

การควบคุมการปนเปื้อนจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุเก็บรักษาน้ำยำไทย

CONTROL OF MICROBIAL CONTAMINATION TO
PROLONG SHELF LIFE OF THAI YUM DRESSING



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2555

KMITL-2012-AI-M-054-154

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**CONTROL OF MICROBIAL CONTAMINATION TO
PROLONG SHELF LIFE OF THAI YUM DRESSING**

RATTANAWALEE JAISA-ARD

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SANITATION
FACULTY OF AGRO-INDUSTRY**

KING MONGKUT.S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2012

KMITL-2012-AI-M-054-154

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2012

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การควบคุมการปนเปื้อนจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุเก็บรักษาน้ำยำไทย
Control of microbial contamination to prolong shelf life of Thai Yum dressing

ชื่อนักศึกษา นางสาวรัตนาวลี ใจสะอาด
รหัสประจำตัว 50068764
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา สาขาวิชาโภชนาการ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ คร.กิตติชัย บรรจง
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม -

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
คร.กิตติชัย บรรจง	
รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์	
ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ	
รศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์	

วัน / เดือน / ปีที่สอบ 17 ตุลาคม 2555 เวลา 09.00 น. เป็นต้นไป
สถานที่สอบ ณ ห้อง A 303 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.วรรณมา ตั้งเจริญชัย)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 31 เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2555

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุเก็บรักษาน้ำยาไทย
นักศึกษา	นางสาวรัตนาวลี ใจสะอาด
รหัสนักศึกษา	50068764
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2555
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร. กิตติชัย บรรจง

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในน้ำยารวมทั้งวัตถุดิบทำน้ำยา และประยุกต์ใช้เซอร์เคิลเทคโนโลยี ในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำยา พบว่า *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* มีแนวโน้มในวัตถุดิบหลักในการทำน้ำยา ได้แก่ พริกชี้หนู กระเทียม และรากผักชี จากสุ่มตัวอย่าง พริกชี้หนู 15 ตัวอย่าง กระเทียม 15 ตัวอย่าง และรากผักชี 30 ตัวอย่าง ที่จำหน่ายตามตลาดสดในเขตกรุงเทพมหานคร รากผักชีพบการปนเปื้อนมากที่สุด โดยพบการปนเปื้อน *B. cereus* 10 ตัวอย่าง ในปริมาณ \log_{10} CFU/g 5.47 – 8.48 และ *Staph. aureus* 3 ตัวอย่าง ในปริมาณ \log_{10} CFU/g 2.4-4.0 รองลงมาคือ พริกชี้หนู และกระเทียม โดยพบ *B. cereus* และ *Staph. aureus* ในกระเทียม 4 ตัวอย่าง ในปริมาณ \log_{10} CFU/g 4.78 – 7.48 และ 5 ตัวอย่าง ในปริมาณ \log_{10} CFU/g 3.28 - 6.48 ตามลำดับ และพบ *B. cereus* ในกระเทียม 1 ตัวอย่าง ในปริมาณ \log_{10} CFU/g 6.48 ซึ่งไม่พบ *Salmonella spp.* หลังจากการนำส่วนผสมของน้ำยามาผสม แล้วทำการทดสอบทางเคมี และจุลชีววิทยา พบว่า น้ำยามีค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ 3.13 ซึ่งตรวจพบ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) ประมาณ \log_{10} CFU/g 4.02 และพบ *B. cereus* ในปริมาณ \log_{10} CFU/g 1.61

เมื่อศึกษาการใช้ความร้อน ต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และจุลชีววิทยาของน้ำยาในระหว่างการเก็บรักษาโดยการถ้ำเชื้อ พบว่าเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 77 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ในน้ำยาที่ถ้ำเชื้อ *B. cereus* ประมาณ \log_{10} CFU/g 7.0 ก่อนเก็บรักษา พบว่าเชื้อดังกล่าวมีเปอร์เซ็นต์ผลต่างในการลดลงจากเชื้อเริ่มต้นที่ 23.38, 27.63, 32.29 โดยหลงเหลือในปริมาณ \log_{10} CFU/g 4.98 -6.48 ซึ่งเกินมาตรฐานจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์น้ำจิ้ม และน้ำพริก ที่มีส่วน ประกอบใกล้เคียงกับน้ำยา ตามประกาศกระทรวง

สาธารณสุข (บัญญัติหมายเลข 1 รายชื่อประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับ 200 และ 210) ที่กำหนดไว้ที่ 1,000 cfu/g หรือ \log_{10} CFU/g 3.0 ซึ่งควรต้องศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อต่อไป

เมื่อศึกษาการเก็บรักษาน้ำยาที่อุณหภูมิ 8 ± 2 และ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 และ 14 วัน พบว่า น้ำยาที่ไม่ใส่เชื้อ *B. cereus* ที่อุณหภูมิดังกล่าวมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และน้ำยาที่ใส่เชื้อ *B. cereus* ให้มีปริมาณ ประมาณ \log_{10} CFU/g 7.0 ที่เก็บรักษาน้ำยาที่อุณหภูมิ 8 และ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน มีการเปลี่ยนแปลงจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ผลต่างในการลดลงจากเชื้อเริ่มต้นที่ 55.64 และ 53.74 โดยหลงเหลือในปริมาณ \log_{10} CFU/g 4.39 และ 4.24 ตามลำดับเมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพและประสาทสัมผัสพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ไม่แตกต่างกันแต่สี กลิ่นและรสชาติของน้ำยาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 ± 2 องศาเซลเซียส ไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม



Thesis Title	Control of microbial contamination to prolong shelf life of Thai Yum dressing
Student	Miss RattanawaleeJaisa-ard
Student ID	50068764
Degree	Master of Science
Program	Food Sanitation
Year	2012
Thesis advisor	Dr.KittichaiBanjong

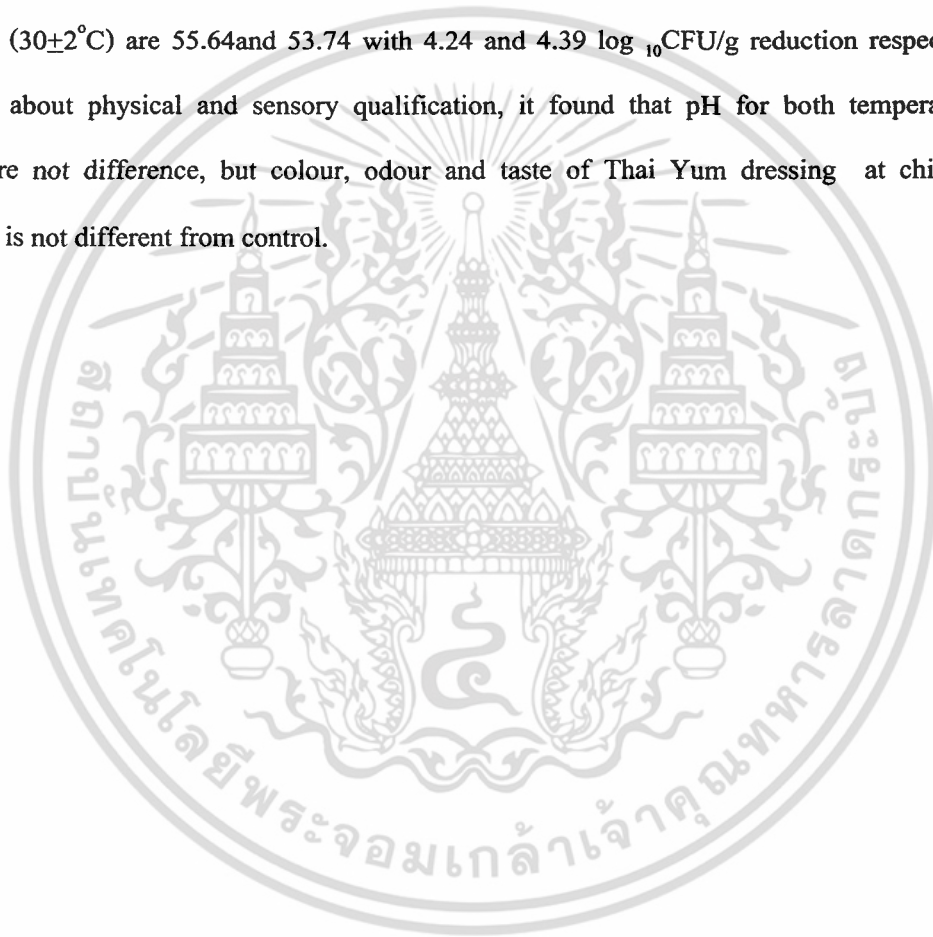
ABSTRACT

Purpose of this study was to investigate pathogenic contamination in Thai yum salad dressing include ingredient used and to applied hurdle technology concept to prolong shelf life. The ingredients used in Thai Yum dressing including chilli, garlic and Thai coriander root was evaluated for microbiological to determine type and level of contamination. The ingredients were collected from the retail and wholesale fresh market in Bangkok by sampling 15 samples of chilli, 15 samples of garlic and 30 samples of Thai coriander root. When the comparison among three ingredients were made, Thai coriander root was the most contaminated ingredient. Thai coriander root was found 10 samples with 5.47 – 8.48 log₁₀ CFU/g. of *B. cereus* and 3 sample with 2.4-4.0 log₁₀ CFU/g. of *Staph. aureus* respectively while chilli was found 4 sample with log₁₀ CFU/g. 4.78 – 7.48 of *B. cereus* and 5 samples with log₁₀ CFU/g. 3.28 - 6.48 of *Staph. aureus*. and log₁₀ CFU/g 6.48 *B. cereus* of was found 1 sample in garlic where *Salmonella* spp. is not found in any ingredients. The ingredients were mixed and prepared into Thai Yum dressing and evaluate for pH and microbiological quality. pH of Thai Yum dressing is 3.13 where Total bacterial count was found with 4.02 log₁₀ CFU/g and *B. cereus* was found in Thai Yum dressing with 1.61 log₁₀ CFU/g

Heat treatment condition of Thai Yum dressing inoculated with estimate 7.0 log₁₀ CFU/g *B. cereus* are studied. The result showed that after treated 3 samples of Thai Yum dressing with heat condition 77 degree Celsius 1 min, log reduction percentage are 23.38, 27.63, 3.29 and which remained 6.48, 5.5,

4.98 log₁₀ CFU/g. of *B. cereus*. The quantity of *B. cereus* after heat treated are still over the Thai FDA pathogenic criteria where specified *B. cereus* contaminated limit for sauce and dipping sauce at 1,000 cfu/g or log₁₀ CFU/g 3.0. Therefore heat treated condition need to further studied.

Storage condition of Thai Yum salad dressing inoculated with estimate log₁₀ 7.0 CFU/g *B. cereus* and without inoculation was further compared. Two conditions at chilled (8±2°C) and ambient temperature (30±2°C) are studied. The result showed that the increasing of *B. cereus* in both condition are not significant difference (P≤0.05) which log reduction percentage at chilled (8±2°C) and ambient temperature (30±2°C) are 55.64 and 53.74 with 4.24 and 4.39 log₁₀ CFU/g reduction respectively. When considering about physical and sensory qualification, it found that pH for both temperature storage condition are not difference, but colour, odour and taste of Thai Yum dressing at chilled (8±2°C) temperature is not different from control.



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี โดยได้รับความกรุณาให้คำปรึกษา แนะนำคร. กิตติชัย บรรจง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์รวมทั้งแนะนำแนวคิดต่างๆเพื่อแก้ไขปัญหา และอุปสรรคต่างๆในระหว่างการทดลองตลอดจนให้ความช่วยเหลือในการตรวจและแก้ไขวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ด้วย และดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ และ รศ.ดร. ประภาพร ขอไพบุลย์ คณะกรรมการผู้ควบคุมการสอบ วิทยานิพนธ์ ๓ ที่นี้ด้วย ซึ่งให้คำปรึกษา คำแนะนำ คำปรึกษา และตรวจสอบแก้ไขให้เสร็จสมบูรณ์ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้อง ๆ นักศึกษา ปริญญาโท ปริญญาตรีและเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่าน ที่ให้ความรู้ ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำและเป็นกำลังใจตลอดการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้

ขอขอบคุณ ดร. ปริญญา สิริมงคลเกษม รองกรรมการผู้จัดการฝ่ายโรงงาน บริษัท กรุงไทยอาหารสัตว์ จำกัด (มหาชน) ที่ให้โอกาส และสนับสนุน ในการศึกษาต่อจนประสบความสำเร็จ

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา รวมถึงครูอาจารย์ ตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่านที่คอยเป็นกำลังใจ และให้ความช่วยเหลืออีกทั้งให้การสนับสนุนในทุก ๆ ด้านแก่ข้าพเจ้าจนทำให้ข้าพเจ้าได้มีวันนี้

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดามารดาซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า

รัตนาวลี ใจสะอาด

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	IX
สารบัญภาพ.....	XI
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	3
บทที่ 2 วรรณกรรม และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 การย่ำ.....	4
2.2 วิธีการทำน้ำย่ำ.....	4
2.3 จุลินทรีย์กับการปนเปื้อนน้ำย่ำ.....	5
2.4 มาตรฐานน้ำย่ำ.....	14
2.5 ปัจจัยของการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร.....	14
2.5.1 ปัจจัยภายใน (Intrinsic factor).....	15
2.5.2 ปัจจัยภายนอก (Extrinsic Factors).....	25
2.6 เทคโนโลยีเฮอริเซลล์.....	29
2.7 การพลาสเจอร์ไรส์.....	31

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย.....	34
3.1 วัตถุประสงค์.....	34
3.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์.....	34
3.3 สารเคมี.....	35
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อและส่วนประกอบที่ใช้ในการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์.....	35
3.5 วิธีการทดลอง.....	36
3.5.1 การทดลองศึกษาชนิด และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในส่วนผสมของน้ำยา.....	36
3.5.2 ขั้นตอนการผสมน้ำยา.....	36
3.5.3 การทดลองการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและจุลชีววิทยาหลังการผสมน้ำยา และระหว่างเก็บรักษาน้ำยาในขวดแก้ว.....	37
3.5.4 การทดลองผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและจุลชีววิทยา	38
บทที่ 4 ผลการทดลอง และวิจารณ์.....	39
4.1 ผลวิเคราะห์จุลชีววิทยา ของวัตถุประสงค์ส่วนผสมน้ำยา.....	39
4.2 ผลการทดลองการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและจุลชีววิทยาส่วนประกอบ น้ำยาหลังการผสมน้ำยา และระหว่างเก็บรักษาน้ำยาในขวดแก้ว.....	41
4.3 ผลการทดลองผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและจุลชีววิทยา	45
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ.....	49
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	49

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	51
บรรณานุกรม.....	52
ภาคผนวก.....	55
ก. การตรวจคุณภาพด้านจุลชีววิทยา.....	56
1. วิเคราะห์หาปริมาณ Total Plate Count.....	56
2. การหาปริมาณ <i>Salmonella</i>	56
3. การหาปริมาณ <i>B. cereus</i>	57
4. การหาปริมาณ <i>Staph. aureus</i>	57
ข. วิธีการเตรียมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ (Stock culture solution).....	58
1. การเตรียมเซลล์แบคทีเรีย.....	58
2. การเตรียมสารละลายเซลล์ในอาหารเหลว.....	58
3. การวิเคราะห์ปริมาณเซลล์แบคทีเรีย.....	58
ประวัติผู้เขียน.....	60

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1a t_{max} ต่ำสุดโดยประมาณที่จุลินทรีย์ในอาหารจะสามารถเจริญได้.....	17
2.2 ช่วง pH ที่เหมาะสมสำหรับอาหารบางชนิด.....	19
2.3 ค่า Eh โดยประมาณในอาหารต่างๆ.....	22
2.4 ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์.....	25
2.5 วัตถุประสงค์ของการพลาสติกเจอร์ไรซ์อาหารชนิดต่างๆ.....	33
4.1 แสดงผลวิเคราะห์ <i>Staph.aureus</i> . ของวัตถุดิบสำหรับทำน้ำยาที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อน.....	40
4.2 แสดงผลวิเคราะห์ <i>B. cereus</i> . ของวัตถุดิบสำหรับทำน้ำยาที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อน.....	41
4.3 แสดงผลวิเคราะห์จุลินทรีย์ก่อโรคและค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในส่วนประกอบน้ำยา ที่ผสมเตรียมสำหรับทำน้ำยาก่อนผสมน้ำมะนาว และหลังผสมน้ำมะนาว.....	43
4.4 แสดงผลวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมดของน้ำยาและค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการ เก็บรักษา 14 วัน.....	44
4.5 แสดงผลวิเคราะห์ <i>Bcereus</i> ของน้ำยาระหว่างน้ำยาที่ผ่านความร้อน และไม่ผ่านความร้อน.....	46
4.6 แสดงผลวิเคราะห์ <i>Bcereus</i> ของน้ำยาระหว่างเก็บรักษา.....	47
4.7 แสดงลักษณะกายภาพของน้ำยาที่เก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 8 ± 2 และ 30 ± 2 องศาเซลเซียส.....	48

สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้า

2.1 ช่วงของอุณหภูมิที่ควร/ไม่ควรเก็บรักษาอาหาร.....	27
2.2 เส้น Sorption Isotherm ของอาหาร.....	28



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

เนื่องด้วยวิถีชีวิตในเมืองที่เร่งรีบและวุ่นวาย ผู้บริโภคจึงนิยมซื้ออาหารพร้อมบริโภคมารับประทานกันมากขึ้น เพราะสามารถซื้อหาได้ทั่วไปตามร้านอาหาร ห้างสรรพสินค้า หรือแม้กระทั่งริมทาง ซึ่งมักจะพบว่ามีการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะ ไม่ใส่ใจเรื่องความสะอาดเท่าที่ควร ประกอบกับประเทศไทยมีอากาศร้อน เอื้อให้เชื้อเจริญได้ดี และหากอาหารพร้อมบริโภคที่ซื้อมารับประทานนั้นเตรียมโดยไม่ผ่านความร้อน หรือให้ความร้อนที่สูงไม่เพียงพอต่อการยับยั้ง/ทำลายการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค ก็อาจมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคทางเดินอาหารอย่างอาหารเป็นพิษได้

ปัจจุบันเราพบว่าการขายอาหารประเภทต่างๆอยู่ทั่วไป ไม่ว่าจะเป็นห้างสรรพสินค้า ตามถนนหนทาง ซึ่งมักจะพบว่ามีการเตรียมเอาไว้ล่วงหน้าสำหรับปรุงรส มีวิธีการผลิตโดยไม่ผ่านความร้อน และเตรียมไว้ใช้ล่วงหน้าสำหรับปรุงรสหรือราดอาหาร การกระทำดังกล่าว มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำยาได้ หากนำไปปรุงอาหาร อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้ ยิ่งทำโดยไม่ถูกสุขลักษณะด้วยแล้วก็ยิ่งเสี่ยงมากขึ้น

จากผลสำรวจอาหารพร้อมบริโภคของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขในช่วงเดือนตุลาคม 2548 ถึงกุมภาพันธ์ 2549 จำนวน 1,395 ตัวอย่าง พบว่าเป็นอาหารจานเดียวเช่น ข้าวมันไก่ หมูแดง และอาหารประเภทยำ เช่น ลาบหมู ยำรวมมิตร สลัดเป็นอาหารที่มักพบการปนเปื้อนมากที่สุด โดยผลสำรวจการปนเปื้อนจุลินทรีย์จากผลการสำรวจพบว่า อาหารไม่ได้เกณฑ์คุณภาพมาตรฐาน 232 ตัวอย่าง (16.6%) เป็นตัวเชื้อโรคบ่งชี้ความไม่สะอาดจำนวน 208 ตัวอย่าง (15%) และเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ จำนวน 81 ตัวอย่าง (5.8%) (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2549)

จากการศึกษาของสิริพร สธนเสาวภาคย์และคณะ (2539) ในคุณภาพทางจุลินทรีย์ของวัตถุดิบที่ใช้ในน้ำพริกแกงสำเร็จรูปซึ่งมีวัตถุดิบในการผลิตคล้ายคลึงกับน้ำยาได้แก่ พบว่า หัวหอม กระเทียม พริกแห้ง และกะปิ จำนวน 45 ตัวอย่าง พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของวัตถุดิบแต่ละตัวอย่างค่อนข้างสูง มีค่าระหว่าง \log_{10} CFU/g. 4.279-7.778 นอกจากนั้นยังพบ *E. coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* และ *Clostridium perfringens* โดยพริกแห้งจะมีการปนเปื้อน *C. perfringens* มากที่สุด Mousumi และ Sarker (2002) พบการปนเปื้อนของเครื่องเทศขายจากเครื่องเทศ 154 ตัวอย่าง 27 ชนิด พบการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปนเปื้อน total aerobic mesophilic bacteria (TAMB) จำนวน 51 % เกิน 10^6 cfu/ g โดยพบรา 97 % พบ *B.cereus*, *C. perfringens*, *S. aureus* และแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae ในสัดส่วน 85, 59, 11 และ 85 % ตามลำดับ พริกไทยดำ จะพบกลุ่ม total aerobic mesophilic bacteria มากที่สุด *B.cereus* จะพบในอามิ (ajmud), กระวาน และยี่หระ โดยจะไม่พบ *B.cereus* ใน พริกไทยดำ เครื่องเทศชนิด การาวีย์ กระเทียม และพริก นอกจากนั้นยังพบการปนเปื้อนของ *Salmonella spp* และ *Shigella* 2.6 % ของตัวอย่างทั้งหมด และพบ *E coli* 1 ตัวอย่างในพริก

จากข้อมูลดังกล่าวแสดงว่าวัตถุดิบที่ใช้ในการปรุงน้ำยำมีแนวโน้มที่มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ก่อโรค แม้ว่าจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อนเพียงเล็กน้อย ก็อาจเพิ่มขึ้นจนถึงปริมาณที่ก่อให้เกิดอันตรายได้ นอกจากนั้นจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด เช่น *C.perfringens* สามารถทนกรดได้สูงรวมทั้งกรดระเคาะอาหาร นอกจากนั้นยังสามารถสร้างสปอร์เมื่อสภาวะไม่เหมาะสม เช่นเดียวกับ *B.cereus* โดยสภาพที่สร้างสปอร์จะทนความร้อน, สารเคมีได้ดี ซึ่งจะสามารถงอก และเพิ่มปริมาณในร่างกายเมื่อบริโภคเข้าไปพร้อมกับการสร้างสารพิษ โดยทั่วไปวิธีทำลายสปอร์ดังกล่าวที่ได้ผลโดยใช้ความร้อนขึ้น ที่ความดันที่ 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-30 นาที (บุษกร อุดรภิกขิต, 2550) พิษชนิดที่ทำให้เกิดการอาเจียร (emetic syndrome) ของ *B.cereus* ก็สามารถทนต่อความร้อนและกรดได้ดี โดยสามารถทนอุณหภูมิถึง 126 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ที่ 2-11 (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

ดังนั้นในการเตรียมน้ำยำควรคำนึงถึงขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ นอกจากความสะอาดของอุปกรณ์ กระบวนการ และสุขลักษณะในการปรุงอาหาร นอกจากนี้ในการหลีกเลี่ยงปัญหาการพบจุลินทรีย์ก่อโรค สามารถใช้การควบคุมการปนเปื้อนพร้อมกับการควบคุมปัจจัยที่ทำให้อาหารเป็นพิษ หรือเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์มาใช้ ซึ่งการควบคุมดังกล่าวนอกจากจะกำจัดปัญหาโรคทางอาหารแล้ว ยังมีผลต่ออายุผลิตภัณฑ์ โดยการยืดอายุการเก็บรักษา ซึ่งเป็นผลพลอยได้ในการทวนเวลาในการเตรียมน้ำยำทุกครั้งที่มีการปรุงอาหาร

ปัจจุบันมีการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) และมาประยุกต์ใช้กับกระบวนการผลิตอาหาร เพื่อให้อาหารมีความปลอดภัยปลอดภัย คงคุณภาพ และมีอายุการจัดเก็บจัดเก็บนานขึ้น ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค และการสร้างสารพิษของจุลินทรีย์ดังกล่าว ได้แก่ สารอาหาร อุณหภูมิ ความชื้น ค่า aw ค่าความเป็นกรด-ต่าง (pH) และ สารเคมีหรือสารอื่นที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งอาหารที่มีปลอดภัยอาหารและและมีการยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ อาจต้องใช้ปัจจัยที่มีผลต่ออาหารต่าง ๆ มาใช้ร่วมกัน ซึ่งเรียกว่า Hurdle Technology หลักการของ Hurdle ได้มีการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่างๆ อย่างแพร่หลาย

1.2.วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 ศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในวัตถุดิบที่ใช้ปรุงและน้ำยา

1.2.2 ศึกษากระบวนการควบคุมจุลินทรีย์ในน้ำยาเพื่อลดการปนเปื้อนและยืดอายุเก็บรักษาน้ำยา และผลที่มีต่อคุณภาพของน้ำยา

1.3. ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในน้ำยา ซึ่งมีแหล่งที่มาจากวัตถุดิบที่ใช้ในการทำน้ำยา และศึกษามาตรการในการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำยา เพื่อยืดอายุเก็บรักษาน้ำยา และผลของการควบคุมจุลินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพของน้ำยา ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ (pH) การเหลือรอดชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์ และลักษณะปรากฏเมื่อเก็บรักษา 0-14 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียสและ 8 ± 2 องศาเซลเซียส ในภาชนะบรรจุแก้วปิดฝา

บทที่ 2

วรรณกรรม และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การย่ำ

การย่ำ หมายถึง การนำผักต่างๆ เนื้อสัตว์ และน้ำปรุงรส มาเคล้าเข้าด้วยกันเบาๆ จนให้รสชาติขบเสมอกัน ยำของไทยมีรสหลักอยู่ 3 รส คือ เปรี้ยว เค็ม หวาน สำหรับน้ำปรุงรสจะราดก่อนเวลารับประทานเล็กน้อย ทั้งนี้เพื่อให้ยำมีรสชาติดี ตัวอย่างอาหารประเภทยำคือ ยำผัก เช่น ยำผักกระเฉด ยำถั่วพู ยำเกษตรชมพู ฯลฯ ยำเนื้อสัตว์ เช่น ยำเนื้อย่าง ยำไส้กรอก ยำหมูยอ ฯลฯ

อาหารประเภทปลา ลาบ น้ำตก จัดอยู่ในอาหารประเภทยำเช่นกัน เพราะมีกรรมวิธีและรสชาติคล้ายกัน เช่น ปลาช่อน ลาบหมู ลาบเนื้อ ลาบเป็ด และเนื้อน้ำตก เป็นต้น

2.2. วิธีการทำน้ำยำ

โดยทั่วไป มีวิธีการทำน้ำยำทำได้โดยนำน้ำตาลละลายเป็นน้ำเชื่อมให้ข้นพอควร พักไว้ให้คลายความร้อน จากนั้นก็ผสมน้ำปลา และน้ำมะนาวในสัดส่วนที่เท่าๆกัน ใส่เกลือป่นเล็กน้อย คนให้ละลาย ตักน้ำเชื่อมผสมลงไป โขลกกระเทียม พริกขี้หนู ให้เข้ากัน แล้วค่อยเอามาผสมลงในน้ำยำที่เตรียมไว้ การแบ่งชนิดของยำตามวิธีการทำน้ำยำ และส่วนประกอบแบ่งได้ 3 ชนิดดังนี้ (พลศรี คชชีวะ, 2545)

1. ยำขาวคือยำที่ใช้ น้ำมะนาว น้ำปลาพริกขี้หนูและน้ำตาล บางทีก็ใส่น้ำกระเทียมดอง (เล็กน้อย)เพื่อให้หวานชุ่มคอ ผสมทำเป็นน้ำ ยำ เป็นยำนที่นิยมทำกันมากที่สุด ที่เรียกว่า "ยำขาว"ก็เพราะน้ำยำนี้อาจใส ยำชนิดนี้ได้แก่ ยำวุ้นเส้น ยำแตงกวา ยำกุนเชียง ยำปลาทูกระป๋องยำเกี่ยมฉาย ฯลฯ

2. ยำดำคือยำที่ใช้ น้ำยำขาวบางตำรับก็ผสมกระเทียม (รากผักชี โขลกผสม) แต่ที่สำคัญผสม น้ำพริกเผา(พริกเผา หอมเผา กระเทียมเผาโขลก)รวมไปด้วย เพื่อให้ยำนี้ออกสีคล้ำ ไม่ขาวซีดรสชาติเข้มข้นตามรสนิยมดั้งเดิมของคนไทย และเพื่อดับกลิ่นคาวของเนื้อสัตว์เช่น อาหารทะเล กุ้ง หอย ปู ปลา

3. ยำแดงคือยำที่ใช้ น้ำยำเป็นน้ำพริกแกงคั่ว ใส่ปลาทูกรอบ หรือกุ้งแห้งโขลกแล้วนำมาผัดกับน้ำกะทิข้น ๆ ปรุงรสให้ได้ 3 รส เปรี้ยว เค็ม หวาน ราดบนผักต่าง ๆ เช่น ผักบุ้ง หัวปลีถั่วพู ถั่วฝักยาว ถั่วงอก ฯลฯ ลวกให้สุกโรยด้วยงาคั่ว หอมเจียว กระเทียมเจียวและถ้าจะมีเนื้อสัตว์ ก็อาจมีเนื้อไก่ต้มฉีกฝอยแต่ถ้าเป็นยำมังสวิรัตก็จะใช้ถั่วเขียวคั่วป่นรวมกับน้ำยำให้ข้น และหอมแทนเนื้อปลาทูกรอบยำชนิดนี้เราเรียกว่า "ยำทวาย"

นอกจากนี้ยังมียาแบบประยุกต์ยาแบบนี้จะทำขายกันมากในขณะนี้ โดยเฉพาะตามรถเข็นต่าง ๆ เช่น ยำ 3 กรอบที่ใส่กระเพาะปลาทอดกรอบ กุ้งแห้งทอด ปลาหมึกฉีกทอด ถั่วลิสงคั่วหรือเมล็ดหิมพานต์อบหรือทอด ใส่ผักพวกขึ้นฉ่าย หอมแดงซอย ฯลฯ ที่สำคัญยานี้จะใช้น้ำยาแบบประยุกต์คือ น้ำส้มมะขามเปียก น้ำตาลปีบ น้ำปลาเกลือ เคี้ยวพอชิ้นแยกผสมพริกชี้หูหั่นต่างหากจะเผ็ดน้อยหรือมากก็ย่อมได้การทำน้ำยาแบบนี้ให้ผลดีหลายอย่างคือ 1) ไม่ใช้มะนาว หรือใช้แต่น้อย ในยามมะนาวแพงก็ทุนต้นทุน 2) น้ำยารุ่นทำให้ความกรอบของอาหารที่ผสม นุ่มช้าลง 3) แยกน้ำยาใส่ถุงได้สะดวก และ 4) อาจเพิ่มเติมมะนาวได้ภายหลังถ้าต้องการความเปรี้ยวเพิ่มขึ้นน้ำยาแบบประยุกต์นี้คล้ายน้ำปลาหวานจึงดัดแปลงเอาไปทำยำผลไม้พวกมะม่วง กระท้อน ส้มโอ ฯลฯ ได้โดยลดความเปรี้ยวของน้ำยาลงไปถ้าผลไม้ที่ผสมมีความเปรี้ยวอยู่แล้ว

2.3. จุลินทรีย์กับการปนเปื้อนน้ำยา

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแปรรูปอาหาร/ การถนอมอาหารนั้นสามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย (Food spoilage microorganism) ซึ่งมักทำให้เกิดผลกระทบต่อคุณภาพ และการเก็บรักษาของอาหาร และกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหาร (Food pathogen) ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์เอง (Food infection organism) และ จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหาร เนื่องจากสารพิษที่จุลินทรีย์นั้นสร้างขึ้น (Food poisoning microorganism)

เนื่องจากยำเป็นอาหารที่ปรุงโดยไม่ผ่านความร้อน ดังนั้นความเสี่ยงการปนเปื้อนของอาหารประเภทนี้จึงมีแนวโน้มมาจากวัตถุดิบเป็นส่วนใหญ่ และวัตถุดิบที่ใช้ในการทำน้ำยามีวัตถุดิบพื้นฐานในการทำน้ำยามาจากพืช ได้แก่ พริกชี้หู กระเทียม และรากผักชี ซึ่งกระบวนการจัดการวัตถุดิบดังกล่าวอาจมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนได้ทุกขั้นตอน นับตั้งแต่เมล็ดพันธุ์ที่นำไปเพาะปลูก ดินพืชที่อยู่ในแปลงเพาะและในสวน หรือไร่ นา ในขณะที่เก็บเกี่ยวและหลังการเก็บเกี่ยว จนถึงขั้นแปรรูป และเตรียมเป็นอาหาร ขั้นตอนการเก็บรักษาเพื่อรอการจำหน่ายจนกว่าจะนำไปบริโภค ซึ่งจุลินทรีย์ที่พบปนเปื้อนจะเป็นทั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคพิษ โดยเฉพาะเชื้อรา และจุลินทรีย์ ที่ก่อให้เกิดอาหารเป็นพิษ อาหารเหล่านี้จำเป็นต้องมีการขนส่ง และเคลื่อนย้าย (transportation & handling) ซึ่งจุลินทรีย์ที่พบในการปนเปื้อนในอาหารจากพืชจะพบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของผัก และผลไม้ และจุลินทรีย์ก่อโรค อาทิ *Clostridium botulinum* พบว่ามีการปนเปื้อนในปุ๋ยอินทรีย์ น้ำ และวัสดุธรรมชาติที่ใช้ในการเพาะปลูก

หรือบำรุงรักษาดิน บ่อยครั้งปรากฏว่ามีเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เช่น *Salmonellae*, *Shigellae*, *E coli*, *O157:H7*, *Listeria monocytogenes* และ *Clostridium spp.* ติดมากับวัตถุติดทางการเกษตร และแพร่กระจายในอาหาร โดยเฉพาะปนเปื้อนข้าม จนเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษขึ้น (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

2.3.1 จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดลักษณะการเสียหายแบบต่างๆของผักผลไม้ (สุมาลี เหลืองสกุล, 2535)

ลักษณะการเสียหายแบบต่างๆ ของผัก และผลไม้เนื่องจากจุลินทรีย์ แบบที่พบโดยทั่วไป จะแปรผันตามชนิดของผลไม้ หรือผัก การเสียหายเนื่องจากจุลินทรีย์อาจเกี่ยวข้องกับ 1) การกระทำของเชื้อโรคพืชต่อต้าน ใบดอก หรือรากของพืช หรือส่วนใดส่วนหนึ่งที่ใช้เป็นอาหารและ 2) พวกแซบโพรไฟต์ (Saprophyte) ซึ่งอาจเป็นตัวทำลายตัวที่ 2 ต่อจากการทำลายของเชื้อโรคพืช หรือเข้าไปในพืชขณะที่เกิดการเน่า (rots) หรือเจริญอยู่ที่พื้นผิวของพืช และจะทำให้เกิดการเสียหายได้ เช่น โคลิฟอร์ม แบคทีเรียที่อาจเจริญเป็นตัวทำลายตัวที่ 2 และมีจำนวนมากในน้ำผัก และผลไม้ จากผักที่ไม่มีการคัดเอาส่วนที่เสียหายออกไปก่อนการคั้นน้ำ

การเสียหายของผักเนื่องจากรามักจะเป็นแบบเน่าและเป็นน้ำ ในขณะที่การเสียหายของผลไม้สดเนื่องจากรามักจะเกิดสีน้ำตาลครีมในบริเวณที่มีราเจริญอยู่ใต้ผิวของผลไม้ ซึ่งไฮฟีและสปอร์จะปรากฏให้เห็นที่หลัง การเสียหายเนื่องจากราบางแบบจะมีลักษณะแห้ง แข็ง และมีสีเปลี่ยนไป การเน่าของผลไม้มักทำให้ผลไม้แตก

การทราบส่วนประกอบของผัก และผลไม้ จะทำให้สามารถทำนายว่าจะเกิดการเสียหายแบบใด เช่น ในผักซึ่งมีพีเอชเป็นกลางมักจะเน่า และเนื่องจากแบคทีเรียในขณะที่ไม่พบการเสียหายนี้ในผักผลไม้ซึ่งมีความเป็นกรดสูง ผัก และผลไม้ที่เป็นกรด มักมีผลค่อนข้างแห้ง และไม่มีวิตามินบี การเสียหายใหญ่ๆมักมีราเป็นสาเหตุ และชนิดที่จุลินทรีย์ที่เข้าทำลายจะขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของผัก และผลไม้ ดังนั้นจึงพบว่าผัก และผลไม้บางชนิดจะมีจุลินทรีย์เข้าทำลายได้หลายชนิดขณะที่บางชนิดมีจุลินทรีย์เข้าทำลายได้เพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้น เช่นเดียวกับการเข้าไปภายในผักผลไม้ของจุลินทรีย์ ก็มีโอกาสต่อโอกาสและแบบของการเสียหายที่เกิดขึ้น ผัก และผลไม้ที่เป็นโรคและไม่ได้รับการเอาใจใส่จะทำให้จุลินทรีย์เข้าไปง่ายขึ้น ตำแหน่งของส่วนของพืชที่นำมาใช้ประโยชน์ก็มีความสำคัญ เช่นส่วนที่อยู่ใต้ดิน ได้แก่หัวผักกาด มันสำปะหลัง แครอท และมันฝรั่ง เป็นต้น จะเป็นส่วนที่สำคัญโดยตรงกับดินที่เปียกชื้น และจะมีการเข้าทำลายโดยจุลินทรีย์ดินได้ง่าย ผลไม้ต่างๆ เช่น สตรอเบอรี่ แดง พริกไทย จะติดอยู่กับผิวดิน ส่วนใบ ต้น และดอกของพืชหลายชนิด เช่น กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี บรอกโคลี จะมีการปนเปื้อนกับเชื้อโรคพืช หรือมีนก และแมลงมากัดทำให้เกิดความเสียหายอยู่เสมอ

ลักษณะการเสียบจะขึ้นอยู่กับผลิตภัณฑ์ที่ถูกทำลายและเชื้อที่เข้าทำลาย ถ้าผักและผลไม้มีลักษณะอ่อนนุ่ม และน้ำ การเน่าก็จะมีลักษณะและเกิดการแตกเร็ว อย่างไรก็ตามก็มีจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสียบแบบแห้ง และเหนียวคล้ายหนังสัตว์และมีสีเปลี่ยนไปจากเดิม ผลไม้บางชนิดจะเกิดการเสียบเป็นลักษณะเป็นจุดซึ่งเป็นตำแหน่งที่ไม่ซีเลียมของราเจริญที่ได้ผิว และบางชนิดจะมีการเจริญของไมซีเลียมที่ผิวนอกของผล และมีสีที่เกิดจากการสร้างสปอร์ต่างๆการวิเคราะห์แบบการเสียบในผักและผลไม้ จะช่วยในการตัดสินใจใช้วิธีการใดในการป้องกันการเสียบ

2.3.2 จุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนของในผัก และผลไม้ (นภาพรเชี่ยวชาญ, 2546)

จากรายงานการเกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจากการบริโภคผักผลไม้พบว่า มีสาเหตุมาจากผักเป็นส่วนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งผักสดซึ่งมักเป็นผักสดที่ต้องผ่านการจับต้องจากผู้ประกอบอาหารดังนั้นผู้ที่ปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องจึงต้องระมัดระวังเรื่องสุขอนามัยเป็นอย่างยิ่งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษและมักพบว่าปนเปื้อนมากับผักผลไม้พร้อมบริโภคคือ *E.coli*O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Shigella*, *Salmonellaspp.* และไวรัสตับอักเสบเอโดยสาเหตุของการปนเปื้อนในผักและผลไม้เกิดขึ้นได้ในขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

1) การเพาะปลูกและเก็บเกี่ยว 2) กระบวนการผลิตขั้นต้น 3) กระบวนการผลิตขั้นสุดท้ายและ 4) การขนส่ง

นอกจากการศึกษาศาสตร์ของแนวโน้มการปนเปื้อนในขั้นตอนต่างๆ ยังมีการศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เริ่มต้นในผัก เครื่องเทศ และวัตถุดิบของอาหารซึ่งมีวัตถุดิบในการผลิตคล้ายคลึงกับน้ำยาดังนี้

สิริพร สธนเสาวภาคย์และคณะ (2539) ในคุณภาพทางจุลินทรีย์ของวัตถุดิบที่ใช้ในน้ำพริกแกงสำเร็จรูป ได้แก่ พบว่า หัวหอม กระเทียม พริกแห้ง และกะปิ จำนวน 45 ตัวอย่าง พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของวัตถุดิบแต่ละตัวอย่างค่อนข้างสูง มีค่าระหว่าง \log_{10} CFU/g. 4.279-7.778 นอกจากนั้นยังพบ *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus* และ *C. perfringens* โดยพริกแห้งจะมีการปนเปื้อน *C. perfringens* มากที่สุด Mousumi และ Sarker (2002) พบการปนเปื้อนของเครื่องเทศขายจากเครื่องเทศ 154 ตัวอย่าง 27 ชนิด พบการปนเปื้อน total aerobic mesophilic bacteria (TAMB) จำนวน 51 % เกิน 10^6 cfu/g โดยพบรา 97 % พบ *B. cereus*, *C. perfringens*, *S. aureus* และแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae ในสัดส่วน 85, 59, 11 และ 85 % ตามลำดับ พริกไทยดำ จะพบกลุ่ม total aerobic mesophilic bacteria มากที่สุด *B. cereus* จะพบในอาจิมัด (ajmud), กระวาน และยี่หระ โดยจะไม่พบ *B. cereus* ใน พริกไทยดำ เครื่องเทศชนิด คาราวีย์ กระเทียม และพริก นอกจากนั้นยังพบการปนเปื้อนของ *Salmonella spp.* และ *Shigella* 2.6 % ของตัวอย่างทั้งหมด และพบ *E. coli* 1 ตัวอย่างในพริก

Harun และ Ozer (2000) พบการปนเปื้อน *B. cereus* พริกสับ มากที่สุดโดยพบในระดับ 10^3 - 10^4 cfu/g คิดเป็น 16.7% คูมิน และ ใบมีนสับ พบในระดับดังกล่าวเช่นกัน คิดเป็น ,พริกไทยดำ ,11.8, 16.7 และ 12.5% ตามลำดับ และ พบ การปนเปื้อนในผักชีผงเช่นกัน ในระดับ ที่ไม่สูงมาก 10^2 - 10^3 cfu/g คิดเป็น 3 %

พัชราวัลย์ ตรีงศรีชาติและคณะ (2549) พบวัตถุดิบสดมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั่วไปรวมถึงยีสต์ และราในปริมาณสูงโดยพริกหนุ่มสดมีปริมาณจุลินทรีย์ทั่วไปโดยเฉลี่ย 4.97 log CFU/g ยีสต์และราโดยเฉลี่ย 4.75 log CFU/g หอมแดงสดมีปริมาณจุลินทรีย์ทั่วไปโดยเฉลี่ย 4.90 log CFU/g ยีสต์และราโดยเฉลี่ย 5.11 log CFU/g กระเทียมสดมีปริมาณจุลินทรีย์ทั่วไปโดยเฉลี่ย 4.74 log CFU/g ยีสต์และราโดยเฉลี่ย 4.73 log CFU/g นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคการปนเปื้อน *C.perfringens*, *Staph.. aureus* และ *E. coli* ในพริกสดที่ใช้เป็นส่วนประกอบน้ำพริกหนุ่ม โดยเฉลี่ย 2.14 ,2.82log CFU/g และ 51.45MPN/g

จากข้อมูลดังกล่าวว่าผัก ผลไม้ รวมทั้งเครื่องเทศต่างๆ มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่างๆดังที่กล่าวมา ซึ่งจุลินทรีย์ก่อโรคนั้นนอกจากเป็นสาเหตุให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษยังเป็นจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหาร อาทิ *B. cereus* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์เป็นสาเหตุการเสื่อมเสียของอาหาร ในการควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ดังกล่าวในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเฉพาะน้ำยำนอกจากการศึกษาด้านของแนว โนม์การปนเปื้อนในขั้นตอนต่างๆ และวัตถุดิบ จำเป็นที่ต้องเข้าใจลักษณะเฉพาะของจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆด้วย ในการวิจัยครั้งนี้จะทำการศึกษาจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีแนวโน้มที่จะปนเปื้อนในวัตถุดิบ และเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคถูกกำหนดในมาตรฐานอาหารปนเปื้อนของกระทรวงสาธารณสุข ได้แก่ *Staph. aureus*, *B. cereus* และ *Salmonella spp.*

2.3.2.1 *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปกลม ที่มีขนาดเล็ก 0.5-1 ไมโครเมตร มีการจัดเรียงเซลล์แบบเดี่ยวๆ เป็นกลุ่มหรือเป็นคู่ไม่แน่นอน บางครั้งมีการจัดเรียงเป็นพวง อุ่น ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ (บุษกร อุดรภิชชาติ, 2550) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่ช่วงอุณหภูมิที่สามารถเจริญได้อยู่ที่ 7-47.8 องศาเซลเซียส เป็นแบคทีเรียกลุ่มต้องการอากาศ (aerobe) หรือกลุ่มที่เจริญได้ทั้งที่มีอากาศ และไม่มีอากาศ (Facultative anaerobe) สายพันธุ์ที่สร้างพิษเป็นสาเหตุของโรคทางเดินอาหารเจริญได้ทั้งที่มีอากาศ และไม่มีอากาศ และสามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงและทำให้พลาสมาแข็งตัวได้ อุณหภูมิที่แบคทีเรีย *Staph. aureus* ผลิตสารพิษอยู่ในช่วง 10-46 องศาเซลเซียส สารพิษจะเกิดผลกระทบที่กระเพาะอาหารของผู้บริโภคซึ่งทำให้เกิดการอาเจียน (วารุณี ครุสง, 2551)

นอกจากนั้น *Staph. aureus* ส่วนใหญ่เติบโตได้ในที่มีเกลือแคลเซียมคลอไรด์ 15 เปอร์เซ็นต์ (บุษกร อุดรภิชชาติ, 2550)

ตามปกติแล้วสามารถพบแบคทีเรีย *Staph. aureus* ตามผิวหนังและเยื่อต่างๆของร่างกายมนุษย์และสัตว์ ซึ่งพบตามส่วนต่างๆของร่างกายมนุษย์ เช่น จมูก มือ แผลหรือรัง ผิวหนัง รวมทั้งบนเสื้อผ้า อากาศ และฝุ่นละออง จึงมีโอกาที่เชื้อชนิดนี้ จะแพร่จากมนุษย์และสัตว์ลงสู่อาหาร การปนเปื้อนของเชื้อชนิดนี้ในอาหาร มาจากการไอ หรือ จามลงในอาหาร หรือได้รับเชื้อภายหลังการพลาสติกเจอร์รัสอาหารที่ไม่ผ่านการหุงต้ม หรืออาหารสุกๆดิบๆ

เมื่อแบคทีเรีย *Staph. aureus* ปนเปื้อนในอาหาร และมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโต รวมทั้งมีระยะเวลาเพียงพอต่อการเติบโต และสร้างสารพิษ (enterotoxin) ภายในเซลล์แล้วปล่อยออกนอกเซลล์ลงสู่อาหาร ชนิดของสารพิษที่สร้างมี 5 ชนิด คือ A, B, C, D และ E ซึ่งมีคุณสมบัติในการทนความร้อน (heat-stable toxin) ในระดับอุณหภูมิพลาสติกเจอร์รัส คือ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และยังทนความร้อนระดับ 143.3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วินาที สารพิษชนิดนี้ไม่ทำให้รูปสัมผัสของอาหารมีการเปลี่ยนแปลง ผู้บริโภคจึงไม่สามารถทราบได้ว่า มีสารพิษเกิดขึ้นในอาหาร เมื่อรับประทานอาหารมีสารพิษเข้าไปประมาณ 1-6 ชั่วโมง จะมีอาการอาหารเป็นพิษเกิดขึ้น เนื่องจากสารพิษไปออกฤทธิ์ที่เยื่อลำไส้ ทำให้เกิดการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และท้องเดิน อาการป่วยจะดีขึ้นในเวลา 8-24 ชั่วโมง (บุษกร อุดรภิชชาติ, 2550)

การทำลายเซลล์แบคทีเรีย *Staph. Aureus* สามารถใช้ความร้อนระดับพลาสติกเจอร์รัสที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ในขณะที่สารพิษที่ทนความร้อนสูงมากโดยถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิน้ำเดือดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที (วราวุฒิ ครุสง, 2551)

การป้องกันการปนเปื้อนของ *Staph. aureus* ในอาหารควรทำความสะอาดวัตถุดิบเพื่อลดการปนเปื้อน, ควรประกอบอาหารอย่างถูกวิธี โดยใช้ความร้อนให้เพียงพอ นอกจากนั้น ควรตรวจสอบสภาพคนปรุงอาหาร หากพบว่าเป็นพาหะของเชื้อโรคไม่ควรปรุงอาหาร

2.3.2.2 Salmonella spp. แบคทีเรีย *Salmonella* ทุกชนิดมีมีรูปร่างท่อนดิดีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ กลุ่มที่เจริญได้ทั้งที่มีอากาศ และไม่มีอากาศ (Facultative anaerobe) เป็นแบคทีเรียที่เคลื่อนที่ได้ (motile) ไม่สร้างอินโดล (indole) ไม่สร้างเอ็นไซม์ยูเรียเอส (urease) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 35-37 องศาเซลเซียส ความร้อนระดับพลาสติกเจอร์รัสสามารถฆ่าเชื้อชนิดนี้ได้ ใน

pH ต่ำกว่าและเท่ากับ 4.5 เชื้อจะตาย และไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ในที่มี a_w 0.94 และมี pH ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 5.5 เชื้อสามารถมีชีวิตรอดได้ภายใต้การแช่เยือกแข็ง และสภาพแห้งเป็นเวลานาน เชื้อนี้สามารถเพิ่มจำนวนได้ในอาหารหลายชนิด โดยไม่ทำให้คุณภาพอาหารผิดปกติ

ที่อยู่ในธรรมชาติของเชื้อนี้คือ ระบบทางเดินอาหารของสัตว์เลี้ยง และสัตว์ป่า สัตว์ปีก เต่าและกบ รวมทั้งแมลงสัตว์ปีก เต่าและกบ รวมทั้งแมลงต่างๆ สัตว์และสัตว์ปีก จะทำให้มนุษย์เกิดโรคซัลโมเนลโลซิสได้ และเป็นพาหะนำโรคต่อไป โดยแพร่เชื้อทางอุจจาระ นอกจากนี้ยังสามารถแยกเชื้อได้จากดิน น้ำ และสิ่งโสโครกต่างๆ ที่ปนเปื้อนด้วยอุจจาระ(บุษกร อุตริชาติ, 2550)

ในอดีตการจำแนกเชื้อซัลโมเนลลาอาศัยชนิดของซีโรวาร (serovars) ที่ได้จากการทดสอบปฏิกิริยาทางซีโรวิทยา (Serology) คือปฏิกิริยาการตกตะกอนของโปรตีนจากเซลล์แบคทีเรียที่ผิว (somatic cells) และที่แฟลกเจลลา (flagella cells) ซึ่งมีความสัมพันธ์กันเป็นตัวกำหนดสปีชีส์ ต่อมาได้มีการใช้เทคนิคอื่นที่ใช้ยีนส์เป็นตัวทดสอบที่เรียกว่า DNA hybridization และ Multilocus Enzyme Electrophoresis (MEE) typing ประสบความสำเร็จ ทำให้เชื้อซัลโมเนลลาทั้งหมดถูกนำมาจัดใหม่เป็น 2 สปีชีส์ คือ *Salmonella enterica* และ *Salmonella bongori* แต่ละ สปีชีส์จำแนกออกเป็นอีกหลายสปีชีส์ย่อย (subspecies) เชื้อซัลโมเนลลา กว่า 2,000 ซีโรวารถูกนำมาจัดอยู่ในสปีชีส์ *Salmonella enterica* ซึ่งจำแนกออกเป็น 6 กลุ่มหรือ subspecies ดังนี้

- Group I : *S. enterica* subsp. *enterica*
- Group II : *S. enterica* subsp. *salamae*
- Group III a : *S. enterica* subsp. *arizonae*
- Group III b : *S. enterica* subsp. *diarizonae*
- Group IV : *S. enterica* subsp. *houtenae*
- Group VI : *S. enterica* subsp. *indica*

โดยเชื้อซัลโมเนลลา กลุ่ม V เดิม ถูกยกอันดับขึ้นเป็นสปีชีส์คือ *Salmonella bongori*

ในทางระบาดวิทยา จำแนกเชื้อ *Salmonella* spp. ออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) คือ

2.3.2.2.1 เชื้อซัลโมเนลลาที่อาศัยคนเป็นโฮสต์เพียงอย่างเดียว ประกอบด้วย *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi C* เป็นชนิดที่ทำให้เกิดโรคไข้ไทฟอยด์ และไข้รากสาดน้อย จัดเป็นเชื้อซัลโมเนลลาที่มีความรุนแรงมากที่สุด และมีอัตราการตายสูงสุดในบรรดาเชื้อซัลโมเนลลาทั้งหลาย

เชื้อไข้ไทฟอยด์ใช้ระยะเวลาฟักตัวนานที่สุด ผู้ป่วยมักมีไข้ขึ้นสูงมาก อาจแยก *S. Typhi* ได้จากเลือด อุจจาระ และ/หรือ ปัสสาวะของผู้ป่วยได้ก่อนและอาการไข้ขึ้นสูง ส่วนไขว่รอกสาคน้อยมีอาการรุนแรงน้อยกว่าไข้ไทฟอยด์

2.3.2.2.2 เชื้อซัลโมเนลลาที่ปรับตัวตามโฮสต์ (สามารถทำให้เกิดโรครักกับคนโดยผ่านทางอาหาร) ประกอบด้วย *S. Enteritidis* สายพันธุ์ PT4, *S. Pullorum* และ *S. Gallinarum* อาศัยเปิด-ไก่ เป็นโฮสต์ประจำ *S. Dublin* อาศัยวัวเป็น โฮสต์ประจำ และ *S. Choleraesuis* อาศัยห่านเป็น โฮสต์ประจำ

2.3.2.2.2 เชื้อซัลโมเนลลาที่ไม่จำกัดตามโฮสต์ ได้แก่ เชื้อซัลโมเนลลาส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดโรครักกับคนและสัตว์ ประกอบด้วยเชื้อซัลโมเนลลาที่เหลือทั้งหมดซึ่งทำให้เกิดโรครักอาหารเป็นพิษ (Salmonellosis)

การเกิดโรครักอาหารเป็นพิษ (Salmonellosis) เกิดโดยร่างกายได้รับเชื้อที่ปนเปื้อนในอาหาร โดยเชื้อดังกล่าวไปเกาะติดที่เยื่อเมือก (mucosa) ในลำไส้เล็ก พร้อมกับมีการสร้างสารพิษที่ทำให้ลำไส้บวม เนื่องจากมีการสะสมของของเหลวในลำไส้ ความสามารถของเชื้อในการบุกรุก (invade) และทำลายเซลล์ ซึ่งเกิดจากการสร้าง thermostable cytotoxin factor เชื้อโรครักแบ่งตัวเพิ่มจำนวน และสร้างสารพิษที่ไม่ทนความร้อน (thermolabile enterotoxin) ซึ่งมีผลต่อการหลั่ง (secretion) ของของเหลว และการสร้างสารพิษเกี่ยวข้องกับอัตราการเติบโตของเชื้อโรครัก

โรครักอาหารเป็นพิษ (Salmonellosis) ในมนุษย์จะแตกต่างจากไข้ไทฟอยด์ และพาราไทฟอยด์ ที่เกิดจากเชื้อ *S. Typhi*, *S. Paratyphi* ก่อโรครักกับสัตว์ต่างๆรวมทั้ง Salmonellosis ผู้ป่วยต้องได้รับเชื้อเข้าไป 10^5 - 10^6 เซลล์ (สำหรับสายพันธุ์ที่มีความรุนแรง อาจได้รับเชื้อปริมาณน้อยกว่านี้ก็สามารถก่อโรคได้) ในกระเพาะอาหารที่มีกรดสามารถทำลายเชื้อชนิดนี้ได้ ดังนั้นในกรณีที่เกิดโรครักต้องมีปริมาณเชื้อโรครักชนิดนี้จำนวนมากและเหลือรอดจากกระเพาะอาหาร ที่สามารถเดินทางไปยังลำไส้และเพิ่มจำนวนในลำไส้ อาการของโรครักจะเกิดขึ้นภายหลังรับเชื้อเข้าไป 8-42 ชั่วโมง โดยทั่วไป 24-36 ชั่วโมง มีอาการป่วย 2-3 วัน แต่ในผู้ป่วยหายจากโรครักจะเป็นพาหะแพร่เชื้อต่อไปอีกหลายเดือน อาการโรครักจะมากหรือน้อยขึ้นกับสุขภาพของแต่ละบุคคล โดยมีอาการดังนี้ เป็นตะคริวที่ท้อง ท้องเสีย คลื่นไส้ อาเจียน ตัวเย็น มีไข้ สำหรับเด็กทารก และคนชราจะมีอาการรุนแรง ซึ่งอาจทำให้ถึงตายได้

การป้องกันการปนเปื้อนจาก *Salmonella* spp. ได้โดยการควบคุมการคัดเลือก และทำความสะอาดวัตถุดิบ, ป้องกันการปนเปื้อนข้ามระหว่างอาหารแต่ละชนิด เช่น การปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าวในอาหารสด ไปยังอาหารสำเร็จรูป หรืออาหารที่สุกซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว โดยการใช้มีดหั่นเนื้อสด แล้ว

ไปหันท่อนี้ดัมสุก เป็นต้น, การรักษาความสะอาด การมีสุขอนามัยที่ดีของผู้สัมผัสอาหาร เช่น ไม้ใช้มือหยิบจับ หรือสัมผัสอาหาร, การอุ่นอาหารแช่เย็นเวลานาน ให้มีความร้อนเพียงพอ รวมทั้งการใช้ความร้อนในการพาสเจอร์ไรส์อาหารให้ถูกต้องใช้ระยะเวลา และอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 71.7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รวมทั้งทำการแช่เย็นให้ถูกวิธีโดยการนำอาหารที่ยังไม่รับประทานแช่เย็นที่อุณหภูมิ 3-4 องศาเซลเซียส หรือแช่เยือกแข็ง

นอกจากนั้นได้มีการศึกษาความสามารถในการเจริญของ *Salmonella spp.* และ *Listeria monocytogenes* ในผักสลัด 9 ชนิด ระหว่างการจัดเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7 และ 15 องศาเซลเซียส พบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน *Salmonella spp.* และ *Listeria monocytogenes* จะเจริญเพิ่มจำนวนได้มากกว่าการจัดเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียสในผักสลัดทุกชนิด โดยแนวโน้มการเจริญมากที่สุดของ *L. Monocytogenes* ในผักคอลลาร์ดและ กะหล่ำอาร์กูลา (Arugula) ที่ Log_{10} CFU/g. 3.3, 3.2 ตามลำดับ และ *Salmonella spp.* ในผักกาดหอม และ กะหล่ำอาร์กูลา (Arugula) ที่ Log_{10} CFU/g. 4.1, 3.8 ตามลำดับซึ่งการจัดเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มการเจริญของ *L. monocytogenes* ในผักคอลลาร์ดและ กะหล่ำอาร์กูลา (Arugula) ที่ Log_{10} CFU/g. 2.61, 3.18 ตามลำดับ และ *Salmonella spp.* ในผักกาดหอม และ กะหล่ำอาร์กูลา (Arugula) ที่ Log_{10} CFU/g. 1.91, 2.81 ตามลำดับสรุปว่าการจัดเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ *Salmonella spp.* และ *Listeria monocytogenes* ที่สามารถใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้ดีที่สุด (Anderson และคณะ, 2012)

2.3.2.3 *Bacillus cereus* เป็นแบคทีเรียรูปท่อน ดิคสี่แกรมบวก เคลื่อนที่ได้ สร้างเอนโดสปอร์ บริเวณกลางเซลล์ เซลล์ทำลายได้ด้วยความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์ แต่สปอร์สามารถทนความร้อนสูงระดับใช้ปรุงอาหาร โดยยังคงรอดชีวิตอยู่ได้ เป็นเชื้อชอบออกซิเจนในการเจริญเติบโต แต่สามารถเจริญได้ในที่ไม่มีออกซิเจน เป็นเชื้อที่เจริญที่อุณหภูมิระหว่าง 4-50 องศาเซลเซียส ปัจจัยอื่นๆที่เชื้อต้องการใช้ในการเจริญเติบโต คือ pH 4.9-9.3 มี a_w มากกว่า หรือเท่ากับ 0.93 และเติบโตได้ในที่มีเกลือแคงต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์

มักพบได้ในธรรมชาติทั่วไปทั้งในดิน น้ำ อากาศ สัตว์น้ำ ผักผลไม้ อาหารแห้งและผลิตภัณฑ์พวกธัญพืชทั้งที่เป็นอาหารสด และอาหารแปรรูปแล้ว มักพบสปอร์และเซลล์ *Bacillus cereus* ในดิน และฝุ่นละออง ในอาหารสุก และอาหารดิบ

แบคทีเรีย *Bacillus cereus* สามารถสร้างสารพิษประเภทที่ฤทธิ์ต่อลำไส้ (enterotoxin) ที่ความร้อนทำให้อาหารเป็นพิษเกิดการอาเจียน และชนิดที่ไม่ทนความร้อนทำให้เกิดอาการแบบท้องร่วง สารพิษที่ *Bacillus cereus* สร้างได้มีอย่างน้อย 2 ชนิด โดยจะถูกสร้างออกมาระหว่างการเจริญเติบโต และยังคงอยู่ในเซลล์ เมื่อเซลล์แตกสารพิษจึงถูกปล่อยออกมา

ผู้ป่วยต้องได้รับเชื้อที่ยังมีชีวิตเข้าไปในปริมาณ 10^6 - 10^7 เซลล์ต่อกรัม จึงทำให้เกิดโรคทางเดินอาหาร มีการสร้างสารพิษ 2 ชนิดทำให้เกิดอาการของโรคต่างกัน ได้แก่

2.3.2.3.1 สารพิษชนิดที่ทำให้มีอาการท้องเสีย (diarrheal form) เกิดจากพิษที่โปรตีนที่ไม่ทนความร้อน ผู้ป่วยจะมีอาการท้องเสียเกิดขึ้น ภายหลังจากรับประทานอาหารที่มีเชื้อที่ยังมีชีวิตเข้าไป 6-12 ชั่วโมง อาการอื่นๆ คือปวดท้อง ท้องเสีย คลื่นไส้ แต่ไม่อาเจียน หรือมีไข้ ผู้ป่วยจะหายเองภายใน 24 ชั่วโมง โดยมีอาการคล้ายกับผู้ป่วยที่รับเชื้อ *C. perfringens*

2.3.2.3.2 สารพิษที่ทำให้มีอาการอาเจียน (emetic form) เกิดจากพิษที่เป็นโปรตีนซึ่งทนความร้อนได้ ผู้ป่วยจะอาเจียน ภายหลังจากรับประทานเชื้อที่ยังมีชีวิตเข้าไป 1-5 ชั่วโมง โดยพิษชนิดนี้จะทนความร้อนได้ โดยพิษที่ถูกสร้างภายในเซลล์ และพิษชนิดนี้มักเกิดขึ้นจากการอุ่นอาหารที่มีเชื้อจำนวนมากก่อนนำไปรับประทาน ผู้ป่วยมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องเสีย อาการป่วยของสารพิษชนิดนี้ จะคล้ายกับการป่วยที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus*

การป้องกันการปนเปื้อนของ *B. cereus* นอกจากการควบคุมความสะอาดในกระบวนการผลิต หรือปรุงอาหาร, การควบคุมการกักเลือก และทำความสะอาดวัตถุดิบ, การควบคุมด้านสุขอนามัยผู้ประกอบการอาหาร, การรักษาอาหารในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส, การใช้ความร้อนที่เหมาะสมในการปรุงอาหาร โดยมีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะฆ่าเซลล์ และสปอร์ของ *B. cereus* และการอุ่นอาหารที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส ก็เป็นวิธีในการป้องกันการปนเปื้อนเชื้อดังกล่าวได้

ทั้งนี้ Valero และคณะ (2002) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของ pH และ อุณหภูมิ ในการเจริญของ *B. cereus* ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มาจากผัก ได้แก่ ซุปแตงกวา, ซุปแครอท และ เนื้อแครอทสด ปรากฏพบว่า เมื่อปรับ pH ของอาหารเท่ากับ 5 และ เก็บอาหารดังกล่าวที่อุณหภูมิที่ต่ำกว่า 8 องศาเซลเซียส จะสามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* ชนิด Psychrotropic strain ได้ 60 วันแต่เมื่อนำให้ความร้อนกับซุปแครอทที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7.5 นาที ก็สามารถลดอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่ 12

องศาเซลเซียส โดยมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อเท่าเดิม นอกจากนั้น ^{Gould and} ~~Graham~~ และคณะ(1995) พบว่าที่ อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส สามารถ หยุดการเจริญของสปอร์ *B. cereus* ได้ 6 Log cycle

2.4. มาตรฐานน้ำยา

น้ำยามีส่วนประกอบใกล้เคียงกับ น้ำจิ้ม และน้ำพริก ซึ่งน้ำจิ้มเข้าข่ายขอสาธิตตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 200พ.ศ.2543 ขอสาธิตในภาชนะปิดสนิทกำหนดว่าขอสาธิตความว่าผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นมีลักษณะเหลวข้นหรือแห้งอาจจะเป็นเนื้อเดียวกันหรือไม่ก็ได้และมีความมุ่งหมายใช้เป็นเครื่องปรุงรสได้แก่

1) ขอสาธิตชนิดต่างๆยกเว้นขอสาธิตบางชนิดและผลิตภัณฑ์ปรุงรสที่ได้จากการย่อยโปรตีนของถั่วเหลืองตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องนั้นๆ

2) เค้าเจียวและ

3) น้ำจิ้มชนิดต่างๆ

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ดังกล่าว กำหนดมาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคตามบัญชีหมายเลข 2)แนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่องมาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 200 พ.ศ.2543 ขอสาธิตในภาชนะปิดสนิทได้แก่

1. *Salmonella* spp. ไม่พบใน 25 กรัม

2. *Staphylococcus aureus* ไม่พบใน 0.1 กรัม

3. *Bacillus cereus* ไม่เกิน 1,000 ใน 1 กรัมและ

4. *Clostridium perfringens* ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม

2.5 ปัจจัยของการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร

สมณชาวัฒน์สินธุ์(2545) อธิบายปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ดังนี้ ปัจจัยที่จุลินทรีย์ใช้ในการเจริญเพื่อแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์จำแนกเป็น 2 ประเภท คือปัจจัยภายในที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์โดยตรง (intrinsic factor) และปัจจัยภายนอก (extrinsic factor) ปัจจัยภายในและปัจจัยภายนอกมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และการควบคุม จึงจำเป็นที่จะต้องศึกษาปัจจัยเหล่านี้เพื่อมาใช้ควบคุมจุลินทรีย์ในอาหาร

2.5.1 ปัจจัยภายใน (intrinsic factor)

ปัจจัยภายในเป็นปัจจัยสัมพันธ์ต่อการเจริญของจุลินทรีย์โดยตรง ได้แก่ สารอาหาร ความชื้น ความเป็นกรด-ด่างของอาหาร การถ่ายเทอิเล็กทรอนิกส์ สารยับยั้งการเจริญโตของจุลินทรีย์ และ โครงสร้างของอาหารตามธรรมชาติที่เป็นอุปสรรคต่อการเจริญของจุลินทรีย์

2.5.1.1 สารอาหาร สิ่งมีชีวิตรวมทั้งจุลินทรีย์ต้องการสารอาหารในการเจริญเติบโตและสืบพันธุ์ สารอาหารทำให้เกิดพลังงานที่สิ่งมีชีวิตต้องการในการดำรงชีวิต จุลินทรีย์บางชนิดสามารถสังเคราะห์แหล่งพลังงานจากสารอนินทรีย์ เช่น ก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์ โดยอาศัยกระบวนการสังเคราะห์แสง เช่นเดียวกับพืชที่มีคลอโรฟิลล์ จุลินทรีย์บางชนิดสามารถตรึงก๊าซไนโตรเจนจากอากาศมาใช้สังเคราะห์พลังงาน แต่จุลินทรีย์ส่วนมากต้องอาศัยสารอินทรีย์เป็นแหล่งอาหาร กล่าวโดยทั่วไป จุลินทรีย์ต้องการแหล่งอาหารต่อไปนี้

แหล่งธาตุคาร์บอน: สารประกอบอินทรีย์ในอาหารเช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน มีธาตุ คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน เป็นธาตุหลัก สำหรับคาร์โบไฮเดรตได้ชื่อว่าเป็นแหล่งธาตุคาร์บอนที่สำคัญ นำมาผลิตเป็นพลังงานสำหรับการดำรงชีวิต

แหล่งธาตุไนโตรเจน: ธาตุไนโตรเจนได้จากโปรตีน กรดอะมิโน ยูเรีย และสารประกอบอื่นที่มีไนโตรเจน ไนโตรเจนเป็นธาตุที่จำเป็นสำหรับสังเคราะห์โปรตีน กรดอะมิโน ยูเรีย และสารประกอบอื่นที่มีไนโตรเจน ไนโตรเจนเป็นธาตุจำเป็นสำหรับสังเคราะห์โปรตีนที่มีบทบาทในการถ่ายทอดทางพันธุกรรม

แหล่งวิตามิน: วิตามินเป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโต (growth factor) และทำหน้าที่ช่วยทำงานของเอ็นไซม์ (Coenzyme) ทำให้สิ่งมีชีวิตเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์เป็นไปโดยราบรื่น แบคทีเรียส่วนมากต้องการไบโอติน (biotin) และไรโบฟลาวิน (riboflavin) ในการเจริญเติบโต ในไข่ขาวมีสารอะวิดิน (avidin) ซึ่งมีฤทธิ์ทำลายวิตามินนี้ แบคทีเรียจึงไม่เจริญในไข่ขาว

แหล่งเกลือแร่: เกลือแร่มีผลต่อการรักษาสมดุลของสารละลายภายในและภายนอกเซลล์ ทำให้เซลล์คงรูปอยู่ได้เป็นปกติ เกลือแร่ยังมีผลต่อการถ่ายเทอิเล็กทรอนิกส์ในรูปไอออน เพื่อให้เกิดกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ ดำเนินไปได้ จุลินทรีย์บางชนิดต้องการเกลือแร่บางชนิดในการเจริญเติบโต เช่น แบคทีเรียแลคติกต้องการธาตุแมงกานีส เป็นต้น

แหล่งน้ำ: จุลินทรีย์ต้องการน้ำในการเจริญเติบโต ในอาหารมีน้ำด้วย จุลินทรีย์จึงเจริญได้ น้ำในอาหารแยกเป็น 2 ส่วน คือน้ำที่ถูกล็อคไว้ด้วยพันธะทางเคมีอย่างแน่นหนาภายในโมเลกุลของ

อาหาร เรียกว่า น้ำผูกพัน (bound water) และ น้ำที่เกาะอยู่ในอาหารอย่างหลวมๆ เรียกว่า น้ำอิสระ (free water) น้ำอิสระเป็นน้ำที่จุลินทรีย์นำมาใช้ในการเจริญเติบโต จึงเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า วอเตอร์แอกทิวิตี (water activity) ใช้สัญลักษณ์ว่า a_w อาหารที่มี a_w ต่ำสามารถเก็บรักษาไว้ได้นานกว่าอาหารที่มี a_w สูง เพราะจุลินทรีย์ขาดน้ำที่จะนำมาใช้ในการเจริญเติบโต

2.5.1.2 ความชื้นของอาหาร: การตากแห้งเป็นวิธีถนอมอาหารแบบหนึ่งที่มนุษย์รู้จักดี และใช้กันมานานนับพันปี แม้กระทั่งปัจจุบัน วิธีนี้ยังเป็นที่ยอมรับกันอย่างแพร่หลาย หากแต่ได้มีการปรับปรุง และพัฒนาเป็นเทคโนโลยีที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น อีกทั้งมีความสะดวกกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคเดิมที่ต้องพึ่งธรรมชาติเป็นสำคัญ หลักการถนอมอาหารด้วยการทำแห้ง คือการระเหยน้ำออกไปจากอาหารจนถึงระดับที่มี a_w ต่ำกว่า a_w ที่แบคทีเรียต้องการในการเจริญเติบโต โดยผลิตภัณฑ์อาหารยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

ได้กล่าวแล้วว่า a_w ของอาหาร เป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร a_w ต่ำสุดที่จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน (ดูตารางที่ 2.1) การถนอมอาหารที่อาศัย a_w เป็นปัจจัยควบคุม มีหลักการว่าต้องปรับ a_w ของอาหารให้ต่ำกว่า a_w ซึ่งจุลินทรีย์สำคัญที่เป็นตัวการทำให้อาหารเน่าเสียต้องการสำหรับการเจริญเติบโต จึงสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารออกไปได้ แต่ a_w ของอาหารไม่คงที่เนื่องจากในบรรยากาศมีการเปลี่ยนแปลงสมดุลของความชื้นอยู่ตลอดเวลา ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศ การเก็บรักษาอาหาร ในบรรจุภัณฑ์จะช่วยกันป้องกันการถ่ายเทความชื้น ดังนั้น การถนอมนอกจาก การปรับสูตรอาหารที่ต้องคำนึงถึง a_w ต่ำสุดซึ่งจุลินทรีย์ต้องการควบคุมต้องการในการเจริญเติบโตแล้วยังต้องพิจารณาเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมอีกด้วย

กล่าวโดยทั่วไป แบคทีเรียต้องการ a_w ในการเจริญเติบโตสูงกว่ารา และยีสต์ แม้แต่กลุ่มแบคทีเรียด้วยกันก็ยังคงต้องการ a_w ในการเจริญเติบโตแตกต่างกัน คือแบคทีเรียแกรมลบ ต้องการ a_w สูงกว่าแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียที่ทำให้อาหารเสียส่วนมากจะไม่เจริญถ้า a_w ต่ำกว่า 0.91 ในขณะที่ราซึ่งทำให้อาหารเสียสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีค่า a_w เพียง 0.8 ส่วนแบคทีเรียกลุ่มที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เช่น *S. aureus* มีค่า a_w ต่ำสุดที่ 0.86 ในขณะที่ a_w ต่ำสุดของ *C. botulinum* อยู่ที่ 0.94 แบคทีเรียบางชนิดสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มี a_w ต่ำเป็นพิเศษ เช่นแบคทีเรียพวกที่ชอบเค็ม (halophilic bacteria) เจริญได้ในอาหารที่มี a_w ต่ำเพียง 0.75 ในขณะที่มีรายงานว่า เชื้อราซึ่งชอบเจริญในสภาวะแห้ง (Xerophilic molds) และยีสต์พวกที่แรงดันออสโมซิสสูง (Osmophilic yeast) สามารถเจริญได้ในอาหารที่มี a_w ต่ำเพียง 0.65 และ 0.61 ตามลำดับ (Jay., 1996) ด้วยเหตุนี้จึงมีการใช้เกลือในการถนอมอาหารร่วมกับการทำแห้ง

ตารางที่ 2.1 a_w ต่ำสุดโดยประมาณที่จุลินทรีย์ในอาหารจะสามารถเจริญได้

จุลินทรีย์	a_w	จุลินทรีย์	a_w
กลุ่ม		กลุ่ม	
แบคทีเรียที่ทำให้อาหารเสีย	0.9	Halophilic bacteria	0.75
ยีสต์ที่ทำให้อาหารเสีย	0.88	Xerophilic molds	0.61
ราที่ทำให้อาหารเสีย	0.8	Osmophilic yeast	0.61
จุลินทรีย์แต่ละชนิด		จุลินทรีย์แต่ละชนิด	
<i>Clostridium botulinum</i> , type E	0.97	<i>Candida scottii</i>	0.92
<i>Pseudomonas</i> spp.	0.97	<i>Trichosporon pullulans</i>	0.91
<i>Acinetobacter</i> spp.	0.96	<i>Candida zeylanoides</i>	0.90
<i>Escherichia coli</i>	0.96	<i>Staphylococcus aureus</i>	0.86
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.95	<i>Alternaria citri</i>	0.84
<i>Bacillus subtilis</i>	0.95	<i>Penicillium patulum</i>	0.81
<i>Clostridium botulinum</i> , type A and B	0.94	<i>Aspergillus glaucus a</i>	0.70
<i>Candida utilis</i>	0.94	<i>Aspergillus conicus</i>	0.70
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.94	<i>Aspergillus echinulatus</i>	0.64
<i>Botrytis cinerea</i>	0.93	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	0.62
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0.93	<i>Xeromyces bisporus</i>	0.61
<i>Mucor spinosus</i>	0.93		

ระยะสมบูรณัของราจีนัส *Aspergillus glaucus* พบในจีนัส *Eurotium*

ที่มา: ดัดแปลงจาก Jay (1996)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1.3 ความเป็นกรด-ด่างของอาหาร:ความเป็นกรด-ด่าง (pH) หมายถึงในสภาวะที่เป็นสารละลาย สารที่แตกตัวให้ H^+ เรียกว่า กรด และสารที่แตกตัวให้ OH^- เรียกว่า ด่าง หรือเบส ตามปกติอาหารมี pH เป็นกลาง (ประมาณ 6.6-7.5) จุลินทรีย์มักเจริญได้ดี

$$pH \text{ มีค่า } = -\log [H^+]$$

pH มีค่าระหว่าง 1-14

ที่ $pH > 7.0$ สารละลายจะมีสภาวะเป็นเบส หรือเป็นด่าง

ที่ $pH < 7.0$ สารละลายจะมีสภาวะเป็นกรด

ความเป็นกรด-ด่างของสิ่งแวดล้อมมีผลต่อกิจกรรม และความคงตัวของสารประกอบโมเลกุลใหญ่ เช่น เอ็นไซม์ การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต้องอาศัยกิจกรรมของเอ็นไซม์ในการย่อย และการดูดซึมสารอาหาร เพื่อผลิตพลังงาน หรือกล่าวอีกนัยว่า pH มีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์

ช่วง pH ที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่างๆ สรุปได้ดังนี้

แบคทีเรียเจริญได้ดีในช่วง pH 6.0-8.0

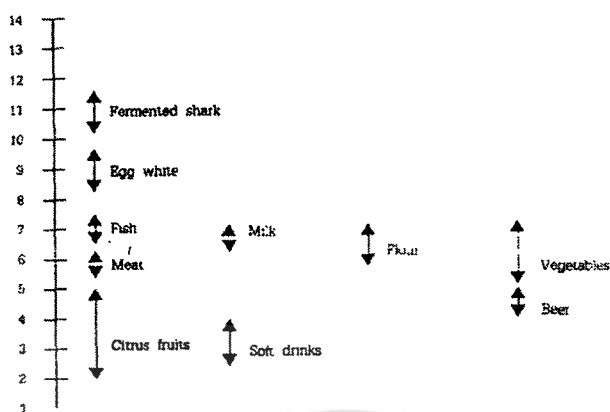
ยีสต์เจริญได้ดีในช่วง pH 4.5-6.0

เชื้อราที่สร้างเส้นใยเจริญได้ดีในช่วง pH 3.5-4.0

ทั้งนี้ยังมีข้อยกเว้นอยู่บ้าง เช่นแบคทีเรียที่ให้กรด (อาทิ แบคทีเรียจำพวกแลคโตแบซิลไล และแบคทีเรียให้กรดน้ำส้ม เจริญได้ดีที่ pH ต่ำกว่าค่าปกติที่แบคทีเรียอื่นๆเจริญ (pH ที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 5.0-6.0)

อาหารส่วนมากมีความเป็นกรดเล็กน้อย เพราะสารที่มี pH เป็นด่างจะมีรสชาติไม่เป็นที่ยอมรับ (ดูตารางที่ 3) ยกเว้นไข่ขาว ที่มี pH (สูงประมาณ 9) เนื่องจากไข่ที่ออกมาจากแม่ไก่แล้ว มีการสูญเสียก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ตารางที่ 2.2 ช่วง pH ที่เหมาะสมสำหรับอาหารบางชนิด



ที่มา : Adam และ Moss (1995)

ความเป็นกรดของอาหารมีความสำคัญต่อชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ และลักษณะของการเน่าเสีย ตัวอย่างเช่น ผลผลิตจากพืช อาทิผัก ตามปกติมี pH เป็นกรดปานกลาง แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคเน่า และคือ *Erwiania carotovora* และ *Shewanella putrefaciens* และทำให้ผักเน่าเสีย ส่วนผลไม้มี pH ต่ำ ช่วยป้องกันการเจริญของแบคทีเรีย การเน่าเสียมักเกิดมาจากยีสต์ และรามมากกว่าแบคทีเรีย

ความเป็นกรดของอาหารก็ขึ้นอยู่กับความสามารถในการแตกตัวให้โปรตรอนให้ (H^+) เมื่อละลายน้ำอาหารที่แตกตัวให้ H^+ มาก จะมี pH สูง อาหารประเภทนี้จุลินทรีย์จะเจริญได้ดีโดยเฉพาะแบคทีเรีย ณ จุดสมดุล การแตกตัวของกรดแต่ละชนิดมีค่าสัมประสิทธิ์แตกตัวคงที่ เช่น กรดอ่อนแตกตัวได้น้อยกว่ากรดแก่ อาทิกรดน้ำส้ม เป็นกรดที่แตกตัวได้น้อย จึงมีบทบาทในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ดี

เนื่องจากเซลล์จุลินทรีย์มีการใช้พลังงานในการทำกิจกรรมต่างๆ เช่น การสังเคราะห์ ATP ซึ่งใช้พลังงานที่สะสมไว้ในเยื่อหุ้มเซลล์ในรูปโปรตรอน ช่วยให้เกิดความต่างศักย์ทางเคมีไฟฟ้า ในการขับเคลื่อนสารอาหารเข้าสู่เซลล์ เมื่อกรดที่ชอบไขมันเป็นสารไม่มีประจุซึ่งไม่แตกตัวหากอยู่ในสิ่งแวดล้อมภายนอกเซลล์ที่มี pH ต่ำกว่าสิ่งแวดล้อมภายในเซลล์ (ภายในเซลล์ปกติมี pH เป็นกลางประมาณ 7.5) ก็สามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปภายในได้โดยอิสระ เนื่องจากเกิดความต่างศักย์ ระหว่างภายนอก และภายในเซลล์ในสภาวะที่มี pH สูง สมดุลสามารถเกิดขึ้น ได้จากการไม่แตกตัวของกรดส่วนกรดที่แตกตัวจะให้โปรตรอนจึงมีแนวโน้มที่จะทำให้อาหารในเซลล์มีสภาพเป็นกรด และทำให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox) ขึ้นภายในเซลล์ เซลล์จะพยายามรักษา สภาวะ pH ที่เป็นกลางไว้โดยขับไล่โปรตรอนออกไปจากเซลล์กลไกกลไกนี้มีผลให้เซลล์เติบโตช้าลง เนื่องจากต้องใช้พลังงานส่วนหนึ่งไล่โปรตรอนออกไปออกยังภายนอกเซลล์มี pH ต่ำมากเท่าใด เซลล์ยิ่งต้องทำงานหนักมากเท่านั้น เพราะถ้าหาก pH

ภายในเซลล์ลดลงถึงจุดหนึ่งการเจริญเติบโตของเซลล์จะหยุดชะงัก และถ้าเซลล์ซ่อมแซมสภาวะให้คืนสภาพเดิมไม่ได้เซลล์จะตาย ด้วยเหตุนี้ pH ต่ำสุดที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จึงขึ้นอยู่กับชนิดของกรดที่แตกตัวได้ หรือกรดที่ใช้ปรับ pH ดังเช่น Chung และ Goepfert (1970) พบว่าเมื่อใช้กรดเกลือ และกรด ซิตริกปรับ pH ของอาหารค่า pH ต่ำสุดที่จุลินทรีย์จะเจริญได้คืออยู่ที่ 4.05 แต่ถ้าใช้กรด น้ำส้มและ โพรไพโอนิกแทนค่า pH ต่ำสุดที่จุลินทรีย์จะเจริญได้คืออยู่ที่ 5.4 และ 5.5 ตามลำดับ เนื่องจาก กรดน้ำส้มและ โพรไพโอนิกแตกตัวได้น้อยกว่า กรดเกลือ และกรดซิตริก เซลล์จึงไม่ต้องทำงานหนักมากในการที่จะรักษาสมดุล pH ภายในเซลล์

ระบบบัฟเฟอร์หรือสภาวะมีเกลือ จะช่วยให้แบคทีเรียเจริญในช่วง pH ที่กว้างมากขึ้น ตัวอย่างเช่น อายุการเก็บรักษาของเนื้อสัตว์ขึ้นกับ pH ของเนื้อสัตว์ เนื้อสัตว์ที่ฆ่าในขณะที่สัตว์อ่อนเพลียจะมีอายุการเก็บรักษาสั้นกว่า เนื่องจาก pH ของสัตว์ลดลงกว่าปกติเปรียบเทียบกับเนื้อสัตว์ที่มีการพักผ่อนก่อนฆ่า ซึ่งมีการสะสมคาร์โบไฮเดรตในรูปไกลโคเจนไว้ (ประมาณ 1%) และจะถูกเปลี่ยนให้เป็นกรดแล็กติก จึงมีผลให้ pH ลดลงจาก 7.4 เป็น 5.6 เมื่อสิ้นสุดอาการหดตัวของกล้ามเนื้อ เรียกว่า (rigor mortis) ความเป็นกรดเป็นผลให้เนื้อเน่าเสียช้าลง นอกจากนี้ในเนื้อสัตว์ยังมีโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ ช่วยรักษาระดับ pH มิให้เปลี่ยนแปลงมากนัก (ต่างจากในพืชที่ขาดโปรตีนและกรดอะมิโนที่จะทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์) การเน่าเสียจะมักเกิดจากยีสต์และรา ก่อน หลังจากยีสต์และราเจริญแล้ว จะยกระดับ pH ของอาหารให้สูงขึ้น เป็นผลให้แบคทีเรียเจริญได้ ด้วยเหตุนี้เนื้อที่มี pH ไม่ต่ำมาก แบคทีเรียจึงเจริญได้ดี การเน่าเสียของเนื้อประเภทนี้จึงเกิดจากแบคทีเรียเป็นสำคัญ

อิทธิพลของ pH กับปัจจัยรวมอื่นๆ pH ยังเกี่ยวข้องกับปัจจัยอื่นๆ ได้อีกได้แก่

- อุณหภูมิ ; เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น pH ของอาหารก็จะมีแนวโน้มที่จะเป็นกรดมากขึ้น
- ความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสม : มีผลทำให้ช่วงของ pH ที่เหมาะสมในการเจริญของจุลินทรีย์มากขึ้น
- pH ที่ไม่เหมาะสม มีผลให้จุลินทรีย์อ่อนแอ : pH ที่ไม่เหมาะสมมีผลทำให้จุลินทรีย์ไม่ทนต่อสารพิษ เซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีอายุน้อยไวต่อการเปลี่ยนแปลง pH มากกว่าเซลล์ที่มีอายุมาก

ถ้าเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในสภาวะที่มี pH ที่ไม่เหมาะสมช่วงแลคเฟสจะยาว และถ้ายังอาหารมีบัฟเฟอร์อยู่แล้วด้วย ช่วงแลคเฟสจะยิ่งยาวมากขึ้น

2.5.1.4 การถ่ายเทอิเล็กตรอนของอาหาร (ผลของอากาศ) การให้และการรับอิเล็กตรอนของสารในอาหารทำให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ ตามปกติโลหะเป็นอิเล็กตรอนที่ดี (electron donor) เรียกว่า

เป็น reducing agent) ปฏิกิริยาที่มีการให้อิเล็กตรอนเรียกว่า ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ส่วนไฮโดรเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนที่ดี (electron acceptor) เรียกว่า oxidizing agent ปฏิกิริยาที่มีการรับอิเล็กตรอน เรียกว่า ปฏิกิริยารีดักชัน (reduction) ปฏิกิริยารีดอกซ์ ประกอบด้วยครึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน และครึ่งปฏิกิริยารีดักชันดังตัวอย่างต่อไปนี้

น้ำในอาหารนับว่ามีความสำคัญมาก เนื่องจากทำให้เกิดระบบสารละลายออสโมติกต่างๆ และเกิดปฏิกิริยาการถ่ายเทอิเล็กตรอน และปฏิกิริยารีดอกซ์ขึ้น ปฏิกิริยานี้วัดออกมาเป็นค่าความศักย์เรียกว่า redox potential (Eh) มีหน่วยเป็นมิลลิโวลต์ (mV) เครื่องวัดความต่างศักย์ประกอบด้วย อิเล็กโทรด (electrode) ที่ส่วนมากทำมาจากแพลทินัม ซึ่งเป็นโลหะเฉื่อย จุ่มลงในสารละลาย ถ้าอิเล็กโทรดรับอิเล็กตรอนจากสารละลายค่า Eh จะแสดงผลบวก กรณีนี้อิเล็กโทรดทำหน้าที่เป็นตัวออกซิไดซ์ (oxidizing agent) ครึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับอิเล็กโทรด จึงทำหน้าที่เป็น ตัวรีดิวซ์ (reducing agent) ครึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในสารละลายเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ถูกออกซิไดซ์)

อะตอมหรือโมเลกุลในอาหารจะทำหน้าที่เป็นผู้ให้และผู้รับอิเล็กตรอนขึ้นอยู่กับความแรงของสภาวะอิเล็กตรอนของสารที่เกี่ยวข้องในระบบสารละลาย เช่นกรณีที่มีโลหะ (ซึ่งมีสภาวะออกซิเดชันสูงกว่าออกซิเจน) อยู่ด้วยโลหะจะทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอน ในขณะที่ออกซิเจนทำหน้าที่เป็นผู้รับแต่ในบางกรณีออกซิเจนจะเป็นผู้ให้อิเล็กตรอน ความต้องการ Eh ของจุลินทรีย์ :แบคทีเรียต้องการสภาวะรีดิวซ์ในการเจริญเติบโต (เช่น Eh ประมาณ -200mV) ได้แก่ แบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ (ครอสทริเคีย) ในขณะที่แบคทีเรียบางชนิดต้องการสภาวะออกซิไดซ์: ได้แก่ แบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (บาซิลลัส) นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียบางชนิดที่เจริญเติบโตได้ในสภาวะรีดิวซ์เล็กน้อย เช่นมีอากาศอยู่ประมาณร้อยละ 5 คือแบคทีเรียในกลุ่มไมโครแอโรฟิลล์ (Microaerophiles) ได้แก่แบคทีเรียกลุ่มแล็กโตบาซิล และแคมฟีโลแบคเตอร์ และยังมีแบคทีเรียบางชนิดที่เจริญได้ทั้งสภาวะรีดิวซ์ และออกซิไดซ์ คือสภาวะที่มีหรือไม่มีอากาศก็สามารถเจริญได้ ได้แก่ แบคทีเรียจำพวกแฟคัลทาทิฟ อะนาโรบัส (facultative anaerobes) สำหรับยีสต์ และรา ส่วนมากชอบสภาวะที่มีอากาศ แต่บางชนิดก็สามารถเจริญได้ทั้งสภาวะมี และไม่มีอากาศ

Eh ของอาหาร :อาหารจากพืชโดยเฉพาะน้ำผลไม้ไม่มีแนวโน้มที่มี Eh เป็นบวก (ระหว่าง 300-400 mV) จึงไม่ต้องสงสัยว่า ปัญหาการเสื่อมคุณภาพจะมาจากแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ และยีสต์รา ส่วนเนื้อก้อนโต มีแนวโน้มค่า Eh เป็นลบ (ค่า Eh ประมาณ 200 mv) การเสื่อมคุณภาพจึงเกิดจากแบคทีเรียพวกครอสทริเคีย สำหรับเนื้อบดมีพื้นที่ผิวสัมผัสกับอากาศมาก จึงมีค่า Eh เป็นบวก การเสื่อมคุณภาพจึงเกิดจากแบคทีเรียที่ต้องการอากาศเป็นสำคัญ อาหารที่เป็นกรดมีแนวโน้มของค่า Eh เป็นบวก

จึงสรุปได้ว่า ค่า Eh ของอาหารขึ้นอยู่กับ pH ของอาหาร ซึ่งเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการให้และการรับอิเล็กตรอน และค่า Eh ของอาหารเป็นเครื่องชี้กลุ่มของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย หรือเสื่อม

คุณภาพ เมื่อเข้าใจกลไกนี้ ก็จะช่วยให้สามารถประยุกต์ความรู้มาใช้ควบคุมจุลินทรีย์ และการชะลอการเน่าเสีย ของอาหาร ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ตัวอย่างค่า Eh และ pH ของอาหารต่างๆ แสดงในตารางที่ 2.3

โดยทั่วไป กรดอะมิโนที่มีหมู่ SH เช่น กรดซีสทีอิน (cysteine) ในเนื้อสัตว์ วิตามินซี และน้ำตาลรีดิวซิงในผักและน้ำผลไม้ทำหน้าที่เป็นผู้ให้อิเล็กตรอน หรือเป็นตัวรีดิวซิงที่ดี (เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน) ซึ่งจะมีผลทำให้ค่า Eh ของอาหารเป็นลบ ส่วน H^+ ที่ได้จากการแตกตัวของกรดในอาหาร มีแนวโน้มที่จะเป็นตัวรับอิเล็กตรอนหรือเป็นตัวออกซิไดซ์ที่ดี จึงมีผลทำให้ค่า Eh ของอาหารเป็นบวก (เกิดปฏิกิริยารีดักชัน) ทั้งนี้ประมาณว่าทุกๆ หน่วยของค่า pH ที่ลดลงจะมีผลทำให้มีค่า Eh เพิ่มขึ้นเท่ากับ 58 mV

ตารางที่ 2.3 ค่า Eh โดยประมาณในอาหารต่างๆ

อาหาร	E(mV)	pH
เนื้อดิบ (Post rigt)	-200	5.7
เนื้อดิบสด	+225	5.9
ไส้กรอกสุก และแฮมกระป๋อง	20 to -150	6.5
ข้าวสาลี (ทั้งเมล็ด)	320 to -360	6.0
ข้าวบาร์เลย์ (เมล็ด)	+225	7.0
หัวมันฝรั่ง	-150	6.0
ผักขม	+74	6.2
แพร์	+436	4.2
องุ่น	+409	3.9
มะนาว	+389	2.2

ที่มา : คัดแปลงจาก Adam และ Moss (1995)

ในขณะที่จุลินทรีย์เจริญเติบโตในอาหาร จุลินทรีย์จะสร้างกรดออกมาในสิ่งแวดล้อม เมื่อนำไปวัดค่า Eh จะมีแนวโน้มในทิศทางที่ลดลง สืบเนื่องจากเหตุผลสองประการ

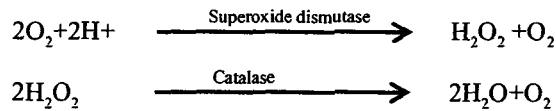
- (1) ออกซิเจนโมเลกุล เพราะเกิดการสลายตัวให้อิเล็กตรอนแก่สารละลาย หรือเป็นรีดิวซ์ที่ดี (มีผลทำให้ Eh ของอาหารเป็นลบ)
 - (2) เกิด H^+ ซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอน หรือตัวออกซิไดซ์ที่ดี (มีผลทำให้ Eh ของอาหารเป็นบวก)
- ตามปกติ ปฏิกริยา (1) ซึ่งเป็นปฏิกริยาที่ให้อิเล็กตรอนแก่อาหาร โดยการสลายตัวของโมเลกุลออกซิเจน มักจะมีบทบาทมากกว่าปฏิกริยา (2) ซึ่งเป็นปฏิกริยาตัวรับอิเล็กตรอน ซึ่งมีผลให้ Eh ของปฏิกริยารวมของอาหารที่มีการเจริญของจุลินทรีย์มีค่าเป็นลบ

กล่าวโดยสรุป ถ้าในอาหาร มีสารที่เป็นตัวออกซิไดซ์ที่ดี (เช่น H^+) จะมีผลทำให้ค่า Eh ของอาหารเป็นบวก ตัวอย่างเช่น อาหารที่เป็นกรด หรือเนื้อมด แต่ถ้าในอาหารมีสารที่เป็นตัวรีดิวซ์ที่ดี (เช่น โลหะ หรือออกซิเจนโมเลกุล) จะมีผลทำให้ค่า Eh ของอาหารเป็นลบ ตัวอย่างเช่นเนื้อสัตว์ทั้งก้อน จุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศ (strictly anaerobe) เช่นพวกคลอสทริเดียม ต้องการสารรีดิวซ์ หรือสารให้อิเล็กตรอน (สภาวะมีค่า E_h เป็นลบ) ในการเจริญเติบโต (E_h ของคลอสทริเดียมประมาณ $-200mV$) ส่วนจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต (strictly aerobe) เช่น พวกแบซิลลัส ต้องการสารออกซิไดซ์ หรือสารรับอิเล็กตรอน (สภาวะ E_h เป็นบวก) นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียที่เจริญในสภาวะที่มีสารรีดิวซ์เล็กน้อย เช่น ต้องการโลหะบางตัว ได้แก่ แบคทีเรียในกลุ่มไมโครแอโรฟิลล์ คือแลคโตบาซิลไล และแคมพิโลแบคเตอร์ ส่วนแบคทีเรียในกลุ่มแฟลคคัลเททีฟ อะนาโรบอสสามารถเจริญได้ ดังนั้น เมื่อพิจารณาค่า Eh ของอาหารจึงคาดได้ว่า การเน่าเสียของอาหารน่าจะมีจุลินทรีย์ประเภทใด (ดูตารางที่ 2.3)

อาหารจากพืช เช่นน้ำผลไม้ (มี E_h ประมาณ $300-400 mV$) การเสียจึงเกิดจากแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ ยีสต์ และรา ส่วนเนื้อสัตว์ที่มีก้อนโต (มีค่า E_h ในก้อนเนื้อประมาณ $-200mV$) การเน่าเสียในก้อนเนื้อเกิดจากเกิดจากแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ แต่บริเวณผิวนอกของก้อนเนื้อและเนื้อมด (มีค่า E_h เป็นบวก) การเน่าเสียจึงเกิดจากแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ

ผลการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงค่า Eh ของอาหาร ในขณะที่จุลินทรีย์ต้องการอากาศเจริญ จะใช้ออกซิเจนโมเลกุลให้หมดไป การสลายตัวของออกซิเจนโมเลกุลต้องการตัวรับออกซิเจน (เช่น ไฮโดรเจน) และจะมีผลให้ค่า Eh ของอาหารลดลง แม้ว่าการลดลงของออกซิเจนโมเลกุลหรือค่า Eh ของอาหารจะเป็นอุปสรรคต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศทำให้การเจริญของจุลินทรีย์ชะลอตัวหรือหยุดเจริญ แต่มีจุลินทรีย์ปรับตัวในอาหารที่สามารถให้ออกซิเจนโมเลกุล หรือให้สารที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับไฮโดรเจน มีผลให้สารที่ทำหน้าที่ออกซิไดซ์อาหารลดลงและสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์เพิ่มขึ้น จึงทำให้ค่า E_h ของอาหารสูงขึ้น หรือไม่ลดลงมากนัก (Moriss, 1962) แต่ในบางกรณี ผลพลอยได้จากการเมตาบอลิซึม ของจุลินทรีย์ เกิดสารเมตาบอลิซึมที่มีผลไปลดค่า Eh ของอาหาร เช่น

ก๊าซไข่เน่า (H_2S) สามารถลดค่า Eh ของอาหารลงได้ถึง -300 mv เนื่องจากก๊าซไข่เน่า (H_2S) สามารถลดค่า Eh ของอาหารลงได้ถึง -300mv เนื่องจากก๊าซไข่เน่าสามารถทำปฏิกิริยาออกซิเจน โมเลกุล เกิดสารที่เป็นพิษต่อเซลล์ คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และซูเปอร์ออกไซด์ (O_2^-) ซึ่งจัดอยู่ในประเภทสารซูเปอร์ออกไซด์ดังนี้



ในธรรมชาติจุลินทรีย์พวกที่ต้องการอากาศจะมีเอนไซม์คะตะเลส (catalase) และซูเปอร์ออกไซด์ไดมิวเตส (superoxide dimutase) เป็นตัวทำลายพิษของสารประเภทซูเปอร์ออกไซด์ แต่ในกรณีของแบคทีเรียพวกแลคโตบาซิลซึ่งสร้างด้วยกระบวนการหมัก (fermentation) แม้ว่าจะไม่มีเอนไซม์ทั้งสองสลายสารซูเปอร์ออกไซด์ที่เป็นพิษต่อเซลล์ แต่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีอากาศเล็กน้อย เนื่องจากมีสารเมฆกานีสที่ไปทำลายสารซูเปอร์ออกไซด์ และสารเมฆกานีสทำหน้าที่เป็นผู้ให้อิเล็กตรอนแทนออกซิเจนโมเลกุลในสภาวะไร้อากาศหรือมีอากาศเพียงเล็กน้อย แลคโตบาซิลจึงเจริญได้ ไม่ถูกทำลายด้วยสารพิษที่เกิดขึ้น

2.5.1.5 สารยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหาร อาหารเป็นผลผลิตจากการเกษตรที่มาจากพืช และสัตว์ ธรรมชาติได้ช่วยให้พืชและสัตว์มีกลไกในการป้องกันตัวเองจากศัตรูที่จะเข้ามาทำลาย นับตั้งแต่โครงสร้างทางกายภาพ สัตว์มีอาวุธและสารที่เป็นพิษไว้ป้องกันศัตรู เช่น มีกรดไขมัน โมเลกุลสั้นไว้ในผิวหนังคอยทำลายจุลินทรีย์

ผิวหนังปลา มีเมือก และมีเกล็ดปลา ซึ่งเป็นโครงสร้างของสารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่แข็งแรง ช่วยป้องกันการทำลายของจุลินทรีย์ ส่วนในสัตว์จำพวกมีเปลือกหุ้ม (crustaceans) เช่น กุ้ง กั้ง และปู มีเปลือกซึ่งเป็นสารไคติน (chitin) ที่แข็งแรงและหุ้มลำตัว ช่วยป้องกันการทำลายของจุลินทรีย์ [สารไคตินเป็นสารเชื่อมโยงประเภทที่ละลายน้ำได้เหมาะสำหรับผู้ต้องการลดน้ำหนัก ซึ่งสามารถบริโภคได้โดยไม่มีอันตราย เนื่องจากผ่านการรับรองจาก USFDA ว่าเป็นอาหารในหมวด GRAS (21CFR Part. 182) แล้ว ในพืชก็เช่นกัน โครงสร้างทางกายภาพของพืชก็มีสารแข็งแรงเช่นลิกนิน (lignin) ช่วยป้องกันโครงสร้างและเนื้อเยื่อที่อยู่ภายในจากการทำลายของโรคและแมลง ตัวอย่างเช่นลิกนินที่รวมตัวกับแอนโทไซยานิน ดิน หรือฟลาโวนอยด์ ทำให้เกิดรสฝาด (astringen) และรสขม (bitterness) สารเหล่านี้มีฤทธิ์อ่อนๆ ในการยับยั้งจุลินทรีย์ อาทิ แอนโทไซยานินแทนนิน (anthocyanidin tannins) ในดอกฮอป องุ่นแดง และใบชา เป็นต้น

สำหรับผลและเมล็ดของพืชที่มีเปลือกหุ้ม จัดเป็นโครงสร้างทางกายภาพของพืชที่ธรรมชาติได้สร้างมาเพื่อป้องกันศัตรู และจุลินทรีย์ เปลือกไม้บางชนิดมีลักษณะแห้งและมีค่า a_w ต่ำ เป็นการช่วย

ป้องกันจุลินทรีย์ ในพืชเครื่องเทศ น้ำมันหอมระเหยที่สะสมอยู่ในเซลล์ของพืช มีสมบัติทำลาย หรือยับยั้งจุลินทรีย์แบบไม่จำกัคชนิด สารประเภทนี้มีกลิ่นหอม และส่วนมากมีโครงสร้างของสารประกอบประเภทเทอร์ปีน(terpenes) และสารประกอบอโรมาติกฟีนอล ตัวอย่างเช่นยูจินอล (eugenol) . ในกานพลู กรดซินนามิกอัลดีไฮด์ (cinnamic aldehyde) ในอบเชย ซิตรัล (citral) และ เยอรมันนิอัล (geraniol) ในตะไคร้ ชิโตรเลลลัล (citronellal) ในมะกรูด ฯลฯ มีสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ (สมุณจาววัฒนสินธุ์,2545)

สารประกอบที่มีกำมะถัน ได้แก่ ไธโอซัลไฟเนต (Thiosulfinate) และกลูโคซิโนเลต (Glucosinolate) มีสมบัติยับยั้ง/ทำลายจุลินทรีย์หลายชนิด โดยพืชนาการ คือ ไธโอซัลไฟเนต ในตระกูลพืช Alliaceae (Allium) ประกอบด้วยกระเทียม หอม และ ลีค (leek) มีสารอัลลิอิน (Alliin) เมื่อทุบกระเทียม เอนไซม์อัลลิอินเนส ในกระเทียมจะทำให้อัลลิอินเปลี่ยนเป็นอัลลิซิน ที่มีประสิทธิภาพผลฆ่า/ยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด

2.5.2 ปัจจัยภายนอก (Extrinsic Factors)

ปัจจัยภายนอก หมายถึงปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมที่มีผลทางอ้อมต่อการเจริญเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ คือ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ในการเก็บรักษาอาหาร และการเก็บรักษาอาหารในสภาวะดัดแปลงบรรยากาศ

2.5.2.1 อุณหภูมิในการเก็บรักษาอาหาร มีความสำคัญต่อการเจริญเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ คือ จุลินทรีย์ต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเพิ่มจำนวน ทำให้แบ่งจุลินทรีย์ได้เป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ชอบอุณหภูมิต่ำ (Psychrophiles) กลุ่มที่เจริญได้ทั้งอุณหภูมิต่ำและอุณหภูมิปานกลาง (Psychrotrophs) กลุ่มที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (Mesophiles) และกลุ่มที่ชอบอุณหภูมิสูง (Thermophiles) ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

กลุ่ม	อุณหภูมิ (°C)		
	ต่ำสุด	เหมาะสม	สูงสุด
Thermophiles	40-45	55-75	60-90
Mesophiles	5-15	30-40	40-47
Psychrophiles	-5-+5	12-15	15-20
Psychotrophs	-5-+5	25-30	30-35

ที่มา : Adams และ Moss (1995)

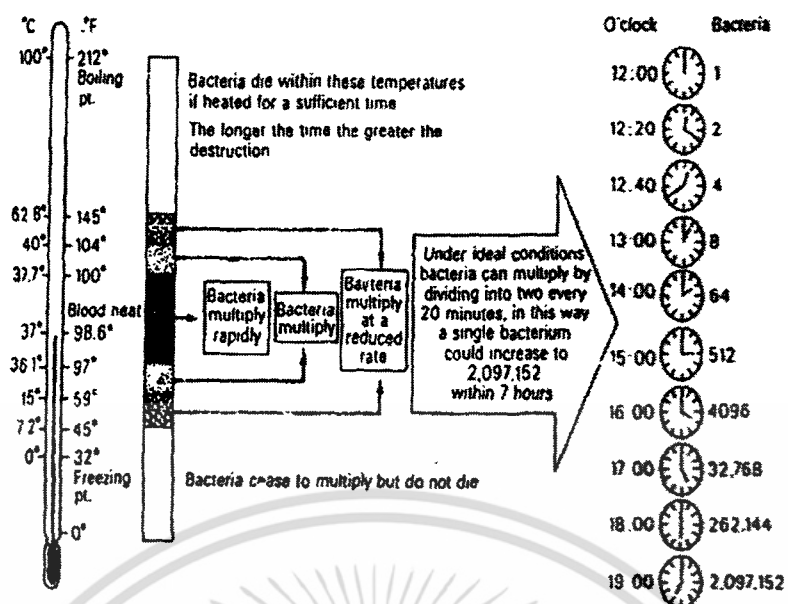
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับบิสต์และราเจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง อุณหภูมิที่ใช้บ่มเพาะเชื้อบิสต์และรา คือ 25 องศาเซลเซียส แบคทีเรียส่วนมากเจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเสีย และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค ดังนั้น จึงไม่ควรเก็บอาหาร ไว้ที่อุณหภูมิช่วงนี้ สำหรับเชื้อแบคทีเรียซึ่งเจริญที่อุณหภูมิต่ำ และแบคทีเรียที่ปรับตัวได้ในสภาวะที่มีอุณหภูมิต่ำนั้น เป็นเพราะเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียเหล่านี้ประกอบด้วยกรดไขมันชนิดโมเลกุลสั้น และ/หรือกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว เนื่องจากกรดไขมันประเภทนี้มีจุดหลอมเหลวต่ำ ดังนั้น ที่อุณหภูมิต่ำไขมันจึงยังคงอยู่ในสภาพที่เป็นของเหลว ทำให้เซลล์ดำเนินกิจกรรมได้ตามปกติ จึงสามารถเพิ่มจำนวนได้

อาศัยความรู้เกี่ยวกับนิสัยการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ทำให้แบ่งอุณหภูมิในการเก็บรักษาอาหารออกเป็นช่วงๆ ดังนี้

- ช่วงระหว่าง 15-45 องศาเซลเซียสเป็นช่วงที่แบคทีเรียเจริญอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเสียและแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค จึงไม่ควรเก็บวัตถุดิบที่เน่าเสียง่ายและอาหารไว้ในช่วงอุณหภูมินี้ เรียกว่าเป็นช่วงอันตราย (Danger Zone)
- ช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 7-15 องศาเซลเซียส และช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 45-63 องศาเซลเซียส เป็นช่วงที่แบคทีเรียเจริญอย่างช้าๆ การเก็บอาหาร ไว้ในช่วงอุณหภูมิดังกล่าวสามารถกระทำได้ภายในเวลาอันจำกัด คือต้องควบคุมระยะเวลาไม่ให้เกิน 2-4 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับชนิดและประเภทของอาหาร
- ช่วงอุณหภูมิต่ำกว่า 7 องศาเซลเซียส และสูงกว่า 63 องศาเซลเซียส เป็นช่วงที่แนะนำให้เก็บรักษาอาหาร (อาหารเย็นและอาหารร้อน)

การระบาดของโรคอาหารเป็นพิษเกิดขึ้นบ่อยครั้ง มักเกิดจากการเก็บรักษาอาหารที่อุณหภูมิไม่เหมาะสม หรือการอุ่นอาหารให้ร้อนกระทำที่อุณหภูมิไม่เหมาะสม แทนที่จะยับยั้งแบคทีเรีย กลับกลายเป็นกระตุ้นให้แบคทีเรียเจริญ ดังตัวอย่างที่ไบอัน (Bryan) ได้รวบรวมไว้ ผู้สนใจเรื่องนี้สามารถศึกษาเพิ่มเติมได้จากเอกสารอ้างอิง (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)



ภาพที่ 2.1 ช่วงของอุณหภูมิที่ควร/ไม่ควรเก็บรักษาอาหาร

2.5.2.2 ความชื้นสัมพัทธ์ในการเก็บรักษาอาหาร (Relative Humidity) ความชื้นในบรรยากาศรอบกวนสมดุลของความชื้นในอาหาร เพราะความชื้นในบรรยากาศมีค่าเป็น 100 เท่าของค่า a_w ($\%RH = a_w \times 100$) ส่วนค่า a_w ในอาหารหาได้จากความดันไอของอาหารตามสูตร

$$a_w = p / p_0$$

เมื่อ p = ความดันไอของสารละลาย (อาหาร)

P_0 = ความดันไอของตัวทำละลาย (น้ำบริสุทธิ์)

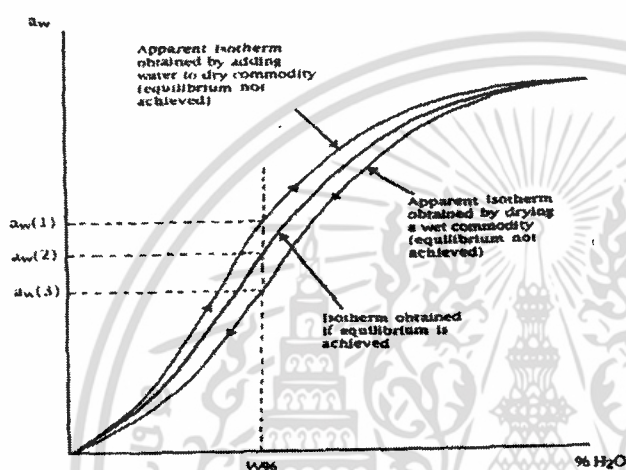
a_w มีความชื้นสัมพัทธ์ (Relative Humidity ; RH) คือ มีค่าเป็น 100 เท่าของความชื้นสัมพัทธ์ หรือเขียนในสมการได้ว่า

$$a_w = \%RH/100$$

$$\text{หรือ } \%RH = a_w \times 100$$

ดังนั้นถ้าเราทราบค่า a_w หรือค่า $\%RH$ ค่าใดค่าหนึ่ง เราก็สามารถทราบอีกค่าหนึ่งโดยการคำนวณ ค่าความชื้นสัมพัทธ์เป็นความชื้นที่จุดสมดุล จึงควรเรียกว่า Equilibrium Relative Humidity (ERH) ความสัมพันธ์ระหว่าง a_w กับความชื้นในอาหาร (moisture content) สามารถแสดงได้ด้วยเส้น วอเตอร์ซอร์พชัน ไอโซเทอร์ม (Water Sorption Isotherm) ณ จุดสมดุลที่ % ความชื้นระดับหนึ่ง a_w มีค่าเท่ากับ a_w (2) (ดูภาพที่ 2.2) ถ้านำอาหารนี้ไปอบเพื่อไล่ความชื้นออกไป ค่า a_w ที่ % ความชื้นระดับเดียวกัน (ซึ่งมิใช่

จุดสมดุลที่เกิดขึ้นเองตามสภาวะธรรมชาติในบรรยากาศ) จะเปลี่ยนแปลงไปอยู่ที่ a_w (3) ในทางตรงกันข้าม ถ้าเติมน้ำในอาหาร ค่า a_w ที่ % ความชื้นเดียวกัน (ซึ่งมีให้อยู่ในสภาวะสมดุลที่เกิดขึ้นเองเช่นกัน) ก็ จะเปลี่ยนไปอีกอยู่ที่ a_w (1) การที่ระบบอยู่ในสภาวะกคตันที่เป็นผลจากการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจุด สมดุลขึ้นใหม่ เช่นนี้ เรียกว่า ฮิสเทอริซิส (hysteresis) ซึ่งจะมีผลทำให้ค่า a_w ของอาหารเปลี่ยนแปลง (ดู ภาพที่ 2.2 ประกอบ) หลักการนี้นับว่ามีประโยชน์ในการประยุกต์มาใช้พัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเติม สารที่มีสมบัติดูดความชื้นไว้ (humectants) เป็นผลให้ค่า a_w ของผลิตภัณฑ์อาหารลดลง เช่น เกลือ น้ำตาล กลีเซอรอล กัม เป็นต้น เป็นการปรับค่า a_w ของอาหารให้ต่ำกว่าค่า a_w ค่าที่สุดที่แบคทีเรียต้องการในการ เจริญเติบโต



ภาพที่ 2.2 เส้น Sorption Isotherm ของอาหาร

2.5.2.3 การเก็บอาหาร โดยการตัดแปลงบรรยากาศ (Modifier Atmosphere หรือ MA-Storage) ปัจจัยภายในเกี่ยวกับการถ่ายเทอิเล็กตรอนของอาหาร มีผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ต้องการและไม่ต้องการอากาศ ในอากาศมี O_2 อยู่ประมาณร้อยละ 21 ออกซิเจนโมเลกุลเมื่อสลายตัวทำให้เกิดความต่างศักย์ หรือมีการให้-รับอิเล็กตรอนเกิดขึ้น มีผลให้สารอาหารและเอนไซม์สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ และทำให้จุลินทรีย์เจริญเพิ่มจำนวนขึ้น จึงมีความพยายามที่จะจำกัดออกซิเจนในการเก็บรักษาอาหาร โดยการดูดออกซิเจนออกไป และความคุมสภาวะสุญญากาศโดยใช้บรรจุภัณฑ์ที่จำกัดการซึมผ่านของออกซิเจน (vacuum packaging) หรือเติมก๊าซอื่นแทน เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และ/หรือก๊าซไนโตรเจน (N_2) เรียกว่าการเก็บรักษาแบบควบคุมบรรยากาศ (Controlled Atmosphere หรือ CA-Storage) ตัวอย่างที่เห็นชัด ได้แก่ การใช้ CO_2 บรรจุในเครื่องดื่มน้ำผลไม้ น้ำอัดลม เบียร์ และน้ำโซดา เป็นต้น CO_2 มีผลยับยั้งจุลินทรีย์ โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมลบและรา ผลของ CO_2 ในการยับยั้งจุลินทรีย์เป็นปฏิภาคกลับกับอุณหภูมิ กล่าวคือ อุณหภูมิยิ่งต่ำ ความเข้มข้นของก๊าซ CO_2 จะยิ่งสูงขึ้น และ

pH ก็มีทิศทางที่จะลดลง เนื่องจาก CO_2 เป็นก๊าซ ถ้ามีอุณหภูมิสูง CO_2 จะระเหยเป็นก๊าซ CO_2 ถ้ามีอุณหภูมิสูง CO_2 จะระเหยเป็นก๊าซ CO_2 ละลายน้ำได้กรดคาร์บอนิก ดังนั้น จึงทำให้ pH ของอาหารที่เก็บรักษาในบรรยากาศของ CO_2 มีค่าต่ำลง ซึ่ง pH จะไปเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้ง/ทำลายจุลินทรีย์ด้วย นอกจากนี้มีการใช้ก๊าซไนโตรเจนและก๊าซผสมระหว่าง CO_2 กับ N_2 หรือบางทีก็มี O_2 ด้วยเล็กน้อยเป็นการควบคุมบรรยากาศเพื่อการเก็บรักษาผักและผลไม้ เป็นต้น

เหตุที่ CO_2 ยับยั้งการเน่าเสียของผลไม้ อันเนื่องมาจากเชื้อรา นั้นเข้าใจว่า น่าจะเป็นเพราะ CO_2 แข่งขันกับก๊าซเอทธิลีน ซึ่งเกิดขึ้น ในขณะผลไม้สุก CO_2 อาจกดคั้นมิให้ก๊าซเอทธิลีนทำให้ผลไม้สุกช้า เชื้อราจึงไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ส่วนไนโตรเจนเป็นก๊าซเฉื่อย ไม่มีผลต่อจุลินทรีย์

มีการทดลองใช้ก๊าซโอโซนที่ระดับพีพีเอ็มค่อนข้างสูงในการเก็บรักษาอาหารบางชนิด เนื่องจากก๊าซนี้เป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรงมาก จึงไม่เป็นผลดีกับอาหารที่มีไขมันสูง เพราะจะทำให้เกิดกลิ่นหืนขึ้น แต่สรุปได้ว่าทั้ง CO_2 และ O_3 มีผลลดการเน่าเสียบริเวณผิวของเนื้อสัตว์ที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลานาน

ผลของอากาศกับ CO_2 การใช้บรรยากาศของ CO_2 เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อสัตว์ได้รับความสนใจมาก นับตั้งแต่ปี ค.ศ. 1980 เป็นต้นมา ได้มีการทดลองใช้ก๊าซผสมที่ประกอบด้วย 10% CO_2 , 5% O_2 และ 85% N_2 ในการเก็บรักษาชิ้นเนื้อสัตว์ ปรากฏว่าเนื้อสัตว์มีคุณภาพทางจุลินทรีย์ดีกว่าเก็บรักษาในสถานะสูญญากาศ (Ahmad และ Marchello, 1989) สำหรับผลเปรียบเทียบระหว่างการใช้ก๊าซ CO_2 กับ การบรรจุแบบสูญญากาศนั้น ปรากฏว่าคุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุด้วย CO_2 100% ดีกว่าที่บรรจุแบบสูญญากาศ (Blickstad และคณะ, 1981) แต่การใช้ CO_2 100% เพียงอย่างเดียว โดยไม่ผสมก๊าซอื่นในการเก็บรักษาเนื้อสัตว์อาจไม่เหมาะสม เนื่องจากขาดออกซิเจนที่ทำให้เกิดสารไมโอกลอบิน (myoglobin) ที่จะทำให้เนื้อมีสีแดงเล็กน้อย ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้ก๊าซ CO_2 ผสมกับ O_2 โดยใช้ปริมาณ CO_2 ไม่เกินร้อยละ 20 (Jay, 1996) ในการนำวิธีนี้มาประยุกต์ใช้เก็บรักษาอาหารควรทำการทดลองกับผลิตภัณฑ์อาหารแต่ละชนิดก่อน เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ได้ตามที่ต้องการ

2.6 เทคโนโลยีเซอร์เคิล

การควบคุมจุลินทรีย์ที่สำคัญอีกวิธีหนึ่งคือการประยุกต์เทคโนโลยีเซอร์เคิล (Leistner และ Gorris, 1995) ได้แนะนำวิธีร่วม (combined method) ในการควบคุมจุลินทรีย์ โดยอาศัยปัจจัยที่เรียกว่า เซอร์เคิล (hurdles) หมายถึงการจัดหาอุปสรรค (barriers) ที่เป็นข้อจำกัดในการเจริญ และการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ ช่วยให้สามารถหลีกเลี่ยงการใช้วิธีการที่รุนแรงในการถนอมอาหาร อันมีผลทำลายกลิ่นรส ความสด และคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งผู้บริโภคไม่ยอมรับ แนวคิดนี้นำไปสู่เทคนิคการแปรรูปน้อย (Minimally processing technology) ที่นำมาใช้กับถนอมอาหาร

รวราวุฒิ ครุสง (2551) อธิบายเทคโนโลยีเซอร์เคลไว้ดังนี้ เทคโนโลยีเซอร์เคลนี้จะเป็นการสร้างอุปสรรคให้กับจุลินทรีย์จนไม่สามารถเจริญในผลิตภัณฑ์อาหารได้ โดยอาศัยปัจจัยต่างๆที่อยู่ในระหว่างขั้นตอนการแปรรูปอาหาร ปัจจัยที่กล่าวถึงนี้จะเปรียบเสมือนกับรั้วที่มีความสูงแตกต่างกันซึ่งจะส่งผลกระทบต่อ หรือเป็นอุปสรรคโดยตรงต่อการเจริญของจุลินทรีย์ได้ทั้งนี้จุลินทรีย์จะต้องพยายามข้ามรั้วหรือปัจจัยที่เป็นอุปสรรคเหล่านั้นได้จะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์อาหารนั้นปลอดภัยและมีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น การพิจารณาถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องในเทคโนโลยีเซอร์เคลนี้จำเป็นต้องพิจารณาในตลอดกระบวนการผลิต ตั้งแต่วัตถุดิบ ขั้นตอนการแปรรูปจนถึงสภาพการเก็บรักษา

เซอร์เคลเป็นปัจจัยอุปสรรคต่อการเจริญของจุลินทรีย์สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภท ได้ดังนี้

2.6.1 เซอร์เคลทางกายภาพ (Physical hurdles)

ประกอบด้วย การให้ความร้อน การใช้รังสีในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ การควบคุมอุณหภูมิต่ำ (ในการเก็บรักษาวัตถุดิบ หรือผลิตภัณฑ์ การผลิต และการเก็บรักษา) การใช้คลื่นพลังงาน (เช่น ไมโครเวฟ) การใช้ ภาชนะบรรจุในการควบคุมจุลินทรีย์ (การเก็บในสภาพสุญญากาศ การควบคุมบรรยากาศ หรือการดัดแปลงบรรยากาศ) การบรรจุแบบปลอดเชื้อ (aseptic packaging) เป็นต้น

2.6.2 เซอร์เคลทางเคมีฟิสิกส์ (Physicochemical hurdles)

ประกอบด้วย การควบคุมปริมาณความชื้นต่ำสุดที่จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ (a_w activity, a_w) การควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) การควบคุมศักย์รีดออกซ์ในอาหาร (Redox potential: Eh) การใช้น้ำตาล หรือเกลือในการควบคุมแรงดันออสโมติกเพื่อปรับค่า a_w ในผลิตภัณฑ์ การใช้กรดอินทรีย์ ผสมเช่น แลคติก น้ำส้มสายชู หรือกรดอะซิติก) การใช้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยามอลลาร์ด การใช้ก๊าซออกซิเจนกับการใช้สารเคมี การใช้เครื่องเทศ และสมุนไพร เป็นต้น

2.6.3 เซอร์เคลทางชีวภาพ (Microbiologically derived hurdles)

ประกอบด้วย การใช้จุลินทรีย์เติบโตแข่งขันกันซึ่งเกิดขึ้นในกระบวนการหมัก (Fermentation) อาศัยจุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติ (normal flora) แต่มีความสามารถในการแข่งขันสูงกว่าจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหาร หรือจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหาร เช่น ในกรณีผลิตภัณฑ์หมักซึ่งพบว่าแบคทีเรียแลคติก (lactic acid bacteria) สามารถเจริญรวดเร็วในสภาพการผลิต

ที่ควบคุมให้มีอากาศเพียงเล็กน้อยทำให้เกิดกรดแลคติก รวมถึงสารอินทรีย์ เช่น แบคทีริโอซิน (bacteriocins) ซึ่งช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียอาหารรวมทั้งกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารเช่น แบคทีเรีย *Sal. Enteritidis* (วรารุณี และคณะ, 2543)

นอกจากนี้ยังมีการใช้สารอินทรีย์ที่ผลิตจากสารอินทรีย์ เช่นแบคทีริโอซิน สารต้านการเจริญของเชื้อรา (antimycotic) สารปฏิชีวนะ (antibiotic) เป็นต้น

2.6.4 เฮอรัลด์รวม (Miscellaneous hurdles)

เป็นการใช้เฮอรัลด์หลายชนิดร่วมกัน เช่น การใช้สารฆ่าเชื้อ ร่วมกับการตัดแปลงบรรยากาศ การใช้ไคโตซานทำเป็นฟิล์มเคลือบอาหาร การบรรจุอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยควาร์อนในสภาพปลอดเชื้อ ผลิตภัณฑ์อาหารเป็นสำคัญ ทั้งนี้จำเป็นต้องพิจารณาปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์แต่ละขั้นตอน โดยอาศัยความรู้เกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ จากนั้นจึงพิจารณาโดยภาพรวมถึงผลกระทบร่วมของปัจจัยเหล่านั้นที่เป็นอุปสรรคต่อการเจริญของจุลินทรีย์ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

2.7.การพลาสเจอร์ไรส์

การพลาสเจอร์ไรส์ เป็นกระบวนการให้ความร้อนที่ไม่รุนแรงนักที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส เพื่อยืดอายุของผลิตภัณฑ์อาหารให้นานหลายวัน เช่น นม หรือนานหลายเดือน เช่น น้ำผลไม้บรรจุขวด วิธีนี้สามารถใช้ถนอมอาหารได้โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความทนต่อความร้อนต่ำ เช่นแบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์ ยีสต์และรา และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านประสาทสัมผัส และคุณค่าอาหารน้อยที่สุด การพลาสเจอร์ไรส์ เป็นการฆ่าจุลินทรีย์ส่วนใหญ่แต่ไม่ใช่ทั้งหมดในอาหาร ดังนั้นอาหารที่ผ่านการพลาสเจอร์ไรส์แล้วต้องเข้าสู่กระบวนการต่อไป หรือต้องเก็บรักษาในสภาวะยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ เช่น การเก็บนมพลาสเจอร์ไรส์ หรือน้ำผลไม้พลาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 4 -10 องศาเซลเซียส ความรุนแรงของการให้ความร้อนกับผลการยืดอายุผลิตภัณฑ์กำหนดโดย pH ของอาหาร วัตถุประสงค์หลักในการพลาสเจอร์ไรส์อาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ ($\text{pH} > 4.5$) คือการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ให้เกิดก่อโรค ส่วนวัตถุประสงค์หลักในการพลาสเจอร์ไรส์อาหารที่มีความเป็นกรดสูง ($\text{pH} < 4.5$) คือการทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (ตารางที่ 2.5)

การถนอมอาหารแบบอื่นที่ใช้ควบคู่กับการพลาสเจอร์ไรส์ ได้แก่ การใช้ความเย็นตามที่กล่าวไป แล้วการใช้สารเคมีเพื่อให้เกิดสภาวะไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น เปลี่ยนแล็คโตส

ไปเป็นกรดแลคติก หรือการบรรจุหีบห่อ เช่น การรักษาสภาพไว้อากาศในขวดเบียร์ จะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหารนานขึ้น

การบรรจุอาหารเหล่านี้ไม่ว่าจะเป็นอาหารที่มีความเป็นกรดตามธรรมชาติ เช่น น้ำผลไม้ หรืออาหารที่มีการเติมสารหรือทำให้ pH ลดต่ำลง เช่น ผลไม้หมักดอง มีชั้นคอนคล้ำกับการบรรจุกระป๋อง การพลาสเจอร์ไรซ์เป็นการบ่งบอกถึงการให้ความร้อนที่ไม่รุนแรงนัก

ทฤษฎี

ความร้อนสัมผัสที่ใช้ทำอุณหภูมิของของเหลวเพิ่มขึ้นระหว่างการพลาสเจอร์ไรซ์แสดงได้โดย

$$Q = mc (\theta_A - \theta_B)$$

ขณะที่ Q (W) เป็นอัตราการถ่ายเทความร้อน m (kg/s) เป็นอัตราการไหลของมวล c (J/kg °C) เป็นค่าความจุความร้อนจำเพาะ และ $\theta_A \rightarrow \theta_B$ เป็นค่าการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิเวลา และอุณหภูมิในการพลาสเจอร์ไรซ์อาหารขึ้นอยู่ 1) ความต้านทานความร้อนของเซลล์จุลินทรีย์ หรือเชื้อโรคที่ต้องการทำลาย และ 2) ความไวต่อความร้อนของผลิตภัณฑ์

ค่า D ของเอนไซม์และจุลินทรีย์ซึ่งมีความทนทานต่อความร้อนที่สุดที่อาจอยู่ในอาหารนั้นๆ จะเป็นตัวบ่งชี้ถึงระดับของการให้ความร้อนเพื่อให้อาหารมีความคงตัว เช่นการพลาสเจอร์ไรซ์นมขึ้นอยู่กัค่า D_{90} และ จำนวนจุลินทรีย์ *Coxiella burnettii* (สาเหตุของ Q fever) ที่เหลือรอดหลังจากผ่านกระบวนการ 12D หรือมีการให้ความร้อนไข่เหลวจนกว่าจะเหลือจุลินทรีย์ *Salmonella seftenberg* เท่ากับ 9D สำหรับผลไม้ที่มีความเป็นกรดสูง เช่น เชอร์รี่ กระบวนการพลาสเจอร์ไรซ์จะทำลายยีสต์และรา ส่วนเครื่องดื่มที่ได้จากการหมัก เช่น ไวน์และเบียร์ การพลาสเจอร์ไรซ์ทำเพื่อทำลายยีสต์แปลกปลอมหรือยีสต์ป่า (wild yeast) ดังแสดงในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 วัตถุประสงค์ของการพลาสเจอร์ไรซ์อาหารชนิดต่างๆ

อาหาร	วัตถุประสงค์หลัก	วัตถุประสงค์รอง	สถานะการให้ความร้อน
pH<5	ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์	ทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิด	65°C 30 นาที
น้ำผลไม้	เช่น pectin-esterase และ Polygalacturonase	การเน่าเสีย เช่น ยีสต์, รา	77°C 1 นาทีหรือ 88°C 15 วินาที
เบียร์	ทำลายจุลินทรีย์ก่อให้เกิดการเน่าเสีย เช่น ยีสต์ป่า <i>Lactobacillus species</i> และยีสต์ที่หลงเหลืออยู่ เช่น <i>Saccharomyces species</i>	-----	65-68°C 20 นาที (บรรจุขวด) 72-75°C 1-4 นาทีที่ 900-1,000 กิโลปาสกาล
pH>5	ทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เช่น <i>Brucella abortis</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Coxiella burnetti</i> ^b	ทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย และ ทำลายเอนไซม์	63°C 30 นาทีหรือ 71.5°C 15 วินาที
ไข่	ทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เช่น <i>Salmonella seftenburge</i>	ทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย	64.4°C : 2.5 นาที หรือ 71.5°C 3.5 นาที
ไอศกรีม	ทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค การเน่าเสีย	ทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิด	65°C 30 นาทีหรือ 71°C 10 นาที หรือ 80°C 15 วินาที

a. ตามด้วยการทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 3-7°C อย่างรวดเร็ว

b. เป็นเชื้อ *Rickettsia* ที่ทำให้เกิดโรค Q fever

คัดแปลงจาก Fricker (1984), Wiggins และ Barclay (1984), Lund (1975) และ Hammid-Samimi และ Swartzel (1984)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

- 3.1.1 วัตถุดิบพื้นฐานที่ใช้ทำน้ำยาได้แก่ พริกขี้หนู กระเทียม และรากผักชีจากตลาดสดใน กรุงเทพมหานคร ทั้งหมด 10 แห่ง โดยเก็บพริกขี้หนู 15 ตัวอย่าง จากตลาดสด 5 แห่ง กระเทียม 15 ตัวอย่าง จากตลาดสด 5 แห่ง และ รากผักชี 30 ตัวอย่าง จากตลาดสด 10 แห่ง
- 3.1.2 วัตถุดิบในการปรุงน้ำยา
- 3.1.2.1 น้ำปลาตราทิพรส บริษัท ไพโรจน์ (ทั้งช่วงชะ) จำกัด
- 3.1.2.2 น้ำตาล ตรามิตรผล บริษัท รวมเกษตรอุตสาหกรรม จำกัด
- 3.1.2.3 มะนาว ตลาดสดในเขตกรุงเทพมหานคร

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.2.1 ตู้เขี่ยเชื้อ(Larminar flow) Dwyer, Mark II USA
- 3.2.2 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) Heraeus, B 6420 Germany
- 3.2.3 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) Heraeus, UT 6420 Germany
- 3.2.4 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) Tomy, S-315 Japan
- 3.2.5 เครื่องตีผสมตัวอย่าง (Stomacher) TUL, Nr 1150/470 Spain
- 3.2.6 เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง (Vortex Mixer) Vortex genie 2 USA
- 3.2.7 เครื่องชั่งไฟฟ้า พิกัด ชั่ง (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) Mettler Toledo Switzerland
- 3.2.8 เตอบนไมโครเวฟ Hitachi, MR-30A Japan
- 3.2.9 อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ (Waterbath) Memert Switzerland
- pH level 1
- 3.2.10 เครื่อง pH meter Inolab WTW Germany
- 3.2.11 เครื่องบด (Blender) duomo, BL 221 China
- 3.2.12 ทัพพี
- 3.2.13 ขามอ่างสำหรับผสมน้ำยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.14 เครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์อื่นๆ ที่จำเป็น เพื่อใช้ในการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

3.3 สารเคมี

3.3.1	เปปโตเน(Peptone)	Merck	USA
3.3.2	นีโอมัยซินซัลเฟต (Neomycin sulphate)	Merck	USA
3.3.3	โพแทสเซียมเทลลูไรด์ (Potassium tellulite)	Merck	USA
3.3.4	โซเดียมคลอไรด์ (Sodiun chloride)	Merck	USA
3.3.5	แอลกอฮอล์ 95%		

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อและส่วนประกอบที่ใช้ในการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

3.4.1	Trypticase soy broth (TSB)	Difco	USA
3.4.2	Salmosyst selective tablet (SST)	Merck	USA
3.4.3	Xylose lysine dextrose (XLD)	Difco	USA
3.4.4	Desoxycholate hydrogensulfide lactose agar (DHL)	Merck	USA
3.4.5	Triple sugar iron (TSI) agar slant	Difco	USA
3.4.6	Lysine indole motility (LIM) medium	Difco	USA
3.4.7	Trypticase soy agar (TSA)	Merck	USA
3.4.8	Antisera O group B, C, D, E	S.A.P. Reagent Lab	Thailand
3.4.9	Agglutinating antiserum (polyvalent) A-67, A-I	S.A.P. Reagent Lab	Thailand
3.4.10	KOVAC	Merck	USA
3.4.11	Brain Heart Infusion	Difco	USA
3.4.12	Rabbit plasma with EDTA	Merck	USA
3.4.13	Baird-Parker Agar	Difco	USA
3.4.14	Mannitol-egg york –polymyxin agar (MYP)	Difco	USA
3.4.15	Tryptic Soy Agar with 5% Sheep Blood Agar (รับรองโดย ISO 17025 และ ISO 15189)	Hients	Thailand

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

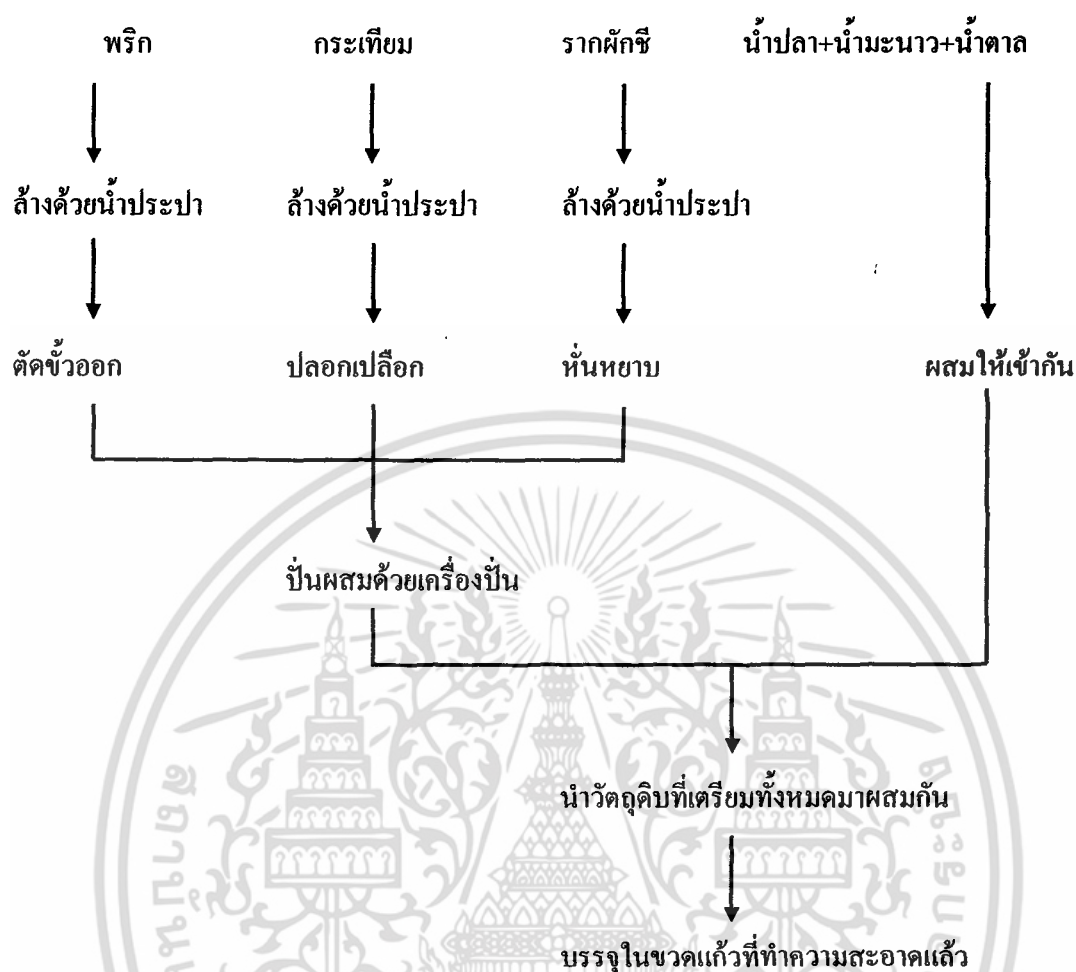
3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การทดลองศึกษาชนิด และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในส่วนผสมของน้ำยำ

น้ำอําค้ประกอบของน้ำยำ ได้แก่ พริกขี้หนูสีแฉง รากผักชี กระเทียมมาวิเคราะห์ หากจุลินทรีย์ก่อโรคได้แก่ *Salmonella* spp., *B. cereus* และ *Staph. aureus*.ตามภาคผนวก ก (ข้อ 2-4) จากนั้นเก็บจุลินทรีย์ก่อโรคที่วิเคราะห์ได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy agar (TSA) เอียงในหลอดทดลอง (slant) บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ศึกษา

3.5.2 ขั้นตอนการผสมน้ำยำ

ขั้นตอนการผสมน้ำยำ ทำการผสมตามสภาวะการผสมจริงในร้านอาหาร เริ่มต้นโดยการนำวัตถุดิบพื้นฐาน ได้แก่ พริก กระเทียม และรากผักชี มาล้างด้วยน้ำประปาโดยให้น้ำไหลผ่าน นำสิ่งสกปรก และดินออก ทำการเตรียมวัตถุดิบดังกล่าว โดยตัดขั้วพริกออก ปอกเปลือกกระเทียม และ นำรากผักชีหั่นมาหยาบ นำส่วนประกอบหลักทั้งสามชนิดมาทำการปั่นด้วยเครื่องบด (Blender) จากนั้นนำวัตถุดิบปรุงน้ำยำ ได้แก่ น้ำปลา น้ำตาล และมะนาวมาผสมกันให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน แล้วนำพริกกระเทียม และรากผักชีที่ปั่นผสม ผสมกับ น้ำมะนาว น้ำปลา และน้ำตาลที่ผสมเป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน แล้วนำมาบรรจุในขวดแก้วที่ทำกรล้างทำความสะอาดแล้ว แล้วนำมาจัดเก็บที่อุณหภูมิห้อง 30 ± 2 องศาเซลเซียส



3.5.3 การทดลองการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและจุดชีววิทยาล้างการผสมน้ำย่ำและระหว่างเก็บรักษาน้ำย่ำในขวดแก้ว

ศึกษาเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและจุดชีววิทยาล้างการผสมน้ำย่ำ และหลังการเก็บรักษา โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 ± 2 องศาเซลเซียส และ 30 ± 2 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง) โดยมีการสุ่มตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสุ่มตัวอย่างที่ 7 วันและ 14 วัน

3.5.3.1 การเปลี่ยนแปลงทางด้านกายภาพ

การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช และกายภาพสี กลิ่น รสในขวดแก้ว โดยจะทำการตรวจสอบที่ 7 วัน และ 14 วัน

3.5.3.2 การเปลี่ยนแปลงทางด้านจุดชีววิทยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการตรวจสอบปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีในน้ำยา โดยตรวจสอบหลังจากผสมน้ำยา และทำการเก็บรักษา 7 วัน และ 14 วัน ได้แก่ Total plate count, *Salmonella* spp. *B. cereus* และ *Staph. aureus* คึงวิธีการดังข้อ 1-4 ในภาคผนวก ก

3.5.4 การทดลองผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและจุลชีววิทยา

3.5.4.1 คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีแนวโน้มการปนเปื้อนในวัตถุดิบมากที่สุด จากข้อ 3.5.3 ทำการทดสอบประสิทธิภาพการทำลายเมื่อผ่านความร้อนและ มาทำการเตรียมเซลล์ที่เรียงตามข้อ 1.1-1.3 ในภาคผนวก ข

3.5.4.2 จากนั้นนำตัวอย่างส่วนผสม ได้แก่ พริกชี้หนูสีแดง รากผักชี กระเทียมที่คัดเลือกว่ามีความเสี่ยงในการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีแนวโน้มการปนเปื้อนมากที่สุด แหในสารละลายที่มีความเข้มข้นของจุลินทรีย์ประมาณ 7 log CFU/ml ที่เตรียมจากข้อ 3.5.4.1 สำหรับการทดสอบปริมาณตั้งต้นระดับสูง (6 log CFU/ml) แล้วจึงนำส่วนผสมที่แห้งสารละลายเชื้อมาผสมเป็นน้ำยา แล้วนำมาผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่ 77 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที โดยนำขวดแก้วที่ใส่น้ำยาประมาณ 100 ml มาให้ความร้อนในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่ปรับอุณหภูมิน้ำที่ใช้เป็นตัวกลางประมาณ 77 ± 2 องศาเซลเซียส

3.5.4.3 นำไปทดสอบทางจุลชีววิทยาต่อไป ตามวิธีการตรวจในข้อ 1-4 ในภาคผนวก ก

บทที่ 4

ผลการทดลอง และวิจารณ์

4.1 ผลวิเคราะห์จุลินทรีย์ ของวัตถุดิบส่วนผสมน้ำยา

จากการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ก่อโรคที่อาจปนเปื้อน ได้แก่ *Staph. aureus*, *Salmonella* spp. และ *B. cereus* ในวัตถุดิบน้ำยา 3 ชนิด ได้แก่ พริกชี้หนู กระเทียม และรากผักชี โดยสุ่มตัวอย่าง พริกชี้หนู 15 ตัวอย่าง กระเทียม 15 ตัวอย่าง และรากผักชี 30 ตัวอย่าง ที่จำหน่ายตามตลาดสดในเขตกรุงเทพมหานคร พบจุลินทรีย์ก่อโรคในรากผักชีมากที่สุด โดย พบการปนเปื้อนจาก *B. cereus* 10 ตัวอย่าง ในปริมาณ $\text{Log}_{10} \text{CFU/g}$. 5.47 – 8.48 และ *Staph. aureus* 3 ตัวอย่าง ในปริมาณ $\text{Log}_{10} \text{CFU/g}$. 2.4-4.0 รองลงมาคือ พริกชี้หนู และกระเทียม โดยพบ *B. Cereus* และ *Staph. aureus* ในพริกชี้หนู 4 ตัวอย่าง ในปริมาณ $\text{Log}_{10} \text{CFU/g}$. 4.78 – 7.48 และ 5 ตัวอย่าง ในปริมาณ $\text{Log}_{10} \text{CFU/g}$. 3.28 - 6.48 ตามลำดับ และพบ *B. cereus* ในกระเทียม 1 ตัวอย่าง ในปริมาณ $\text{Log}_{10} \text{CFU/g}$. 6.48 (ตาราง 4.1-4.2) ซึ่งไม่พบ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างส่วนผสมน้ำยา ผลการพบจุลินทรีย์ก่อโรสดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัย Harun และคณะ (2000) ซึ่งพบการปนเปื้อน *B. cereus* พริกสับ มากที่สุด โดยพบในระดับ 10^3 - 10^4 cfu/g คิดเป็น 16.7% , พริกไทยดำ, ภูมิ และ ใบมันสับ พบในระดับดังกล่าวเช่นกัน คิดเป็น 11.8, 16.7 และ 12.5% ตามลำดับ และ พบ การปนเปื้อนในผักชีผงเช่นกัน ในระดับ ที่ไม่สูงมาก 10^2 - 10^3 cfu/g คิดเป็น 3 % นอกจากนั้น พัชรวัลย์ ตรังศรีชาติ(2549) พบการปนเปื้อน *C. perfringens* , *Staph. aureus* และ *E. coli* ในพริกสดที่ใช้เป็นส่วนประกอบน้ำพริกหนุ่ม โดยเฉลี่ย 2.14, 2.82 log CFU/g และ 51.45 MPN/g จะเห็นได้ว่า *B. cereus* และ *Staph. aureus* มีแนวโน้มเป็นสาเหตุก่อให้เกิดการปนเปื้อนในน้ำยา โดยส่วนมากพบจุลินทรีย์ก่อโรสดังกล่าวในพริก และรากผักชี ซึ่งการปนเปื้อน *B. cereus* ในวัตถุดิบดังกล่าว อาจมีสาเหตุจากการจัดการทางสุขลักษณะที่ไม่ดี ในการเก็บเกี่ยว ทำความสะอาด และเก็บรักษา เนื่องจาก *B. cereus* เป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทางอาหาร และยังเป็นที่ยูจกว่าเป็นจุลินทรีย์ก่อให้เกิดการก่อโรคพบในดิน หรือเรียกว่า Soil born bacterium (Carlin และคณะ 2010) มักพบในปนเปื้อนในดิน น้ำ ในส่วนทางเดิน กระเพาะ ถ้าใส่สิ่งมีชีวิต Harun และคณะ (2000) ซึ่งการจัดการทางสุขลักษณะที่ไม่ดีอาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนของดิน ผุ่นละออง โดยเฉพาะรากผักชีซึ่งสัมผัสโดยตรงกับดิน นอกจากนั้น ในการพบ *Staph. aureus* อาจมีการปนเปื้อนจากขั้นตอนการเก็บเกี่ยว เก็บรักษาที่ไม่เหมาะสมรวมทั้งการ

จำหน่าย โดยเฉพาะพริกที่มีการปนเปื้อน *Staph. aureus* ค่อนข้างมาก เนื่องจากพริกมีการเก็บเกี่ยวโดยใช้คนในการเด็ด ซึ่งถ้าผู้ที่ทำการเก็บเกี่ยว มีสุขอนามัยที่ไม่ดีก็จะปนเปื้อนเชื้อมากับพริกได้ รวมทั้งการจำหน่ายปลีกตามตลาดซึ่งอาจมีการปนเปื้อนจากฝุ่น ละออง ขยะ คนและ สัตว์เช่นสุนัข ก็เป็นอีกสาเหตุของการปนเปื้อนเชื้อดังกล่าว (Mousami และ Sarker, 2002)

เมื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์ดังกล่าวเปรียบเทียบกับค่าการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์น้ำจิ้ม และน้ำพริก ที่มีส่วนประกอบใกล้เคียงกับน้ำยำ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (บัญชีหมายเลข 1 รายชื่อประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับ 200 และ 210) พบว่าผลของรากผักชี กระเทียม และพริกเกินค่ามาตรฐานดังกล่าว โดยปริมาณ *B. cereus* ที่พบมีค่าอยู่ระหว่าง Log_{10} CFU/g. 4.0 – 8.0 มากกว่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ 1,000 cfu/g หรือ Log_{10} CFU/g. 3.0 กว่า 10 เท่า และ พบ *Staph. aureus* มีค่าอยู่ระหว่าง Log_{10} CFU/g. 3.0-7.0 ซึ่งเกินมาตรฐานที่กำหนดเช่นกัน ผลการปนเปื้อนในวัตถุดิบดังกล่าวอาจมีผลต่อการปนเปื้อนในน้ำยำเมื่อนำวัตถุดิบดังกล่าวไปปรุง เนื่องจากน้ำยำแม้จะมีความเป็นกรดสูง แต่มีวิธีการเตรียมที่ไม่ผ่านความร้อน จึงทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด เช่น *C. perfringens* รวมทั้ง *B. cereus* ซึ่งพบในการทดสอบด้วย สามารถสร้างสปอร์ เมื่อมีจุลินทรีย์ดังกล่าวในปริมาณที่เหมาะสม และในสภาพที่สร้างสปอร์จะทนความร้อนสารเคมีได้ดีซึ่งเมื่อนำน้ำยำที่มีสปอร์ของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิด ไปผสมในอาหาร ซึ่งอาจทำให้ค่าพีเอชของอาหารสูงขึ้นจนเชื้อสามารถงอกออกมาเป็นตัวเซลล์และทำให้เชื้อแบ่งตัวในอาหารที่ทำการปรุงน้ำยำเพื่อจำหน่ายแล้ว

ตารางที่ 4.1 แสดงผลวิเคราะห์ *Staph. aureus* ของวัตถุดิบสำหรับทำน้ำยำที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อน

Raw material	No of sample	No. of sample with <i>Staph. aureus</i> . (%)	Log_{10} CFU/g
Chilli	15	5 (33.3%)	3.28 - 6.48
Garlic	15	0 (0%)	0
Coriander root	30	3(10.0%)	2.00 – 4.00

ตารางที่ 4.2 แสดงผลวิเคราะห์ *B. cereus* ของวัตถุดิบสำหรับทำน้ำยาที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อน

Raw material	No of sample	No. of sample with <i>B. cereus</i> . (%)	Log CFU/g
Chilli	15	4 (26.7%)	4.78 – 7.48
Garlic	15	1 (6.7%)	6.48
Coriander root	30	10 (33.3 %)	5.47–8.48

4.2 ผลการทดลองการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและจุลชีววิทยาส่วนประกอบน้ำยาหลังการผสมน้ำยาน้ำมะนาว และระหว่างเก็บรักษาน้ำยาในขวดแก้ว

จากผลการศึกษาผลทางจุลินทรีย์ของส่วนประกอบน้ำยาที่ผสมเตรียมสำหรับทำน้ำยาก่อนผสมน้ำมะนาว และหลังผสมมะนาว พบว่า ส่วนประกอบน้ำยาที่เตรียมผสมก่อนผสมมะนาว มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด มากกว่า Log_{10} CFU/g. 10 และพบ *B. cereus* ที่ปริมาณเฉลี่ย Log_{10} CFU/g.3.67 โดยไม่พบ *Staph.aureus* และ *Salmonella* spp. และมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เฉลี่ยที่ 5.17 เมื่อทำการทดสอบจุลินทรีย์ในส่วนประกอบน้ำยาที่ใส่น้ำมะนาว พบว่า มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ลดลงจนเหลือปริมาณเฉลี่ย Log_{10} CFU/g 4.02 และพบ *B. cereus* ที่ปริมาณ Log_{10} CFU/g. 1.61 โดยค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เฉลี่ยที่ 3.13 (ตารางที่ 4.3)

สาเหตุของการลดลงของจุลินทรีย์ทั้งหมด เนื่องจากกรดมีผลต่อกิจกรรม และความคงตัวของสารประกอบโมเลกุลใหญ่ เช่น เอนไซม์ ซึ่งกระทบต่อกิจกรรมของการย่อย และการดูดซึมสารอาหารเพื่อผลิตพลังงานในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) ซึ่งกรดจะไปรบกวนกิจกรรมดังกล่าวโดยเข้าสู่เซลล์ จะแตกตัวให้โปรตรอนจะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในเซลล์ลดลง ซึ่งจุลินทรีย์ต้องใช้พลังงานในการขับโปรตรอนออกจากเซลล์จำนวนมาก ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ (วารวดี ครุส่ง, 2551) ส่งผลให้จุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง นอกจากนั้นยังพบ *B. cereus* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคนิโคตเดียวที่เหลือรอดในน้ำยาจากตรวจสอบจุลินทรีย์ก่อโรคทั้ง 3 ชนิด โดยที่ *B. cereus* เป็นแบคทีเรียที่เจริญในอุณหภูมิประมาณ 8-55 องศาเซลเซียส และไม่ทนกรด (ค่า pH ค่าสุดประมาณ 5.0-6.0 ขึ้นชนิดกับกรดที่ได้รับ) (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) เนื่องมาจากผลการสำรวจวัตถุดิบหลักทำน้ำยา พบว่า *B. cereus* มีการปนเปื้อนในวัตถุดิบมากที่สุด โดยพบในรากผักชี และพริก ในปริมาณเริ่มต้นที่สูง เมื่ออยู่ในสภาวะกรดส่งผลให้ปริมาณลดลง และหลงเหลือระดับหนึ่ง ต่างจากจุลินทรีย์ก่อโรคนิโคต

อื่นที่ทำการสำรวจ ได้แก่ *Salmonella* spp. ที่ไม่พบการปนเปื้อนในวัตถุดิบในการทำน้ำยา และ *Staph.aureus* ที่พบการปนเปื้อนที่น้อยกว่า ในปริมาณ Log_{10} CFU/g. 2.0-6.48 เมื่อพบสภาวะกรดในน้ำยา (pH ประมาณ 3.21) ซึ่งสภาวะที่ *Staph. aureus* เจริญได้ในช่วง 4.0-9.8 (สุมนฉา วัฒนสินธุ์, 2545) จึงไม่พบการปนเปื้อน และอีกสาเหตุประการหนึ่งที่ทำให้ไม่พบการปนเปื้อน *Salmonella* spp. และ *Staph. aureus* หลังการผสมเนื่องจากน้ำยามีส่วนประกอบของกระเทียม ซึ่งกระเทียมมีสารอัลลิอิน (Alliin) เมื่อนำกระเทียมมาทุบ หรือบด เอนไซม์อัลลิอินเนส ในกระเทียมจะทำให้อัลลิอินเปลี่ยนเป็นอัลลิซิน ที่มีประสิทธิภาพผลฆ่ายับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด (สุมนฉา วัฒนสินธุ์, 2545) สอดคล้องกับการศึกษาของ อคิสร เสวตวิวัฒน์ (2542) ได้พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียม 1 เปอร์เซ็นต์จะสามารถทำลาย *Staph. aureus* และ *Samonella anatum* ได้ ซึ่งในน้ำยาที่ทำการศึกษาดังกล่าวมีส่วนผสมของกระเทียมสับอยู่ในปริมาณ 9.45 เปอร์เซ็นต์ จึงอาจมีปริมาณของอัลลิซินอยู่ในปริมาณมากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ในน้ำยา ทำให้มีผลในการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในน้ำยา

การพบ *B. cereus* หลงเหลือในน้ำยา นอกจากปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นที่สูงและสารต่อต้านจุลินทรีย์จากกระเทียมอาจมีแนวโน้มจากความสามารถในการทนสภาวะกรดของ *B. cereus* โดย Chen และคณะ (2008) ได้ศึกษาการทนกรดของ *B. cereus* ที่ปรับสภาวะทนกรด ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ pH เท่ากับ 4.0 และไม่ปรับสภาวะกรด ในน้ำผัก และผลไม้ผสมที่มี pH เท่ากับ 3.7 พบว่า *B. cereus* ที่ปรับสภาวะทนกรดและไม่ปรับสภาวะกรด *B. cereus* จะลดลงอย่างรวดเร็วใน 3 นาที และลดลงอย่างต่อเนื่องในระยะเวลาเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและ 25 องศาเซลเซียส โดย *B. cereus* ที่ไม่ปรับสภาวะทนกรดในน้ำผัก และผลไม้ที่เก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจะมีการลดลง 6 log cycle จากปริมาณเริ่มต้นที่ Log_{10} CFU/g.6.0 น้อยกว่า *B. cereus* ที่ปรับสภาวะทนกรดในน้ำผักและผลไม้ดังกล่าว ที่มีการลดลง 5 log cycle ซึ่งน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยน้ำผัก และผลไม้ผสมรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีเปอร์เซ็นต์การเหลือรอดน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยมี *B. cereus* ที่ปรับสภาวะทนกรดและไม่ปรับสภาวะกรดมีการลดลง 5 log cycle และ 6 log cycle ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าในปริมาณกรดต่ำ *B. cereus* ยังสามารถเหลือรอดได้ ดังนั้นในการควบคุมการปนเปื้อนจึงจำเป็นต้องอาศัยปัจจัยอื่นในการยืดอายุ และลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ดังกล่าว

ตารางที่ 4.3 แสดงผลวิเคราะห์จุลินทรีย์ก่อโรคและค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในส่วนประกอบ น้ำยาที่ผสมเตรียมสำหรับทำน้ำยาล้างก่อนผสมน้ำมะนาว และหลังผสมน้ำมะนาว

Product Type	pH	Total plate count	<i>Staph. aureus</i>	<i>B cereus</i>	<i>Salmonella</i> spp.
		Log ₁₀ CFU/g.	Log ₁₀ CFU/g	Log ₁₀ CFU/g	Log ₁₀ CFU/g
1.Mixed ingredients before added lime juice	5.17±0.06 ^a	>10	0	3.67	0
2.Mixed ingredients after added lime juice	3.13±0.04 ^b	4.02	0	1.61	0

หมายเหตุ ตัวอักษร (a b) ที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

เมื่อทำการทดสอบการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8±2 องศาเซลเซียส และ 30±2 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง) เป็นเวลา 14 วัน พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ก่อนการเก็บรักษา มีปริมาณ Log₁₀ CFU/g. 3.47 เมื่อทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ไม่พบจุลินทรีย์ในน้ำยา แต่เมื่อทำการเก็บรักษาจนระยะเวลา 14 วัน พบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ในตัวอย่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8±2 องศาเซลเซียส Log₁₀ CFU/g. 1.68 และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส Log₁₀ CFU/g. 1.79 โดยปริมาณของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ระหว่างการเก็บรักษาของทั้งสองอุณหภูมิ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) และค่า pH มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยระหว่าง 3.13-3.22 โดยค่า pH ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8±2 องศาเซลเซียส และ 30±2 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) การไม่พบจุลินทรีย์เมื่อเก็บรักษาในระยะเวลา 7 วัน เนื่องจากในน้ำยาประกอบด้วยกรดซิตริกเป็นกรดอินทรีย์ซึ่งเป็นกรดอ่อน มีผลการยับยั้งจุลินทรีย์เนื่องจากกรดอ่อนสามารถแตกตัวได้เพียงบางส่วนส่งผลให้มีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ และโมเลกุลที่ไม่แตกตัวจะซึมผ่านเข้าเซลล์เมมเบรนส่วนที่ชอบไขมัน เมื่อกรดเข้าสู่เซลล์ จะแตกตัวให้โปรตรอนจะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในเซลล์ลดลง ซึ่งจุลินทรีย์ต้องใช้พลังงานในการขับโปรตรอนออกจากเซลล์จำนวนมาก ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ (วารุณี ครุส่ง, 2551) แต่เมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่ามีการหลงเหลือของจุลินทรีย์ อาจเป็นเพราะจุลินทรีย์ที่พบในน้ำยาบางชนิดอาจเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสปอร์ซึ่งในการควบคุมการงอกและ การทำลายสปอร์ในอาหารที่เป็นกรด ต้องอาศัยปัจจัยอุณหภูมิมาช่วย ซึ่งความเป็นกรด-ด่างมีผลต่อการลดความต้านความร้อนของสปอร์ และ

มีผลต่อค่า D value (Mafart และคณะ, 2001) โดยทั่วไปวิธีทำลายสปอร์ดังกล่าวที่ได้ผลโดยใช้ความร้อนขึ้น ที่ความดันที่ 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-30 นาที (บุษกร อุดรภิชาติ, 2550)

เนื่องจาก *B. cereus* ที่ตรวจพบในน้ำยำหลังจากการผสมน้ำมะนาวมีปริมาณเชื้อน้อยกว่าร้อยละ 50 จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นซึ่งคาดว่าเมื่อทำการเก็บรักษาที่ 8 ± 2 องศาเซลเซียส และ 30 ± 2 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง) จะลดลงจนไม่พบจุลินทรีย์ดังกล่าวและจากการศึกษาของ Chen และคณะ (2009) พบว่า *B. cereus* ในน้ำผัก และผลไม้ผสมที่มี pH เท่ากับ 3.7 เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส โดยลดลงกว่า 3 Log cycle นอกจากนี้ผลการศึกษาระยะอุณหภูมิอุณหภูมिनอกเหนือจาก 4 และ 25 องศาเซลเซียส 4 ที่มีผลต่อ *B. cereus* Thorsen และคณะ (2009) ได้พบว่า *B. cereus* ที่บ่มที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส มีผลให้แบคทีเรียดังกล่าวหยุดการเจริญเติบโต และไม่สร้างสารพิษ ชนิด Emictoxin หรือ cereulide จากผลทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า น้ำมะนาว อุณหภูมิผลต่อการลดของจุลินทรีย์ทั้งหมด และจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งในการทดลองจะพบจุลินทรีย์ก่อโรคที่หลงเหลือเฉพาะ *B. cereus* ซึ่งในการศึกษาขั้นต่อไป จะศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิ และ pH ในการลด *B. cereus* กรณีที่มีการปนเปื้อนจำนวนมาก ต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและจุลชีววิทยาระหว่างเก็บรักษา ที่อุณหภูมิที่ 8 ± 2 องศาเซลเซียส และ 30 ± 2 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง)

ตารางที่ 4.4 แสดงผลวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมดของน้ำยำและค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการเก็บรักษา 14 วัน

Storage Time	pH		No. Total plate count of microorganism in Thai Yum salad (Log CFU/g.)	
	Store at 30 ± 2 °C	Store at 8 ± 2 °C	Store at 30 ± 2 °C	Store at 8 ± 2 °C
Day 0	3.13 ± 0.01 ^{ns}	3.13 ± 0.01 ^{ns}	3.47 ± 0.0 ^{ns}	3.47 ± 0.0 ^{ns}
Day 7	3.22 ± 0.01 ^{ns}	3.19 ± 0.02 ^{ns}	0	0
Day 14	3.18 ± 0.03 ^{ns}	3.18 ± 0.02 ^{ns}	1.79 ± 0.25 ^{ns}	1.68 ± 0.16 ^{ns}

หมายเหตุ ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการทดลองผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและจุลชีววิทยา

จากการทดลองโดยนำน้ำยามาถ่ายเชื้อ *B. cereus* ให้มีปริมาณ ประมาณ Log_{10} CFU/g. 7.0 พบว่า เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 77 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ในน้ำยาที่ถ่ายเชื้อ *B. Cereus* 3 ตัวอย่าง ก่อนเก็บรักษา พบว่าเชื้อดังกล่าวมีเปอร์เซ็นต์ผลต่างในการลดลงจากเชื้อเริ่มต้นที่ 23.38, 27.63, 32.29 หรือลดลงประมาณ 1-3 Log cycle โดยหลงเหลือในปริมาณ Log_{10} CFU/g. 4.98 -6.48 (ตารางที่ 4.5) ซึ่งเกินมาตรฐานจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์น้ำจิ้ม และน้ำพริก ที่มีส่วน ประกอบใกล้เคียงกับน้ำยา ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (บัญชีหมายเลข 1 รายชื่อประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับ 200 และ 210) ที่กำหนดไว้ที่ 1,000 cfu/g หรือ Log_{10} CFU/g. 3.0 ซึ่งการหลงเหลือของ *B. cereus* สอดคล้องกับ วิไล รังสาดทอง (2543) ระบุว่าในทางทฤษฎีอุณหภูมิพลาสมาเจอร์ไรส์ไม่สามารถทำลายแบคทีเรียได้หมด แต่อาจไม่สามารถตรวจพบได้เนื่องจากเชื้อมีการบาดเจ็บจึงไม่สามารถเจริญในอาหารที่จำเพาะได้ และเนื่องจาก *B. cereus* เป็นแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ ซึ่งอาจหลงเหลือหลังจากการให้ความร้อนอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดสปอร์ดังกล่าวในอาหารที่มีกรดต่ำ อยู่ที่ 121 องศาเซลเซียส เวลา 3 นาที เช่นเดียวกับการกำจัดสปอร์ของ *C. botulinum*. (EFSA Journal, 2005) นอกจากนี้มีรายงานว่าพบการปนเปื้อนของ *B. cereus* ใน Zucchini puree (เนื้อแตงกวาบดละเอียด) น้อยกว่า Log_{10} CFU/g. 2.0 และลดปริมาณสปอร์ลงได้ถึง Log_{10} CFU/g. 0.5 เมื่อใช้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที ในการฆ่าเชื้อ (Guinebretiere และคณะ, 2003) และ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส สามารถหยุดการเจริญของสปอร์ *B. cereus* ได้ 6 Log cycle (Gould ^{and} ~~Graham~~ และคณะ, 1995) นอกจากนี้สามารถลดความต้านทานความร้อนของสปอร์ *B. cereus* ได้ โดยการปรับกรด โดยอัตราการรอดของสปอร์ที่ 95 องศาเซลเซียส จะลดลง 3 เท่า เมื่อมีการปรับลดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหารจาก 6.2 เป็น 4.0 (Fernandez และคณะ, 2002) อย่างไรก็ตามน้ำยาซึ่งมี pH ต่ำในการทดลองนี้ เนื่องจากอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิในการฆ่าเชื้อที่ 77 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ยังไม่สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ตามมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข จึงควรมีการศึกษาอุณหภูมิและระยะเวลาที่สามารถลดปริมาณเชื้อได้ต่อไป

ตารางที่ 4.5 แสดงผลวิเคราะห์ *B. cereus* ของน้ำยาระหว่างน้ำยาที่ผ่านความร้อน และไม่ผ่านความร้อน

Sample	pH		No. <i>B. cereus</i> in Thai Yum salad (Log CFU/g.)			
	Non heat treated	77°C 1 min	Non heat treated	77°C 1 min	Log reduction	% difference
1	3.18	3.16	9.57	6.48	3.09	32.29
2	3.13	3.18	7.60	5.50	2.10	27.63
3	3.15	3.14	6.50	4.98	1.52	23.38
Mean±SD	3.15 ^{ns} ±0.03	3.16 ^{ns} ±0.02	7.89 ^{ns} ±1.55	5.65 ^{ns} ±0.76	2.24 ^{ns} ±0.79	27.77 ^{ns} ±4.46

หมายเหตุ ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

เมื่อทดลองการเก็บรักษาน้ำยาที่อุณหภูมิ 8±2 และ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่า น้ำยาที่ใส่เชื้อ *B. cereus* ให้มีปริมาณ ประมาณ Log_{10} CFU/g. 7.0 ที่เก็บรักษาน้ำยาที่อุณหภูมิ 8±2 และ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน มีการเปลี่ยนแปลงไม่แตกต่างกันอย่างนัยสำคัญ ($P>0.05$) โดยมีเปอร์เซ็นต์ผลต่างการลดลงของเชื้อที่ 55.64 และ 53.74 โดยหลงเหลือในปริมาณ Log_{10} CFU/g. 4.39 และ 4.24 ตามลำดับ โดยพบว่าค่า pH ไม่แตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) ด้วย (ตารางที่ 4.6)

เมื่อพิจารณา ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในการเก็บรักษาทั้งสองสภาวะพบว่า ไม่มีความแตกต่างกัน แต่ pH จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการเก็บรักษามากขึ้นเนื่องจากกรดอ่อนจะมีการแตกตัวทำให้เกิดการสมดุล เมื่อละลายน้ำ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) กัน อย่างไรก็ตาม น้ำยาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8±2 องศาเซลเซียส ยังคงมีสี กลิ่น และรสชาติของน้ำยาใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุมในวันแรกของการเก็บรักษา (ตารางที่ 4.5, 4.6 และ 4.7) ปัจจัยในการที่จะควบคุมการปนเปื้อนน้ำยาดังแต่วัตถุดิบ ควรต้องมีขั้นตอนการคัดเลือกและลดการเปื้อนในขั้นตอนการเตรียมสำหรับน้ำยา ปัจจัยสำคัญที่ควรคำนึงถึงคือ ความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิให้ความร้อน เนื่องจากความเป็นกรด-ด่างของน้ำยามีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค อาทิ *Staph. aureus*, *B. cereus* และ *Salmonella* spp. (ตารางที่ 4.3) เนื่องจากการที่น้ำยามีค่า pH ต่ำกว่า 4 จึงไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ดังกล่าว ดังนั้นควรมีการควบคุมให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำยาที่ผลิตขึ้นต่ำกว่าค่าดังกล่าวเพื่อคุณภาพ อย่างไรก็ตาม จุลินทรีย์บางชนิด เช่น *B. cereus* สามารถสร้างสปอร์ซึ่งทนสภาวะไม่เหมาะสมได้ จึงจำเป็นต้องใช้ความร้อนยับยั้งการเจริญของสปอร์ ก่อนเก็บรักษาโดยความร้อนที่ใช้ต้องมีอุณหภูมิสูงกว่า 77 องศาเซลเซียส และนานกว่า 1 นาที เนื่องจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิ 77 องศาเซลเซียส 1 นาที ซึ่งสามารถทำ

ให้ *B. cereus* ลดลงได้ประมาณ 3 log cycle นั้น ยังไม่เพียงพอให้ลดลงจน ถึงระดับมาตรฐานประกาศกระทรวงสาธารณสุข กรณีที่มีการปนเปื้อนในระดับอันตรายประมาณ 10^5 - 10^6 เซลล์ หรือสปอร์ ต่อกรัม ซึ่งเป็นระดับที่มีการสร้างสารพิษ cereulide สาเหตุของอาหารเป็นพิษ (EFSA Journal, 2005) นอกจากนั้นการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำยำควรเก็บรักษาน้ำยำในอุณหภูมิต่ำกว่า 8 องศาเซลเซียส แม้ว่าการทดลองเก็บรักษาน้ำยำที่อุณหภูมิ 8 ± 2 องศาเซลเซียส มีผลต่อการลดลงของ *B. cereus* ไม่แตกต่างจากการการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส แต่สามารถรักษาคูณลักษณะทางกายภาพและทางประสาทสัมผัสของน้ำยำไว้ได้ดีกว่า Line และคณะ (2009) ได้ศึกษาพบว่า *B. cereus* ที่บ่มที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส มีผลให้แบคทีเรียดังกล่าวหยุดการเจริญเติบโต และไม่สร้างสารพิษ ชนิด Emetic toxin หรือ cereulide และจากการศึกษาของ Choma และคณะ (2000) ระบุว่า *B. cereus* จะมีอัตราการเจริญต่ำที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และไม่พบการสร้างสารพิษที่ก่อให้เกิดอาหารเป็นพิษ ดังนั้นอุณหภูมิต่ำกว่า 8 องศาเซลเซียส นอกจากจะช่วยรักษาลักษณะทางกายภาพ และประสาทสัมผัสได้ดี ยังช่วยลดความเสี่ยงของการสร้างสารพิษของ *B. cereus* ได้อีกด้วย

ตารางที่ 4.6 แสดงผลวิเคราะห์ *B. cereus* ของน้ำยำที่ระหว่างเก็บรักษา

Storage condition	pH		No. <i>B. cereus</i> in Thai Yum salad (Log CFU/g.)			
	Day 0	Day 7	Day 0	Day 7	Log reduction	% difference
Store at 30 ± 2 °C	3.13 ± 0.01^{ns}	3.21 ± 0.01^{ns}	7.89 ± 1.5^{ns}	3.65 ± 0.92^{ns}	4.24	53.74
Store at 8 ± 2 °C	3.13 ± 0.01^{ns}	3.19 ± 0.02^{ns}	7.89 ± 1.5^{ns}	3.50 ± 0.71^{ns}	4.39	55.64

หมายเหตุ ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 แสดงลักษณะกายภาพของน้ำยำที่เก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 8±2 และ 30±2 องศาเซลเซียส

Storage time	Physical Characteristic of Thai Yum dressing Salad	
	Store at 30±2°C	Store at 8±2°C
Day 0	Bright red colour with small pieces of spices, Salt and sour with fresh spice flavour and odour with pungent chilli taste	Bright red colour with small pieces of spices Salt and sour with fresh spice flavour and odour with pungent chilli taste
Day 7	Dark red colour with small pieces of spices, Strong Salty flavour than sour with stale spice flavour and odour with pungent chilli taste	Bright red colour with small pieces of spices Salt and sour with fresh spice flavour and odour with pungent chilli taste
Day 14	Dark red colour with small pieces of spices, Strong Salty flavour than sour with stale spice flavour and odour with pungent chilli taste	Bright red colour with small pieces of spices Salt and sour with fresh spice flavour and odour with pungent chilli taste

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบและน้ำยำพบว่า *B. cereus* มีแนวโน้มในการปนเปื้อนในน้ำยำมากที่สุด โดยในรากผักชิบการปนเปื้อนเชื้อมากกว่าในพริกและในกระเทียม หลังจากการนำส่วนประกอบทั้งหมดของน้ำยำมาผสมกัน พบว่า น้ำยำมีคุณสมบัติเป็นกรดซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ 3.13 g และตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) ในน้ำยำ ปริมาณ Log_{10} CFU/g. 4.02 และ พบ *B. cereus* ในปริมาณ Log_{10} CFU/g. 1.61

เมื่อศึกษาการใช้อุณหภูมิความร้อน โดยการถ่ายเชื้อ *B. cereus* ปริมาณ ประมาณ Log_{10} CFU/g. 7.0 ลงในส่วนประกอบน้ำยำ พบว่าเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 77 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ในน้ำยำ พบว่าเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของเชื้อ จากการทดลอง 3 ครั้ง เท่ากับ 23.38, 27.63 และ 32.29 เปอร์เซ็นต์ โดยหลงเหลือในปริมาณ Log_{10} CFU/g. 4.98 - 6.48 ซึ่งยังเกินมาตรฐานจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์น้ำจิ้ม และน้ำพริก ที่มีส่วน ประกอบใกล้เคียงกับน้ำยำ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (บัญญัติหมายเลข 1 รายชื่อประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 200 และ 210) ที่กำหนดไว้ที่ 1,000 cfu/g หรือ Log_{10} CFU/g. 3.0

เมื่อทดลองการเก็บรักษาน้ำยำที่อุณหภูมิ 8 ± 2 และ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 และ 14 วัน พบว่า น้ำยำที่ใส่เชื้อ *B. cereus* ปริมาณ ประมาณ Log_{10} CFU/g. 7.0 ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 และ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วันมีการเปลี่ยนแปลงจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ ($P>0.05$) การลดลงจากเชื้อ ที่อุณหภูมิเก็บรักษาทั้งสองใกล้เคียงกันเท่ากับ 55.64 และ 53.74 โดยหลงเหลืออยู่ในปริมาณ Log_{10} CFU/g. 4.39 และ 4.24 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพ และประสาทสัมผัสพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ไม่แตกต่างกัน แต่น้ำยำที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 ± 2 องศาเซลเซียส มีสี น้ำยากลิ่นและรสชาติ ไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมในวันแรกของการเก็บรักษา

ดังนั้นอุณหภูมิ 77 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ไม่สามารถลดปริมาณ *B. cereus* ได้ตามมาตรฐานจุลินทรีย์ก่อโรคตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขได้ และอุณหภูมิการเก็บรักษาอุณหภูมิ

8±2 และ 30±2 องศาเซลเซียส มีผลต่อการลดลงของ *B. cereus* ที่ไม่แตกต่างกัน แต่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ สี กลิ่น และรส

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าการควบคุมการปนเปื้อนจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุเก็บรักษาน้ำยา ควรควบคุมการปนเปื้อนน้ำยาตั้งแต่วัตถุดิบ ควรต้องมีขั้นตอนการคัดเลือกและลดการปนเปื้อนในขั้นตอนการเตรียม ซึ่งสามารถใช้หลักเกณฑ์ และวิธีการปฏิบัติที่ดีในสุขาภิบาลอาหาร หรือ Good manufacturing Practise (GMP) มาใช้ในการควบคุมขั้นตอนดังกล่าว กระบวนการผลิต และสุลักษณะส่วนบุคคล รวมถึงการใช้น้ำยาทำความสะอาด หรือน้ำยาฆ่าเชื้อในการล้างทำความสะอาดวัตถุดิบ และกระบวนการผลิต ตามความเหมาะสม อาทิ คลอรีน กรด หรือด่าง โดยมีงานวิจัยของ ^{เพ็ญ รัตน์} Chen และคณะ (2002) พบว่า Sodium hypochlorite 25 ppm หรือ Quaternary ammonium compound (QAC) 100 ppm สามารถลดปริมาณเซลล์ของ *B. cereus* ได้มากกว่า \log_{10} CFU/g ^{ml 5.0 5.0} 4.84 ภายใน 15 วินาที และยืดระยะเวลาการเกิดฟิล์ม (Biofilm) บนพื้นผิวที่เชื้อเจริญ ซึ่งมีความต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ทำความสะอาดได้ถึง 5 นาที นอกจากนี้มีการวิจัยที่แสดงว่า peracetic acid 30 mg/L และ sodium hypochlorite 250 mg/L สามารถลดปริมาณเซลล์ของ *Staph. aureus* ในการสร้างฟิล์ม (Biofilm) ได้ 2-3 และ 1.5-2.1 Log cfu/cm² ตามลำดับ (Quenia และคณะ, 2012) และ Sodium hypochlorite (Chlorine, 50 ppm) ที่ pH 7 ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพในการเป็นสารฆ่าเชื้อสำหรับการลดลงในการต่อต้านการฆ่าเชื้อของฟิล์ม (Biofilm) ที่เกิดจาก *Salmonella Typhimurium* (Ngoc Nguyen และ Yuk, 2013)

ประโยชน์ที่ได้จากการศึกษานี้ ทำให้ทราบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการยืดอายุเก็บรักษาน้ำยา ความชื้น กรด-ด่าง อุณหภูมิให้ความร้อน และอุณหภูมิเก็บรักษา โดยความเป็นกรด-ด่างของน้ำยามีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค อาทิ *Staph. aureus*, *B. cereus* และ *Salmonella spp.* แต่เนื่องจากจุลินทรีย์บางชนิด เช่น *B. cereus* สามารถสร้างสปอร์ซึ่งทนสภาวะดังกล่าว จึงจำเป็นต้องใช้ความร้อนทำลายสปอร์ ในระดับสูงกว่าที่ใช้ในการทดลองนี้ และการเก็บรักษาน้ำยาต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 8 องศาเซลเซียส ซึ่งนอกจากจะช่วยลดการสร้างสปอร์ของ *B. cereus* ยังช่วยรักษาลักษณะทางกายภาพและประสาทสัมผัสได้ด้วย แนวทางดังกล่าวสามารถประยุกต์ใช้กับร้านอาหาร ร้านค้าที่มีการประกอบอาหารประเภทน้ำ เพื่อเป็นการป้องกันการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ และเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำยาในกรณีที่ต้องการเตรียมน้ำยาไว้เพื่อปรุงอาหาร เพื่อยืดระยะเวลาในการปรุงอาหารประเภทน้ำ และสะดวกสำหรับร้านอาหารที่มีหลายสาขา ที่ต้องเตรียมน้ำยาเก็บไว้ และส่งไปใช้ตามสาขาต่างๆ

5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรมีการทดลองอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อสำหรับน้ำยา ซึ่งจากการทดลองนี้พบว่า ควรอยู่ในระดับที่มากกว่า 77 องศาเซลเซียส 1 นาที โดยต้องคำนึงถึงผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำยาด้วย เพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อการบริโภคน้ำยา เนื่องจากอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิในการฆ่าเชื้อที่ 77 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ไม่สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ตามมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- กนกทิพย์ ทรัพย์เจริญกุล. 2550. ประสิทธิภาพของคลอรีนไดออกไซด์และน้ำอเล็กโทโรไลซ์ชนิดกรดในการทำลายฟิล์มชีวภาพของบาซิลลัส ซีเรียส สแตฟฟีโลคอกคัส ออเรียส และสปอร์เกาเดิซของบาซิลลัส ซีเรียสบนพื้นผิวสัมผัสอาหาร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2549. เลือกรับประทานอาหาร และน้ำดื่มหน้าร้อน, ข่าววิชาการ. จดหมายข่าวกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. ฉบับ 4. เมษายน ., กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพฯ. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก <http://www.dmhc.moph.go.th/webroot/secretary/Homepage/news49/april/7.html> (วันที่สืบค้น 27 กรกฎาคม 2555).
- นฤพร สุทธิสวัสดิ์ และ ศุภธินิ ธิในศวรรยขงกูร. 2549. ฤทธิ์กันเสียของฝาง (*Caesalpinia sappan* L.) ในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทน้ำพริก. โครงการพิเศษ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.
- นภาพร เชี่ยวชาญ. 2546. การควบคุมการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผักและผลไม้. วารสารจารย์พา ปีที่ 10 ฉบับที่ 73. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก <http://www.charpa.co.th> (วันที่สืบค้น 27 กรกฎาคม 2555).
- บัญชีหมายเลข 2 มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค แนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค. เอกสารอค์สำเนา.
- บุษกร อุดรภิชชาติ. 2550. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. โครงการส่งเสริมการผลิตเอกสารวิชาการภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา.
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 200. 2543. เรื่องขอสในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท. เอกสารอค์สำเนา.
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 201. 2543. เรื่องขอสบางชนิด. เอกสารอค์สำเนา.
- พัชรวัลย์ ตรังตรีชาติ, จิรวัดณ์ กันต์เกรียงวงศ์, ประเวทย์ ดุ้ยเต็มวงศ์ และวรพจน์ สุนทรสุข. 2549. การศึกษาลักษณะทางจุลชีววิทยาของน้ำพริกหนุ่ม (บาทวิถี). ในการประชุมทางวิชาการสาขาวิทยาศาสตร์ ครั้งที่ 2 หน้า 207-214. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- พลศรี คชาชีวะ. 2545. อาหารยาของไทย. สถาบันสอนอาหารแม่บ้านทันสมัย [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก. <http://www.matichon.co.th/adm/tour/template1.php?idn=&selectid=1018&sid=&select=> (วันที่สืบค้น 27 กรกฎาคม 2555).
- วราวุฒิ ครูส่ง. 2551. การบริหารจัดการจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- วิล รังสาดทอง. 2547. เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร, ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, กรุงเทพฯ.
- สิริพร สธนเสาวภาคย์, ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ และ กาญจนิจ วาจนะวินิจ. 2539. การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในวัตถุดิบสำหรับผลิตน้ำพริกสำเร็จรูป และการศึกษาระยะเวลาในการอบเพื่อลดปริมาณ. วารสารเกษตรศาสตร์ 30;193-199.
- สุมาลี เหลืองสกุล. 2541. จุลชีววิทยาทางอาหาร. คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร, กรุงเทพฯ.
- สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2542. ผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก สำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อ และเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่พบมากในแฮม (ในหลอดทดลอง). วารสารอาหาร 29(2);107-115.
- Adams, M.R., and Moss, M.O.1995. Chapter 3: Factors affecting the growth and survival of microorganism in food. Food Microbiology pp 18-54. the Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Aderson, S.S., Barbosa, M.S., Destro, M.T., Bernadatte, M.L. and Franco, D.G.M. 2012. Growth potential of *Samonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in nine type s of ready to eat vegetables stored at variable temperature condition during shelf life. International Journal of Food Microbiology 157;52-58.
- Ahmad, H.A., and Marcello, J.A. 1989. Effect of gas atmosphere packaging on psychrotropic growth and succession on steak surface. Journal of Food Science 54;274-276,310.
- Blickstad, E, Enfors, S.O. and Molin, G. 1981. Effect of hyperbolic carbondioxide pressure on microbial flora of pork store at 4° or 14°C. Journal of Applied Bacteriol 50;493-504.
- Chen, J.L., Chain, M.L. and Choun, C. 2009. Survival of the acid-adapted *Bacillus cereus* in acid environments. International Journal of Food Microbiology 128;424-428.
- Carlin, F., Brillard, J., Broussolle, V., Clavel, T., Duport, C., Jobin, M., Guinebretiere, M.H., Auger, A., Sorokine, A. and Nguyen-The, C. 2010. Adaptation of *Bacillus cereus*, an ubiquitous worldwide-distributed foodborne pathogen, to a changing environment. Food Research International 43;1885-1894.

- Choma, C., Guinebretiere, M. H., Carlin, F., Schmitt, P., Velge, P., Granum, P. E. and Nguyen-The, C. 2000. Prevalence, characterization and growth of *Bacillus cereus* in commercial cooked chilled foods containing vegetables. *Journal of Applied Microbiology* 88;617-625.
- Chung, K.C., and Goepfert, J.M. 1970. Growth of *Salmonella* at low pH. *Journal of Food Science* 35; 326-328.
- da Silva, Q. G., de Medeiros Barbosa, I., Athayde A. J. A. A., de Siqueira-Junior, J. P. and de Souza, E. L. 2012. Influence of temperature and surface kind of bio film formation by *Staphylococcus aureus* from food-contact surfaces and sensitivity to sanitizer. *Food Control* 25;469-475.
- DMSc-ACFS. 2003. *Compendium of Methods for Food Analysis*. 1st Edition. Department of Medical Sciences (DMSc) and National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards (ACFS).
- Guinebretiere, M.H., Girardin, H., Darraignaratz, C., Carlin F. and Nguyen-The, C. 2003. Contamination flows of *Bacillus cereus* and spore forming aerobic bacteria in a coked, pasteurized and chilled zucchini puree process line. *International Journal of Food Microbiology* 82;223-232.
- Gould, G.W., Abee, T., Granum, P.E. and Jones, M.V. 1995. Physiology of food poisoning microorganism and the major problem in food poisoning control. *International Journal of Food Microbiology* 28;121-128.
- Fernández, A., Collado, J., Cunha, L.M., Ocio, M.J. and Martinez, A. 2002. Empirical model building based on Weibull distribution to describe the joint effect of pH and temperature on the thermal resistance of *Bacillus cereus* in vegetable substrate. *International Journal of Food Microbiology* 77;147-153.
- Fricker, R. 1984. The flash pasteurization of beer. *Journal of Institute of Brewing* 90(May-June);146-152.
- Hamid-Samimi, M.H. and Swartel, K.R. 1984. Pasteurization design criteria for production of extended shelf life refrigerated liquid whole egg. *Journal of Food Process and Preservation* 8; 21-24.
- Harun, A., Kamil and Ozer. P.S. 2000. Presence of *Bacillus cereus* in Packaged Some Spices and Herbs Sold in Istanbul. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 3(5);710-712.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีการตรวจคุณภาพด้านจุลชีววิทยา (Microbiological Testing)

1. การวิเคราะห์หาปริมาณ Total Plate Count (ตัดแปลงจากนฤพรสุทธิสวัสดิ์, 2550)

ตุ่มตัวอย่างผักหรือน้ำยาดูตัวอย่างละ 25 กรัมใส่ในถุงพลาสติกปิดจุกเชิ่ เดิมน้ำฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปตีด้วยเครื่องตีผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องตีปั่นผสมอาหาร ซึ่งขั้นตอนดังกล่าวจะได้สารละลายตัวอย่าง 1:10 จากนั้นทำการเจือจางต่อแบบ 10 fold dilution จนได้ความเจือจาง 1:10² จนถึง 1:10⁸ โดยดูดสารละลายจากถุงพลาสติก ปิดจุกเชิ่ มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร ทำการเจือจาง ต่อจนได้ความเจือจางในระดับ 1:10⁸ ใช้ปิเปตดูดสารละลายจากทุกระดับเจือจาง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในเพลทที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy agar (TSA) ทำการ pour plate แล้วนำไปบ่ม ในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นตรวจนับจำนวนโคโลนี

2. การวิเคราะห์หาปริมาณ *Salmonella* (DMSc-ACFS, 2003)

ตุ่มตัวอย่างผักหรือน้ำยาดูตัวอย่างละ 25 กรัมแล้วเพาะเลี้ยงเชื้อลงในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) 225 มิลลิลิตรบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงถ่ายเชื้อจาก TSB 10 มิลลิลิตรลงในหลอดปิดจุกเชิ่จากนั้นเติม Salmosyst selective tablet (SST) 1 เม็ดเขย่าจน tablet ละลายจนหมดบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20-24 ชั่วโมงถ่ายเชื้อจากหลอด SST 1 หลบลงบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อ Xylose lysine dextrose (XLD) agar และอีก 1 หลบลงบน Desoxycholate hydrogen sulfide lactose (DHL) agar บ่มเพาะเชื้ออาหารแข็งทั้งสองที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20-24 ชั่วโมงตุ่มโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อซาลโมเนลลาที่พบบนอาหารแข็งทั้งสอง 1-3 โคโลนีต่ออาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อทำการตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีในอาหาร Triple sugar iron (TSI) slant agar และ Lysine indole motility (LIM) medium บ่มเพาะเชื้ออาหารทั้งสองที่อุณหภูมิ

37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20-24 ชั่วโมงอ่านผลปฏิกิริยาทางชีวเคมีตามคำแนะนำของ DMSc-ACFS (2003) ยืนยันผลหลอดเชื้อที่มีคุณสมบัติทางเคมีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อซาลโมเนลลาด้วย Polyvalent O – antiserum group A-67 ทำการถ่ายเชื้อหลอด TSI slant agar ที่ให้ผลบวกกับ polyvalent O- antiserum ลงใน TSA บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 20-24 ชั่วโมงทำการส่งผลวิเคราะห์ที่บริษัทเอส.เอ.พี. แล็บบอราตอรีเพื่อหาชนิดสายพันธุ์ของซาลโมเนลลา

3. การหาปริมาณ *B. cereus* (DMSc-ACFS, 2003)

สุ่มตัวอย่างผักหรือน้ำยาดัวอย่างละ 25 กรัมเจือจางแบบ 10 fold dilution ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ 0.85% NaCl เพาะเลี้ยงเชื้อในระดับความเจือจางที่ 1:10, 1:100, 1:1,000, 1:10,000, 1:100,000, และ 1:1,000,000 ลงใน Mannitol-egg yolk – polymyxin (MYP) agar 0.1 มิลลิตร ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ แล้วบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงสุ่มโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ *B. cereus* ที่พบบนอาหารแข็ง 1-3 โคโลนีเพื่อตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีโดยดูการสร้างสาร Hemolysin ของเชื้อในอาหาร Trypticase soy sheep blood agar บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงอ่านผลปฏิกิริยาทางชีวเคมีตามคำแนะนำของ DMSc-ACFS (2003)

4. การหาปริมาณ *Staph. aureus* (DMSc-ACFS, 2003)

สุ่มตัวอย่างผักหรือน้ำยาดัวอย่างละ 25 กรัมเจือจางแบบ 10 fold dilution ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ 0.85% NaCl ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อในระดับความเจือจางที่ 1:10, 1:100, และ 1:1,000, ลงใน Baird-Parker medium ที่มีส่วนผสมของไข่แดงปราศจากเชื้อ มิลลิตร ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ แล้วบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมงสุ่มโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ *Staph. aureus* โดยบ่มเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร Brain Heart Infusion (BHI) broth ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20-24 ชั่วโมงจากนั้นนำ BHI broth มาทำการทดสอบการผลิตเอนไซม์ Coagulase โดยใช้ rabbit plasma with EDTA และอ่านผลปฏิกิริยาทางชีวเคมีตามคำแนะนำของ DMSc-ACFS (2003)

ภาคผนวก ข

วิธีการเตรียมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์

(Stock culture solution)

1. การเตรียมเซลล์แบคทีเรีย (คัดแปลงจากกนกทิพย์ ทรัพย์เจริญกุล.2550)

1.1 การเตรียมเซลล์แบคทีเรีย

เซลล์แบคทีเรียทุกตัวอย่างเตรียมจากเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy agar (TSA) เอียงในหลอดทดลอง (slant) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสทำการถ่ายเชื้อ 1 ลูบลงใน Trypticase soy broth (TSB) 10 มิลลิลิตรเพาะเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิเหมาะสมคือ 37 องศาเซลเซียสสำหรับ *S. aureus* และ 30 องศาเซลเซียสสำหรับ *B. cereus* เป็นเวลา 24 ชั่วโมงวันที่สองจึงทำการถ่ายเชื้อ 1 ลูบจาก TSB หลอดแรกลงใน TSB 10 มิลลิลิตรหลอดใหม่เพาะเลี้ยงเชื้อในสภาวะเดียวกันกับ TSB หลอดแรกและวันที่สามจึงถ่ายเชื้อ 1 มิลลิลิตรลงใน TSB 100 มิลลิลิตรในขวดขนาด 250 มิลลิลิตรทำการเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิเหมาะสมเป็นเวลา 16 ชั่วโมงจะได้เซลล์แบคทีเรียในช่วง late log phase จากนั้นนำเซลล์แบคทีเรียที่มีอายุได้ 16 ชั่วโมงมาเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมดังวิธีการในข้อ 1.2 เพื่อใช้เป็นเชื้อตั้งต้นในการทดลองต่อไปทำการตรวจนับปริมาณเซลล์ดังวิธีการในข้อ 1.3

1.2 การเตรียมสารละลายเซลล์ในอาหารเหลว

อาหารเหลวที่ใช้ในการทดสอบได้แก่สารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1, Trypticase soy broth (TSB) เตรียมสารละลายเซลล์ในอาหารเหลวโดยนำเซลล์ที่เตรียมขึ้นตามวิธีในข้อ 1.1 มาเจือจางในอาหารเหลวตามความเข้มข้นตั้งต้นที่ต้องการ โดยเจือจางให้มีความเข้มข้นประมาณ $7 \log \text{CFU/ml}$ สำหรับการทดสอบปริมาณตั้งต้นระดับสูง ($6 \log \text{CFU/ml}$) ก่อนนำไปทดลอง

1.3 การวิเคราะห์ปริมาณเซลล์แบคทีเรีย

ตรวจนับปริมาณเซลล์เริ่มต้นของแบคทีเรียด้วยวิธี surface plate โดยเปิดเชื้อเริ่มต้น 1 มิลลิลิตรใส่หลอดทดลองซึ่งมีสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตรเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการจากนั้นเปิดสารละลายเชื้อเจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อที่มี

อาหารเลี้ยง TSA ใช้แท่งแก้วปลอดเชื้อเกลี่ยเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหารนำไปเพาะเชื้อที่อุณหภูมิเหมาะสม (37 องศาเซลเซียสสำหรับ *S. aureus* และ 30 องศาเซลเซียสสำหรับ *B. cereus*) เป็นเวลา 24 ชั่วโมงตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 25-250 โคโลนีคำนวณหาปริมาณเชื้อทั้งหมดในสารละลาย 1 มิลลิตรทำการทดลอง 2 ซ้ำต่อหนึ่งความเข้มข้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวรัตนาวลี ใจสะอาด
วัน เดือน ปีเกิด	30 ตุลาคม 2517
ที่อยู่	511/1 ถ.วิสุทธิกษัตริย์ ต.ในเมือง อ.เมืองพิษณุโลก จ.พิษณุโลก
ประวัติการศึกษา	ปี 2540 ปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร
ประสบการณ์การทำงาน	
พ.ศ. 2540	พนักงานควบคุมคุณภาพ บริษัท ซี.พี. ผลิตภัณฑ์อาหาร จำกัด
พ.ศ. 2549	พนักงานบริการข้อมูลเทคนิคทางผลิตภัณฑ์ (Technical Service Officer) บริษัท เคอร์รี่อินกรีเดียนท์ (ไทยแลนด์) จำกัด
พ.ศ. 2554-ปัจจุบัน	ผู้จัดการแผนกกฎหมายอาหาร บริษัท กรุงไทยอาหารสัตว์ จำกัด (มหาชน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้