวสุภาวดี สุพงษ์
ภูมิลำเนา	จังหวัดนครศรีธรรมราช
เกิดวันที่	6 กันยายน 2517
สำเร็จการศึกษา	สำเร็จการศึกษาชั้นประถมศึกษาจากโรงเรียนมหาราช 3 เมื่อปีพ.ศ. 2529 สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นจากโรงเรียนสตรีทุ่งสง เมื่อปีพ.ศ. 2532 สำเร็จการศึกษาระดับอนุปริญญา (สาขาเทคโนโลยีการอาหาร) จากสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตนครศรีธรรมราช เมื่อปีพ.ศ. 2537 สำเร็จจากระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)จากภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อปี พ.ศ. 2539

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้ง