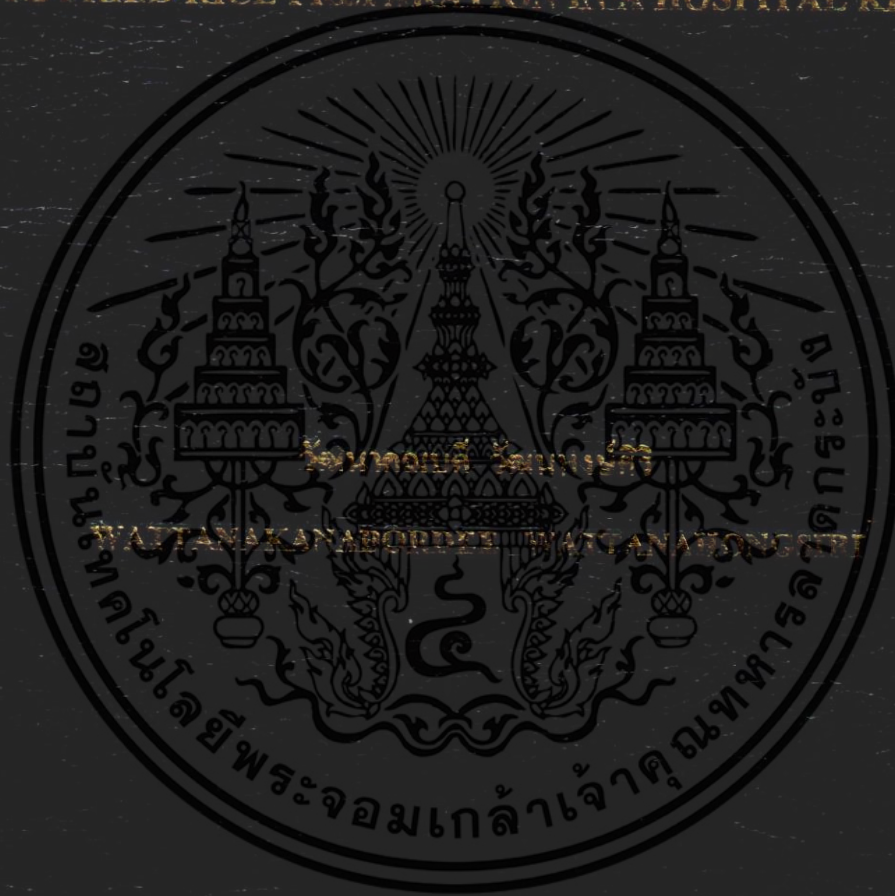


ผลของความร้อนต่อการเกิดสปอร์ของเชื้อ *Bacillus cereus* ในระหว่าง
การเตรียมข้าวผัดจากกะป๋องในครัวโรงพยาบาล

EFFECT OF HEAT ON *Bacillus cereus* SURVIVAL DURING SHRIMP
PASTE FRIED RICE PREPARATION IN A HOSPITAL KITCHEN



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการและบริหารอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

KMITL-2018-AJ-M-055-250

ผลของความร้อนต่อการเหลือรอดของเชื้อ *Bacillus cereus* ในระหว่าง
การเตรียมข้าวคลุกกะปิในครัวโรงพยาบาล
**EFFECT OF HEAT ON *Bacillus cereus* SURVIVAL DURING SHRIMP
PASTE FRIED RICE PREPARATION IN A HOSPITAL KITCHEN**



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดและบริการอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2559

KMITL-2016-AI-M-055-250

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**EFFECT OF HEAT ON *Bacillus cereus* SURVIVAL DURING SHRIMP
PASTE FRIED RICE PREPARATION IN A HOSPITAL KITCHEN**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SERVICE AND CATERING TECHNOLOGY
FACULTY OF AGRO-INDUSTRY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

2016

KMITL-2016-AI-M-055-250

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2016

AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของความร้อนต่อการเหลือรอดของเชื้อ *Bacillus cereus* ในระหว่างการเตรียม
ข้าวคลุกกะปิในครัวโรงพยาบาล
EFFECT OF HEAT ON *Bacillus cereus* SURVIVAL DURING SHRIMP PASTE
FRIED RICE PREPARATION IN A HOSPITAL KITCHEN

ชื่อนักศึกษา นายวัฒนาคนบดี วัฒนหงษ์ศิริ
รหัสประจำตัว 56608035
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา เทคโนโลยีการจัดการและบริการอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ	
รศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม	
รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์	
รศ.ดร.ระติพร หาเรือนกิจ	

วัน / เดือน / ปีที่ 19 พฤษภาคม 2559 เวลา 09.30 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ณ ห้อง A 302 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว



(รองศาสตราจารย์ ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 29 เดือน 5 พ.ศ. 2559

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของความร้อนต่อการเหลือรอดของเชื้อ <i>Bacillus cereus</i> ในระหว่างการเตรียมข้าวคลุกกะปิในครัวโรงพยาบาล
นักศึกษา	นายวัฒนาคนบดี วัฒนหงษ์ศิริ
รหัสประจำตัว	56608035
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีการจัดการและบริการอาหาร
พ.ศ.	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ

บทคัดย่อ

จากการสำรวจการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมด *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* ของกะปิรวมทั้งหมด 24 ตัวอย่าง (กะปิในบรรจุภัณฑ์แบบปิดจากโรงงานอุตสาหกรรม 8 ตัวอย่าง กะปิในบรรจุภัณฑ์แบบเปิดที่วางขายตามตลาดสด 7 ตัวอย่าง และกะปิที่ใช้ในโรงพยาบาล 9 ตัวอย่าง) พบจุลินทรีย์ทั้งหมดในทุกตัวอย่าง เชลล์ *B. cereus* พบ 22 ตัวอย่าง (ตรวจพบ 91.52%) สปอร์ *B. cereus* พบ 12 ตัวอย่าง (ตรวจพบ 50.00%) และ *C. perfringens* พบ 3 ตัวอย่าง (12.48%) จากการตรวจพบเชื้อ *B. cereus* ในกะปิ จึงตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* ในกระบวนการผลิตข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล 2 แห่ง โดยเก็บตัวอย่างกะปิ ข้าวสาร กะปิเคี้ยว ข้าวสวย และข้าวคลุกกะปิ ตรวจพบการปนเปื้อนเชลล์และสปอร์ *B. cereus* ในกะปิและกะปิเคี้ยว ทำการให้ความร้อนต่อการทำลายเชลล์และสปอร์ *B. cereus* ที่แยกได้จากกะปิในขั้นตอนทำกะปิเคี้ยวที่เดิมเชื้อเริ่มต้นที่ 10^3 cfu/g และ 10^6 cfu/g เกี่ยวกะปิที่อุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที พบว่าสามารถทำลายเชลล์ *B. cereus* ที่ 10^3 cfu/g และ 10^6 cfu/g ได้หมด และสปอร์ *B. cereus* ที่ 10^3 spores/g ได้หมด แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ *B. cereus* ที่ 10^6 spores/g ได้หมด พบการเหลือรอดที่ 2.74 ± 0.05 Log spores/g จากนั้นทวนสอบการให้ความร้อนที่ 97-100 องศาเซลเซียส ที่เวลา 15 นาที ต่อการทำลายเชลล์และสปอร์ *B. cereus* ในขั้นตอนการทำกะปิเคี้ยวของโรงพยาบาลทั้ง 2 แห่ง พบว่าสามารถทำลายเชลล์และสปอร์ *B. cereus* ได้หมด โดยตรวจไม่พบการปนเปื้อนของเชลล์และสปอร์ *B. cereus*

งานวิจัยนี้เป็นต้นแบบของการใช้ความร้อนในการควบคุมเชื้อก่อโรคอาหารเป็นพิษในกระบวนการผลิตอาหารของโรงพยาบาลและสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับรายการอาหารประเภทอื่นๆได้

Thesis Topic	Effect of heat on <i>Bacillus cereus</i> survival during shrimp paste fried rice preparation in a hospital kitchen
Student Name	Mr. Wattanakanabordee Wattanahongsiri
Student ID	56608035
Degree	Master of Science
Majoring	Food Service and Catering Technology
Year	2016
Advisor	Assist. Prof. Dr. Aphacha Jindaprasert

ABSTRACT

Totally 24 samples of shrimp paste (10 samples from closed containers, 10 samples from unclosed containers sold in fresh markets and 4 samples which used as cooking ingredients in 4 hospitals' kitchen) were investigated for total plate count (TPC), *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*. The study revealed that TPC were detected in all 24 samples. *B. cereus* cells were found in 22 samples (91.52%), while 12 samples (50.00%) were found *B. cereus* spores. *C. perfringens* were found in 3 samples (12.48%) respectively. According to the numerous *B. cereus* contaminations in shrimp paste, thus, the process to cook fried rice with shrimp paste dish from 2 hospital kitchen was then investigated for available of *B. cereus* after cooking. Sample of shrimp paste, cooked rice, fried stewed shrimp paste and fried rice with shrimp paste were collected from fried rice with shrimp paste's cooking process in two hospitals. *B. cereus* cells and spores were detected in shrimp paste and fried stewed shrimp paste. Shrimp paste in stewing step were inoculated with cells and spores of *B. cereus* at 10^3 cfu/g and 10^6 cfu/g and cooked at temperature range of 97-100°C for 20 minutes. The results show that *B. cereus* cells at 10^3 cfu/g and 10^6 cfu/g were not detected in fried stewed shrimp paste after cooking. In addition, all *B. cereus* spores were also eliminated a 10^3 spores/g. However, *B. cereus* spores at 10^6 spores/g could survive at 2.74 ± 0.05 Log spores/g. Thus, the process to cook fried rice with shrimp paste cooking in both hospitals was validated survival of *B. cereus* cells and spores after cooking at temperature of 97-100°C for 15 minutes in stewing step. By using this process, *B. cereus* cells and spores were eliminated and could not be detected.

This research is a model of heating temperature for food-borne pathogen control in hospital cooking process and can be applied with other food types.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาให้ความช่วยเหลือคำปรึกษา ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะต่างๆ และให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลในการจัดทำโดยดีมาตลอด ตลอดจนการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์และกราบขอบพระคุณอาจารย์ และพี่ๆนักวิทยาศาสตร์ที่ได้ให้คำแนะนำ และช่วยให้การทดลองจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม และ รศ.ดร. อติสร เสวตวิวัฒน์ ที่เป็นกรรมการสอบหัวข้อโครงร่างวิทยานิพนธ์ที่ให้คำแนะนำด้วยดีโดยมาตลอด ที่ได้เสนอแนะข้อคิดดีๆที่ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไปได้ด้วยดีขอขอบคุณ รศ.ดร. ระติพร หาเรือนกิจ และ ดร. กิตติชัย บรรจง ได้ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยการใช้โปรแกรม

ขอขอบพระคุณ คุณ ศุภวราภรณ์ ธีวบำรุง และเจ้าหน้าที่ทุกท่านในฝ่ายโภชนาการ โรงพยาบาลโรงพยาบาลหลวงพ่อเทวดา วิทยาลัย ชุตินุชโร อุทิศ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์การสุ่มเก็บตัวอย่างวัตถุดิบในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิ และอำนวยความสะดวกต่างๆ และข้อมูลต่างๆ ด้วยดีโดยมาตลอด

ขอขอบพระคุณ คุณ พูลลักษณ์ อาจศิริ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านในฝ่ายโภชนาการ โรงพยาบาลลาดกระบังกรุงเทพมหานคร ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์การสุ่มเก็บตัวอย่าง วัตถุดิบในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิ และอำนวยความสะดวกต่างๆ และข้อมูลต่างๆ ด้วยดีโดยมาตลอด

ขอขอบพระคุณ คุณ สมภพ วัฒนมณี หัวหน้ากลุ่มงานวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้ความร่วมมือในการตรวจยืนยันเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* ในตัวอย่างกะปิด้วยดีโดยตลอดมา

ขอขอบพระคุณ นางสาว เสวตลักษณ์ อยู่สบาย ที่คอยให้กำลังใจและให้ความช่วยเหลือต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คณะอุตสาหกรรมเกษตร และ บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยเงินรายได้ ปีงบประมาณ 2559 และทุนการเสนอผลงานวิจัย ปีงบประมาณ 2558

ขอขอบพระคุณครอบครัวของข้าพเจ้า พ่อ แม่ พี่น้องของข้าพเจ้า เพื่อนๆที่ช่วยให้กำลังใจ ข้าพเจ้าโดยมาตลอดจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

วัฒนาคมบดี วัฒนหงษ์ศิริ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญภาพ.....	IX
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 บาซิลลัส ซีเรียส.....	4
2.2 คลอสตริเดียม เฟอร์ริงเจนส์.....	5
2.3 ข้าวคลุกกะปิ.....	6
2.4 กะปิ.....	9
2.5 การผลิตอาหารผู้ป่วยของครัวโรงพยาบาล.....	15
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	20
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงาน.....	23
3.1 วัตถุประสงค์.....	23
3.2 ตัวอย่างที่นำมาตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์.....	23
3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	23
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียและสารเคมี.....	25
3.5 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และด้อยอ้างถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	33
4.1 ผลของปริมาณเชื้อ <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ที่ปนเปื้อนในกะปิกจากแหล่ง ต่างๆและกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิในโรงพยาบาล.....	33
4.1.1 ปริมาณเชื้อ <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ในกะปิ.....	33
4.1.2 ปริมาณเชื้อ <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ในการทำข้าวคลุกกะปิ ของโรงพยาบาลทั้ง 2 แห่ง.....	37
4.2 การแยกเชื้อ <i>B. cereus</i>	41
4.2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ <i>B. cereus</i>	41
4.3 ผลของการให้ความร้อนต่อการทำลายเซลล์และสปอร์ของ เชื้อ <i>B. cereus</i> ในการทำกะปิเคี้ยว.....	44
4.3.1 ผลของการให้ความร้อนต่อการทำลายเซลล์ <i>B. cereus</i> ทั้งหมด.....	44
4.3.2 ผลของการให้ความร้อนต่อการทำลายสปอร์ <i>B. cereus</i> ทั้งหมด.....	47
4.4 ประสิทธิภาพในการให้ความร้อนต่อการอยู่รอดของเชื้อ จุลินทรีย์ในการผลิตข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล.....	49
4.4.1 ประสิทธิภาพการให้ความร้อนต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ใน กระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตบางบอน.....	50
4.4.2 ประสิทธิภาพการให้ความร้อนต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ใน กระบวนการผลิตข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตลาดกระบัง.....	52
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	55
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	55
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	56
บรรณานุกรม.....	58
ภาคผนวก.....	62
ภาคผนวก ก ตัวอย่างที่นำมาตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์.....	63
ภาคผนวก ข อาหารเลี้ยงเชื้อและการตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์.....	66
ภาคผนวก ค ขั้นตอนการผลิตข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล.....	77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ง ผลวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของการผลิต ข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล.....	82
ภาคผนวก จ ผลการยืนยันสายพันธุ์เชื้อ <i>C. perfringens</i> จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.....	87
ประวัติผู้เขียน.....	89



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ความแตกต่างของโรคอาหารเป็นพิษจาก <i>B. cereus</i> เป็นพิษ.....	5
2.2 โภชนาการข้าวคลุกกะปิต่องาน.....	9
2.3 คุณลักษณะทางเคมีของกะปิตาม (มอก. 1080-2535).....	10
2.4 สารปนเปื้อนของกะปิตาม (มอก. 1080-2535).....	11
2.5 ค่ามาตรฐานทางจุลชีววิทยาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมชุมชนของผลิตภัณฑ์กะปิตาม มอก. 1080 -2535.....	11
2.6 ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่องเกณฑ์คุณภาพทาง จุลชีววิทยาของอาหารหมักพื้นเมืองที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น แหนม กะปิ ปลา ร้า ปลาจ่อม ส้มผัก และบวบ.....	12
2.7 คุณค่าทางโภชนาการของกะปิทั้งหมด.....	14
2.8 มาตรฐานอาหารผู้ป่วยทั่วไป.....	16
2.9 มาตรฐานอาหารเฉพาะโรค.....	19
4.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ของกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบปิดจากโรงงานอุตสาหกรรม.....	33
4.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ของกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบเปิดที่ถูกขายตามตลาดสด.....	34
4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ของกะปิจากโรงพยาบาลต่างๆ.....	35
4.4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ในการผลิตข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตบางบอน.....	38
4.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ในการผลิตข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตลาดกระบัง.....	39
4.6 ผลตรวจยืนยันเชื้อ <i>B. cereus</i> ในกะปิ จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (กระทรวงสาธารณสุข).....	43
4.7 การทนความร้อนของเซลล์ <i>B. cereus</i> ที่ 10^3 cfu/g ในการทำกะปิเคี้ยว.....	45
4.8 การทนความร้อนของเซลล์ <i>B. cereus</i> ที่ 10^6 cfu/g ในการทำกะปิเคี้ยว.....	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต่อ VII อ่างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.9 การทนความร้อนของสปอร์ <i>B. cereus</i> ที่ 10^3 spores/g ในการทำกะปิเคี้ยว.....	47
4.10 การทนความร้อนของสปอร์ <i>B. cereus</i> ที่ 10^6 spores/g ในการทำกะปิเคี้ยว.....	48
4.11 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิที่ปลอดภัยสำหรับผู้ป่วย ในโรงพยาบาลในเขตบางบอน.....	51
4.12 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิที่ปลอดภัยสำหรับผู้ป่วยในโรงพยาบาล ในเขตลาดกระบัง.....	53

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 การผลิตกะปิ.....	13
3.1 วิธีการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลแห่งหนึ่งในเขตบางบอน.....	31
3.2 วิธีการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลแห่งหนึ่งในเขตลาดกระบัง.....	32
4.1 การดัดสีแกรมรูปร่างและการเรียงตัวของ <i>B. cereus</i> ที่แยกได้ จากกะปิตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี.....	41
4.2 การดัดสีสปอร์ <i>B. cereus</i> ที่แยกได้จากกะปิตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี.....	42
4.3 การทนความร้อนของเซลล์ <i>B. cereus</i> ในการทำกะปิเคี้ยวที่ อุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียส ที่เวลา 20 นาที.....	46
4.4 การทนความร้อนของสปอร์ <i>B. cereus</i> ในการทำกะปิเคี้ยวที่ อุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียส ที่เวลา 20 นาที.....	49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และด้อย่างยิ่งถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

Bacillus cereus และ *Clostridium perfringens* เป็นแบคทีเรียที่สร้างสปอร์และมีบทบาทสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ อาการของการเกิดโรคทางเดินอาหารของเชื้อ *B. cereus* เกิดจากการรับประทานอาหารจำพวกข้าวที่มีเชื้อปนเปื้อนและสารพิษ enterotoxin ชนิดทนความร้อนเข้าไป ทำให้เกิดอาการวิงเวียนอาเจียน (emetic toxin) ส่วนอาการของการเกิดโรคทางเดินอาหารของเชื้อ *C. perfringens* type A สร้างสารพิษที่ไม่ทนความร้อนมีระยะฟักตัว 8–24 ชั่วโมง แสดงอาการเจ็บท้องและอุจจาระร่วงอย่างเฉียบพลัน เชื้อเหล่านี้มักสร้างสารพิษได้ในอาหารหลายชนิด (Agata และคณะ, 2002) และเชื้อ *C. perfringens* สร้างสารพิษที่ทนความร้อนสูงได้พบมากในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Andersson และคณะ, 1995)

ข้าวคลุกกะปิเป็นอาหารดั้งเดิมของไทย ดั้งเดิมของข้าวคลุกกะปิคือ ข้าวคลุกปลาตุ๋น โดยลักษณะของข้าวคลุกกะปิต้องมีสีน้ำตาล มีรสชาติของกะปิและมีกลิ่นหอม กะปิที่ใช้ต้องเลือกกะปิอย่างดี มีสีสวย สีไม่คล้ำมาก ข้าวที่ใช้ต้องเป็นข้าวที่หุงไม่แฉะ เม็ดสวย จึงนิยมใช้ข้าวเสาไห้ หรือข้าวหอมมะลิเก่าโดยหุงใช้น้ำน้อย สมัยโบราณจะห่อกะปิด้วยใบตอง แล้วนำไปปิ้งไฟให้มีกลิ่นหอมก่อนนำมาคลุกกับข้าว ปัจจุบันใช้วิธีนำกะปิลงไปผัดในกระทะให้หอมแล้ว คลุกกับข้าวเพื่อช่วยเพิ่มความหอมของกะปิและทำให้เม็ดข้าวมีสีสวย (ศศพินทุ์, 2549) ข้าวคลุกกะปิสามารถบริโภคได้ทุกเพศทุกวัย นอกจากนี้ยังใช้เป็นอาหารของผู้ป่วยในโรงพยาบาลซึ่งในกระบวนการผลิตข้าวคลุกกะปิมีกระบวนการ โดยเริ่มจากนำส่วนผสมซึ่งประกอบไปด้วยกะปิ น้ำตาลทรายและน้ำมันผสมส่วนผสมให้เข้ากันและเคี่ยวกะปิให้มีกลิ่นหอมโดยใช้ระยะเวลาการผัดประมาณ 5–10 นาที และนำมาผัดกับข้าวก็จะได้เป็นข้าวคลุกกะปิ

กะปิเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีกรรมวิธีการผลิตแบบพื้นบ้าน นำมาใช้ในการผลิตอาหาร อาทิเช่น ข้าวคลุกกะปิและน้ำพริก เป็นต้น ในปัจจุบันขาดการจัดการการผลิตกะปิอย่างเหมาะสมจึงทำให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ เชลล์และสปอร์ *B. cereus* จากวัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนการผลิตรวมถึงจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาจากกุ้งและเคยที่ไม่มีการล้างทำความสะอาดเพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ตลอดจนสุขลักษณะของขั้นตอนต่างๆ ในการผลิต เช่น ความสะอาดของภาชนะและอุปกรณ์ต่างๆ ทำให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว (มัทนา, 2538) โดยองค์ประกอบหลักของข้าวคลุกกะปิ คือกะปิซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรสที่ได้รับการบริโภคกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย เมื่อนำกะปิมาทำข้าวคลุกกะปิและในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิมีการให้ความร้อนยังไม่เพียงพอที่จะสามารถทำลายเชื้อ *B. cereus* ได้ในกะปิเกี่ยวกับการให้ความร้อน การบริโภคข้าวคลุกกะปิที่มีการ

ปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* เข้าไปอาจทำให้เกิดความเสียหายในโรคทางเดินอาหาร เช่น อากาหรือท้องเสีย อาเจียนและทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้

ดังนั้นงานวิจัยนี้ ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค โดยเฉพาะเชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกะปิจากโรงงานอุตสาหกรรม ตลาดสด และ โรงพยาบาล เพื่อทราบข้อมูลด้าน ปริมาณและการปนเปื้อนของเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในกะปิ และศึกษาสาเหตุการปนเปื้อนของ เชื้อ *B. cereus* ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล แล้วจึงศึกษาการให้ความร้อนในการ ทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในขั้นตอนการทำกะปิเคี้ยวและนำไปประยุกต์ในการทำ ข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อตรวจเชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* ในผลิตภัณฑ์กะปิจากแหล่งต่างๆ และ กระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อเซลล์และสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ในขั้นตอน การทำกะปิเคี้ยว

1.2.3 เพื่อทดสอบผลของการให้ความร้อนต่อการทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในการ ทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ในงานวิจัยนี้มีเป้าหมายในการหาสาเหตุของการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในกะปิจาก แหล่งต่างๆ และกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล 2 แห่งในเขตบางบอนและเขต ตลาดกระบัง โดยตรวจวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกะปิที่ขายตามตลาดสดและ กะปิจากโรงพยาบาลต่างๆ ตลอดจนเก็บตัวอย่างอาหารจากขั้นตอนการทำข้าวคลุกกะปิของ โรงพยาบาล 2 แห่งในเขตบางบอนและเขตตลาดกระบัง ทำการแยกเชื้อ *B. cereus* ที่พบในตัวอย่างให้ บริสุทธิ์ จากนั้นศึกษาผลของการให้ความร้อนในขั้นตอนการทำกะปิเคี้ยว ที่อุณหภูมิ 97-100 องศา เซลเซียส ที่เวลา 1 5 10 15 และ 20 นาที ในขั้นตอนการทำกะปิเคี้ยวที่มีเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ความเข้มข้นที่ 10^3 และ 10^6 cfu/ml ทำการตรวจหาเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ที่เหลือรอดจากการให้ ความร้อนและคัดเลือกเวลาที่เหมาะสมในการทำลายเชื้อ *B. cereus* ให้หมดจากกะปิเคี้ยว จากนั้นนำ สภาวะดังกล่าวที่ทำลายเชื้อ *B. cereus* ได้หมด มาทดสอบในกระบวนการให้ความร้อนใน กระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลและเก็บตัวอย่าง กะปิ กะปิเคี้ยว ข้าวคลุกกะปิ ข้าวสาร และข้าวสวย มาตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count), *B. cereus* และ *C. perfringens*

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบปริมาณเชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* ที่ปนเปื้อนในกะปิและกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล

1.4.2 ทราบผลของการให้ความร้อนต่อการทำลายเซลล์และสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ในการทำกะปิเคี้ยว

1.4.3 ได้กระบวนการทำข้าวคลุกกะปิที่ปลอดภัยสำหรับผู้ป่วยในโรงพยาบาล



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 เชื้อบาซิลลัส ซีเรียส (*Bacillus cereus*)

2.1.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *B. cereus*

B. cereus มีรูปร่างเป็นท่อนขนาด 0.9 ไมครอน เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (ศุภชัย, 2549) ต้องการออกซิเจนในการเจริญ สร้างสปอร์ทนความร้อนสูง รูปร่างเป็นท่อน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 30 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดที่สามารถเจริญได้คือ 10 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่สามารถเจริญได้คือ 49 องศาเซลเซียส ช่วง pH ในการเจริญได้ดีคือ 4.9–9.3

2.1.2 อาหารที่เป็นพิษและแหล่งที่พบ

เชื้อ *B. cereus* นี้มีการกระจายตัวสูงในธรรมชาติและในอาหารแห้ง สามารถพบได้จาก ดิน เนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์จากนํ้านม ผัก ธัญพืช ข้าวผัด ข้าวสวย เส้นหมี่ และขนมอบ (บุญศรี, 2552) และอาหารประเภทแป้งเช่น พาสต้า ก๋วยเตี๋ยว (Finlay และคณะ, 2002)

2.1.3 อาการของโรคและอาหารที่เกี่ยวข้อง

B. cereus ทำให้เกิดอาการของโรคอาหารเป็นพิษ 2 แบบ ดังตารางที่ 2.1 คือ

2.1.3.1 แบบที่มีอาการท้องร่วง เกี่ยวข้องกับการกินอาหารจำพวกเนื้อ ชุป หรือผัก ที่มีเชื้อปนเปื้อน รวมทั้งพวกเครื่องเทศแห้ง อาการที่เกิดขึ้นจะคล้ายกับโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจาก *C. perfringens* หลังจากบริโภคอาหารเข้าไป 8–16 ชั่วโมง และจะหายภายใน 12–14 ชั่วโมง อาการที่เกิดขึ้นคือ ปวดท้อง ถ่ายอุจจาระเหลวเป็นน้ำและปวดอึดเสบอันเนื่องมาจากการถ่ายเบ่ง ส่วนอาการคลื่นไส้และอาเจียนนั้นมักไม่ค่อยเกิดขึ้น (บุญศรี, 2552)

2.1.3.2 แบบที่มีอาการอาเจียน เกี่ยวข้องกับการกินอาหารจำพวกข้าวที่มีเชื้อปนเปื้อน โดยเมื่อหุงข้าวตัวเซลล์จะถูกทำลาย แต่สปอร์ยังคงอยู่ เมื่อเก็บข้าวที่หุงสุกแล้วไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่แช่เย็น ก็จะมีผลให้สปอร์ของเชื้อเจริญขึ้นมาได้และจะสร้างสารพิษที่ทำให้อาเจียน (emetic toxin) ที่ทนความร้อนออกมา ถึงแม้จะนำอาหารไปอุ่นซ้ำอีกครั้งก็ไม่สามารถทำลายสารพิษนี้ได้ ซึ่งหากใช้อุณหภูมิไม่สูงพอ จะเป็นการกระตุ้นการงอกของสปอร์และสารพิษออกมาจนเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งเรียกว่า “Chinese Restaurant Syndrome” ระยะฟักตัวของเชื้อนี้กินเวลา 1–5 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง แต่จะไม่มีไข้และท้องร่วง อาการดังกล่าวเป็นอยู่เพียงระยะเวลาสั้นๆ ราว 6–24 ชั่วโมง (บุญศรี, 2552)

ตารางที่ 2.1 ความแตกต่างของโรคอาหารเป็นพิษจาก *B. cereus* เป็นพิษ

ลักษณะ	กลุ่มอาการถ่ายเหลว	กลุ่มอาการอาเจียน
ปริมาณเชื้อที่ทำให้ป่วย	$10^5 - 10^7$ เซลล์	$10^5 - 10^8$ เซลล์
ตำแหน่งที่สร้างสารพิษ	ในลำไส้ของผู้ป่วย	ในอาหาร
ชนิดสารพิษ	Enterotoxin	Emetic toxin
การทนความร้อน	ไม่ทนความร้อน	ทนความร้อน
ระยะฟักตัว (ชั่วโมง)	8 - 16	0.5 - 5
ระยะเวลาป่วย (ชั่วโมง)	12 - 14	6 - 24
อาการ	ปวดท้อง ถ่ายเหลว	คลื่นไส้ อาเจียน

ที่มา : ศุภชัย (2549)

2.2 เชื้อคลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (*Clostridium perfringens*)

C. perfringens เป็นแบคทีเรียที่สร้างแก๊ส (ศุภชัย, 2549) เชื้อนี้สามารถสร้างเอนทิโรทอกซิน (exotoxin) ได้จำแนกออกเป็น 5 type คือ A B C D และ E โดย type A เป็นชนิดที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (บุญศรี, 2552) ระหว่างการปรุงอาหารสามารถทำลายเซลล์ *C. perfringens* แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ *C. perfringens* ได้ที่อุณหภูมิต่ำและระยะเวลาสั้นๆ ถ้าอุณหภูมิในอาหารลดลง สปอร์ *C. perfringens* ก็จะสามารถงอกได้ (Czeulin และคณะ, 1993)

2.2.1 ลักษณะของ *C. perfringens*

แบคทีเรียที่ทำให้เกิดอาการป่วยคือ *C. perfringens* type A เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อน ไม่เคลื่อนที่ เป็นพวกที่เจริญในสภาพไร้ออกซิเจน มีการสร้างสปอร์ที่ปลายรูปไข่ที่ด้านในด้านหนึ่งของเซลล์ อุณหภูมิสูงสุดในการเจริญคือ 55 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญคือ 43-47 องศาเซลเซียส การเจริญจะถูกยับยั้งที่อุณหภูมิ 15-20 องศาเซลเซียส เชื้อนี้จะไม่เจริญในสภาพ pH ต่ำกว่า 5 หรือสูงกว่า 9 และถูกยับยั้งด้วย 5% NaCl บางสายพันธุ์ถูกยับยั้งด้วย 2.5% sodium nitrate (บุญศรี, 2552) *C. perfringens* มีความแตกต่างจากแบคทีเรียสปอร์อื่นๆ คือ *C. perfringens* สามารถเพิ่มจำนวนได้ในลำไส้สัตว์อันเป็นแหล่งที่พบ *C. perfringens* ได้ (ศุภชัย, 2549)

2.2.2 อาหารเกี่ยวข้องกับโรค

โดยทั่วไปพบสปอร์ของเชื้อนี้ในอาหารดิบ ดิน น้ำเสีย และมูลสัตว์ โดยทั่วไปพบในเนื้อสัตว์ที่นำมาผ่านกระบวนการปรุงสุกและปล่อยให้เย็นลงอย่างช้าๆ จากนั้นทิ้งไว้ช่วงเวลาหนึ่งก่อนที่จะนำมาบริโภค 3 ใน 4 ของการระบาดของโรคที่พบในอาหารพวกเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ปีกมักมี *C. perfringens* ปนเปื้อนอยู่ (บุญศรี, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากโดยทั่วไปมักพบสปอร์ในอาหารดิบและสปอร์นี้เป็นพวกทนความร้อน ได้จึงหลีกเลี่ยงไม่ได้ที่จะพบเชื้อนี้ในอาหารหลายชนิด การปรุงอาหารให้สุกจะช่วยทำลายเซลล์และสปอร์ของเชื้อ *C. perfringens* บางสายพันธุ์ อย่างไรก็ตามสปอร์ที่รอดชีวิตจากการปรุงอาหารอาจมีการงอกและเจริญขึ้นได้หากเก็บแช่เย็นในอุณหภูมิที่ไม่ต่ำเพียงพอ การระบาดของโรคอาจเกี่ยวข้องกับเนื้อย่างหรือปิ้งชิ้นเนื้อใหญ่ๆ สำหรับการอบอาหารนั้น จะไม่สามารถทำลายสปอร์นี้ได้ แต่ทำให้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญน้อยลง นอกจากนั้นอาหารที่ปรุงแล้วหากไม่นำอาหารไปแช่เย็นในอุณหภูมิที่เหมาะสมจะมีผลให้สปอร์ของ *C. perfringens* งอกและเจริญเพิ่มจำนวนขึ้นมาได้ โดยจำนวนเชื้อของ *C. perfringens* ในอาหารจะเป็นตัวบ่งชี้ถึงการประกอบอาหารที่ไม่ถูกสุขลักษณะ

2.2.3 อาการเกิดโรค

ในรูปแบบของเซลล์เชื้อถ้ามีเซลล์อยู่ที่ประมาณ 10^6 – 10^7 เซลล์ต่อกรัม จะทำให้เกิดอาการถ่ายเหลวได้ (ศุภชัย, 2549) อาการของโรคจะปรากฏใน 8–24 ชั่วโมง หลังจากได้รับเชื้อเข้าไป เช่น อาการปวดท้องอย่างรุนแรง ท้องร่วง คลื่นไส้และอาเจียน จะทำให้มีอาการแสดงของโรคเอนทีโรทอกซิน (Enterotoxin) จะถูกปล่อยออกมาในลำไส้เล็กระหว่างกระบวนการสร้างสปอร์ของเซลล์ มีผลทำให้เกิดของเหลวสะสมอยู่ในลำไส้มากกว่าปกติ เอนทีโรทอกซิน (Enterotoxin) ค่อนข้างไวต่อความร้อนและหยุดการทำงานเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที (บุญศรี, 2552)

2.2.4 การป้องกัน

- 2.2.4.1 เก็บอาหารแช่เย็นในอุณหภูมิที่เพียงพอและดำเนินการอย่างรวดเร็ว
- 2.2.4.2 ให้ความร้อนกับอาหารด้วยอุณหภูมิมากกว่า 60 องศาเซลเซียส
- 2.2.4.3 อุ่นให้ความร้อนอาหารที่เหลือจากการรับประทาน
- 2.2.4.4 ผู้ปรุงอาหารต้องสะอาดและมีสุขอนามัยที่ดี

2.3 ข้าวคลุกกะปิ

2.3.1 ประวัติของข้าวคลุกกะปิสมัยรัชกาลที่ 5

มาจากวรรณกรรม ปกฉันทะในรัชกาลที่ 5 หลากหลายเรื่องของพระราชจริยวัตรที่น่าประทับใจในพระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัวในเรื่องข้าวคลุกกะปิ กล่าวว่าเป็นวันหนึ่ง ขณะเรือแล่นอยู่ในทะเลเมดิเตอร์เรเนียน เมื่อพระองค์ขึ้นบรรทม เจ้าคุณพ่อเข้าไปถวายการปรนนิบัติรับใช้มีรับสั่งว่า “ข้าฝืนไปว่าเสด็จยายทรงปรุงข้าวคลุกกะปิให้กินอร่อยมาก ทำให้ข้าอยากกินข้าวคลุกกะปิ เจ้าเตรียมกะปิและเครื่องต่างๆ สำหรับปรุงไว้ให้ข้า พรุ่งนี้ข้าตื่นนอนข้าจะคลุกเอง” เมื่อเสวยเสร็จแล้ว พระทัยเบิกบานและได้ทรงคลุกข้าวพระราชทานด้วยฝีพระหัตถ์เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตอบแทน นับว่าเป็นพระมหากรุณาธิคุณล้นเกล้าฯ ข้าวคลุกกะปินี้ เป็นพระอาหารที่โปรดเสวย
เนื่องๆ อันที่จริงก็เป็นอาหารของเรา คนธรรมดาด้วยและอาจปรุงให้มีรสอร่อยพิเศษขึ้นอย่างไรก็ได้
(นวรรต, 2553)

2.3.2 ต้นตำหรับข้าวคลุกกะปิ

ต้นตำรับของข้าวคลุกกะปิ คือ ข้าวคลุกปลาตุ๋นอย่าง ลักษณะของข้าวคลุกกะปิต้องมี
สีนวล มีรสชาติของกะปิและมีกลิ่นหอมของกะปิ กะปิที่ใช้ต้องเลือกกะปิอย่างดี มีสีสวย สีไม่คล้ำ
มาก ข้าวที่ใช้ต้องเป็นข้าวที่หุงไม่แฉะ เม็ดสวยจึงนิยมใช้ข้าวเสาไห้ โดยหุงใช้น้ำน้อยสมัยโบราณ
จะห่อกะปิด้วยใบตอง แล้วนำไปปิ้งไฟให้มีกลิ่นหอมก่อนนำมาคลุกกับข้าว ในปัจจุบันใช้วิธีนำ
กะปิลงไปผัดในกระทะให้หอมแล้ว คลุกกับข้าวเพื่อช่วยเพิ่มความหอมของกะปิและทำให้เม็ดข้าวมี
สีสวย เครื่องเคียงสำคัญของข้าวคลุกกะปิ ซึ่งจะขาดไม่ได้คือ กุ้งแห้งทอดกรอบและเครื่องเคียง
ประกอบอื่นๆ ได้แก่ หมูหวาน ไข่เจียวหั่นฝอย หอมแดงซอย พริกขี้หนูซอย มะม่วงดิบ ผักชีและ
แตงกวา (ศศพินทุ์, 2549)

การทำข้าวคลุกกะปิที่ขายตามร้านอาหารทั่วไป มีการนำข้าวสวยกับกะปิมาผสม
คลุกเคล้าให้เข้ากันได้เป็นข้าวคลุกกะปิโดยที่ไม่มีการผ่านความร้อนหรือนำกะปิไปผัดกับน้ำมันใน
กระทะให้หอมก่อนจึงนำมาคลุกกับข้าวสวย การทำข้าวคลุกกะปิในโรงพยาบาลส่วนใหญ่ นำกะปิ
น้ำมัน น้ำเปล่าและกะปิ มาผัดให้เข้ากันด้วยความร้อนที่ระยะเวลาสั้นๆ เมื่อได้กะปิที่ผ่านความร้อน
แล้วนำมาผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันกับข้าวสวยก็จะได้เป็นข้าวคลุกกะปิ

2.3.3 วิธีทำข้าวคลุกกะปิ

2.3.3.1 สูตรข้าวคลุกกะปิ (สูตรวิทยาลัยในวัง) (ศรีสมร, 2549)

เครื่องปรุงหมูหวาน

เนื้อหมูติดมันหรือหมูสามชั้น	350	กรัม
น้ำตาลปีบ	½	ถ้วย
น้ำปลา	3	ช้อนโต๊ะ

วิธีทำ

1. ล้างหมูทั้งชิ้นให้สะอาด ใส่หม้อเติมน้ำพอท่วมตั้งไฟต้มให้สุก ตักขึ้นมาล้าง
ลวก หั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมเล็กๆ

2. เอน้ำตาลปีบใส่กระทะตั้งไฟ ใส่ น้ำปลา เติมน้ำ ใส่หมูและเคี่ยวไฟอ่อน ให้น้ำ
หมูนุ่มและเครื่องเข้าเนื้อ เคี่ยวจนงวด ยกลง

เครื่องปรุงข้าวคลุกกะปิ

ข้าวสุก	6	ถ้วย
น้ำมันหมู	¼	ถ้วย
กระเทียมสับละเอียด	3	ช้อนโต๊ะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กะปิ	3	ช้อนโต๊ะ
หอมแดงซอย	½	ถ้วย
หมูหวาน	2	ถ้วย
มะม่วงซอย	½	ถ้วย
ไข่กรอกม้วนแล้วหั่นฝอย	2	ฟอง
กุ้งแห้ง	1	ถ้วย
น้ำปลา	1	ช้อนโต๊ะ
พริกขี้หนูซอย (หรือพริกขี้หนูแห้งทอด)	10	เม็ด

วิธีทำ

- นำกุ้งแห้งปริมาณ ½ ถ้วย ปั่นให้ละเอียด แล้วนำไปทอดให้กรอบ พักไว้
- ใส่น้ำมันลงในกระทะ ตั้งไฟให้ร้อน ใส่กระเทียมลงเจียว พอเหลืองตัดกระเทียมขึ้นใส่กะปิลงไปผัดให้หอมตั้งขึ้น
- คลุกกะปิผัดกับข้าวให้ทั่วชิมรสถ้าไม่เค็มเติมน้ำปลาตามชอบใส่กุ้งแห้งป่น หมูหวาน แบ่งหอมซอยมา ¼ ถ้วย คลุกทั้งหมดลงข้าวเก่าให้เข้ากัน
- จัดข้าวคลุกกะปิลงจาน โรยหน้าด้วย กุ้งแห้งทอด หอมซอย มะม่วงซอย ไข่หั่นฝอย ถ้าชอบเผ็ด โรยพริกขี้หนูตามชอบ

2.3.3.2 ขั้นตอนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล

เริ่มจากการคัดเลือกซื้อวัตถุดิบกะปิคุณภาพดีแบบมีบรรจุภัณฑ์ปิดสนิทจากโรงงานอุตสาหกรรม ในการทำกะปิเคี้ยวมีส่วนประกอบดังนี้ กะปิ 300–400 กรัม น้ำมัน 40 กรัม น้ำตาลทราย 40 กรัม น้ำปลา 700–900 กรัม นำกระทะตั้งไฟใส่น้ำมันลงไปพอน้ำมันร้อนใส่กะปิและน้ำปลา ตามลงไปผัดผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันใส่น้ำตาลทราย เคี้ยวต่อไปจนได้กะปิที่ค่อนข้างข้น นำกะปิเคี้ยวใส่ในข้าวสวยที่อยู่ในอ่างผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน นำผัดลงในกระทะให้ความร้อนจัดเสิร์ฟ ซึ่งกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลส่วนใหญ่จะนำกะปิไปเคี้ยวผ่านความร้อนก่อนนำมาคลุกข้าวสวย ไม่เหมือนกับการทำข้าวคลุกกะปิทั่วไปคือจะนำกะปิไปคลุกกับข้าวสวยเลยหรือบางที่อาจนำกะปิไปผัดกับน้ำมันให้ร้อนแล้วนำมาคลุกกับข้าวสวยกลายเป็นข้าวคลุกกะปิ

2.3.4 โภชนาการของข้าวคลุกกะปิ

ศศพินท์ (2549) กล่าวว่า คุณค่าทางโภชนาการของข้าวคลุกกะปิ 1 จาน ให้พลังงานประมาณ 614 กิโลแคลอรี (ในปริมาณ 296 กรัมต่อ 1 จาน) ซึ่งเป็นปริมาณพลังงาน 1 ใน 3 ของที่แนะนำให้บริโภคต่อวันสำหรับผู้ที่ต้องการพลังงาน 1,600 กิโลแคลอรีต่อวัน ส่วนปริมาณโปรตีน มีค่อนข้างสูงซึ่งมาจากเนื้อหมู กุ้งแห้ง และไข่เจียวเป็นส่วนใหญ่ แต่เมื่อดูปริมาณไขมัน อาจถือได้ว่าข้าวคลุกกะปิเป็นอาหารจานเดียวที่ให้ปริมาณไขมันสูงพอสมควร ข้าวคลุกกะปิที่จัดเสิร์ฟให้ผู้ป่วยเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในโรงพยาบาลจะจัดอยู่ในอาหารประเภททั่วไป ข้าวคลุกกะปิถือเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงและครบถ้วนจากการบริโภคอาหารจานเดียว

ตารางที่ 2.2 โภชนาการของข้าวคลุกกะปิต่อจาน

ปริมาณ ต่อจาน (กรัม)	พลังงาน กิโลแคลอรี	โปรตีน (กรัม)	ไขมัน (กรัม)	คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	เกลือ (กรัม)
296	614	20.3	24.3	78.8	4.7

ที่มา : กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข (2544)

2.4 กะปิ

2.4.1 กะปิ

กะปิเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นเมืองที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมในการปรุงอาหารในหลายๆเมนูของอาหารหรือเป็นเครื่องชูรสควบคู่ไปกับกับข้าว ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทำจากวัตถุดิบพื้นเมืองซึ่งหมักแล้วนำมาตากแห้งตามระยะเวลาที่กำหนด แล้วจึงจะนำมาบริโภค (นงนุช, 2538) กะปิเคยแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ ดังนี้ (อรุณี, 2534)

- กะปิแห้ง มีความชื้นเพียงเล็กน้อยและมีลักษณะเนื้อค่อนข้างเหนียว
- กะปิเหลว มีความชื้นสูงลักษณะเนื้อเหลวเหมือนซอสมะเขือเทศ กะปิชนิดนี้มักทำจากเคยสาลี โดยจะสะเด็ดน้ำประมาณ 15 นาที ผสมเคยต่อเกลือที่อัตราส่วน 2-3 ต่อ 1 สะเด็ดน้ำ 2-3 ชั่วโมง แล้วหมักใส่ภาชนะ

2.4.2 หลักการผลิตกะปิที่ดี

เคยสดทุกชนิดที่ใช้ในการผลิตกะปิควรทำความสะอาด และต้องเลือกสิ่งเจือปนออก นำเกลือเคล้ากับเคยให้เข้ากันให้ทั่ว ควรใช้เกลือชนิดเม็ดควรใส่ให้เพียงพอต่อเคยที่จะนำมาหมักกะปิ เพื่อไม่ให้เคยเน่าเสีย เคยที่เคล้ากับเกลือแล้วควรจะเกรอหรือทับน้ำในภาชนะที่อากาศถ่ายเทได้ดี นอกจากนั้นเคยที่กรองแล้วบดแล้ว ควรนำเคยไปตากแดดก่อนการหมักกะปิทุกครั้ง การอัดกะปิเพื่อการหมักควรจะอัดให้แน่น โดยพยายามไม่ให้มีช่องอากาศอยู่ในกะปิในขั้นตอนการหมัก เพราะจะทำให้กะปิมีกลิ่นไม่ดีหรือรสชาติที่เปลี่ยนแปลงไปได้หลักจากการหมัก ควรหมักกะปิในภาชนะดินเผา เช่น ไหหรือตุ่ม หรือภาชนะที่มีการป้องกันแมลงวันเข้าไป โดยจะปิดปากด้วยใบมะพร้าวและไม้ไผ่ โดยมีผ้าขาวบางคลุมอีกที่หมักกะปิอย่างน้อย 3 เดือน การบรรจุกะปิเพื่อจำหน่าย ควรจะอัดกะปิในภาชนะบรรจุให้แน่น พยายามอย่าให้มีช่องว่างของอากาศอยู่เพราะจะทำให้กะปิเน่าเสียได้ และราคาพาราฟินข้างบนอีกชั้นหนึ่งจึงจัดจำหน่ายได้ (เริงฤดี และจิราวรรณ, 2524)

2.4.3 มาตรฐานที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์กะปิดังนี้

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมชุมชนของผลิตภัณฑ์กะปิ (มอก. 1080-2535)
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นประโยชน์ในการนำเอกสารนี้ไปใช้
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3.1 ลักษณะทั่วไป

- ลักษณะเนื้อต้องละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน เหนียวและไม่แข็งหรือเปื่อยเกินไป
- กลิ่นต้องมีกลิ่นหอมตามธรรมชาติของกะปิ ไม่มีกลิ่นคาวปลา กลิ่นฉุนของแอมโมเนีย กลิ่นสาบ
- รส ต้องมีรสกลมกล่อม เค็มพอดีและไม่มีรสขม
- สี ต้องมีสีตามธรรมชาติของกะปิ เช่น สีเทาอมชมพู สีม่วงเทา สีแดงม่วง สีน้ำตาลอมแดง เป็นต้น
- สิ่งปลอมปน ต้องปราศจากสิ่งปลอมปน เช่น แป้งมันสำปะหลังหรือแป้งต่างๆ
- สิ่งแปลกปลอม ต้องปราศจากสิ่งแปลกปลอม เช่น กรด กรวด ทราษ ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกลของแมลง หนูหรือนก

2.4.3.2 คุณลักษณะทางเคมี

ตารางที่ 2.3 คุณลักษณะทางเคมีของกะปิตาม มอก. 1080-2535

คุณลักษณะ	เกณฑ์ที่กำหนด
ไนโตรเจนทั้งหมด (กรัม)ต่อกิโลกรัมของน้ำหนักอบแห้ง ต้องไม่น้อยกว่า	58
ปริมาณเกลือร้อยละของน้ำหนักอบแห้ง ต้องไม่น้อยกว่า	36
ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดร้อยละของน้ำหนักอบแห้ง ต้องไม่เกิน	0.5
ค่าความเป็น กรด-ด่าง	6.5-7.8
ไนโตรเจนจากกรดอะมิโน (กรัม) ต่อกิโลกรัมต้องไม่น้อยกว่า	50
แอมโมเนียคลอรีน ไนโตรเจน (กรัม) ต่อกิโลกรัมต้องไม่เกิน	7
ร้อยละความชื้น ต้องไม่เกิน	45

ที่มา: มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 1080 – 2535) (2535)

2.4.3.3 วัตถุเจือปนอาหาร

- วัตถุกันเสีย ห้ามใช้วัตถุกันเสีย เว้นแต่ซัลเฟอร์ที่ติดมากับวัตถุดิบและที่เกิดขึ้นเองจากการหมักหรือย่อยสลายตามธรรมชาติต้องไม่เกิน 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
- สี ห้ามใช้สีผสมทุกชนิดในกะปิ
- ห้ามใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาลทุกชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3.4 สารปนเปื้อน

ตารางที่ 2.4 สารปนเปื้อนของกะปิตาม มอก. 1080–2535

สารปนเปื้อน	เกณฑ์ที่กำหนดมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
ปรอท	0.5
ตะกั่ว	1.0
แคดเมียม	1.0

ที่มา: มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 1080 – 2535) (2535)

2.4.3.5 การบรรจุ

– ต้องบรรจุกะปิในภาชนะที่สะอาดแห้ง ทนต่อการกัดกร่อนและปิดได้

สนิท

– น้ำหนักสุทธิของกะปิในแต่ละภาชนะบรรจุ ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่

ฉลาก

2.4.3.6 ค่ามาตรฐานทางจุลชีววิทยาของกะปิ

ตารางที่ 2.5 ค่ามาตรฐานทางจุลชีววิทยาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมชุมชนของผลิตภัณฑ์กะปิ (มอก. 1080 – 2535)

ค่ามาตรฐาน	
Total plate count (cfu/g)	1×10^5 โคโลนีต่อกรัมของตัวอย่างอาหาร
Coliform (MPN)	ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม
<i>Staphylococcus aureus</i>	ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม
<i>Salmonella</i>	ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม
<i>Clostridium perfringens</i>	ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.01 กรัม
Yeast and mold	ต้องไม่เกิน 50 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

ที่มา : มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 1080 – 2535) (2535)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.6 ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารหมักพื้นเมืองที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น แหนม กะปิ ปลาาร้า ปลาจ่อม ส้มฟัก บูด

ค่ามาตรฐาน	
<i>Escherichia coli</i> MPN	ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม
<i>Staphylococcus aureus</i>	ต้องน้อยกว่า 100 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม
<i>Clostridium perfringens</i>	ต้องน้อยกว่า 1000 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม
<i>Bacillus cereus</i>	ต้องน้อยกว่า 1000 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม
<i>Salmonella</i> spp.	ต้องไม่พบในตัวอย่างอาหาร 25 กรัม

ที่มา : ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร (2553)

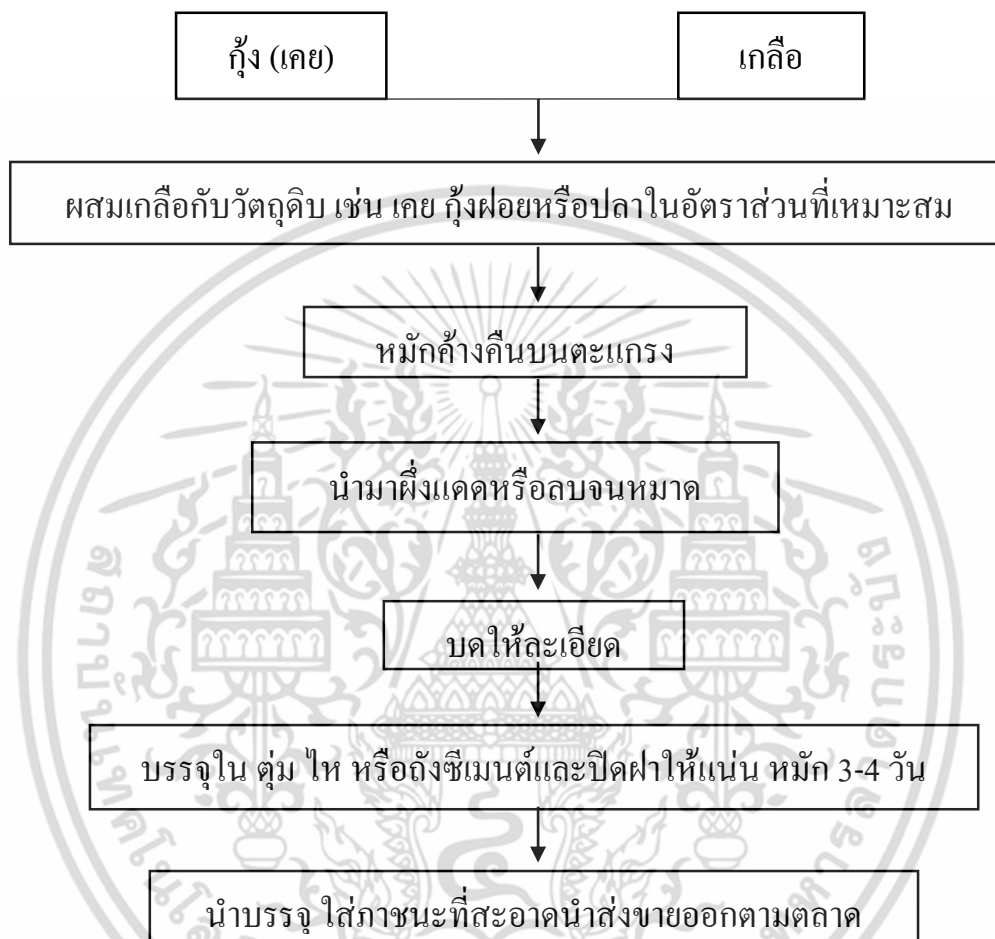
2.4.4 การผลิตกะปิโดยทั่วไป (นฤมล, 2538 และ สุนทร, 2556)

การผลิตกะปิอาศัยหลักการเกี่ยวกับการหมักน้ำปลา คือ อาศัยจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการหมัก เช่น *Bacillus* *Pediococcus* *Lactobacillus* *Micrococcus* *Sarcina* *Clostridium* *Staphylococcus* และเอนไซม์จากเนื้อปลาเป็นตัวการที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในกระบวนการหมัก โดยใส่เกลือในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อยับยั้งการเน่าเสียเนื่องจากจุลินทรีย์คั้งนั้น กระบวนการที่จำเป็นและที่สำคัญที่สุดคือ การย่อยสลายโดยเอนไซม์ โดยเฉพาะการย่อย โปรตีน และไขมัน ซึ่งเป็นผลให้เกิดสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นและรสในผลิตภัณฑ์ กระบวนการผลิตกะปิแสดงใน ภาพที่ 2.1

หลังจากชาวประมงจับกุ้งเคยได้แล้วจะใช้ตะแกรงตาถี่ หรือตะกร้าพลาสติกตาถี่ ร่อนตัวเคย โดยจะใช้น้ำทะเลทำความสะอาดเพื่อให้เคยคงความสดไม่ตายและไม่เสียรสชาติที่ดีของกะปิ ซึ่งตัวเคยละเอียดจะลอดตะแกรงลงไปอยู่ข้างล่างเหลือเศษใบไม้เคยหยาบและสิ่งที่ไม่ต้องการอยู่ข้างบน นำเคยสดที่ได้ไปคลุกเคล้ากับเกลือในอัตราส่วนโดยทั่วไปจะเป็นอัตราส่วนเกลือ 1 ส่วนต่อเคย 10 ส่วน หรือเกลือ 1 ส่วนต่อเคย 12 ส่วน (ถ้าไม่ต้องการเค็มจัด) หลังจากนั้นก็จะนำไปพักไว้ โดยใส่ในภาชนะที่มีช่องระบายเช่น ตะกร้าหรือห่อด้วยอวนตาถี่แล้วทับด้วยวัสดุหนักๆ เพื่อให้ น้ำออกไปบางส่วนทิ้งไว้ 1-2 คืน (เรียกว่าการเกรอะ) นำเคยที่ผ่านการหมักกับเกลือแล้ว ไปตากแดดจัดๆ โดยสามารถทำได้ 2 วิธี คือตากแบบแห้งโดยใช้ตะแกรงถี่ๆ หรืออวนลองได้เคยเพื่อให้น้ำหยดลงด้านล่างได้และตากแบบเปียก จะนำไปตากบนผ้าพลาสติกหรือผ้าฝ้ายซึ่งวิธีนี้คุณค่าทางอาหารของเคยจะไม่สูญเสียไปกับน้ำเหมือนการตากแห้ง หมั่นกลับเอาข้างล่างขึ้น ตากแดดจัด 2-3 วันให้เคยแห้ง (ให้มีความชื้นอยู่บ้างไม่ต้องแห้งสนิท) นำเคยที่ตากแดดเรียบร้อยแล้วไปบดหรือไม่ให้ละเอียด นำเคยที่ไม่แล้วมาอัดใส่ภาชนะหมักเช่น ไห โอ่งดินเผา หรือถังพลาสติก ให้แน่นพยายามไม่ให้มีช่องว่างระหว่างเนื้อกะปิ เพราะจะทำให้เนื้อกะปิทำปฏิกิริยากับอากาศแล้วเกิดกลิ่นหืนที่ไม่

พึงประสงค์ หลังจากอัดแล้วปิดฝาภาชนะให้แน่นกันแมลงและหนอน ระยะเวลาในการหมักจะใช้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลา 3–5 เดือน หลังจากหมักได้ที่ก็จะนำกะปิเคยกที่ได้มาบรรจุในภาชนะที่มีฝาปิดสนิทสามารถนำจำหน่ายได้แต่ถ้าไม่บรรจุก็สามารถนำไปแช่เย็นหรือเก็บไว้ในที่ร่มที่มีฝาปิดเพื่อป้องกันแมลงรบกวน



ภาพที่ 2.1 การผลิตกะปิ

ที่มา: สิริพร (2535)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.5 คุณค่าทางโภชนาการของกะปิและข้าวคลุกกะปิ
กะปิจึงคุณค่าทางโภชนาการ ดังตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 คุณค่าทางโภชนาการของกะปิ ทั้งหมดต่อกะปิ 100 กรัม ในการบริโภค

สารอาหาร	ปริมาณ
พลังงาน	144 กิโลแคลอรี
น้ำ	37.0 กรัม
โปรตีน	23.8 กรัม
ไขมัน	2.8 กรัม
คาร์โบไฮเดรต	5.9 กรัม
เกลือ	30.5 กรัม
แคลเซียม	1565.00 กรัม
ฟอสฟอรัส	1233.00 กรัม
เหล็ก	7.2 กรัม
วิตามินเอรวม	145.00 กรัม
วิตามิน บี2	0.36 กรัม
ไนอาซิน	11.3 กรัม

ที่มา: กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข (2544)

2.4.6 คุณประโยชน์ของกะปิ (กฤษดา, 2558)

2.4.6.1 บำรุงกระดูก แคลเซียมจะถูกปลดปล่อยจากกะปิถ้าผ่านความร้อน เช่น ตอนปิ้งหรือทำข้าวคลุกกะปิด้วยข้าวสวยร้อนๆ

2.4.6.2 แก้โรคโลหิตจาง กะปิอุดมไปด้วยวิตามินบี 12

2.4.6.3 ช่วยให้ฟันแข็งแรงเมื่อนำกะปิไปผ่านความร้อน

2.4.6.4 เปี่ยมด้วยโอเมก้า 3 เป็นน้ำมัน โอเมก้าชนิดเดียวกับปลาน้ำลึกช่วยบำรุงให้

สมองดี

2.4.6.5 ในกะปิจึงสารพัดคุณประโยชน์ที่ดี ที่ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันไม่ให้เชื้อร้ายทำอันตรายกับร่างกาย

2.4.6.6 บำรุงสายตา มีแอนตี้ออกซิเจน

2.4.6.7 ในกะปิเป็นแหล่งสะสมของวิตามินดี

2.4.6.8 ช่วยระบบไหลเวียนเลือดทำงานได้ดี

2.4.6.9 ช่วยป้องกันโรคหัวใจจากโรคต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 การผลิตอาหารผู้ป่วยของครัวโรงพยาบาล (เครือวัลย์และคณะ, 2557)

อาหารที่บริการแก่ผู้ป่วยในโรงพยาบาลมีหลายลักษณะ ซึ่งแตกต่างจากอาหารคนปกติทั่วไปแบ่งประเภทลักษณะอาหารได้ดังนี้ (เครือวัลย์และคณะ, 2557)

2.5.1 อาหารทั่วไป ประกอบด้วย

2.5.1.1 อาหารธรรมดา (Regular diet)

สำหรับผู้ป่วยที่ไม่ต้องใช้อาหารบำบัดโรคและใช้เป็นหลักในการคัดแปลงเป็นอาหารบำบัดโรคในแต่ละวัน

๑ลักษณะอาหาร

คล้ายกับอาหารคนปกติทั่วไป เพียงแต่รสต้องไม่จัด

๑อาหารที่ควรเลี่ยงและข้อควรระวัง

อาหารที่ย่อยยาก เหนียว มีรสจัดมาก อาหารกึ่งสุกกึ่งดิบและอาหารหมักดองบางชนิด เช่น ปูเค็มปลาร้า เป็นต้น

2.5.1.2 อาหารอ่อน (Soft diet)

สำหรับผู้ป่วยที่มีปัญหาการเคี้ยว-กลืน เป็นโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร หลังการผ่าตัด รอดผลการวินิจฉัยโรค ระหว่างพักฟื้นหรือผู้สูงอายุ

๑ลักษณะอาหาร

เป็นอาหารเปื่อย นุ่ม เคี้ยวง่าย ย่อยง่ายและรสชาติค่อนข้างจืด เช่น โจ๊ก ข้าวต้มเครื่อง ข้าวต้มกับ เป็นต้น

๑อาหารที่ควรเลี่ยงและข้อควรระวัง

อาหารที่มีเปลือกแข็ง มีเมล็ด มีใยอาหารมาก ธัญพืชที่มีกากมาก อาหารทอดที่มีไขมันสูงอาหารหมักดอง อาหารที่เหนียว และรสจัด

2.5.1.3 อาหารน้ำใส (Clear liquid diet)

สำหรับผู้ป่วยที่มีการอักเสบอย่างรุนแรง บริเวณอวัยวะที่เกี่ยวกับการย่อยอาหาร เช่น ท้องร่วง อย่างรุนแรงหรือหลังการผ่าตัด

๑ลักษณะอาหาร

ลักษณะเป็นน้ำเหลวใส ไม่มีกาก เช่น ซุปหรือเครื่องดื่มที่ไม่มีกากของผัก ไม่มีเนื้อสัตว์ หรือนม ผสมในอาหารและหากเป็นน้ำผลไม้ ต้องกรองเอาใยและเนื้อผลไม้ ออกก่อน

๑อาหารที่ควรเลี่ยงและข้อควรระวัง

เนื่องจากอาหารน้ำใสเป็นอาหารที่ให้พลังงานต่ำไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย ดังนั้น ควรให้ใช้ในระยะเวลาสั้นๆ ประมาณ 3-4 มีต่อวัน และควรให้ครั้งละปริมาณไม่มาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1.4 อาหารน้ำขึ้น (Full liquid diet)

สำหรับผู้ป่วยที่ไม่สามารถเคี้ยวอาหารได้หรือผู้ป่วยหลังผ่าตัด

๑ลักษณะอาหาร

ลักษณะเป็นน้ำเหลวข้นกว่าอาหารน้ำใส เพราะมีการบดฝักเนื้อสัตว์หรือนมผสมลงไปเป็นน้ำซุปรกนได้ง่าย อาหารนี้ให้พลังงานและสารอาหารสูงกว่าอาหารเหลวใสและอาหารน้ำทุกชนิด รวมทั้ง นมผลไม้ ไอศกรีม นม คัสตาร์ด ซุปต่างๆ สามารถทานได้

๑อาหารที่ควรเลี่ยงและข้อควรระวัง

หลีกเลี่ยงเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์

มาตรฐานอาหารผู้ป่วยทั่วไป แต่ละโรงพยาบาลกำหนดมาตรฐานอาหารไว้แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับนโยบายการบริการ ขอยกตัวอย่างการกำหนดมาตรฐานอาหารไว้ ดังตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 มาตรฐานอาหารผู้ป่วยทั่วไป

ประเภทอาหาร	(พลังงาน) กิโลแคลอรี	โปรตีน (กรัม)	ไขมัน (กรัม)	คาร์โบไฮเดรต (กรัม)
ธรรมดา	1,500–2,000	54–75 (12–15%)	50–56 (25–30%)	225–300 (55–60%)
อ่อน	1,500–1,800	45–68 (12–15%)	42–60 (25–30%)	188–270 (55–60%)
เหลวใส	800	2 (1%)	ต่ำมาก	198 (99%)
เหลวข้น	600–1,000	15–25 (10%)	6–16 (10%)	113–200 (75–80%)

ที่มา : มาตรฐานอาหารความปลอดภัยในโรงพยาบาล ฉบับกระทรวงสาธารณสุข (2557)

2.5.2 อาหารบำบัดโรคหรืออาหารเฉพาะโรค

เป็นอาหารที่ดัดแปลงเพื่อใช้ในการบำบัดโรคมีหลายชนิด ได้แก่

2.5.2.1 อาหารเบาหวาน (diabetic diet)

สำหรับผู้ป่วยที่เป็นเบาหวาน ต้องควบคุมน้ำหนักและระดับน้ำตาลในเลือดเพื่อป้องกันภาวะแทรกซ้อน

๑ลักษณะอาหาร

เหมือนอาหารคนปกติทั่วไปแต่จำกัดปริมาณและชนิดของอาหาร

ที่ให้คาร์โบไฮเดรตสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

๑อาหารที่ควรเลี่ยงและข้อควรระวัง

เครื่องดื่มที่มีรสหวาน ลูกอม ขนมหวาน ของเชื่อม ดอง แซ่ฉิม
ลอยแก้ว ผลไม้กระป๋องและการปรุงรสด้วยน้ำตาล

2.5.2.2 อาหารลดโซเดียมหรือลดเค็มลดเกลือ (Low sodium diet)

สำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ โรคตับแข็ง โรคไต
ครรภ์เป็นพิษ หรือผู้ที่มีอาการบวม

๑ลักษณะอาหาร

เหมือนอาหารทั่วไปแต่ปรุงรสให้อ่อนกว่าอาหารทั่วไป หรือตาม
การกำหนดปริมาณโซเดียมของแพทย์

๑อาหารที่ควรเลี่ยงและข้อควรระวัง

น้ำปลา เกลือ เครื่องจิ้มต่างๆทั้งที่มีรสและไม่มีรสเค็ม อาหารที่
ใส่ผงฟูและผงชูรส อาหารกระป๋อง หมักดอง เนื้อเค็มและปลาเค็ม เป็นต้น

2.5.2.3 อาหารลดไขมัน (Low fat diet)

๑ลักษณะอาหาร

เหมือนอาหารทั่วไปแต่ดัดแปลงการประกอบอาหารให้มีไขมัน
ต่ำกว่าปกติ เช่น ต้ม ตุ่น อบ นึ่ง ย่าง เป็นต้น อาจลดโคเลสเตอรอลร่วมด้วย

๑โอกาสที่ใช้

สำหรับผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของถุงน้ำดี มีความผิดปกติของ
การย่อยและดูดซึมไขมัน คนอ้วนที่ต้องลดน้ำหนัก ผู้ป่วยโรคหัวใจ ผู้มีภาวะไขมันในเลือดสูง ความ
ดันโลหิตสูง

๑อาหารที่ควรเลี่ยงและข้อควรระวัง

หลีกเลี่ยงอาหารที่มีไขมันสูง เนื้อสัตว์ติดมัน เครื่องในสัตว์ทุก
ชนิด หนังเป็ด หนังไก่ น้ำสลัด อาหารทอด อาหารที่มีกะทิ

2.5.2.4 อาหารโปรตีนต่ำ (Low protein diet)

๑ลักษณะอาหาร

อาหารให้พลังงานเพียงพอ จำกัดโปรตีน 0.6 กรัม/น้ำหนักตัว
1 กิโลกรัมต่อวัน อาจมีการจำกัด โซเดียมหรือโปแตสเซียมร่วมด้วย มีทั้งที่เป็นอาหารอ่อนและ
ธรรมดา

๑โอกาสที่ใช้

สำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะ Uremia, Acute renal failure

๑อาหารที่ควรเลี่ยงและข้อควรระวัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลีกเลี่ยงถั่วเมล็ดแห้ง ผักที่มีโปรตีนสูง ควรเลือกโปรตีนที่มีคุณภาพดี เช่น นม ไข่ เนื้อสัตว์และจัดให้ในปริมาณจำกัด

2.5.2.5 อาหารเพิ่มโปรตีน (High protein diet)

○ลักษณะอาหาร

เป็นอาหารธรรมดาหรืออ่อน ที่มีโปรตีนสูงกว่า 15 % ต่อวัน หรือสูงกว่ามาตรฐานที่กำหนด

○โอกาสที่ใช้

จัดให้ผู้ป่วยก่อนหลังผ่าตัด ลำไส้โต หรือมีการสูญเสียโปรตีน

○อาหารที่ควรเลี่ยงและข้อควรระวัง

โปรตีนที่ให้การมีคุณภาพดี เช่น เนื้อ นม ไข่ แต่อาจต้องจำกัดโซเดียม หากมีอาการบวมร่วมด้วย

มาตรฐานของอาหารเฉพาะโรค ไม่แตกต่างจากอาหารทั่วไปหรือเป็นไปตามที่แพทย์กำหนด เพียงแต่ ระบุเพิ่มว่าเป็นอาหารเฉพาะโรคอะไรหรือต้องการสารอาหารอะไรเป็นพิเศษ ซึ่งฝ่ายโภชนาการ/กลุ่มงาน โภชนาศาสตร์จะได้ดำเนินการหรือให้ข้อเสนอแนะที่ถูกต้อง ตามมาตรฐานอาหารที่กำหนดแตกต่างกัน ตารางที่ 2.9

2.5.2.6 อาหารลดกาก (Low residue diet)

○ลักษณะอาหาร

เป็นอาหารที่ดูดซึมได้เกือบหมดหลังการย่อย จึงมีกากเหลือน้อยหรือไม่มีเลย วิตามินและแร่ธาตุอาจไม่เพียงพอถ้าให้แก่ผู้ป่วยหลายวัน

○โอกาสที่ใช้

ผู้ป่วยที่มีอาการท้องร่วงอย่างแรงและเพื่อเป็นการพักอวัยวะผู้ป่วยก่อนหรือหลังการผ่าตัดลำไส้ใหญ่หรือทวารหนัก

○อาหารที่ควรเลี่ยงและข้อควรระวัง

หลีกเลี่ยงนม เนยแข็ง ผัก ผลไม้ทุกชนิด ธัญพืชที่มีกาก อาหารเนื้อเหนียว อาหารรสจัด อาหารทอดคอม้ำมัน เครื่องเทศและของหมักดอง

2.5.3 อาหารทางสายให้อาหาร (Tube feeding)

เป็นอาหารที่มีลักษณะเป็นน้ำผ่านเข้าสู่ร่างกายทางสายให้อาหาร เพราะผู้ป่วยไม่สามารถรับประทานอาหารทางปากได้ มีหลายชนิด ซึ่งชนิดที่นิยมใช้ในโรงพยาบาลประกอบด้วย

ตารางที่ 2.9 มาตรฐานอาหารเฉพาะโรค

ประเภทอาหาร	พลังงาน (กิโลแคลอรี)	โปรตีน (กรัม)	ไขมัน (กรัม)	คาร์โบไฮเดรต (กรัม)
ธรรมดาเบาหวาน	1,500–1,800	54–75 (12–15%)	60–78 (30–35%)	255–300 (55–60%)
อ่อนเบาหวาน	1,500–1,800	45–68 (12–15%)	50–58 (30–35%)	188–270 (55–60%)
ธรรมดา ลดโซเดียม (น้อยกว่า 2,400 มล.)	1,500–1,800	54–75 (12–15%)	60–78 (30–35%)	225–300 (55–60%)
อ่อน ลดโซเดียม (น้อยกว่า 2,400 มล.)	1,500–1,800	45–68 (12–15%)	50–58 (30–35%)	188–270 (55–60%)
ธรรมดา ลดไขมัน	188–270 (55–60%)	56–90 (15–20%)	33–50 (20–25%)	225–293 (60–65%)
อ่อน ลดไขมัน	1,500	40–60 (15–20%)	27–33 (20–25%)	225–244 (60–65%)
ธรรมดา เพิ่มโปรตีน	1,500–1,800	67–100 (15–20%)	60–78 (30–35%)	202–275 (45–55%)
อ่อน เพิ่มโปรตีน	188–270 (55–60%)	56–90 (15–20%)	50–58 (30–35%)	169–248 (45–55%)

ที่มา : มาตรฐานอาหารความปลอดภัยในโรงพยาบาล ฉบับกระทรวงสาธารณสุข (2557)

**หมายเหตุ อาหารเฉพาะโรคทุกชนิดเปลี่ยนแปลงพลังงานและสารอาหารให้แตกต่างไปจากมาตรฐาน ได้ตามแผนการรักษาของแพทย์ซึ่งต้องแจ้งให้นักโภชนาการหรือนักกำหนดอาหารทราบเป็นรายๆ ไปเพื่อทำการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของอาหาร

2.5.3.1 ชนิดปั่นผสม (Blenderized diet; BD)

เป็นอาหารทางสายที่ใช้วัตถุดิบมาจากอาหาร 5 หมู่ นำมาทำให้สุกและปั่นผสมในสัดส่วนที่กำหนดไว้ เพื่อให้ได้พลังงานและสารอาหารตามแผนการรักษาของแพทย์ เนื่องจากเป็นอาหารที่เตรียมเอง จึงมีข้อจำกัดในเรื่องความเข้มข้นของพลังงานและสารอาหาร บางอย่าง โดยทั่วไปอาหารจะมีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5 แคลลอรี่ต่อมิลลิลิตร – 1.2 แคลลอรี่ต่อมิลลิลิตร ถ้าอาหารให้พลังงานสูงกว่า 1.2 แคลลอรี่ต่อมิลลิลิตร ลักษณะของอาหารจะเข้มข้นมาก ทำให้ไหลช้า เกิดการอุดตันที่สายให้อาหารและการ feed อาหารได้ ในด้านของโปรตีนในอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้ป่วยควรได้รับประมาณวันละ 0.8–1.0 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน การให้โปรตีนสูงมาก อาจทำให้อาหารมีความเข้มข้นมาก ไม่สามารถไหลผ่านสายให้อาหารได้ และทำให้เกิดการสูญเสียเกลือ ในกรณีจำเป็นที่ผู้ป่วยต้องได้รับโปรตีนสูงควรปรึกษานักกำหนดอาหารเพื่อหาทางเลือกหรือใช้อาหารกึ่งสำเร็จรูปบางชนิดมาเป็นส่วนประกอบของอาหารนั้น

2.5.3.2 ชนิดสำเร็จรูป (Commercial formula)

ส่วนมากนำเข้าจากต่างประเทศมีหลายสูตรให้เลือกใช้ เพื่อให้เหมาะสมกับภาวะของผู้ป่วยรวมทั้งเฉพาะโรค ลักษณะของอาหารมีทั้งที่เป็นน้ำ (fluid) ซึ่งเพียงเปิดกระป๋องก็สามารถใช้ได้เลยและเป็นผงนำมาผสมน้ำตามอัตราส่วนที่กำหนด จึงสะดวกในการเตรียมสามารถผสมให้อาหารมีความเข้มข้นของพลังงานแตกต่างกันตั้งแต่ 0.5 – 2.0 แคลลอรี่ต่อมิลลิลิตร แต่อาหารชนิดนี้มีราคาค่อนข้างสูง

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.6.1 เชื้อที่ก่อโรคในกะปิ

ชันทอง (2546) คุณภาพทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างกะปิทั้งหมดจำนวน 50 ตัวอย่าง พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามมาตรฐานมอก. 1080 – 2535 ตรวจไม่พบ coliform bacteria *S. aureus* และ *Salmonella* ในทุกตัวอย่างกะปิที่ศึกษา ตรวจพบ *C. perfringens* และเชื้อราที่เกินเกณฑ์มาตรฐาน มอก. 1080 – 2535 จำนวนเชื้อละ 9 ตัวอย่างคิดเป็น 18% ของจำนวนตัวอย่าง กะปิทั้งหมดพบ *C. perfringens* ในกะปิชนิดที่ 1 จำนวน 6 ตัวอย่างและพบในกะปิชนิดที่ 2 จำนวน 3 ตัวอย่างพบเชื้อราในกะปิชนิดที่ 2 จำนวน 9 ตัวอย่างเมื่อแบ่งตามกลุ่มราคาพบว่าในกลุ่มกะปราคาถูกตรวจพบ *C. perfringens* จำนวน 4 ตัวอย่างและพบเชื้อราจำนวน 6 ตัวอย่างซึ่งมากกว่ากลุ่มกะปราคาอื่น

เต็มศักดิ์ (2523) วิเคราะห์กะปิที่เก็บจากตลาดและแหล่งผลิตต่างๆของไทยจำนวน 41 ตัวอย่างโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิดคือ Brain heart infusion agar (BHIA) เดิมเกลือร้อยละ 10 และ Nutrient agar (NA) เดิมเกลือร้อยละ 10 และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสพบว่า BHIA agar เดิมเกลือร้อยละ 10 จะให้ผลในการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกะปิได้ดีกว่าการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar NA เดิมเกลือร้อยละ 10 เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถเจริญได้เร็วและมีขนาดโคโลนีใหญ่ กว่านอกจากนี้พบว่าปริมาณแบคทีเรียในตัวอย่างกะปิมีความแตกต่างกันตามอายุการหมักและปริมาณเกลือที่ใช้ กะปิที่มีอายุการหมักน้อยจะมีปริมาณแบคทีเรียมากกว่าที่มีการหมักนาน ตัวอย่าง เช่น กะปิที่มีอายุการหมัก 2 – 3 วันจะมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด 10^8 cfu/g ขณะที่กะปิที่มีอายุการหมักมากกว่า 1 ปีจะมีปริมาณแบคทีเรีย 10^3 cfu/g สำหรับเกลือพบว่ากะปิที่มีปริมาณเกลือสูงจะมีปริมาณแบคทีเรียต่ำกว่ากะปิที่มีปริมาณเกลือต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รวีวรรณ (2545) ศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสร้างสารพิษของ *B.cereus* โดยทำการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำพริกกะปิทั้งหมด 62 ตัวอย่าง พบว่าน้ำพริกสำเร็จรูปที่นำมาทดสอบทุกชนิดมีจำนวนแบคทีเรียตั้งแต่ 3.0×10^3 ถึง 3.0×10^7 โคโลนีต่อกรัม พบ *B. cereus* 64 ตัวอย่าง โดยพบจำนวน *B. cereus* ในระดับที่ต่ำกว่า 10^5 โคโลนีต่อกรัม ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำพริกมีค่าระหว่าง 4.21–5.23 ค่า Water activity (A_w) ของน้ำพริกมีค่าระหว่าง 0.45–0.94 และมีปริมาณเกลือในระดับ 7.83–10.29%

อรุณี (2534) ตรวจหาจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษและจุลินทรีย์ทั่วไปในกะปิ 3 กลุ่มราคา ได้แก่ ราคาถูก ราคาปานกลาง และราคาแพง พบว่าจำนวนเชื้อราที่ตรวจพบจะแปรผันตามกลุ่มราคาของกะปิกว่าคือ กะปิกกลุ่มราคาถูกจะตรวจพบเชื้อรามากที่สุดมีค่าเฉลี่ย 2.6×10^3 cfu/g คิดเป็นร้อยละ 75 % ของตัวอย่างทั้งหมด ในกลุ่มกะปิราคาปานกลางและราคาแพงพบเพียง 3.7×10 และ 5.0×10 cfu/g ตามลำดับ ซึ่งปริมาณที่ตรวจพบนั้นยังอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้สำหรับการตรวจจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในกะปิทั้ง 3 กลุ่ม

2.6.2 ผลต่อการให้ความร้อนในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus*

Byrne และคณะ (2006) ทำการศึกษา *B. cereus* และ *C. perfringens* เซลล์และสปอร์ในหมู่ม้วน (pork luncheon roll) พร้อมเสิร์ฟในอาหารกลางวันแบบค็อกเทล จากการทดลองนี้ นำเนื้อหมูไปฉีดเชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* เซลล์และสปอร์ แล้วนำตัวอย่างไปให้ความร้อนและเวลาที่แตกต่างกันที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ที่เวลา 1.30 นาที ทำให้เซลล์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ลดลงถึง 6 log เมื่อเทียบกับ *B. cereus* และ สปอร์ *C. perfringens* นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 105 และ 110 องศาเซลเซียส สามารถทำลายสปอร์ได้ แต่ยังคงมีสปอร์เหลืออยู่ ผลการศึกษานี้จะยับยั้ง *B. cereus* และ *C. perfringens* เซลล์ได้

Valero (2003) ศึกษาผลของ pH และอุณหภูมิที่มีการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. cereus* เชื้อ *B. cereus* เป็นจุลินทรีย์ก่อโรคที่ทำให้อาหารเป็นพิษ ที่มักจะพบในพืชผัก สปอร์ของเชื้อ *B. cereus* มักจะอยู่ที่อุณหภูมิกลางๆ และจะมีการเจริญในอุณหภูมิแช่เย็นในผักแตกต่างกันไป โดยการทดลองนี้จะมีตัวอย่างผักคือ แครอท และชุกินี ซึ่งทำเป็นซूपชั้นๆ ในสภาวะแวดล้อมทำให้มีปัจจัยที่ทำให้มี pH เพิ่มขึ้น และในการเก็บรักษาในห้องที่เหมาะสมจะมีการเจริญของสปอร์แบคทีเรียของเชื้อ *B. cereus* เพิ่มขึ้นได้ในระหว่างการเก็บรักษาผัก pH ที่ 5.0 และอุณหภูมิความเย็นน้อยกว่า 8 องศาเซลเซียส จะมีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ที่ 60 วัน ในผักทั่วไป การป้องกันในการเก็บรักษาผักในที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส จะทำการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้ในแครอทและชุกินี การให้ความร้อนในการทำลายเชื้อ *B. cereus* ในซूपแครอทและซूपชุกินี จะให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7.5 นาที จะกลายเป็นซूपชั้นๆและจะลดอุณหภูมิให้เหลือ 8 องศาเซลเซียส แต่ถ้าผลิตภัณฑ์ผักอยู่ในอุณหภูมิความเย็นที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส จะต้องใช้ความร้อนมากขึ้นในการทำลายเชื้อ *B. cereus* ที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เสาวคนธ์ (2551) จากการศึกษาผลร่วมของความร้อนและความเป็นกรด-ด่างในการทำลายสปอร์ *B. cereus* และ *C. sporogenes* ในผลิตภัณฑ์หน่อไม้รวกต้มบรรจุถุงที่นิยมผลิตกันในจังหวัดกาญจนบุรี การยับยั้งสปอร์ของ *B. cereus* และ *C. sporogenes* มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันคือ การปรับกรดซิดริกที่ (3.5%) สามารถยับยั้งสปอร์ได้ หน่อไม้ที่เพาะด้วยจำนวนสปอร์ตั้งต้นสูงที่ 10^8 spores/g ส่วนหน่อไม้ที่เดิมสปอร์ตั้งต้นต่ำที่ 10^4 spores/g ในสภาวะปรับกรดสามารถยับยั้งสปอร์ได้เร็วกว่าในสภาวะไม่ปรับกรด โดยที่หน่อไม้ขนาดใหญ่ใช้เวลาในการให้ความร้อนเพื่อยับยั้งสปอร์มากกว่าหน่อไม้ขนาดเล็กและอุณหภูมิใจกลางหน่อไม้ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสสามารถยับยั้งสปอร์ได้เร็วกว่าที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ทั้งในหน่อไม้ที่เดิมสปอร์ตั้งต้นต่ำและสูง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงาน

3.1 วัตถุดิบ

วัตถุดิบการทำกะปิเกี่ยวข้องประกอบด้วย

- 3.1.1 กะปิ (ตราช้าง, ประเทศไทย)
- 3.1.2 น้ำมันพืช (คิง, ประเทศไทย)
- 3.1.3 น้ำตาลทราย (มิตรผล, ประเทศไทย)
- 3.1.4 น้ำปราศจากอ็อกซิเจน

3.2 ตัวอย่างที่นำมาตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

3.2.1 กะปิจากแหล่งต่างๆ จำนวน 24 ตัวอย่าง แยกเป็นกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบปิดจากโรงงานอุตสาหกรรม ได้แก่ กะปิแท้ ปราจีนบุรี กะปิตราปากน้ำ สมุทรปราการ กะปิตราไถ่คู่ กรุงเทพฯ กะปิตราปู กรุงเทพฯ กะปิตราเรือใบ สมุทรปราการ กะปิคลองโคน สมุทรสาคร กะปิแท้ คู่ครัวไทย สมุทรสาคร กะปิตราตาช้าง กรุงเทพฯ และกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบเปิดที่วางขายตามตลาดสด ได้แก่ กะปิตลาดเอี่ยมสมบัติ กรุงเทพฯ กะปิตลาดมหาชัย สมุทรสาคร กะปิตลาด หลังสวน ชุมพร กะปิตลาดหนองมน ชลบุรี กะปิตลาดหัวตะเข้ กรุงเทพฯ กะปิตลาดร่มหุบ สมุทรสงคราม

3.2.2 กะปิจากโรงพยาบาลต่างๆ จำนวน 8 ตัวอย่าง ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงพยาบาลลาดกระบังกรุงเทพมหานคร กรุงเทพฯ โรงพยาบาลหลวงพ่อทวีศักดิ์ ชุตินฺธโร อุทิศ กรุงเทพฯ โรงพยาบาลเวชการุณย์รัศมี กรุงเทพฯ โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี โรงพยาบาลสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ ชลบุรี โรงพยาบาลรามาริบัติ กรุงเทพฯ โรงพยาบาลศิริราช กรุงเทพฯ และโรงพยาบาลกลาง กรุงเทพฯ

3.2.3 อาหารในขั้นตอนการทำข้าวคลุกกะปิจากโรงพยาบาล ได้แก่ กะปิ ข้าวสาร ข้าวสวย กะปิเคี้ยว และข้าวคลุกกะปิ ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงพยาบาลในเขตบางบอน กรุงเทพฯ และโรงพยาบาลในเขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ

รายละเอียดของรหัสตัวอย่างกะปิและอาหารในขั้นตอนการทำข้าวคลุกกะปิ จากแหล่งต่างๆ แสดงในภาคผนวก ก.

3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.3.1 เครื่องชั่ง (Balance) (Mettler Toledo, Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.3.2 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Heraeus, Germany)
- 3.3.3 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Heraeus, Germany)
- 3.3.4 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (Heraeus, Germany)
- 3.3.5 ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar air flow) (Bosstech, Thailand)
- 3.3.6 ไมโครเวฟ (Microwave) (Electrolux, China)
- 3.3.7 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) (Mettler, Germany)
- 3.3.8 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (Autoclave) (Tommy, Japan)
- 3.3.9 ไมโครปิเปต (Micropipette) 200 และ 1000 ไมโครลิตร (Gilson, France)
- 3.3.10 เครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer) (Scientific Industries, USA)
- 3.3.11 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (Inolab, Germany)
- 3.3.12 เครื่องวัดอุณหภูมิตัวอย่างอาหาร (Food Thermometer) (CENTER 370, Taiwan)
- 3.3.13 เครื่องตีปั่น (Stomacher) (IUL instruments, Spain)
- 3.3.14 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope) (Nikon ECLIPSE E200, China)
- 3.3.15 จานเพาะเชื้อพลาสติก (Petri dish) ขนาด 15x100 มิลลิเมตร (Kartell, Italy)
- 3.3.16 ทิป (Tips) ขนาด 200 และ 1000 ไมโครลิตร (Gilson, USA)
- 3.3.17 ขวดคูแรน (Laboratory bottle) ขนาด 100 200 500 และ 1000 มิลลิเมตร (Duran, Germany)
- 3.3.18 ช้อนสแตนเลส (Stainless spoon) (หัวม้าลาย, ประเทศไทย)
- 3.3.19 กระจกน้ำแข็ง (Cooler) (Everest, Thailand)
- 3.3.20 เจลความเย็น (Icepack) (Coleman, China)
- 3.3.21 กระทะอลูมิเนียม (Pan) เส้นผ่านศูนย์กลาง 14 นิ้ว (จระเข้, ประเทศไทย)
- 3.3.22 ตะหลิว (Flipper) (หัวม้าลาย, ประเทศไทย)
- 3.3.23 เตาแก๊สปิกนิก (Portable stove) (ปราณีภัณฑ์, ประเทศไทย)
- 3.3.24 ครอบแก๊สปิกนิก (Gas) (Pro camping, Korea)
- 3.3.25 แผ่นกรองปลอดเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร (Sterile filter) (Whatman, UK)
- 3.3.26 หลอดทดลองขนาด (Test tube) 16x150 มิลลิเมตร
- 3.3.27 หลอดทดลองขนาด (Test tube) 13x150 มิลลิเมตร
- 3.3.28 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50 250 500 และ 1000 มิลลิตร
- 3.3.29 กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 50 100 500 และ 1000 มิลลิตร
- 3.3.30 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 และ 500 มิลลิตร
- 3.3.31 ปิเปต (Pipettes) ขนาด 5 และ 10 มิลลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.3.32 แผ่นกระจก (Glass slide)
- 3.3.33 แท่งแก้วรูปตัว L (Spreader)
- 3.3.34 หัวงและเข็มเย็บเชื้อ (Loop, needle)
- 3.3.35 ตะเกียง (Burner)

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียและสารเคมี

3.4.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.4.1.1 Agar (Difco, USA)
- 3.4.1.2 Beef Extract (V.S. Chem house, Thailand)
- 3.4.1.3 Blood Agar (White Group Public, Thailand)
- 3.4.1.4 Brain Heart Infusion (BHI) Broth (Hi Media, India)
- 3.4.1.5 CookMeat Medium (CM) (Difco, USA)
- 3.4.1.6 Dextrose (Merck, Germany)
- 3.4.1.7 Mannitol–Egg Yolk–Polymyxin (MYP) Agar (Difco, USA)
- 3.4.1.8 Lactose Broth (Merck, Germany)
- 3.4.1.9 Peptone (Rajasthan, India)
- 3.4.1.10 Plate Count Agar (PCA) (Difco, USA)
- 3.4.1.11 Trypticase Soy Agar (TSA) (Difco, USA)
- 3.4.1.12 Trypticase Soy Broth (TSB) (Difco, USA)
- 3.4.1.13 ไข่ไก่ (CP, Thailand)

3.4.2 สารเคมี

- 3.4.2.1 Ammonium sulfate ((NH₄)₂SO₄) (Carlo Erba, Italy)
- 3.4.2.2 Calcium chloride (CaCl₂) (Merck, Germany)
- 3.4.2.3 Copper Sulphate penta–hydrate (CuSO₄.5H₂O) (Carlo Erba, Italy)
- 3.4.2.4 Ferrous sulfate heptahydrate (FeSO₄.7H₂O) (Carlo Erba, Italy)
- 3.4.2.5 Malachite green oxalate (C₅₂H₅₄N₄O₁₂) (Ajax Finechem Pty, Australia)
- 3.4.2.6 Manganese chloride tetrahydrate (MnCl₂.4H₂O)
(Ajax Finechem Pty, Australia)
- 3.4.2.7 Magnesium sulfate (MgSO₄) (Carlo Erba, Italy)
- 3.4.2.8 Manganese sulfate monohydrate (MnSO₄.H₂O) (Carlo Erba, Italy)
- 3.4.2.9 Zinc sulfate heptahydrate (ZnSO₄.7H₂O) (Carlo Erba, Italy)
- 3.4.2.10 Phenol red (C₁₉H₁₄O₅S) (Merck, Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปยังบุคคลภายนอก
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.4.2.11 Polymyxin B solution (sigma P1004) (Sigma, USA)
- 3.4.2.12 Potassium dihydrogenphosphate (KH₂PO₄) (Merck, Germany)
- 3.4.2.13 Sodium chloride (NaCl) (Carlo Erba, Italy)
- 3.4.2.14 Sodium hydroxide (NaOH) (Carlo Erba, Italy)
- 3.4.2.15 Ammonium oxalate (C₂H₈N₂O₄) (Carlo Erba, Italy)
- 3.4.2.16 Potassium iodide (KI) (Carlo Erba, Italy)
- 3.4.2.17 Neomycin sulfate (C₂₃H₄₆N₆O) (Merck, Germany)
- 3.4.2.18 Iodine (I₂) (Carlo Erba, Italy)
- 3.4.2.19 Safranin O (Scharlau Chemie S.A., Spain)
- 3.4.2.20 Crystal violet (Carlo Erba, Italy)
- 3.4.2.21 แอลกอฮอล์ 95% (องค์การสุราไทย, ประเทศไทย)

3.5 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.5.1 การตรวจเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* ในตัวอย่างกะปิเก็บจากแหล่งต่างๆ และวัตถุดิบอื่นๆ ในขั้นตอนการทำข้าวคลุกกะปิ

3.5.1.1 การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างกะปิจากตลาดสดต่างๆ และกะปิในโรงพยาบาลต่างๆ รวม 24 ตัวอย่าง และเก็บตัวอย่าง กะปิ ข้าวสาร ข้าวสวย กะปิเคี้ยว และข้าวคลุกกะปิ ในขั้นตอนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลจำนวน 2 แห่ง ในเขตบางบอนและเขตลาดกระบัง ปริมาณ 50 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปิดสนิท จากนั้นเก็บตัวอย่างใส่ในกระติกน้ำแข็งที่บรรจุ ice pack เพื่อรักษาความเย็นไว้ที่อุณหภูมิ 5±1 องศาเซลเซียส ทำการวิเคราะห์ภายใน 12 ชั่วโมง ที่ห้องปฏิบัติการ คณะอุตสาหกรรมเกษตรสถาบันพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยนำมาวัดความเป็นกรด-ด่าง และการตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์

3.5.1.2 การตรวจวัดความเป็นกรด-ด่าง

นำตัวอย่างกะปิตามตลาดสดต่างๆ กะปิในโรงพยาบาลต่างๆ และวัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิจากโรงพยาบาล 2 แห่ง นำมาวัดความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ตามวิธีการของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมของกะปิ (มอก. 1080-2535)

โดยชั่งตัวอย่างอาหาร 10 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร คนให้ตัวอย่างอาหารกระจายเข้ากันดี แล้ววัดด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง

3.5.1.3 การตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.1.3.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างกะปึกจากตลาดสดต่างๆ กะปึกในโรงพยาบาลต่างๆ และ ตัวอย่างอาหารในขั้นตอนการทำข้าวคลุกกะปึก 25 กรัม มาตีปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันกับ Buttlefields phosphate buffer ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องตีปั่นอาหาร (Stomacher) เป็นเวลา 1 นาที ทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางที่ 1:10 1:100 และ 1:1,000 และนำตัวอย่างที่ได้มาตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens*

3.5.1.3.2 วิธีการตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) โดยวิธี Aerobic Plate Count (FDA-BAM, 2001) ปิเปิดตัวอย่างที่เจือจาง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Plate count agar (PCA) เพื่อทำการ pour plate เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีและคำนวณหาค่าในหน่วย cfu/g ของตัวอย่าง การวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ *B. cereus* โดยวิธี spread plate (FDA-BAM, 2001) ปิเปิดตัวอย่างที่เจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหาร Mannitol-egg yolk-polymyxin (MYP) agar ทำการ spread plate บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 30 ชั่วโมง ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ให้นำตัวอย่างที่ตีปั่นแล้ว ผ่านความร้อนในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (สวรรณมณฑ์, 2546) ก่อนทำการเจือจาง จากนั้นปิเปิดตัวอย่างที่ระดับความเจือจางที่ 1:10 1:100 และ 1:1,000 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหาร Mannitol-egg yolk-polymyxin (MYP) agar ทำการ spread plate บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 30 ชั่วโมง เลือกโคโลนีสีชมพูที่สงสัยมาเลี้ยงในอาหาร Trypticase Soy Agar (TSA) บ่มที่ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการถ่ายเชื้อลงใน blood agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีของเชื้อที่เกิดเป็นวงใสกว้าง 2 – 4 มิลลิเมตร และทำการตรวจยืนยันเชื้อ *B. cereus* ใน Trypticase soy agar (TSA) บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่งตรวจยืนยันเชื้อที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *C. perfringens* โดยวิธี Most Probable Number (MPN) (สมภพ และคณะ, 2538) ปิเปิดตัวอย่างเชื้อที่ระดับความเจือจางที่ 1:10 1:100 และ 1:1,000 ลงใน Cook meat medium (CMM) ระดับความเจือจางละ 3 หลอด หลอดละ 1.0 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง สังเกตดูการเกิดก๊าซหรืออาหารขุ่น จากนั้นถ่ายเชื้อ 1 หลอดบนอาหารแข็ง Modified BHI (Modified brain heart infusion) + Egg yolk agar plate บ่มในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ให้ลักษณะ โคโลนีสีดำและมีโซนขุ่นขาวรอบๆ โคโลนี ส่งตรวจยืนยันเชื้อ *C. perfringens* โดยวิธีการ biochemical test ที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข และนำผลมาวิเคราะห์

คำนวณหาปริมาณ MPN ต่อกรัมของ *C. perfringens*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2 การเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* บริสุทธิ์

3.5.2.1 การเก็บเชื้อบริสุทธิ์

นำเชื้อ *B. cereus* บริสุทธิ์ที่ได้รับการยืนยันผลเชื้อ *B. cereus* จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข มาเลี้ยงในอาหาร TSA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการถ่ายเชื้อลงในอาหารใหม่ 2 ครั้ง ก่อนเก็บ stock culture ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2–5 องศาเซลเซียส

3.5.2.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *B. cereus*

3.5.2.2.1 การย้อมแกรม

เตรียมสไลด์ที่สเมียร์ *B. cereus* แล้วทิ้งไว้ให้แห้งในอากาศแล้วจึง heat fix หยดสี Crystal violet ให้ทั่วรอบสเมียร์ทิ้งไว้ 1 นาที ล้างสีออกด้วยน้ำประปาเบาๆ หยด Gram's iodine นาน 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำ ผ่านแอลกอฮอล์ 95% บนรอบสเมียร์อย่างรวดเร็ว จนกระทั่งไม่เห็นสีม่วงหลุดออก ล้างด้วยน้ำ หยดด้วยสี Safranin O ทิ้งไว้ 30 วินาที ล้างด้วยน้ำ ซับให้แห้ง ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ (สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2529)

3.5.2.2.2 การย้อมสปอร์

เตรียมสไลด์ที่สเมียร์ *B. cereus* แล้วทิ้งไว้ให้แห้งในอากาศแล้วนำไปลงไฟ 2–3 วินาที หยด Malachite green ให้ทั่วบริเวณที่สเมียร์ แล้วใช้ตะเกียงลงไฟอ่อนๆ ให้มีไอขึ้น (แต่อย่าให้เดือด) นาน 5 นาที คอยเค็มสีไม่ให้แห้ง เมื่อสไลด์เย็นล้างน้ำจนสีเขียวหมด ย้อมทับด้วย Safranin O นาน 1 นาที ล้างน้ำใช้กระดาษทิชชูซับให้แห้ง ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ ลักษณะของสปอร์จะติดสีเขียวของ Malachite green ส่วนตัวเซลล์จะติดสีแดงของ Safranin O (สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2529)

3.5.3 การศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนต่อการอยู่รอดของเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในการทำกะปิเคี้ยว

3.5.3.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์และสปอร์เชื้อ *B. cereus*

3.5.3.1.1 การเตรียมเซลล์ของเชื้อ *B. cereus*

ใช้ลูป (loop) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ถ่ายเชื้อ *B. cereus* บน TSA slant (ข้อ 3.5.2.1) จำนวน 1 ลูป โดยเทคนิคปลอดเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบปริมาณเชื้อเริ่มต้น โดยปิเปตเชื้อมา 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ให้ได้ระดับความเจือจางที่ต้องการ นำมา spread plate ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนี 30 – 300 โคโลนี คำนวณหาปริมาณเซลล์เชื้อ *B. cereus* ให้มีเซลล์เริ่มต้นที่ 10^8 cfu/ml

3.5.3.1.2 การเตรียมสปอร์ของเชื้อ *B. cereus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการเลี้ยงสปอร์เชื้อ *B. cereus* โดยใช้ลูป (loop) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ถ่ายเชื้อ *B. cereus* บน TSA slant (ข้อ 3.5.2.1) จำนวน 1 ลูป โดยเทคนิคปลอดเชื้อ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ FNA slant (Margarita และคณะ, 1995) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ต่อมาปิเปตน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงใน FNA slant ที่มีสปอร์ *B. cereus* ใช้ลูปขูดเชื้อบนผิวหน้าอาหารออกให้หมด ถ่ายลงในหลอดทดลองปลอดเชื้อ นำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วทำให้เย็นในอ่างน้ำแข็งด้วยเวลา 5 นาที (กนกทิพย์, 2550) จากนั้นปิเปตมา 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยสารละลาย Butterfied's phosphate buffer ให้ได้ระดับเจือจางที่ต้องการ นำมา spread plate ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร TSA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อ ที่มีจำนวนโคโลนี 30 – 300 โคโลนี คำนวณหาปริมาณสปอร์เชื้อ *B. cereus* ให้มีสปอร์เริ่มต้นที่ 10^8 spores/ml

3.5.3.2 การเตรียมตัวอย่างกะปิเคี้ยว

สูตรกะปิเคี้ยว ประกอบด้วย

กะปิ	400	กรัม
น้ำ (น้ำปราศจากไอออน)	500	กรัม
น้ำตาลทราย	40	กรัม
น้ำมัน	40	กรัม
รวม	980	กรัม

ชั่งกะปิ 400 กรัม ตามสูตรใส่ขวดคูแรนนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นจากนั้นเติมส่วนผสมอื่นๆ ตามสูตรที่กำหนด ได้แก่ น้ำ น้ำตาลทราย และน้ำมัน เขย่าให้เข้ากัน นำเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จะได้กะปิเคี้ยวที่ปลอดเชื้อ ทำการตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและเชื้อ *B. cereus* ในกะปิเคี้ยวปลอดเชื้อตามวิธีในข้อ 3.5.3.4

3.5.3.3 ผลการให้ความร้อนต่อการอยู่รอดของเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในกะปิเคี้ยว

นำกะปิเคี้ยวปลอดเชื้อ 980 กรัม จากข้อ 3.5.3.2 ทิ้งให้เย็น จากนั้นปิเปตเซลล์ *B. cereus* (จากข้อ 3.5.3.1.1) หรือสปอร์ *B. cereus* (จากข้อ 3.5.3.1.2) ลงในกะปิเคี้ยวให้ได้เซลล์หรือสปอร์ *B. cereus* ในกะปิเคี้ยวเริ่มต้นที่ 10^3 และ 10^6 cfu/g หรือ spores/g เขย่าให้เข้ากัน เทใส่กระทะอลูมิเนียมที่ผ่านการฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำแล้ว ทำการให้ความร้อนกะปิเคี้ยวโดยนำกระทะตั้งไฟให้ร้อนเคี้ยวกะปิให้ความร้อนโดยเตาแก๊สปิกนิกควบคุมความแรงของไฟที่ระดับไฟอ่อน ติดตามและตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในการเคี้ยวกะปิด้วยเครื่องวัด

อุณหภูมิตัวอย่างอาหารแบบดิจิตอล จนกระทั่งถึงอุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุ่มเก็บตัวอย่างกะปิเคี้ยว ที่เวลา 1, 5, 10, 15 และ 20 นาที นำมาตรวจวิเคราะห์เซลล์หรือสปอร์เชื้อ *B. cereus* ที่เหลือรอด ภายหลังจากให้ความร้อน ตามวิธีการในข้อ 3.5.3.4.2

3.5.3.4 การตรวจวิเคราะห์เซลล์หรือสปอร์เชื้อ *B. cereus* ที่เหลือรอด

3.5.3.4.1 การเตรียมตัวอย่างกะปิเคี้ยว

นำตัวอย่างกะปิเคี้ยวปริมาณ 25 กรัม มาตีปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันกับ Buttlefied's phosphate buffer ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องตีปั่นอาหาร (Stomacher) เป็นเวลา 1 นาที ทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางที่ 1:10, 1:100, 1:1,000 จนถึง 1:100,000 หรือตามความเหมาะสมของปริมาณเชื้อ และนำตัวอย่างที่ได้มาตรวจวิเคราะห์ปริมาณ *B. cereus* ที่เหลือรอดในกะปิเคี้ยว

3.5.3.4.2 การตรวจเซลล์ *B. cereus* ที่เหลือรอด

การวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ *B. cereus* ที่เหลือรอด โดยวิธี spread plate (FDA-BAM, 2001) ปิเปิดตัวอย่างที่เจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหาร MYP agar ทำการ spread plate บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24–30 ชั่วโมง เลื่อนนับโคโลนีที่มีสีชมพู นำมาคำนวณหา *B. cereus* ที่เหลือรอดในกะปิเคี้ยว นำเชื้อ *B. cereus* เก็บลงในอาหาร TSA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บเข้าตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขเพื่อนำเชื้อ *B. cereus* หลักจากได้รับการยืนยันแล้วทำการถ่ายเชื้อลงในอาหารใหม่ 2 ครั้ง ก่อนเก็บ stock culture ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2–5 องศาเซลเซียส แล้วนำมาใช้ในข้อ 3.5.4

3.5.3.4.3 วิธีการตรวจสปอร์ *B. cereus* ที่เหลือรอด

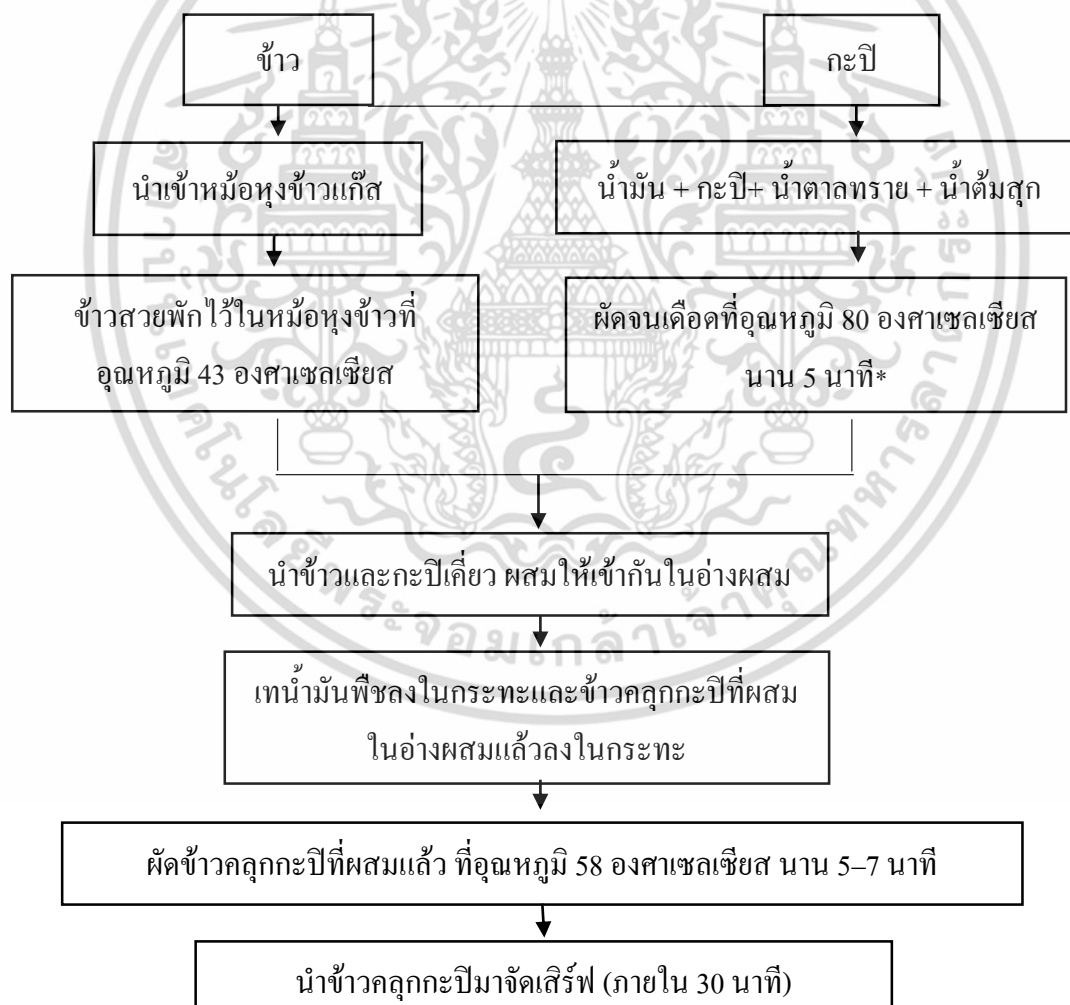
การวิเคราะห์ปริมาณสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ให้นำตัวอย่างที่ตีปั่นแล้ว (จากข้อ 3.4.3.4.1) แบ่งใส่ขวดคูลูเรนปริมาณ 125 มิลลิลิตร นำผ่านความร้อนในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (สุวรรณมณฑ, 2546) ก่อนทำการเจือจาง จากนั้นปิเปิดตัวอย่างที่ระดับความเจือจางที่ 1:10 1:100 1:1,000 จนถึง 1:100,000 หรือตามความเหมาะสมของปริมาณเชื้อ ปิเปิดตัวอย่างที่เจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหาร MYP agar ทำการ spread plate บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24–30 ชั่วโมง (FDA-BAM, 2001)

3.5.3.4.4 การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล

การวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) มีปัจจัยที่สำคัญคือ เซลล์และสปอร์ *B. cereus* ที่ 10^3 และ 10^6 cfu/g ด้วยเวลาในการทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ที่เวลา 1 5 10 15 และ 20 นาที และการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 20 แล้วนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

3.5.4 การทดสอบประสิทธิภาพในการให้ความร้อนต่อการอยู่รอดของเชื้อ *B. cereus* ในการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล

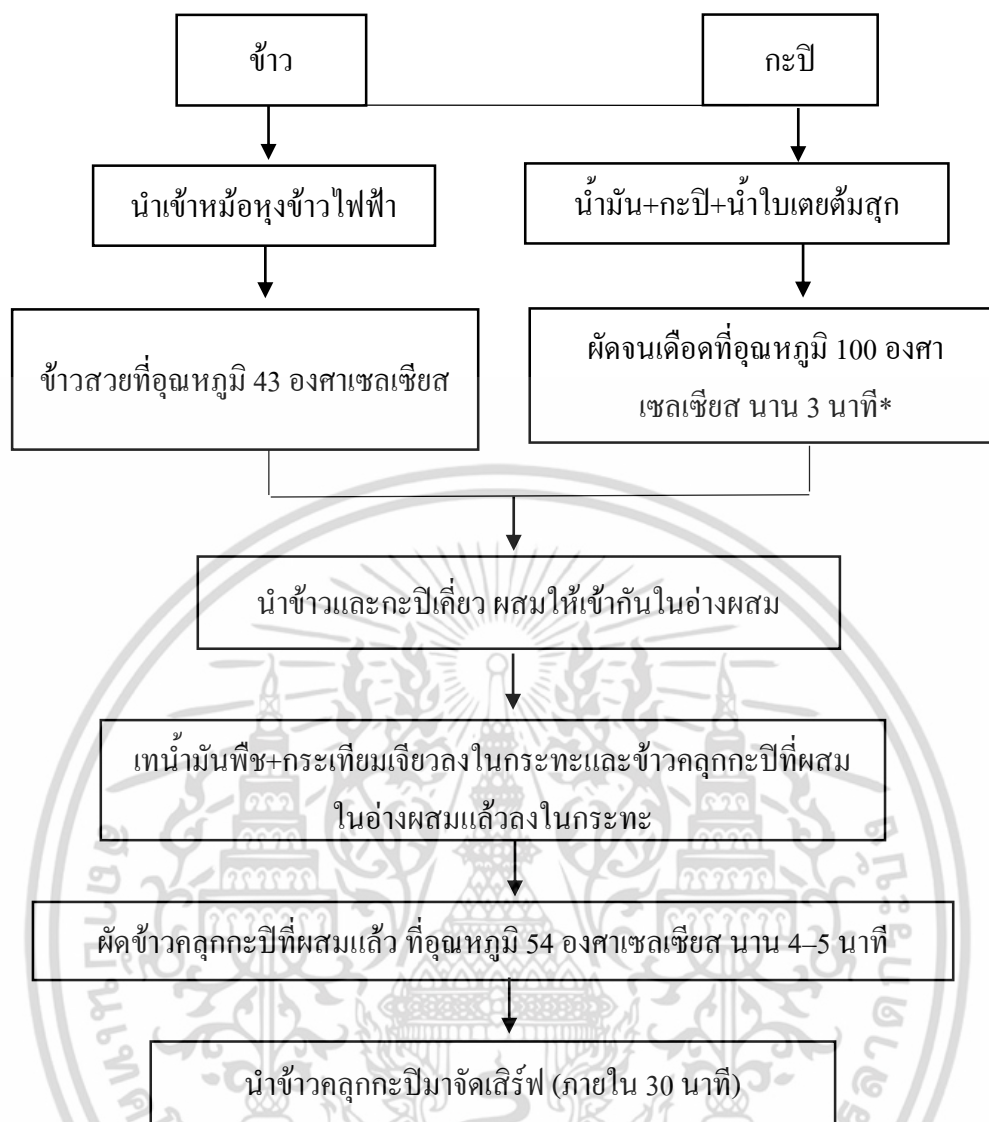
นำสภาวะที่เหมาะสมจากการให้ความร้อนในกะปิเคี้ยวที่สามารถทำลายเซลล์และสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ได้หมด โดยตรวจไม่พบเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (จากข้อ 3.5.3) มาประยุกต์ใช้ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล 2 แห่ง ในเขตบางบอน กรุงเทพฯ และเขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ ตามขั้นตอนการทำข้าวคลุกกะปิในภาพที่ 3.1 และ 3.2 โดยใช้วัตถุดิบ ส่วนผสมและอุปกรณ์ต่างๆของโรงพยาบาล เริ่มจากการเตรียมวัตถุดิบในการทำข้าวคลุกกะปิ ผสมกะปิและเครื่องปรุงต่างๆ นำไปผัดในกระทะ ตั้งไฟให้ความร้อน แต่ทำการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนในขั้นตอนการทำกะปิเคี้ยว ตามที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.5.3 ติดตามและตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิการเคี้ยวกะปิทุกขั้นตอนด้วยเครื่องวัดอุณหภูมิ ตัวอย่างอาหารแบบดิจิทัล



ภาพที่ 3.1 วิธีการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลแห่งหนึ่งในเขตบางบอน

*หมายเหตุ อุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนในกะปิเคี้ยว ก่อนการทดสอบประสิทธิภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.2 วิธีการทำข้าวคั่วกะปิของโรงพยาบาลแห่งหนึ่งในเขตลาดกระบัง

*หมายเหตุ อุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนในกะปิเคี้ยว ก่อนการทดสอบประสิทธิภาพ

จากนั้นนำกะปิเคี้ยวที่ได้ไปคลุกกับข้าวสวย จนกระทั่งได้ข้าวคั่วกะปิ ทำการเก็บตัวอย่างอาหารในกระบวนการทำข้าวคั่วกะปิทุกขั้นตอน ได้แก่ กะปิ ข้าวสาร กะปิเคี้ยว ข้าวสวย และข้าวคั่วกะปิ ตามวิธีในข้อ 3.5.1.1 นำมาตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เชลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ตามวิธีการในข้อ 3.5.1.3.2

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ปริมาณเชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* ที่ปนเปื้อนในกะปิจากแหล่งต่างๆ และกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล

4.1.1 ปริมาณเชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกะปิ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างกะปิจำนวน 24 ตัวอย่าง นำมาศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เซลล์และสปอร์ของ *B. cereus* และ *C. perfringens* รวมทั้งค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบเปิดที่วางขายตามตลาดสด กะปิในบรรจุภัณฑ์แบบปิดจากโรงงานอุตสาหกรรม และกะปิในโรงพยาบาล ได้ผลดังตารางที่ 4.1 4. 2 และ 4.3 โดยที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของตัวอย่างกะปิทั้งหมด มีค่าความเป็นกรด-ด่างในช่วง 6.35-7.70 และค่าเฉลี่ยค่าความเป็นกรด-ด่างของกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบปิดและแบบเปิด และกะปิในโรงพยาบาล มีค่า 7.00 6.90 และ 7.31 ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 1080-2535) ระบุว่ากะปิต้องมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 6.50-7.80

ตารางที่ 4.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ของกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบเปิดที่วางขายตามตลาดสดในจังหวัดต่างๆ

รหัส	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	Total plate count (cfu/g)	<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores/g)	<i>C. perfringens</i> (MPN/g)
001 จ.กรุงเทพฯ	7.06 ± 0.01	800	30	ND	<3
002 จ.สมุทรสาคร	7.40 ± 0.05	90	10	8	3.6
003 จ.ชุมพร	6.81 ± 0.00	230	20	20	9.1
004 จ.ชลบุรี	6.69 ± 0.01	795	36	16.6	<3
005 จ.กรุงเทพฯ	7.00 ± 0.01	550	20	ND	<3
006 จ.ชลบุรี	6.93 ± 0.00	150	10	ND	<3
007 จ.สมุทรสงคราม	6.80 ± 0.01	316	ND	ND	<3
ค่าเฉลี่ย	7.00	418.7	18.0	6.4	1.8
ช่วงค่า	6.80 – 7.40	90 – 800	ND – 36	ND – 20	<3 – 9.1

ND = not detectable

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กะปิในบรรจุภัณฑ์แบบเปิดที่ขายตามตลาดสดในจังหวัดต่างๆ มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในช่วงระหว่าง 90 ถึง 800 cfu/g มีค่าเฉลี่ย 418.7 cfu/g เซลล์ *B. cereus* ตรวจพบ 87.5% (6 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 7 ตัวอย่าง) มีค่าเฉลี่ย 18.0 cfu/g สปอร์ *B. cereus* ตรวจพบ 3 ตัวอย่าง คิดเป็น 42.8% มีค่าเฉลี่ย 6.4 spores/g และ *C. perfringens* พบ 2 ตัวอย่าง คิดเป็น 28.5% มีค่าเฉลี่ย 1.8 MPN/g (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ของกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบปิดจากโรงงานอุตสาหกรรม

รหัส	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	Total plate count (cfu/g)	<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores/g)	<i>C. perfringens</i> (MPN/g)
008 จ.ปราจีนบุรี	7.26 ± 0.00	450	10	10	<3
009 จ.สมุทรปราการ	6.74 ± 0.01	955	35	ND	<3
010 จ.กรุงเทพฯ	6.88 ± 0.01	350	10	20	<3
011 จ.กรุงเทพฯ	6.95 ± 0.01	230	10	ND	<3
012 จ.สมุทรปราการ	7.26 ± 0.01	765	10	20	<3
013 จ.สมุทรสาคร	6.35 ± 0.01	250	30	ND	<3
014 จ.สมุทรสาคร	6.79 ± 0.01	100	10	ND	<3
015 จ.กรุงเทพฯ	6.94 ± 0.01	350	22.2	ND	<3
ค่าเฉลี่ย	6.90	431.3	17.2	6.3	<3
ช่วงค่า	6.35 – 7.26	100 – 955	10 – 35	ND – 20	<3

ND = not detectable

จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบปิดจากโรงงานอุตสาหกรรม พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในช่วงระหว่าง 100 ถึง 955 cfu/g โดยมีค่าเฉลี่ย 431.3 cfu/g เซลล์ของ *B. cereus* ตรวจพบในกะปิทุกตัวอย่างในช่วงค่า 10 ถึง 35 cfu/g มีค่าเฉลี่ย 17.2 cfu/g สปอร์ของ *B. cereus* ตรวจพบ 3 ตัวอย่าง คิดเป็น 37% โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 6.3 spores/g และตรวจไม่พบ *C. perfringens* (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ของกะปิจากโรงพยาบาลต่างๆ แบบบรรจุภัณฑ์ปิดและเปิด

รหัสและแหล่งที่มา	ชนิดบรรจุภัณฑ์	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	Total plate count (cfu/g)		
			<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores/g)	<i>C. perfringens</i> (MPN/g)
016 โรงพยาบาลลาดกระบัง จ.กรุงเทพฯ	แบบปิด	7.60 ± 0.05	331	165	<3
017 โรงพยาบาลเวชการุณย์รัศมี จ.กรุงเทพฯ	แบบปิด	7.24 ± 0.00	20	40	<3
018 โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี	แบบเปิด	—	50	10	<3
019 โรงพยาบาลสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ จ.ชลบุรี	แบบเปิด	7.46 ± 0.00	ND	ND	<3
020 โรงพยาบาลรามธิบดี จ.กรุงเทพฯ	แบบเปิด	6.70 ± 0.00	33.33	ND	<3
021 โรงพยาบาลรามธิบดี จ.กรุงเทพฯ	แบบเปิด	7.04 ± 0.00	18.75	40	<3
022 โรงพยาบาลศิริราช จ.กรุงเทพฯ	แบบปิด	7.53 ± 0.00	56	ND	3.6
023 โรงพยาบาลหลวงพ่อทวีศักดิ์ ชุตินฺธโร อุทิศ จ.กรุงเทพฯ	แบบเปิด	7.26 ± 0.01	266	133	<3
024 โรงพยาบาลกลาง จ.กรุงเทพฯ	แบบเปิด	7.70 ± 0.00	87	50	<3
ค่าเฉลี่ย		7.31	2803.8	73	0.4
ช่วงค่า		7.24-7.70	470-7900	ND-165	<3-3.6

ND = not detectable

กะปิจากโรงพยาบาลมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ในช่วงระหว่าง 470 ถึง 7900 cfu/g มีค่าเฉลี่ย 2803.8 cfu/g เซลล์ *B. cereus* ตรวจพบ 88.9% (8 ตัวอย่างจากทั้งหมด 9 ตัวอย่าง) มีค่าเฉลี่ย 102.7 cfu/g สปอร์ *B. cereus* ตรวจพบ 6 ตัวอย่าง คิดเป็น 66.66% มีค่าเฉลี่ย 73 spores/g และ *C. perfringens* พบ 1 ตัวอย่าง คิดเป็น 11.11% มีค่าเฉลี่ย 0.4 MPN/g (ตารางที่ 4. 3)

การตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมดในกะปิบรรจุภัณฑ์แบบเปิดที่วางขายตามตลาดสด กะปิที่มีบรรจุภัณฑ์แบบปิดจากโรงงานอุตสาหกรรม และกะปิโรงพยาบาลต่างๆ พบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 10^2-10^3 cfu/g ซึ่งไม่เป็นอันตรายในการบริโภคกะปิ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่แตกต่างกันเป็นผลมาจากกะปิที่มีอายุในการหมักที่แตกต่างกัน กะปิที่อยู่ในช่วงกระบวนการหมักมักพบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลักษณะกลิ่นและรสของกะปิที่ดี ได้แก่ *Bacillus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Clostridium* และ *Staphylococcus* เป็นต้น (นฤมล, 2538) สอดคล้องกับ เดิมศักดิ์ (2523) กล่าวว่ากะปิที่มีอายุการหมักน้อยมีปริมาณแบคทีเรียมากกว่ากะปิที่มีการหมักนาน เช่น กะปิที่มีอายุการหมัก 2 – 3 วัน จะมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด 10^8 cfu/g ขณะที่กะปิที่มีอายุการหมักมากกว่า 1 ปี มีปริมาณแบคทีเรีย 10^3 cfu/g

การตรวจพบจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษในกะปิ โดยเฉพาะเชื้อ *B. cereus* ตรวจพบในกะปิเกือบทุกตัวอย่าง เซลล์ *B. cereus* ตรวจพบที่ 91.52% (22 ตัวอย่างจากกะปิทั้งหมด 24 ตัวอย่าง) และสปอร์ตรวจพบที่ 50.00% (12 ตัวอย่างจากทั้งหมด 24 ตัวอย่าง) ยกเว้นกะปิ 2 ตัวอย่าง จาก จ.สมุทรสงครามและโรงพยาบาลสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ จ.ชลบุรี ซึ่งตรวจไม่พบเชื้อ *B. cereus* และเชื้อ *C. perfringens* ตรวจพบที่ 12.48% (3 ตัวอย่างจากทั้งหมด 24 ตัวอย่าง) ของตัวอย่างทั้งหมด ซึ่งงานวิจัยของ ชันทอง (2546) ทำการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างกะปิทั้งหมดจำนวน 50 ตัวอย่าง พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามมาตรฐาน (มอก. 1080 – 2535) ตรวจไม่พบแบคทีเรีย Coliform, *S. aureus* และ *Salmonella* ในทุกตัวอย่างกะปิที่ศึกษา อรุณี (2534) ทำการตรวจสอบสุขลักษณะของผลิตภัณฑ์กะปิในประเทศไทย ในกะปิ 3 กลุ่มราคาพบว่า กะปิกลุ่มราคาถูกจะพบเชื้อรามากที่สุดโดยเฉลี่ย 2.6×10^3 cfu/g กะปิกลุ่มราคาปานกลาง และกลุ่มราคาแพงตรวจพบที่ 3.7×10 และ 5.0×10 cfu/g ตามลำดับ ซึ่งปริมาณที่ตรวจพบนั้นยังอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ สำหรับการตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกะปิ 3 กลุ่มราคาพบว่าเฉลี่ยแล้วจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบนั้น ไม่มีความแตกต่างกันในกะปิทั้ง 3 กลุ่มราคา คือ 1.3×10^3 7.0×10^3 และ 7.7×10^3 ในกะปิกลุ่มราคาถูก ปานกลาง และแพง ตามลำดับ

การปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* และจุลินทรีย์อื่นๆในกะปಿನั้น สาเหตุส่วนใหญ่มาจากการปนเปื้อนของ *B. cereus* ที่มาจากกระบวนการผลิตที่มีการวางตากกับพื้นทำให้เกิดการปนเปื้อน (สิริพร และคณะ, 2539) รวมทั้งขั้นตอนการทำที่มีการผ่านความร้อนไม่เพียงพอทำให้ไม่สามารถทำลายสปอร์ของ *B. cereus* ซึ่งสามารถทนความร้อนได้ ทำให้พบเชื้อ *B. cereus* ในกะปิ ซึ่งแม้พบเพียงจำนวนเล็กน้อย แต่เมื่อผ่านกระบวนการในขั้นตอนการผลิตและวางจำหน่ายที่อุณหภูมิปกติ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เชื้อสามารถเจริญได้เติบโต สปอร์ที่รอดชีวิตก็งอกและเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนมากขึ้นในภายหลัง (Andersson และ Granum, 1998) นอกจากนี้กรรมวิธีในการวางขายก็อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อในภายหลัง (post-contamination) โดยหลังกระบวนการผลิตกะปิแล้ว ผู้ผลิตมีการวางขายในภาชนะเปิดหรือวางขายในกะละมังซึ่งไม่สามารถป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้ (สิริพร และคณะ, 2539) ซึ่งสาเหตุเหล่านี้ทำให้มีโอกาสเกิดเชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* เพิ่มขึ้นในกะปิ ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ

จากผลตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างกะปิ มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและ *B. cereus* ในตัวอย่างกะปิทั้งหมด ไม่เกินเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2553) *B. cereus* ต้องน้อยกว่า 1,000 cfu/g และมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกะปิ (มอก. 1080-2535) ระบุว่าจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 1×10^5 cfu/g, แบคทีเรีย Coliform (MPN) ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม, *Staphylococcus aureus* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม, *Salmonella* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม, *Clostridium perfringens* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.01 กรัม และยีสต์ราต้องไม่เกิน 50 โคลโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ขณะที่เชื้อ *C. perfringens* ตรวจพบในกะปิบรรจุภัณฑ์แบบเปิดที่ถูกขายตามตลาดสดและกะปิในโรงพยาบาลรวม 2 ตัวอย่าง ซึ่งมีค่าเกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมและกะปิที่มีบรรจุภัณฑ์แบบปิดจากโรงงานอุตสาหกรรมตรวจไม่พบเชื้อ *C. perfringens* ซึ่งมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ดังนั้นการเลือกซื้อกะปิควรเลือกซื้อกะปิที่มีบรรจุภัณฑ์แบบปิดจากโรงงานอุตสาหกรรมและเมื่อนำมาประกอบอาหารควรนำกะปิไปผ่านความร้อนก่อนเพื่อทำลายเชื้อก่อโรคอาหารเป็นพิษถึงจะปลอดภัยในการบริโภค

4.1.2 ปริมาณเชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* ในการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล

4.1.2.1 ปริมาณเชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* ในการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตบางบอน

ในการสำรวจกระบวนการผลิตข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลแห่งหนึ่งในเขตบางบอน ทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง กะปิ ข้าวสาร ข้าวสวย กะปิเคี้ยว และข้าวคลุกกะปิ แล้วตรวจวัดอุณหภูมิและเวลาตามขั้นตอนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล (ภาพที่ 3.1) นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เซลล์และสปอร์ของ *B. cereus* และ *C. perfringens* ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตบางบอน

ตัวอย่างอาหาร	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	Total plate count (cfu/g)	<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores/g)	<i>C. perfringens</i> (MPN/g)
กะปิ	7.26 ± 0.01	685	161	80.9	<3
ข้าวสาร	6.64 ± 0.01	835	ND	ND	<3
กะปิเคี้ยว*	6.75 ± 0.01	85	100	5.0	<3
ข้าวสวย	6.75 ± 0.02	ND	ND	ND	<3
ข้าวคลุกกะปิ	7.16 ± 0.01	ND	ND	ND	<3

ND = not detectable

*ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการเก็บตัวอย่างจำนวน 2 ครั้ง ในวันที่ 11 กุมภาพันธ์ 2558 และวันที่ 12 สิงหาคม 2558

**ตรวจพบเชื้อ *B. cereus* ในกะปิเคี้ยวเพียงครั้งเดียว

การทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตบางบอนมีขั้นตอนและวิธีการทำดังนี้ ข้าวสารที่สั่งซื้อมาเป็นกระสอบแล้วนำมาแบ่งใส่ถังเก็บข้าวสารไว้ ทำความสะอาดข้าวหรือข้าวด้วยน้ำประปา จากนั้นใส่น้ำตามสัดส่วนตามที่โรงพยาบาลกำหนด นำเข้าหม้อหุงข้าวแก๊ส นาน 30 นาที พักไว้ นำกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบปิดมาผสมกับน้ำต้มสุก คนให้ละลายเข้ากัน ในชามอ่างผสมแล้วเทลงในกระทะให้ความร้อนใส่น้ำตาลทรายทำการเคี้ยวกะปิที่ช่วงอุณหภูมิ 60–100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10–12 นาที จากนั้นนำกะปิเคี้ยวใส่ในอ่างผสมที่มีข้าวสวย คลุกเคล้าให้เข้ากันเป็นสีน้ำตาลอ่อน ตั้งกระทะจุดไฟใส่น้ำมันพืช เทข้าวคลุกกะปิลงในกระทะผัด ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 58–60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4–5 นาที

ข้าวสารตรวจพบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 835 cfu/g ส่วนเซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ตรวจไม่พบในตัวอย่างข้าวสาร เมื่อนำไปหุงข้าวพบว่าข้าวสวยตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* กะปิซึ่งเป็นวัตถุดิบในการทำข้าวคลุกกะปิตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 685 cfu/g ตรวจพบเซลล์ *B. cereus* ที่ 161 cfu/g สปอร์ *B. cereus* ที่ 80.9 spores/g และตรวจไม่พบ *C. perfringens* ตัวอย่างกะปิเคี้ยวตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 85 cfu/g และยังพบเซลล์ *B. cereus* ที่ 100 cfu/g สปอร์ *B. cereus* ที่ 5 spores/g และตรวจไม่พบ *C. perfringens* ในตัวอย่างกะปิเคี้ยวและข้าวคลุกกะปิตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* (ตารางที่ 4.4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2.2 ปริมาณเชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* ในการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตลาดกระบัง

ในการสำรวจการผลิตข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตลาดกระบัง ทำการเก็บตัวอย่างดังนี้ กะปิ ข้าวสาร กะปิเคี้ยว ข้าวสวย และข้าวคลุกกะปิ แล้วตรวจวัดอุณหภูมิใน ข้าวสวย ข้าวคลุกกะปิ และกะปิเคี้ยว ในระหว่างการทำข้าวคลุกกะปิ (ภาพที่ 3.2) มาวิเคราะห์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. Perfringens* (ตารางที่ 4.5)

กระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตลาดกระบังมี ขั้นตอนและวิธีการทำดังนี้ นำข้าวสารมาทำความสะอาดข้าวหรือข้าวขาวด้วยน้ำประปา จากนั้นใส่น้ำตามสัดส่วนตามที่โรงพยาบาลกำหนด นำเข้าหม้อหุงข้าวไฟฟ้า หุงประมาณ 30 นาที นำกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบปิด มาผสมกับน้ำต้มสุกคลุกเคล้าให้ละลายเข้ากัน ในชามอ่างผสมแล้วนำลงในกระทะ ผัดกะปิเคี้ยว ให้ความร้อนกะปิเคี้ยวที่ 98–100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2–7 นาที จากนั้นนำกะปิเคี้ยว ใส่ในอ่างผสมที่มีข้าวสวย คลุกเคล้าให้เข้ากันเป็นสีน้ำตาลอ่อน ตั้งกระทะจุดไฟใส่น้ำมันพืช กระจายเมล็ด เทข้าวคลุกกะปิลงในกระทะผัดให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3–4 นาที

ตารางที่ 4.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตลาดกระบัง

ตัวอย่างอาหาร	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	Total plate count (cfu/g)	<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores/g)	<i>C. perfringens</i> (MPN/g)
กะปิ	7.55 ± 0.07	2835	804.5	854.5	<3
ข้าวสาร	6.48 ± 0.11	1000	ND	ND	<3
กะปิเคี้ยว**	7.32 ± 0.10	1515	5	35	<3
ข้าวสวย	6.75 ± 0.08	415	ND	ND	<3
ข้าวคลุกกะปิ	7.21 ± 0.02	420	ND	ND	<3

ND = not detectable

*ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการเก็บตัวอย่างจำนวน 2 ครั้ง ในวันที่ 16 ตุลาคม 2558 และ วันที่ 19 พฤศจิกายน 2558

**ค่าที่ได้ในกะปิเคี้ยวพบ *B. cereus* เพียงครั้งเดียว

ข้าวสารตรวจพบเพียงเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 1000 cfu/g ส่วนเซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ตรวจไม่พบในตัวอย่างข้าวสาร ข้าวสวยตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์เพียงอย่างเดียวที่ 415 cfu/g เซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ตรวจไม่พบในตัวอย่างข้าวสวย กะปิตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 2835 cfu/g ตรวจพบเซลล์ *B. cereus* ที่ 804.5 cfu/g สปอร์ *B. cereus* ที่ 854.5 spores/g และตรวจไม่พบ *C. perfringens* ตัวอย่างกะปิเกี่ยวข้องพบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 1515 cfu/g และยังพบเซลล์ *B. cereus* ที่ 5 cfu/g สปอร์ *B. cereus* ที่ 35 spores/g ยังหลงเหลืออยู่ในกะปิเกี่ยวข้องพบว่าการให้ความร้อนในกะปิเกี่ยวข้องและเวลายังไม่เพียงพอที่จะสามารถทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ได้หมดในกะปิเกี่ยวข้อง ตรวจไม่พบ *C. perfringens* ในตัวอย่างกะปิเกี่ยวข้อง ข้าวคลุกกะปิตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 420 cfu/g เซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ตรวจไม่พบในตัวอย่างข้าวคลุกกะปิ

จากการสำรวจกระบวนการผลิตข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลทั้ง 2 แห่ง พบว่าขั้นตอนกระบวนการผลิตข้าวคลุกกะปิยังมีความไม่ปลอดภัย เนื่องจากตรวจพบจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษคือเชื้อ *B. cereus* ในตัวอย่างกะปิและเมื่อนำกะปิมาผ่านกระบวนการให้ความร้อนจนได้เป็นกะปิเกี่ยวข้อง ยังตรวจพบการเหลือรอดของเชื้อ *B. cereus* ในกะปิเกี่ยวข้องหลังจากให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7.5 นาที (เฉลี่ยจาก 2 โรงพยาบาล) แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนในขั้นตอนการทำกะปิเกี่ยวข้องยังไม่เพียงพอที่จะสามารถทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ได้หมด ซึ่งเชื้อ *B. cereus* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สร้างสปอร์และมีบทบาทสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ มีรายงานพบว่า *B. cereus* ในระดับต่ำที่ 10^3-10^4 เซลล์ต่อกรัม สามารถก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ (Andersson และคณะ, 1995) Byrne (2006) รายงานว่าจากผลการให้ความร้อนต่อการทำลายเชื้อ *B. cereus* เซลล์และสปอร์ในหมู่ม้วนพบว่า เซลล์ *B. cereus* เมื่อถูกให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส ที่เวลา 2 นาที เซลล์ *B. cereus* จะลดลงอย่างน้อย 6 Log และที่สปอร์ *B. cereus* เมื่อถูกให้ความร้อนที่ 105 และ 110 องศาเซลเซียส ที่เวลามากกว่า 36 วินาที จะค่อยๆลดสปอร์ *B. cereus* ลงได้แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ *B. cereus* ได้หมดในความเข้มข้นสูงๆ สวรรธมนท์ (2546) รายงานว่าการอยู่รอดของ *B. cereus* ในถ้วยเดี่ยวเส้นใหญ่แช่แข็งด้วยเวลา 30 60 90 120 และ 150 วินาที พบว่าเวลา 60 วินาที (อุณหภูมิเฉลี่ย 97.2 องศาเซลเซียส) การให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ สามารถทำลายเซลล์ *B. cereus* ที่ปนเปื้อนในตัวอย่างอาหาร 5.6 Log cfu/g ได้ ในขณะที่เดียวกันไมโครเวฟช่วยทำลายสปอร์ *B. cereus* ทำให้สปอร์ลดลงถึง 1 Log cfu/g หลังจากให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเป็นเวลา 60 วินาที และเมื่อให้ความร้อนนาน 120 วินาที (อุณหภูมิเฉลี่ย 99.9 องศาเซลเซียส) พบว่าลดปริมาณสปอร์ได้ 2.2 Log cfu/g เมื่อให้ความร้อนเป็นเวลา 150 นาที (อุณหภูมิเฉลี่ย 100.3 องศาเซลเซียส) สามารถทำลายสปอร์ของ *B. cereus* ได้ทั้งหมด

เชื้อ *B. cereus* มักปนเปื้อนมากับวัตถุดิบและมีโอกาสเหลือรอดและเพิ่มจำนวนขึ้นในผลิตภัณฑ์ได้และถ้าให้ความร้อนในขั้นตอนการผลิตข้าวคลุกกะปิที่ไม่เพียงพอ จะทำเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้เชื้อ *B. cereus* เหลือรอดในกระบวนการผลิตได้และส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ป่วยซึ่งเป็นประชากรกลุ่มเสี่ยงต่อการเกิดโรคทางเดินอาหารเป็นพิษ ดังนั้นถ้าทำลายเชื้อเหล่านี้ให้หมดในขั้นตอนการทำกะปิได้ จะทำให้ข้าวคลุกกะปิมีความปลอดภัยในการบริโภค

4.2 ผลการแยกเชื้อ *B. cereus* จากกะปิ

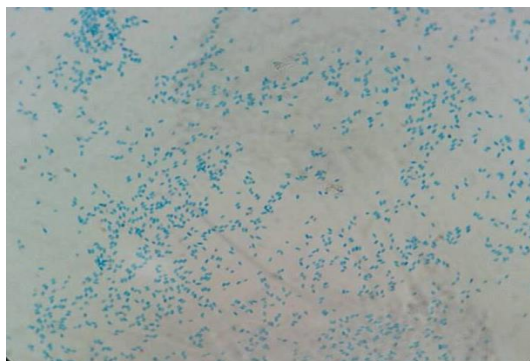
จากการตรวจพบเชื้อ *B. cereus* ในตัวอย่างกะปิในจากข้อ 4.1 โดยตรวจพบลักษณะโคโลนีสีชมพูของเชื้อที่ส่งสัยบนอาหาร Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin (MYP) Agar เนื่องจากเชื้อดังกล่าวไม่สามารถหมักย่อยน้ำตาลแมนนิทอล (Mannitol) ให้เป็นกรดได้และมีรอยขาวขุ่น (opaque zone) รอบๆ โคโลนี เนื่องจากเชื้อดังกล่าวมีการสร้างเอนไซม์เลซิทีเนส (lecithinase) ทำการเก็บเชื้อ *B. cereus* ที่ส่งสัยและพบในตัวอย่างกะปิที่ไม่มีบรรจุกัมมันต์จากตลาดหัวตะเข้ กรุงเทพฯ ตลาดหลังสวน ชุมพร ตลาดมหาชัย สมุทรสาคร และ ตลาดหนองมน ชลบุรี จำนวน 8 ไอโซเลท (isolate) คือ E01 E02 F01 F02 G01 G02 H01 และ H02 (ตารางที่ 4.2) นำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ ทำการเลี้ยงลงในอาหาร TSA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *B. cereus*

นำไอโซเลทที่แยกได้มาตรวจสอบลักษณะของสัณฐานวิทยาของเซลล์ *B. cereus* ด้วยการย้อมสีแบบแกรม (gram stain) ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเซลล์แบคทีเรียมีรูปร่างเป็นท่อนต่อกันเป็นสายขาวมีสีน้ำเงินเป็นแกรมบวก (ภาพที่ 4.1) ทำการย้อมสปอร์และส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าสปอร์ติดสีเขียวของ malachite green ส่วนเซลล์จะติดสีแดงของ safranin O (ภาพที่ 4.2)



ภาพที่ 4.1 การติดสีแกรม รูปร่าง และการเรียงตัวของ *B. cereus* ที่แยกได้จากกะปิตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี



ภาพที่ 4.2 การติดสีสปอร์ *B. cereus* ที่แยกได้จากกะปิตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี

จากการตรวจยืนยันผลการทดลองปฏิบัติการทางเคมีของเชื้อ *B. cereus* ที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เพื่อตรวจยืนยันผลทางชีวเคมีของเชื้อ *B. cereus* จากลักษณะการเจริญเติบโตในอาหาร Nutrient growth (NA) ให้ผลเป็นบวก (+) การย้อมแกรม (Gram stain) ให้ผลเป็นบวก (+) การเคลื่อนที่ของเชื้อ (Motility) ให้ผลเป็นบวก (+) ทดสอบการเกิด Acetyl-methylcarbinol (Voges-Prokauer, vp) ให้ผลเป็นบวก (+) การย่อยน้ำตาลกลูโคสในสถานะไม่มีออกซิเจน (Glucose (AnO₂)) ให้ผลเป็นบวก (+) การย่อยสลายกรดอะมิโนไทโรซีน (Tyrosine) ให้ผลเป็นบวก (+) การเจริญเติบโตของเชื้อที่ 43 องศาเซลเซียส (Growth 43 °C) ให้ผลเป็นบวก (+) การทดสอบการย่อยของเม็ดเลือดแดง (Hemolysis) ให้ผลเป็นบวก (++) และการเจริญแบบไรซอยด์บนอาหาร (Rhizoid growth) ให้ผลเป็นลบ (-) การสร้างผลึกสารพิษบนอาหาร (Toxin crystal) ให้ผลเป็นลบ (-) ดังตารางที่ 4.6 พบว่าทุกไอโซเลทที่แยกได้ทั้งหมดนี้ ให้ผลการทดสอบยืนยันว่าเป็นเชื้อ *B. cereus*

ทำการคัดเลือกไอโซเลทที่ H 01 และ H 02 ซึ่งเป็นเชื้อ *B. cereus* ที่แยกได้จากกะปิตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี เนื่องจากเชื้อ *B. cereus* มีความแข็งแรงและการเจริญเติบโตของเชื้อบนอาหาร MYP Agar มีลักษณะโคโลนีสีชมพูที่มีขนาดใหญ่ชัดเจนกว่าเชื้อที่แยกได้จากแหล่งอื่น นำโคโลนี *B. cereus* มาเลี้ยงในอาหาร TSA เป็น stock culture บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2-5 องศาเซลเซียส และนำมาใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการทดลองให้ความร้อนต่อการทำลายเซลล์และสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ในการทำกะปิเคี้ยวต่อไป

ตารางที่ 4.6 ผลตรวจยืนยันเชื้อ *B. cereus* ในกะปิ จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กระทรวงสาธารณสุข โดยใช้วิธีการดัดแปลงจาก FDA-BAM (2001)

ไอโซเลต (Isolate)	แหล่งที่มา	ชื่อจังหวัด	NA	Gram stain	Motility	VP	Glucose (AnO ₂)	Hemolyse	Rhizoid growth	Tyrosine	Toxin crystal	Growth 43 °C	<i>B. cereus</i> (/ หรือ x)
E 01	ตลาดหัวตะเข้	กรุงเทพมหานคร	+	+	+	+	+	++	-	+	-	+	/
E 02	ตลาดหัวตะเข้	กรุงเทพมหานคร	+	+	+	+	+	++	-	+	-	+	/
F 01	ตลาดหลังสวน	ชุมพร	+	+	+	+	+	++	-	+	-	+	/
F 02	ตลาดหลังสวน	ชุมพร	+	+	+	+	+	++	-	+	-	+	/
G 01	ตลาดมหาชัย	สมุทรสาคร	+	+	+	+	+	++	-	+	-	+	/
G 02	ตลาดมหาชัย	สมุทรสาคร	+	+	+	+	+	++	-	+	-	+	/
H 01	ตลาดหนองมน	ชลบุรี	+	+	+	+	+	++	-	+	-	+	/
H 02	ตลาดหนองมน	ชลบุรี	+	+	+	+	+	++	-	+	-	+	/

**หมายเหตุ

Nutrient growth (NA) = ดัชนีภาวะเจริญในอาหาร

Motility = การเคลื่อนที่ของเชื้อ

Glucose (AnO₂) = การย่อยน้ำตาลกลูโคสในสถานะไม่มีออกซิเจน

Rhizoid growth = การเจริญเติบโตแบบไรซอยด์บนอาหาร

Toxin crystal = การสร้างผลึกสารพิษบนอาหาร

Gram stain = การย้อมแกรม

Voges-Prokauer (VP) = การทดสอบการเกิด Acetyl-methylcarbinol

Hemolysis = การทดสอบการย่อยของเม็ดเลือดแดง

Tyrosine = การย่อยสลายกรดอะมิโนไทโรซีน

Growth 43 °C = การเจริญเติบโตของเชื้อที่ 43 องศาเซลเซียส

4.3 ผลของการให้ความร้อนต่อการทำลายเซลล์และสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ในการทำกะปิเคี้ยว

จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ *B. cereus* และ *C. perfringens* ของกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบปิดจากโรงงานอุตสาหกรรม กะปิในบรรจุภัณฑ์แบบเปิดที่วางขายตามตลาดสด และกะปิในโรงพยาบาล จำนวน 24 ตัวอย่าง พบเซลล์ *B. cereus* ที่ 91.52% (พบ 22 ตัวอย่าง) สปอร์ *B. cereus* ที่ 50.00% (พบ 12 ตัวอย่าง) มากกว่าการตรวจพบเชื้อ *C. perfringens* ที่ 12.48% (พบ 3 ตัวอย่าง) ซึ่งสปอร์ *B. cereus* สามารถทนความร้อนได้ที่อุณหภูมิที่สูงและระยะเวลาสั้น ส่วน *C. perfringens* พบเพียงเล็กน้อยและเชื้อ *C. perfringens* ไม่สามารถเจริญเติบโตในที่มีอากาศได้ ดังนั้นเชื้อ *B. cereus* จึงมีความสำคัญในการทำกะปิเคี้ยว เนื่องจากสปอร์ *B. cereus* ทนความร้อนสูงและใช้ระยะเวลาสั้นในการทำลายเชื้อ แล้วยังตรวจพบอีกว่าในกระบวนการผลิตข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล ทั้ง 2 แห่ง ในเขตบางบอนและในเขตลาดกระบัง มีการตรวจพบเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในขั้นตอนการทำกะปิเคี้ยวอีกด้วยซึ่งทำให้ผู้ป่วยไม่ปลอดภัยในการบริโภคข้าวคลุกกะปิ

ผลของการให้ความร้อนต่อเซลล์และสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ในขั้นตอนการทำกะปิเคี้ยวทำในลักษณะ worse case ที่อาจจะพบ *B. cereus* ปนเปื้อนในกะปิหรือกะปิเคี้ยวสูงสุดในรูปแบบเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ที่ 10^3 และ 10^6 cfu/g โดยการให้ความร้อนที่ 97–100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ในขั้นตอนการทำกะปิเคี้ยวและทำการเก็บตัวอย่างของกะปิเคี้ยวที่ช่วงเวลา 1 5 10 15 และ 20 นาที มีผลการทดลองดังนี้

4.3.1 ผลของการให้ความร้อนต่อการทำลายเซลล์ *B. cereus*

ในการศึกษาผลของการให้ความร้อนในการทำลายเซลล์ *B. cereus* ในกะปิเคี้ยวที่มีเชื้อเริ่มต้นที่ 3.43 ± 0.11 Log cfu/g พบว่าเวลา 1 นาที มีปริมาณเชื้อเหลือรอดที่ 2.36 ± 0.11 Log cfu/g และ%การลดลงของเชื้ออยู่ที่ 90.13% เวลาที่ 5 นาที มีปริมาณเชื้อเหลือรอดที่ 0.46 ± 0.80 Log cfu/g และ%การลดลงของเชื้ออยู่ที่ 98.06% และเวลาที่ 10 15 และ 20 นาที ตรวจไม่พบเซลล์ *B. cereus* ที่ 10^3 cfu/g (ตารางที่ 4.7)

ตารางที่ 4.7 การทนความร้อนของเซลล์ *B. cereus* ที่ 10^3 cfu/g (เชื้อเริ่มต้น 3.43 ± 0.11 Log cfu/g) ในการทำกะปิเคี้ยวที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียสที่ เวลา 20 นาที

เวลา (นาที)	เซลล์ <i>B. cereus</i> ที่เหลือรอด (Log cfu/g)*	การลดลงของเซลล์ <i>B. cereus</i> (Log cfu/g)	%การลดลงของเซลล์ <i>B. cereus</i> **
1	2.36 ± 0.11^a	1.07	90.13
5	0.46 ± 0.80^b	2.97	98.06
10	0.00 ^c	0.00	100.00
15	0.00 ^c	0.00	100.00
20	0.00 ^c	0.00	100.00

*ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

** %การลดลงของเชื้อ = $\frac{\text{เซลล์ } B. cereus \text{ เริ่มต้น (cfu/g)} - \text{เซลล์ } B. cereus \text{ ที่เหลือรอด (cfu/g)}}{\text{เซลล์ } B. cereus \text{ เริ่มต้น (cfu/g)}} \times 100$

a, b, c ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เซลล์ *B. cereus* มีเชื้อเริ่มต้นที่ 6.36 ± 0.22 Log cfu/g พบว่าเวลา 1 นาที มีปริมาณเชื้อเหลือรอดที่ 5.28 ± 0.10 Log cfu/g และ%การลดลงของเชื้ออยู่ที่ 92.30% เวลาที่ 5 นาที มีปริมาณเชื้อเหลือรอดที่ 3.49 ± 0.31 Log cfu/g และ%การลดลงของเชื้ออยู่ที่ 99.85% เวลาที่ 10 นาที มีปริมาณเชื้อเหลือรอดที่ 2.31 ± 0.30 Log cfu/g และ%การลดลงของเชื้ออยู่ที่ 99.98% เวลาที่ 15 นาที มีปริมาณเชื้อเหลือรอดที่ 2.18 ± 0.42 Log cfu/g และ%การลดลงของเชื้ออยู่ที่ 99.98% และในเวลา 20 นาที ไม่พบปริมาณเซลล์ *B. cereus* ที่เหลือรอดที่ 10^6 cfu/g (ตารางที่ 4.8)

การให้ความร้อนการทำกะปิเคี้ยวอุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียส ที่เวลา 10 และ 20 นาที สามารถทำลายเซลล์ *B. cereus* ที่ 10^3 และ 10^6 cfu/g ได้ทั้งหมด (ภาพที่ 4.3) ซึ่งการให้ความร้อนทำให้โปรตีนของเชื้อเกิดการสูญเสียธรรมชาติไป แล้วเกิดลิ่ม ทำให้โปรตีนของเชื้อตกตะกอนและเอ็นไซม์ของเชื้อไม่สามารถทำหน้าที่เจริญเติบโตได้ ถ้ามีน้ำเป็นตัวกลางจะเร่งให้โปรตีนเป็นก้อนเร็วขึ้น เช่น การนึ่ง การต้ม การเคี้ยว จะเร่งให้โปรตีนเกิดการตกตะกอนเร็วขึ้น ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ อายุของจุลินทรีย์ อุณหภูมิ และเวลา จำนวนของจุลินทรีย์และสภาพแวดล้อม (อัมพร, 2559) สวรรณมณฑ์ (2546) รายงานพบว่าเซลล์ *B. cereus* ในปริมาณที่ 10^6 cfu/g มาให้ความร้อนในถ้วยเตี่ยวเส้นใหญ่ ด้วยไมโครเวฟด้วยเวลา 1 นาที (อุณหภูมิเฉลี่ย 97.2 องศาเซลเซียส) สามารถทำลายเซลล์ *B. cereus* ที่ปนเปื้อนในตัวอย่างอาหารลงได้ 5.6 Log cfu/g ได้หมด

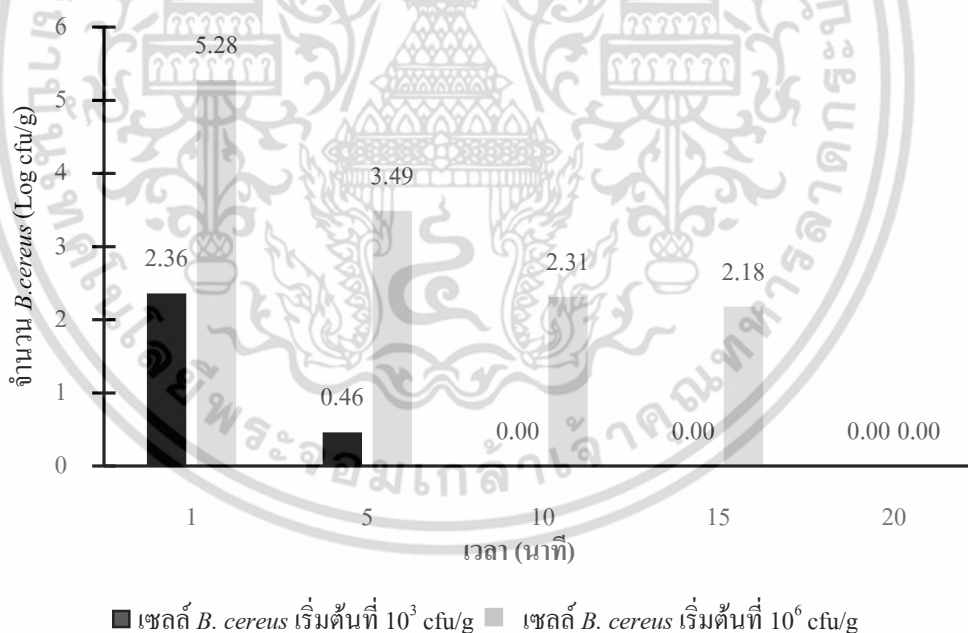
ตารางที่ 4.8 การทนความร้อนของเซลล์ *B. cereus* ที่ 10^6 cfu/g (เชื้อเริ่มต้น 6.36 ± 0.22 Log cfu/g) ในการทำกะปิเดี่ยวที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียสที่ เวลา 20 นาที

เวลา (นาที)	เซลล์ <i>B. cereus</i> ที่เหลือรอด (Log cfu/g)*	การลดลงของเซลล์ <i>B. cereus</i> (Log cfu/g)	%การลดลงของเซลล์ <i>B. cereus</i> **
1	5.28 ± 0.10^a	1.08	92.30
5	3.49 ± 0.31^b	2.87	99.85
10	2.31 ± 0.30^c	4.05	99.98
15	2.18 ± 0.42^c	4.18	99.98
20	0.00^d	0.00	100.00

*ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

** %การลดลงของเชื้อ = $\frac{[\text{เซลล์ } B. cereus \text{ เริ่มต้น (cfu/g)} - \text{เซลล์ } B. cereus \text{ ที่เหลือรอด (cfu/g)}]}{\text{เซลล์ } B. cereus \text{ เริ่มต้น (cfu/g)}} \times 100$

a, b, c, d ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4.3 การทนความร้อนของเซลล์ *B. cereus* ในการทำกะปิเดี่ยวที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียสที่ เวลา 20 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ผลของการให้ความร้อนต่อการทำลายสปอร์ *B. cereus* ทั้งหมด

ในการศึกษาผลการให้ความร้อนในการทำลายสปอร์ *B. cereus* ในกะปิเคี้ยวที่มีสปอร์เริ่มต้นที่ 3.71 ± 0.37 Log spores/g พบว่าเวลา 1 นาที ไม่พบการลดลงของสปอร์เหลือรอดที่ 3.83 ± 0.37 และ%การลดลงของสปอร์อยู่ที่ 0.00% ที่เวลา 5 นาที มีปริมาณสปอร์เหลือรอดที่ 2.73 ± 0.20 Log spores/g และ%การลดลงของสปอร์อยู่ที่ 99.16% และเวลาที่ 10 15 และ 20 นาที ไม่พบสปอร์ *B. cereus* เหลือรอด (ตารางที่ 4.9)

ตารางที่ 4.9 การทนความร้อนของสปอร์ *B. cereus* ที่ 10^3 (เชื้อเริ่มต้น 3.71 ± 0.37 Log spores/g) ในการทำกะปิเคี้ยวที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียสที่ เวลา 20 นาที

เวลา (นาที)	สปอร์ <i>B. cereus</i> ที่เหลือรอด (Log spores/g)*	การลดลงของสปอร์ <i>B. cereus</i> (Log spores/g)	%การลดลงของสปอร์ <i>B. cereus</i> **
1	3.83 ± 0.37^a	-0.12***	0.00
5	2.73 ± 0.20^b	0.98	99.16
10	0.00 ^c	0.00	100.00
15	0.00 ^c	0.00	100.00
20	0.00 ^c	0.00	100.00

*ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

** %การลดลงของเชื้อ = $\frac{[\text{เซลล์ } B. cereus \text{ เริ่มต้น (cfu/g)} - \text{เซลล์ } B. cereus \text{ ที่เหลือรอด (cfu/g)}] \times 100}{\text{เซลล์ } B. cereus \text{ เริ่มต้น (cfu/g)}}$

*** ปริมาณสปอร์เริ่มต้นและสปอร์ที่เหลือรอดที่เวลา 1 นาที (ไม่พบการลดลงของสปอร์ *B. cereus*) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

a, b, c ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ในสปอร์ *B. cereus* ที่ สปอร์เริ่มต้นที่ 6.30 ± 0.27 Log spores/g พบว่าเวลา 1 นาที มีปริมาณสปอร์เหลือรอดที่ 6.23 ± 0.08 Log spores/g และ%การลดลงของเชื้ออยู่ที่ 24.37% เวลาที่ 5 นาที มีปริมาณเชื้อเหลือรอดที่ 5.89 ± 0.40 Log spores/g และ%การลดลงของสปอร์อยู่ที่ 83.29% เวลาที่ 10 นาที มีปริมาณสปอร์เหลือรอดที่ 4.47 ± 0.19 Log spores/g และ%การลดลงของสปอร์อยู่ที่ 98.53% เวลาที่ 15 นาที มีปริมาณสปอร์เหลือรอดที่ 3.77 ± 0.11 Log cfu/ml และ%การลดลงของเชื้ออยู่ที่ 99.64% และเวลาที่ 20 นาที มีปริมาณเชื้อเหลือรอดที่ 2.74 ± 0.05 Log spores/g และ%การลดลงของสปอร์อยู่ที่ 99.96% (ตารางที่ 4.10) จากการให้ความร้อนในการทำกะปิเคี้ยวที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียสทำ ที่เวลา 20 นาที ทำให้ปริมาณสปอร์ลดลงตามลำดับแต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ที่ 10^6 spores/g ได้หมดภายในเวลา 20 นาที (ภาพที่ 4.4) สปอร์มีน้ำอิสระน้อยมาก ชั้นสปอร์

โคท มีโปรตีนมาก ซึ่งมีกรดอะมิโนซิสทีนมากทำให้เกิดพันธะเชื่อม เนื่องจากทำให้ทำให้สปอร์ทนไม่ว่าการฉีกใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความร้อนได้ดีและมีรายงานพบว่าสปอร์ทนต่อการต้มหลายชั่วโมง ความสามารถในการทนความร้อนของเอนโดสปอร์แตกต่างกันไปตามสปีชีส์ แต่ส่วนใหญ่ทนได้ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 10 นาที (นงลักษณ์และปรีชา, 2550) ซึ่งสอดคล้องกับ สวรรณมนท์ (2546) รายงานว่า สปอร์ *B. cereus* ลดลง 1 Log cfu/g หลังจากให้ความร้อนในถ้วยเต๋ยวเส้นใหญ่ ด้วยไมโครเวฟเป็นเวลา 60 วินาที และเมื่อให้ความร้อนนาน 120 วินาที (อุณหภูมิเฉลี่ย 99.9 องศาเซลเซียส) พบว่าลดปริมาณสปอร์ *B. cereus* ได้ถึง 2.2 Log cfu/g เมื่อให้ความร้อนเป็นเวลา 150 วินาที (อุณหภูมิเฉลี่ย 100.3 องศาเซลเซียส) สามารถทำลายสปอร์ของ *B. cereus* ได้หมด

จากการศึกษาการทนความร้อนที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียส ในการทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในกะปิเคี้ยว เซลล์ *B. cereus* ที่ 10^3 cfu/g ใช้เวลา 10 นาที และที่ 10^6 cfu/g ใช้เวลา 20 นาที สามารถทำลายเซลล์ *B. cereus* ได้หมด ส่วนในสปอร์ *B. cereus* ที่ 10^3 spores/g ใช้เวลาการให้ความร้อนที่ 10 นาที และที่สปอร์ *B. cereus* ที่ 10^6 spores/g ไม่สามารถให้ความร้อนในการทำลายสปอร์ *B. cereus* ได้ที่ 20 นาที ยังคงมีปริมาณเชื้อเหลือรอดอยู่ที่ 2.74 Log cfu/ml

ตารางที่ 4.10 การทนความร้อนของสปอร์ *B. cereus* ที่ 10^6 (เชื้อเริ่มต้น 6.30 ± 0.27 Log spores/g) ในการทำกะปิเคี้ยวที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียสที่ เวลา 20 นาที

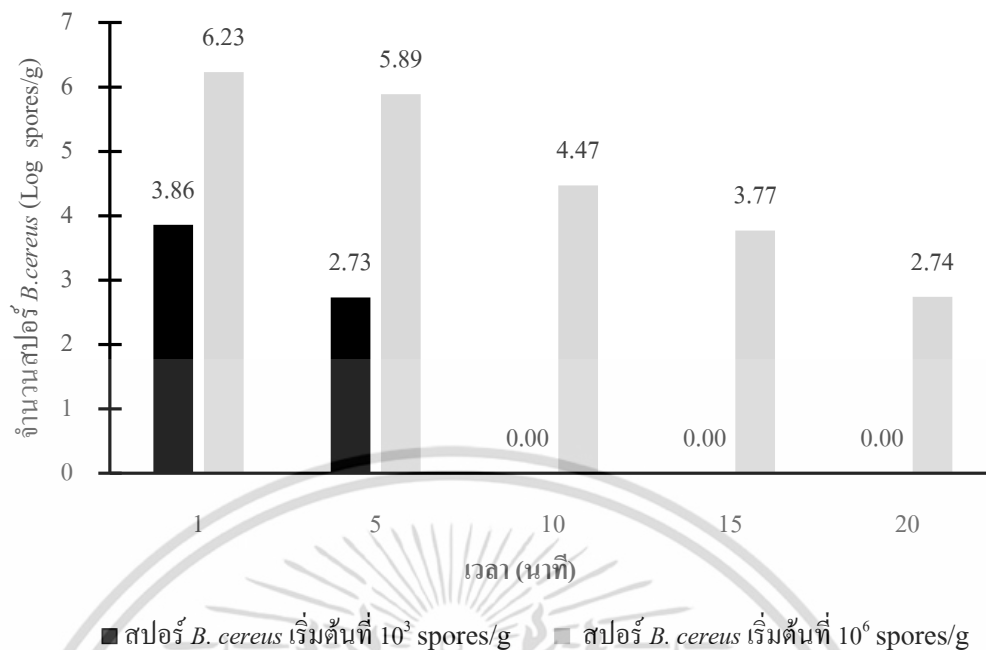
เวลา (นาที)	สปอร์ <i>B. cereus</i> ที่เหลือรอด (Log spores/g)*	การลดลงของสปอร์ <i>B. cereus</i> (Log spores/g)	%การลดลงของสปอร์ <i>B. cereus</i> **
1	6.23 ± 0.08^a	0.07	24.37
5	5.89 ± 0.40^a	0.41	83.29
10	4.47 ± 0.19^b	1.83	98.53
15	3.77 ± 0.11^c	2.53	99.64
20	2.74 ± 0.05^d	2.72	99.96

*ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

** %การลดลงของเชื้อ = $\frac{\text{เซลล์ } B. cereus \text{ เริ่มต้น (cfu/g)} - \text{เซลล์ } B. cereus \text{ ที่เหลือรอด (cfu/g)}}{\text{เซลล์ } B. cereus \text{ เริ่มต้น (cfu/g)}} \times 100$

a, b, c, d ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติ ($p > 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 การทนความร้อนของสปอร์ *B. cereus* ในการทำกะปิเคี้ยวที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียสที่ เวลา 20 นาที

การทดลองในหลอดทดลองนี้เป็นลักษณะ worse case ซึ่งในความเป็นจริงแล้วจะตรวจพบปริมาณเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในกะปิไม่เกิน 10^3 cfu/g (ตารางที่ 4.1 4.2 และ 4.3) ดังนั้นถ้านำการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียส มาประยุกต์ใช้ในการทำกะปิเคี้ยวของโรงพยาบาลและเวลาที่เหมาะสมที่สามารถทำลายเซลล์ *B. cereus* ในกะปิเคี้ยวที่เชื้อเริ่มต้น 10^3 และ 10^6 cfu/g ได้ ที่เวลา 20 นาที และทำลายสปอร์ *B. cereus* ที่เริ่มต้น 10^3 spores/g ได้ที่เวลา 10 นาที จากนั้นจึงคัดเลือกการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที มาใช้ในการทำกะปิเคี้ยวของทั้ง 2 โรงพยาบาล

4.4 ประสิทธิภาพในการให้ความร้อนต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ในการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล

ทำการศึกษาผลของการให้ความร้อนในขั้นตอนการทำกะปิเคี้ยวที่เป็นขั้นตอนหนึ่งในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิซึ่งเป็นเมนูอาหารหนึ่งสำหรับผู้ป่วย ของโรงพยาบาล 2 แห่งในเขตบางบอน และเขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ โดยเปลี่ยนแปลงการให้ความร้อนในขั้นตอนกระบวนการทำกะปิเคี้ยวจากเดิมที่ใช้ในโรงพยาบาลจากอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 7.5 นาที เป็นที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที ซึ่งสภาวะดังกล่าวสามารถทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ได้จากผลการทดลองในหัวข้อที่ 4.3 จากนั้นนำกะปิเคี้ยวที่ได้ไปคลุกกับข้าวสวย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จนกระทั่งได้ข้าวคลุกกะปิ กระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล และตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกะปิ กะปิเคี้ยว ข้าวสาร ข้าวสวย และข้าวคลุกกะปิ

4.4.1 ประสิทธิภาพการให้ความร้อนต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตบางบอน

4.4.1.1 การผลิตอาหารของโรงพยาบาลในการทำข้าวคลุกกะปิ

โรงพยาบาลตั้งอยู่ในเขตบางบอน เป็นโรงพยาบาลสังกัดสำนักงานสาธารณสุข กรุงเทพมหานคร ที่มีคนไข้ใน 220 เตียง รับรักษาคนไข้ทุกประเภท โรงพยาบาลได้รับการรับรองระบบ Good Manufacturing Practice (GMP) ตั้งแต่ปี 2557-ปัจจุบัน ฝ่ายโภชนาการของโรงพยาบาลมีหน้าที่หลักในการผลิตอาหารสำหรับผู้ป่วย จัดบริการอาหารให้บุคลากรหรือแพทย์ และอาหารว่างสำหรับประชุมต่างๆ ในโรงพยาบาล ตั้งอยู่บริเวณชั้น 1 อาคารคุณพ่อเลียง เสาะแสวง อุทิศอาหารในครัวโภชนาการมีดังนี้ อาหารประเภททั่วไป อาหารประเภทเฉพาะโรค และอาหารประเภทสายยาง ซึ่งเวลาในการให้บริการอาหารในโรงพยาบาล แบ่งเป็นวันละ 3 มื้อคือ มื้อเช้า 7.00-7.15 น. มื้อเที่ยง 11.00-11.15 น. และมื้อเย็น 16.00-16.15 น. การผลิตอาหารเฉลี่ยต่อมื้อสำหรับผู้ป่วยทั้งหมด 75 คน ข้าวคลุกกะปิจัดอยู่ในอาหารประเภททั่วไป ถูกจัดเสิร์ฟเป็นอาหารมื้อกลางวันสำหรับผู้ป่วยทั่วไปที่ไม่มีโรคหรือต้องควบคุมอาหาร ร่วมกับผลไม้หรือขนมหวาน การทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล โดยจะเริ่มเคี้ยวกะปิไว้ตั้งแต่ 8.30 น. จากนั้นพักกะปิเคี้ยวไว้ให้เย็น นำมาคลุกกับข้าวนำลงกระทะผัดเวลา 9.00 น. ตักใส่จานพร้อมเสิร์ฟเวลา 11.00 น. ในแต่ละครั้งใช้กะปิประมาณ 400 กรัม และจัดเมนูข้าวคลุกกะปิเสิร์ฟให้ผู้ป่วยได้ จำนวน 23 จาน

4.4.1.2 ผลของการให้ความร้อนต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล

ผลการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เซลล์และสปอร์ของ *B. cereus* และ *C. perfringens* รวมทั้งค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่าง กะปิ ข้าวสาร กะปิเคี้ยว ข้าวสวย และข้าวคลุกกะปิ หลังจากการให้ความร้อนในขั้นตอนการทำกะปิเคี้ยวของโรงพยาบาลที่ 97-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที (ดังตารางที่ 4.11) ค่าความเป็นกรด-ด่างของกะปิ 7.74 ค่าความเป็นกรด-ด่างข้าวสาร 6.14 ค่าความเป็นกรด-ด่างกะปิเคี้ยว 7.33 ค่าความเป็นกรด-ด่างข้าวสวย 6.85 และค่าความเป็นกรด-ด่างข้าวคลุกกะปิ 7.19 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.11 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิที่ปลอดภัยสำหรับผู้ป่วยในโรงพยาบาลในเขตบางบอน โดยกำหนดให้ใช้อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียส ในขั้นตอนการทำกะปิเคี้ยว ที่เวลา 15 นาที

ตัวอย่างอาหาร	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	Total plate count (cfu/g)	<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores/g)	<i>C. perfringens</i> (MPN/g)
กะปิ	7.74 ± 0.01	2530	633	411	<3
ข้าวสาร**	6.14 ± 0.24	1045	943.8	434.2	<3
กะปิเคี้ยว	7.33 ± 0.02	368	ND	ND	<3
ข้าวสวย	6.85 ± 0.02	225	ND	ND	<3
ข้าวคลุกกะปิ	7.19 ± 0.01	105	ND	ND	<3

ND = not detectable

*ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการเก็บตัวอย่างจำนวน 2 ครั้ง (วันที่ 26 กุมภาพันธ์ 2559 และ 9 มีนาคม 2559)

**พบมอดจำนวนมากในข้าวสาร

ข้าวสารตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 1045 cfu/g ตรวจพบเซลล์ *B. cereus* ที่ 943.8 cfu/g สปอร์ *B. cereus* ที่ 434.2 spores/g และตรวจไม่พบ *C. perfringens* และเมื่อนำข้าวสารไปหุงเป็นข้าวสวยตรวจพบเพียงเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 225 cfu/g เซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ตรวจไม่พบ กะปิตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 2530 cfu/g ตรวจพบเซลล์ *B. cereus* ที่ 633 cfu/g สปอร์ *B. cereus* ที่ 411 spores/g และตรวจไม่พบ *C. perfringens* ในตัวอย่างกะปิ การทำกะปิเคี้ยวหลังจากให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที พบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 368 cfu/g ไม่พบเซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* เมื่อนำข้าวคลุกกะปิผัดให้ความร้อนที่ 62.5 องศาเซลเซียส เวลา 5–7 นาที ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 105 cfu/g และตรวจไม่พบเซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ในตัวอย่างข้าวคลุกกะปิ

หากเปรียบเทียบกับผลการทดลองในตารางที่ 4.4 พบว่าในกะปิยังตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมด เซลล์และสปอร์ *B. cereus* และตรวจไม่พบ *C. perfringens* ข้าวสารตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมดในปริมาณสูงกว่า และตรวจพบเซลล์และสปอร์ของ *B. cereus* ซึ่งไม่เคยตรวจพบเชื้อ *B. cereus* ในข้าวสารก่อนหน้านี้ ซึ่งมีสาเหตุมาจากสภาวะในการเก็บข้าวสารที่มีความชื้นและอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม ในข้าวสวย กะปิเคี้ยว และข้าวคลุกกะปิ ตรวจพบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงกว่า มีสาเหตุมาจากการตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมดในกะปิ และข้าวสารซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในปริมาณเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูง และข้าวสารพบมีมอดจำนวนมาก จุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นเนื่องมาจากตัวมอด อย่างไรก็ตามการให้ความร้อนที่ 97–100 องศาเซลเซียส และมีการควบคุมเวลาที่ 15 นาที ในการทำกะปิเคี้ยว สามารถทำลาย เชลล์และสปอร์ *B. cereus* ที่ปนเปื้อนมากับกะปิได้หมด จึงตรวจไม่พบ *B. cereus* และ *C. perfringens* ในข้าวคลุกกะปิ ดังนั้นข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลนี้จึงมีความปลอดภัยสำหรับผู้ป่วย

4.4.2 ประสิทธิภาพการให้ความร้อนต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ในการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตลาดกระบัง

4.4.2.1 การผลิตอาหารของโรงพยาบาลในเขตลาดกระบัง

โรงพยาบาลตั้งอยู่ในเขตลาดกระบังเป็นโรงพยาบาลสังกัดสำนักงานการแพทย์ กรุงเทพมหานคร ที่มีคนไข้ใน 60 เตียง โดยแบ่งเป็น เตียงคนไข้ชาย 20 เตียง หญิง 30 เตียง ห้องพิเศษ 6 ห้อง และหออภิบาลผู้ป่วยหนัก 4 เตียง รับผิดชอบคนไข้ทุกประเภทโรงพยาบาลได้รับระบบ Good Manufacturing Practice (GMP) ตั้งแต่ปี 2556–2557 ฝ่ายโภชนาการของโรงพยาบาล มีหน้าที่หลักในการผลิตอาหารสำหรับผู้ป่วย จัดบริการอาหารให้บุคลากรหรือแพทย์ ตั้งอยู่บริเวณชั้น 1 ด้านหน้าอาคารตึกพักพยาบาล อาหารในครัว โภชนาการจะมีดังนี้ อาหารประเภททั่วไป อาหารประเภทเฉพาะโรค อาหารประเภทสายยาง ซึ่งเวลาในการให้บริการอาหารในโรงพยาบาล แบ่งเป็นวันละ 3 มื้อคือ มื้อเช้า 7.00–7.15 น. มื้อเที่ยง 11.00–11.15 น. มื้อเย็น 16.00–16.15 น. การผลิตอาหารเฉลี่ยต่อมื้อสำหรับผู้ป่วยทั้งหมด 54 คน ข้าวคลุกกะปิถูกจัดอยู่ในอาหารประเภททั่วไป และเสิร์ฟเป็นอาหารมื้อกลางวันสำหรับผู้ป่วยทั่วไปที่ไม่มีโรคหรือต้องควบคุมอาหาร ร่วมกับผลไม้หรือขนมหวาน การผลิตข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล โดยจะเริ่มเคี้ยวกะปิไว้ตั้งแต่ 8.30 น. จากนั้นพักกะปิเคี้ยวไว้ให้เย็นนำมาคลุกกับข้าวสวยให้เข้ากัน นำลงกระทะ ผัดเวลา 10.00 น. ตักใส่จานเสิร์ฟเวลา 11.00 น. ในแต่ละครั้งจะใช้กะปิประมาณ 250–300 กรัม และจัดเมนูข้าวคลุกกะปิเสิร์ฟให้ผู้ป่วยได้จำนวน 19 จาน

4.4.2.2 ผลของการให้ความร้อนต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล

ผลการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เชลล์และสปอร์ของ *B. cereus* และ *C. perfringens* รวมทั้งค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่าง กะปิ ข้าวสาร กะปิเคี้ยว ข้าวสวย และข้าวคลุกกะปิ (ตารางที่ 4.12) โดยที่ค่าความเป็นกรด-ด่างของกะปิ 7.60 ค่าความเป็นกรด-ด่างข้าวสาร 6.33 ค่าความเป็นกรด-ด่างกะปิเคี้ยว 7.30 ค่าความเป็นกรด-ด่างข้าวสวย 6.66 และค่าความเป็นกรด-ด่างข้าวคลุกกะปิ 7.14 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.12 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิที่ปลอดภัยสำหรับผู้ป่วยในโรงพยาบาลในเขตภาคกระบี่ โดยกำหนดให้ใช้อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียส ในการทำกะปิเดี่ยวที่เวลา 15 นาที

ตัวอย่างอาหาร	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	Total plate count (cfu/g)	<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores/g)	<i>C. perfringens</i> (MPN/g)
กะปิ	7.60 ± 0.00	1565	475.5	509	<3
ข้าวสาร	6.33 ± 0.12	510	ND	ND	<3
กะปิเดี่ยว	7.30 ± 0.00	2740	ND	ND	<3
ข้าวสวย	6.66 ± 0.06	525	ND	ND	<3
ข้าวคลุกกะปิ	7.14 ± 0.11	305	ND	ND	<3

ND = not detectable

*ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการเก็บตัวอย่างจำนวน 2 ครั้ง (วันที่ 13 พฤศจิกายน 2558 และ 17 ธันวาคม 2558)

ข้าวสารตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 510 cfu/g ตรวจไม่พบเซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ในตัวอย่างข้าวสาร ข้าวสวยตรวจพบเพียงเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 525 cfu/g เซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ตรวจไม่พบ กะปิตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 1565 cfu/g ตรวจพบเซลล์ *B. cereus* ที่ 475 cfu/g สปอร์ *B. cereus* ที่ 509 spores/g และตรวจไม่พบ *C. perfringens* ในตัวอย่างกะปิ กะปิเดี่ยวหลังจากให้ความร้อนที่ 97–100 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที พบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 2740 cfu/g ไม่พบเซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* เมื่อนำข้าวคลุกกะปิมาผัดให้ความร้อนเฉลี่ยที่ 53.50 องศาเซลเซียส เวลา 5–7 นาที ข้าวคลุกกะปิตรวจพบเพียงเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 305 cfu/g เซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ตรวจไม่พบในตัวอย่างข้าวคลุกกะปิ การให้ความร้อนและเวลาที่เหมาะสมต่อการทำลายเซลล์และสปอร์เชื้อ *B. cereus* ได้ดีและสามารถมั่นใจได้ว่าการทำกะปิเดี่ยวนี้จะปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เซลล์และสปอร์ *B. cereus*, *C. perfringens* และจุลินทรีย์ก่อโรคอื่นๆอีกด้วย ข้าวคลุกกะปิจัดเป็นอาหารประเภทคนไข้แบบทั่วไป

ความร้อนในขั้นตอนการทำกะปิเดี่ยวที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที เพียงพอต่อการทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ได้หมด สอดคล้องกับ ทศพร (2558) รายงานว่า ในขั้นตอนการผลิตอาหารเหลวสายยาง และอาหารเหลวพร้อมเสิร์ฟ พบว่าอุณหภูมิต้มเดือดที่ (อุณหภูมิ 96 องศาเซลเซียส) ของอาหารเหลวผู้ป่วย สามารถทำลายเซลล์ *B. cereus* ได้ภายในเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5 นาที และทำลายสปอร์ *B. cereus* ให้มีแนวโน้มลดลงได้เท่านั้น ดังนั้นควรใช้เวลาในการให้ความร้อนหลังจากต้มเดือดจาก 5 นาที เพิ่มเป็นอย่างน้อย 10 นาที เพื่อเป็นการทำลายสปอร์ *B. cereus* ให้หมดสิ้น เสาวคนธ์ (2551) รายงานว่าผลของความร้อนต่อการยับยั้งสปอร์ *B. cereus* ในหน่อไม้มาต้มให้ความร้อนโดยที่หน่อไม้ขนาดใหญ่ใช้เวลา และอุณหภูมิใจกลางหน่อไม้ที่ 95 องศาเซลเซียสสามารถยับยั้งสปอร์ได้เร็วกว่าที่ 90 องศาเซลเซียส ทั้งในหน่อไม้ที่เพาะด้วยสปอร์ตั้งต้นต่ำที่ 10^4 spores/g และตั้งต้นสูงที่ 10^8 spores/g

กระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลทั้ง 2 แห่ง จากการให้ความร้อนในการทำกะปิเกี่ยวกับอุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที ทำให้ได้ข้าวคลุกกะปิที่ปลอดภัยปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลทั้ง 2 แห่ง ตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมด อยู่ในช่วง 105–305 cfu/g และตรวจไม่พบเซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ซึ่งเป็นไปตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร (2553) เรื่องอาหารปรุงสุกทั่วไป หัวข้อ 2.2.4 อาหารปรุงสุกทั่วไประบุว่าจำนวนจุลินทรีย์ ต้องน้อยกว่า 1×10^6 cfu/g, MPN *E. coli* ต้องน้อยกว่า 3 MPN, *S. aureus* น้อยกว่า 100 cfu/g, *C. perfringens* ต้องน้อยกว่า 100 cfu/g *B. cereus* ต้องน้อยกว่า 100 cfu/g, *Salmonella* spp. ต้องไม่พบใน 25 กรัม *Vibrio cholera* ต้องไม่พบใน 25 กรัม *V. parahaemolyticus* ต้องไม่พบใน 25 กรัม และ *Listeria monocytogenes* ต้องไม่พบใน 25 กรัม

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

1. จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ของกะปิ ในบรรจุภัณฑ์แบบปิดจากโรงงานอุตสาหกรรม กะปิในบรรจุภัณฑ์แบบเปิดที่วางขายตามตลาดสด และ กะปิในโรงพยาบาล จำนวน 24 ตัวอย่าง พบเชื้อ *B. cereus* ในกะปิจากการเก็บตัวอย่างคิดเป็น เซลล์ *B. cereus* ตรวจพบที่ 91.52% (พบ 22 ตัวอย่าง) สปอร์ *B. cereus* ตรวจพบที่ 50.00% (พบ 12 ตัวอย่าง) และเชื้อ *C. perfringens* ตรวจพบที่ 12.48% (พบ 3 ตัวอย่าง) และมีกะปิ 2 ตัวอย่าง ซึ่งตรวจไม่พบเชื้อ *B. cereus* ผลการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของกะปิ พบว่าอยู่ในเกณฑ์ตาม มาตรฐาน (มอก. 1080-2535) พบเซลล์ *B. cereus* ที่ 17.0-102.7 cfu/g สปอร์ *B. cereus* ที่ 6.3-73 spores/g ซึ่งการรับประทานกะปิที่มีเชื้อ *B. cereus* ในระดับที่ตรวจพบได้นี้ ในบุคคลทั่วไปที่มี ร่างกายแข็งแรงไม่เกิดโรคอาหารเป็นพิษ แต่มีความเสี่ยงต่อผู้ป่วยที่มีร่างกายอ่อนแอ และภูมิ ด้านทานต่ำ

2. ผลการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* จากการสำรวจและเก็บตัวอย่าง กะปิ ข้าวสาร กะปิเคี้ยว ข้าวสวย ข้าวคลุกกะปิ ในกระบวนการทำข้าว คลุกกะปิของ โรงพยาบาลทั้ง 2 แห่ง พบมีการปนเปื้อนเซลล์และสปอร์ *B. cereus* อยู่ในขั้นตอนการ ทำกะปิเคี้ยวช่วงค่า เซลล์ *B. cereus* ที่ 5-100 cfu/g สปอร์ *B. cereus* ที่ 5-35 spores/g และตรวจไม่พบ *C. perfringens*

3. ในการศึกษาผลการให้ความร้อนในการทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ที่อุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียส ในกะปิเคี้ยวที่เซลล์และสปอร์ *B. cereus* เชื้อเริ่มต้นที่ 10^3 cfu/g ใช้เวลา 10 นาที และในกะปิเคี้ยวที่เซลล์ *B. cereus* ที่ 10^6 cfu/g ใช้เวลา 20 นาที ในการทำลายเซลล์ส่วนสปอร์ *B. cereus* ที่ 10^6 spores/g ไม่สามารถทำลายสปอร์ *B. cereus* ได้หมด ดังนั้นจึงคิดเล็กลงช่วงเวลาที่ดีที่สุดในการทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในกะปิเคี้ยวที่อุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

4. การทดสอบประสิทธิภาพของการให้ความร้อนต่อการทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในการทำข้าวคลุกกะปิของ โรงพยาบาล พบว่าการให้ความร้อนที่ 97-100 องศาเซลเซียสที่ เวลา 15 นาที ในการทำกะปิเคี้ยวที่นำไปใช้ในโรงพยาบาลทั้ง 2 แห่ง พบว่าสามารถทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ได้หมด โดยที่ตรวจไม่พบการปนเปื้อนของเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในข้าวคลุกกะปิ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 จากการศึกษาพบว่าส่วนใหญ่ กะปิเกิดการปนเปื้อนมาจากกระบวนการผลิตและวิธีเก็บรักษาที่ไม่ถูกต้อง จึงทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ตลอดเวลา ดังนั้น ควรเลือกซื้อกะปิที่เป็นบรรจุภัณฑ์แบบปิดจากโรงงานอุตสาหกรรมเท่านั้น ถ้านำกะปิมาประกอบอาหารควรนำผ่านความร้อนและอุณหภูมิที่เพียงพอต่อการทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ไม่ควรบริโภคกะปิโดยไม่ผ่านความร้อนเพราะทำให้เสี่ยงต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษได้

5.2.2 จากการศึกษาประสิทธิภาพการทำลาย *B. cereus* ในกะปิเคี้ยวที่มีปริมาณเซลล์ 10^3 cfu/g และสปอร์ 10^3 spores/g สามารถทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ได้หมดที่อุณหภูมิ 97 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ถ้ามีเชื้อ *B. cereus* เริ่มต้นในกะปิเคี้ยวที่มีปริมาณเซลล์ 10^6 cfu/g ต้องใช้เวลา 20 นาที ทำลายเชื้อ *B. cereus* ได้หมด และไม่สามารถทำลายสปอร์ *B. cereus* ที่ 10^6 spore/g ได้ จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลการให้ความร้อนและระยะเวลาในการทำลายสปอร์เชื้อ *B. cereus* ต่อไป

5.2.3 การทำข้าวคลุกกะปิอย่างปลอดภัย

เริ่มจากการคัดเลือกวัตถุดิบจากแหล่งที่เชื่อถือได้ แหล่งผลิตควรได้รับการรับรองของรัฐหรือเอกชน กะปิให้เลือกซื้อที่เป็นบรรจุภัณฑ์แบบปิดจากโรงงานอุตสาหกรรม สีของกะปิต้องไม่แดงเกินไป ต้องเป็นสีธรรมชาติของกะปิ เช่น สีม่วงเทา สีชมพู สีม่วงแดง เนื้อกะปิต้องละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน มีลักษณะเหนียวไม่เลาะ มีกลิ่นหอมไม่มีสิ่งแปลกปลอม เช่น หิน กรวด ทราย ดู วัน เดือน ปี ที่ผลิตและหมดอายุ น้ำมันควรเลือกขวดที่ปิดสนิทไม่รั่ว มีลักษณะที่ใสปราศจากสิ่งแปลกปลอมใดๆ ดู วัน เดือน ปี ที่ผลิตและหมดอายุ น้ำตาลทรายควรเลือกซื้อที่มีการบรรจุอยู่ในถุงที่ปิดสนิทที่ไม่ฉีกขาดหรือเป็นรู ดู วัน เดือน ปี ที่ผลิตและหมดอายุ น้ำตาลทรายที่ดีจะต้องร่วน ไม่มีฝุ่นละออง หรือเศษผงใดๆ เจือปนอยู่ ข้าวควรเลือกข้าวสารที่มีถุงปิดสนิทจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีการรับรองมาตรฐานการผลิต เลือกซื้อข้าวสารที่ไม่มีตัวมอด เศษหิน ดิน ทราย อยู่ภายในถุง

วิธีการทำข้าวคลุกกะปิให้ปลอดภัย ควรนำกะปิไปผ่านความร้อนทำเป็นกะปิเคี้ยวก่อน ด้วยวิธีดังนี้ ใช้กะปิ 300-400 กรัม น้ำเปล่า 700-900 มิลลิลิตร (สูตรนี้ทำข้าวคลุกกะปิได้ 25-30 จาน) ควบคุมที่อุณหภูมิในการเคี้ยวกะปิที่ 97-100 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที สามารถทำลายเชื้อ *B. cereus* ได้หมด นำกะปิเคี้ยวที่ได้ไปคลุกเคล้ากับข้าวสวยในอ่างผสมให้เข้ากัน นำไปผัดในกระทะให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที ถึงจะนำมาบริโภคได้อย่างปลอดภัย จัดเสิร์ฟภายใน 30 นาที หรืออุ่นอาหารไว้ที่ 57 องศาเซลเซียส ไม่เกิน 4 ชั่วโมง

ถ้ามีการเพิ่มปริมาณวัตถุดิบ เช่น กะปิหรือน้ำที่ใช้ในการทำกะปิเคี้ยวตามวิธีการข้างต้น แนะนำให้ทำกะปิเคี้ยว 2 รอบ เพื่อจะได้กะปิเคี้ยวที่ปลอดภัยปราศจากเชื้อ *B. cereus* และเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคอาหารเป็นพิษ อาหารจะปลอดภัยยิ่งขึ้นถ้าผู้ประกอบการมีหลักการสุขาภิบาลอาหารที่ดี การถูกหลักอนามัย การถูกสุขลักษณะส่วนบุคคล เช่น ต้องแต่ตัวให้เรียบร้อยตามที่โรงพยาบาลกำหนด เช่น ฝักกั้นเปื้อน หมวกคลุมผม ฝาปิดปาก สวมรองเท้าหุ้มส้น ควรล้างมือก่อนเข้าครัวหรือประกอบอาหารก่อนทุกครั้ง และมีความรับผิดชอบต่อน้ำที่ต่อความสะอาดของอาหารหรือภาชนะในทุกขั้นตอนที่จะใช้ใส่อาหารหรือพักอาหารในทุกขั้นตอนจนถึงมือผู้บริโภค



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- กนกทิพย์ ทรัพย์เจริญกุล. 2550. “ประสิทธิภาพของคลอรีนไดออกไซด์และน้ำอเล็กโทโรไลซ์ชนิดกรดในการทำลายฟิล์มชีวภาพของ *Bacillus cereus* *Staphylococcus aureus* และสปอร์เกาะติดของ *Bacillus cereus* บนพื้นผิวสัมผัสอาหาร.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2553. **เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร.** นนทบุรี : กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.
- กระทรวงสาธารณสุข. 2544. **ตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการของไทย.** นนทบุรี: กลุ่มงานวิเคราะห์อาหารและโภชนาการ กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข.
- กฤษดา ศิรามาชุข. 2558. **ประโยชน์ของกะปิ 10 ข้อดีต่อสุขภาพ.** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <http://shrimp-saucedd.blogspot.com/>. 3 พฤษภาคม 2559.
- ชั้นทอง เพ็ชรนอก. 2545. “คุณภาพของกะปิที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล.” วิทยานิพนธ์ สาขาวิชาผลิตภัณฑ์ประมง บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- คณาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์. 2529. **คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยา.** ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. 2549. **วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร.** กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เครือวัลย์ แก้วเอี่ยม และคณะ. 2557. **มาตรฐานอาหารปลอดภัยในโรงพยาบาล (ฉบับกระทรวงสาธารณสุข).** นนทบุรี : ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- เต็มศักดิ์ โชติวรรณวิรัช. 2523. “การศึกษาจุลชีววิทยาของอาหารหมักพื้นเมือง: กะปิ.” วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ทศพร แจ่มคำ. 2558. “การเหลือรอดของเซลล์และสปอร์ของ *Bacillus cereus* ในระหว่างการเตรียมอาหารเหลวสำหรับผู้ป่วย.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ธัญลักษณ์ นินบตี. 2538. “การพัฒนาวิธีวิเคราะห์เชื้อโรคอาหารเป็นพิษ *Clostridium perfringens* ในอาหาร น้ำ และเครื่องดื่ม.” **วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.** 37(1): 73-83.
- นงนุช รักสกุลไทย. 2538. “กรรมวิธีแปรรูปสัตว์น้ำ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาผลิตภัณฑ์ประมง บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2550. **จุลชีววิทยาทั่วไป**. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นฤมล แสงทอง. 2538. “ผลของความสดของเคย ปริมาณเกลือและระดับความชื้นต่อคุณภาพของกะปิ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นวรรต ไกรฤกษ์. 2553. **เรื่องปกิณณะในรัชกาลที่ 5**. กรุงเทพฯ : อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.

บุญศรี จงเสรีจิตต์. 2552. **จุลชีววิทยาทางอาหาร**. นครปฐม : โรงพิมพ์แห่งมหาวิทยาลัยศิลปากร.

มันทนา แสงจินดาวงษ์. 2538. **จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ประมง**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รวีวรรณ พรหมเจริญ. 2545. “ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสร้างสารพิษของ *Bacillus cereus* ในน้ำพริก.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยาประยุกต์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระเจ้าเกล้าธนบุรี.

เริงฤดี พุทธิอานันต์. 2524. “การฝึกอบรม / สาธิตเพื่อปรับปรุงกะปิพื้นเมือง.” หน้า 84-95. ใน รายงานการทดลองประจำปี 2524. กรุงเทพฯ : กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ศรีสมร กงพันธุ์. 2549. **ตำหรับอาหารวิทยาลัยในวัง**. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แสงแดด.

ศศพินทุ์ ดิษนิล. 2549. “ข้าวคลุกกะปิ”. นิตยสารหมอชาวบ้าน เล่มที่ 327. (7)

ศุภชัย เนื่อนวลสุวรรณ. 2549. **ความปลอดภัยอาหาร**. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุวรรณมนต์ เหล็กเพชร. 2546. “การเจริญและอยู่รอดของ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* เซลล์และสปอร์ในก๊วยเดี้ยวแช่เย็นและแช่แข็ง.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสาครอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 1080-2535). 2535. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกะปิ**. กรุงเทพฯ : สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.

สิริพร สชนเสาวภาคย์. 2535. “กะปิแนวทางการพัฒนาอุตสาหกรรมเพื่อการส่งออก.” **วารสารอาหาร**. 22(4): 1-7.

สุนทร ตรีนันทวัน. 2556. กะปิ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://edtech.ipst.ac.th>. 5 พฤษภาคม 2558.

เสาวคนธ์ ต่วนเทศ. 2551. “ผลของความร้อนและค่าความเป็นกรดต่อการยับยั้งสปอร์ของเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Clostridium sporogenes* ในผลิตภัณฑ์หน่อไม้รวกต้มบรรจุถุง.” วิทยาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรุณี เอกพาณิชย์ถาวร. 2534. “สุขลักษณะของผลิตภัณฑ์กะปิในประเทศไทย.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาประมง บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- อัมพร เทียงตรงดี. 2559. เอกสารประกอบการสอนวิชาจุลชีวและปรสิตวิทยา. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก http://61.19.86.230/manage/Plan_pic/20130323161154.docx. 26 เมษายน 2559.
- Agata, N., Ohta, M. and Yokoyama, K. 2002. "Production of *Bacillus cereus* emetic toxin (cereulide) in various foods." **International Journal of Food Microbiology**. 73: 23–27.
- Andersson, A. Ronner, U. and Granum, P. E. 1995. "What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*?." **International Journal of Food Microbiology**. 28:145–155.
- Byrne, B., Dunne, G. and Bolton, D. J. 2006. "Thermal inactivation of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* vegetative cells and spores in pork luncheon roll." **Food Microbiology**. 23: 803–808.
- Chang, H. J., Lee, J. H., Han, B. R. and Kim, J. 2011. "Prevalence of the levels of *Bacillus cereus* in fried rice dishes and its exposure assessment from Chinese-style restaurants." **Food Science and Biotechnology**. 20:1351–1359.
- Czczulin, J. R., Hanna, P. C. and McClane, B. A. 1993. "Cloning, nucleotide sequencing and expression of the *Clostridium perfringens* enterotoxin gene in *Escherichia coli*." **Infection and Immunity**. 61: 3429–3439.
- Finlay W. J. J., Logan, N. A. and Sutherland, A. D. 2002. "*Bacillus cereus* emetic toxin production in cooked rice." **Food Microbiology**. 19: 431–439.
- Gilbert R. J., Stringer, M. F. and Peace, T. C. 1974. "The survival and growths of *Bacillus cereus* in boiled and fried rice in relation to outbreaks of food poisoning." **The Journal of Hygiene**. 73: 433–444.
- Maturin, L. and Peeler, J. T. 2001. **Bacteriological Analytical Manual Chapter 3: Aerobic plate count.** [Online]. Available: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063346.htm>.
- Mazas, M., González, I., López, M., González, J. and Sarmiento, R. M. "Effects of sporulation media and strain on thermal resistance of *Bacillus cereus* spores." **International Journal of Food Science and Technology**. 30: 71–78.
- Nichols, G. L., Little, C. L., Mithani, V. and Louvois, D. J. 1999. "The microbiological quality of cooked rice from restaurants and take away premises in the United Kingdom." **Journal of Food Protection**. 62: 877–882.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Rhodehamel, E. J. and Harmon, S. M. 2001. **Bacteriological Analytical Manual Chapter 16: *Clostridium perfringens***. [Online]. Available: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070878.htm>.
- Tallent, S. M., Rhodehamel, E. J., Harmon, S. M. and Bennett, R. W. 2012. **Bacteriological Analytical Manual Chapter 3: *Bacillus cereus***. [Online]. Available: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070875.htm>.
- Valero, M., Fernández, P.S. and Salmerón, M.C. 2003. "Influence of pH and temperature on growth of *Bacillus cereus* in vegetable substrates." **International Journal of Food Microbiology**. 82: 71–79.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ก
ตัวอย่างที่นำมาตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.1 ตัวอย่างกะปิจากแหล่งต่างๆ

ตารางภาคผนวกที่ ก. 1 กะปิในบรรจุภัณฑ์แบบเปิดที่ถูกวางขายตามตลาดสด

รหัส	ชื่อจังหวัด	ชื่อตลาด
001	กรุงเทพฯ	ตลาดเอี่ยมสมบัติ
002	สมุทรสาคร	ตลาดมหาชัย
003	ชุมพร	ตลาดหลังสวน
004	ชลบุรี	ตลาดหนองมน
005	กรุงเทพฯ	ตลาดหัวตะเข้
006	ชลบุรี	ตลาดอ่างศิลา
007	สมุทรสงคราม	ตลาดร่มหุบ

ตารางภาคผนวกที่ ก. 2 กะปิในบรรจุภัณฑ์แบบปิดจากโรงงานอุตสาหกรรม

รหัส	ชื่อจังหวัด	ยี่ห้อ
008	ปราจีนบุรี	กะปิแท้
009	สมุทรปราการ	ตราปากน้ำ
010	กรุงเทพฯ	ตราไก่คู่
011	กรุงเทพฯ	ตราปู
012	สมุทรปราการ	ตราเรือใบ
013	สมุทรสาคร	กะปิคลองโคลอน
014	สมุทรสาคร	กะปิแท้คู่ครัวไทย
015	กรุงเทพฯ	ตราซั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.2 ตัวอย่างกะปีตามโรงพยาบาลต่างๆ

ตารางภาคผนวกที่ ก. 3 กะปีจากโรงพยาบาลต่างๆ

รหัส	ชื่อโรงพยาบาล	ชื่อจังหวัด
016	โรงพยาบาลลาดกระบังกรุงเทพมหานคร	กรุงเทพฯ
017	โรงพยาบาลเวชการุณย์รัศมี	กรุงเทพฯ
018	โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยบูรพา	ชลบุรี
019	โรงพยาบาลสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์	ชลบุรี
020	โรงพยาบาลรามธิบดี	กรุงเทพฯ
021	โรงพยาบาลรามธิบดี	กรุงเทพฯ
022	โรงพยาบาลศิริราช	กรุงเทพฯ
023	โรงพยาบาลหลวงพ่อทวีศักดิ์ ชุตินุชโร อุทิศ	กรุงเทพฯ
024	โรงพยาบาลกลาง	กรุงเทพฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.1 Modified BHI-Egg yolk medium (Difco, USA)

Brain Heart Infusion (BHI) Broth	18.5	กรัม
Lactose	5.0	กรัม
Agar	7.5	กรัม
Phenol red (0.5% ใน เอทานอล 95%)	5.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	460	มิลลิลิตร

วิธีทำ

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดแล้วต้มจน Agar ละลาย ปรับพีเอช เทสารละลายที่ได้ลงใน ฟลาสก์ 500 มิลลิลิตร ให้ได้ฟลาสก์ละ 230 มิลลิลิตร ปิดจุกแล้วเข้ามาเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำมา ใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ก่อน นำมาใส่ไข่แดง + NaCl 0.85 % 5 มิลลิลิตร และ Neomycin sulfate 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเทลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 15 มิลลิลิตร

ข.1.1 Egg yolk emulsion, 50%

ล้างไข่ไก่ให้สะอาด นำไปแช่ไว้แอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 30 นาที ตอกไข่และทำการ แยกไข่ขาวโดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique) นำไข่แดงที่แยกได้ใส่ลงใน ขวดที่ปราศจาก เชื้อที่มีจิบออกปริมาณ เติมน้ำเกลือ 0.85% normal saline ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ผสมในปริมาณที่กำหนด ปิดฝาเก็บรักษาในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ข. 1.2 สารละลาย Neomycin sulfate

ละลาย Neomycin sulfate 1 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร กรองผ่านแผ่นกรองปลอดเชื้อ เก็บในขวดสีชาปลอดเชื้อที่ปิดสนิทเก็บในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ข.2 Buttlefield's phosphate buffered

Potassium Dihydrogenphosphate(KH_2PO_4)	34	กรัม
น้ำกลั่น	500	มิลลิลิตร
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)		

วิธีทำ

นำ potassium dihydrogenphosphate ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ปรับพีเอช ให้ได้ 7.2 ด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และ ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร นำเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ข. 2.1 การเจือจาง **Buttlefield's phosphate buffered**

Buttlefield's phosphate buffered	1.25	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีทำ

นำ Buttlefield's phosphate buffered และน้ำกลั่นปรับให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร ใส่ขวดคววเลน 225 มิลลิลิตร (สำหรับเจือจางตัวอย่างอาหาร 25 กรัม) ใส่ในหลอดทดลองขนาด 16 x 150 มิลลิลิตร (สำหรับการเจือจางในหลอดทดลอง) หลอดละ 9 มิลลิลิตร นำเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ข.3 Cook meat medium (CMM) (Difco, USA)

Beef Heart from 454 g	98	กรัม
Proteose Peptone	20	กรัม
Dextrose	2	กรัม
Sodium Chloride	5	กรัม

วิธีทำ

ชั่ง Cook meat medium 1.25 กรัม ใส่ในหลอดฝาเกลียว ใส่น้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ข.4 Fortified Nutrient Agar (FNA)

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Dextrose	0.1	กรัม
Agar	15	กรัม
Sodium chloride (NaCl)	8	กรัม
Calcium chloride (CaCl ₂)	0.06	กรัม
Ammonium sulfate ((NH ₄) ₂ SO ₄)	0.08	กรัม
Manganese sulfate monohydrate (MnSO ₄ H ₂ O)	0.05	กรัม
Ferrous sulfate heptahydrate (FeSO ₄ . 7H ₂ O)	0.0005	กรัม
Manganese chloride tetrahydrate (MnCl ₂ .4H ₂ O)	0.008	กรัม
Magnesium sulfate (MgSO ₄)	0.2	กรัม
Copper Sulphate penta-hydrate (CuSO ₄ .5H ₂ O)	0.005	กรัม
Zinc Sulfate Heptahydrate (ZnSO ₄ .7H ₂ O)	0.005	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารทรัพย์สินทางปัญญาหรือสิทธิบัตรของหน่วยงานราชการหรือเอกชน ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำกลั่น

1 ลิตร

วิธีทำ

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดรวมกันต้มจนวุ้นละลายใส่หลอดฝาเกลียวขนาด 16 x 150 หลอดละ 7 มิลลิลิตร เข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ข.5 Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin (MYP) Agar (Difco, USA)

Beef extract	1	กรัม
Peptone	10	กรัม
Mannitol	10	กรัม
Phenol red	0.025	กรัม
NaCl	10	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	900	มิลลิลิตร
ปรับ pH	7.2 ± 0.2	

วิธีทำ

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin (MYP) Agar ใส่พลาสติก 500 มิลลิลิตร พลาสติกละ 12.5 กรัม และน้ำกลั่น 233 มิลลิลิตร เข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำมา ใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ก่อน นำมาใส่ ไข่แดง + NaCl 0.85 % 25 มิลลิลิตร และ Polymyxin B solution 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเทลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 15 มิลลิลิตร

ข. 5.1 Egg yolk emulsion, 50%

ล้างไข่ไก่ให้สะอาด นำไปแช่ไว้ในแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 30 นาที ตอกไข่และทำการแยกไข่ขาวโดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique) นำไข่แดงที่แยกได้ใส่ลงในขวดที่ปราศจากเชื้อที่มีขีดบอกปริมาณ เติมน้ำเกลือ 0.85% normal saline ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ผสมในปริมาณที่เท่ากัน ปิดฝาเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ข. 5.2 สารละลาย Polymyxin B solution

ละลาย Polymyxin B solution 1 MU (sigma P1004) ลงในน้ำกลั่นที่ปลอดเชื้อ 100 มิลลิลิตร กรองผ่านแผ่นกรองปลอดเชื้อ 0.2 µm เก็บในขวดปลอดเชื้อที่ปิดสนิทเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ข.6 Plate count agar (Difco, USA)

Pancreatic Digest of Casein	5	กรัม
Yeast Extract	2.5	กรัม
Dextrose	1	กรัม
Agar	15	กรัม

วิธีทำ

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar 23.5 กรัม และ น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ใส่ภาชนะ นำไปต้มให้ละลายเข้ากันแบ่งใส่ขวดดูแลน นำเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อแรงดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ข.7 Trypticase soy agar (TSA) (Difco, USA)

Trypticase peptone(Tryptone)	15	กรัม
Phytone peptone(Soytone)	5	กรัม
NaCl	5	กรัม
Agar	15	กรัม
ปรับ pH	7.3 ± 0.2	

วิธีทำ

ชั่ง Trypticase soy agar (Difco, USA) 40 กรัม ใส่บีกเกอร์ และ น้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปต้มให้ละลายเข้ากันดีแบ่งใส่ขวดดูแลนสำหรับเทในงานเพาะเชื้อจานละ 15 มิลลิลิตร หรือใส่หลอดฝาเกลียวขนาด 16 x 150 หลอดละ 7 มิลลิลิตร นำเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อแรงดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ข.8 Tryptic Soy Broth (TSB) (Difco, USA)

Pancreatic Digest of Casein	5	กรัม
Papaic Digest of Soybean	3	กรัม
Dextrose	2.5	กรัม
Sodium Chloride	5	กรัม
Dipotassium Phosphate	2.5	กรัม

วิธีทำ

ชั่ง Trypticase soy Broth 30 กรัม และ น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร นำไปต้มให้ละลายเข้ากันแบ่งใส่ขวดดูแลน หรือใส่หลอดฝาเกลียวขนาด 16 x 150 หลอดละ 10 มิลลิลิตร นำเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อแรงดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ข. 9 สีย้อมแกรม

ข. 9.1 Gram crystal violet (คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2529)

ส่วนผสมที่ 1

Crystal violet	10	กรัม
95% Ethanol	100	มิลลิลิตร

ส่วนผสมที่ 2

Ammonium oxalate	4	กรัม
น้ำกลั่น	30	มิลลิลิตร

วิธีทำ

ผสมสารส่วนที่ 1 และ 2 เข้าด้วยกัน ตั้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วกรองเก็บใส่ขวดสีชาเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

ข. 9.2 Gram iodine (Mordant) (คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2529)

Iodine	2	กรัม
Potassium iodide (KI)	4	กรัม
น้ำกลั่น	30	มิลลิลิตร

วิธีทำ

ละลาย KI ในน้ำกลั่น บด Iodine แล้วละลายในสารละลาย KI กวนจนละลายหมด เก็บไว้ในขวดสีชาเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

ข. 9.3 Gram safranin O (Counter stain) (คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2529)

Safranin O	0.25	กรัม
95% Ethanol	10	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	30	มิลลิลิตร

วิธีทำ

ละลาย Safranin O ใน 95% Ethanol กวนด้วยแท่งแก้ว แล้วเติมน้ำกลั่น กรองแล้วเก็บไว้ในขวดสีชาเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

ข. 9.4 Malachite green (คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2529)

Malachite green	5	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

วิธีทำ

ละลาย Malachite green ในน้ำกลั่นคนด้วยแท่งแก้วให้เกร็ด Malachite green ละลายจนหมดใส่ขวดสีชาเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.10. วิธีวิเคราะห์เชื้อ Aerobic Plate Count (FDA-BAM, 2001)

อุปกรณ์ในการเพาะเชื้อ

- ถุงพลาสติกปลอดเชื้อ (สำหรับใส่ตัวอย่างอาหาร)
- จานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ
- เครื่องตีปั่นอาหาร
- ขวดน้ำยาสำหรับเจือจาง (Buttlefield's phosphate buffered) 225 และ 9 มิลลิลิตร
- ไมโครปิเปตขนาด 1000 ไมโครลิตร
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar
- ตู้บ่มเพาะเชื้อ 37 องศาเซลเซียส

วิธีทำ pour plate เชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างอาหาร

1. เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ถุงพลาสติกปลอดเชื้อ
2. เติมน้ำยาสำหรับเจือจาง (Buttlefield's phosphate buffered) 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่องตีปั่นอาหาร
3. ทำการเจือจางตัวอย่างที่ 10:10 10:100 และ 10:1000 ด้วยน้ำยาเจือจาง (Buttlefield's phosphate buffered) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร
4. คูดตัวอย่างจากแต่ละระดับความเจือจางลงในจานอาหารเพาะเชื้อจานละ 1 มิลลิลิตร
5. ทำการเทอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (ที่มีอุณหภูมิ 43-45 องศาเซลเซียส) ลงในจานอาหารเพาะเชื้อจานละ 15 มิลลิลิตร
6. รออาหารแข็งตัวแล้วจึงนำจานอาหารเพาะเชื้อ
7. นำเข้าตู้บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส

วิธีวิเคราะห์ผล

นำจานอาหารเพาะเชื้อที่บ่มแล้วเชื้อขึ้นนำมานับโคโลนี (ที่เป็นจุดสีขาว) และทำการคำนวณผลออกมาเป็น cfu/g

ข.11 วิธีวิเคราะห์เชื้อ *Bacillus cereus* (FDA-BAM, 2001)

อุปกรณ์ในการเพาะเชื้อ

- ถุงพลาสติกปลอดเชื้อ (สำหรับใส่ตัวอย่างอาหาร)
- จานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ
- เครื่องตีปั่นอาหาร
- ขวดน้ำยาสำหรับเจือจาง (Buttlefield's phosphate buffered) 225 และ 9 มิลลิลิตร
- ไมโครปิเปตขนาด 1000 ไมโครลิตร
- Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin (MYP) Agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Trypticase soy sheep blood agar
- Trypticase soy agar (TSA)
- แท่งแก้วรูปตัว L
- เข็มหรือลูปจ็อยเชื้อ
- ตู้บ่มเพาะเชื้อ 30 และ 43 องศาเซลเซียส

การทดลองและรายงานผลการตรวจนับเชื้อด้วยวิธี Spread plate

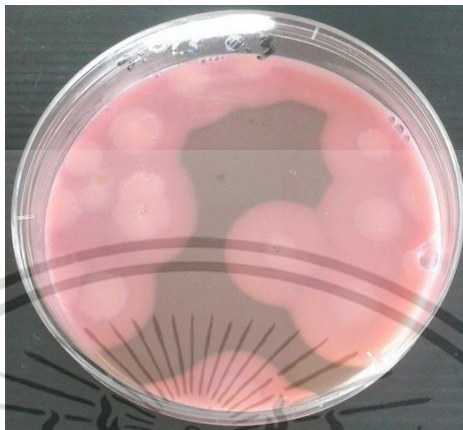
1. เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ถุงพลาสติกปิดสนิท
2. เติมน้ำยาสำหรับเจือจาง (Buttlefield's phosphate buffered) 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากัน ด้วยเครื่องตีปั่นอาหาร
3. ทำการเจือจางตัวอย่างที่ 10:10 10:100 และ 10:1000 ด้วยน้ำยาเจือจาง (Buttlefield's phosphate buffered) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร
4. คุดตัวอย่างจากแต่ละระดับความเจือจางลงในจานอาหารเพาะเชื้อ Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin (MYP) Agar ระดับการเจือจางละ 2 จานอาหารเพาะเชื้อ จานเพาะเชื้อละ 0.1 มิลลิลิตร
5. ใช้แท่งแก้วรูปตัว L เกลี่ยตัวอย่างอาหารแต่ละระดับความเจือจางให้ทั่วจานอาหารเพาะเชื้อ
6. คว้าจานอาหารเพาะเชื้อทั้งหมดนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
7. ตรวจนับโคโลนีของเชื้อที่ให้ลักษณะ โคโลนีสีชมพู เนื่องจากเชื้อดังกล่าวไม่สามารถหมักย่อยน้ำตาล mannitol ให้เป็นกรดได้
8. นำลักษณะโคโลนีดังกล่าวไปทำการตรวจยืนยันคุณสมบัติการต่อไปโดยนำเชื้อที่ได้เจือจางลงใน Trypticase soy agar (TSA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
9. เลือกที่มีเชื้อขึ้นใน Trypticase soy agar (TSA) นำไปทดสอบปฏิกิริยา hemolytic activity test

การทดสอบปฏิกิริยา hemolytic activity test

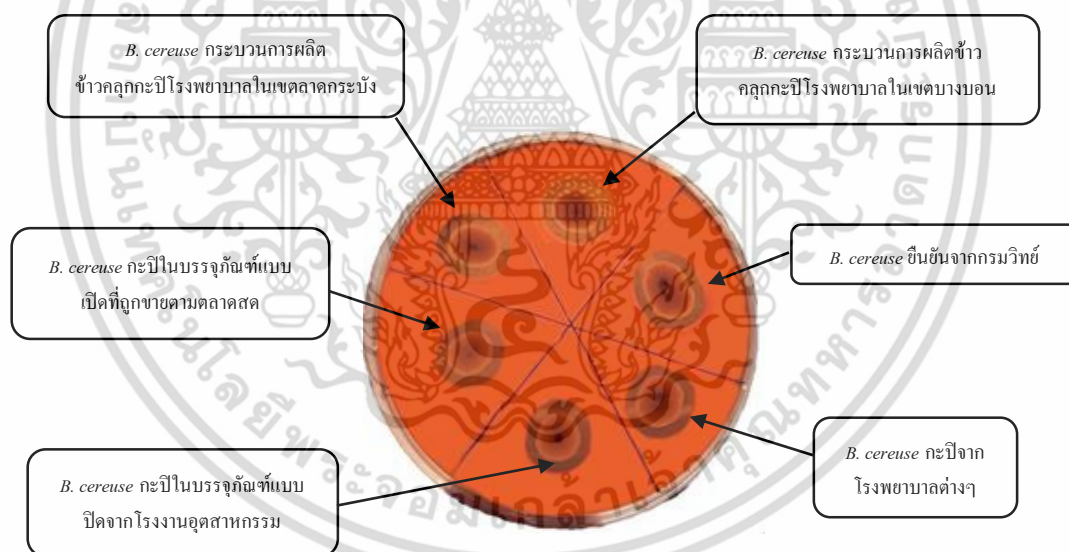
1. แบ่งจานเพาะเชื้อ Trypticase soy sheep blood agar เป็น 6 ส่วน เท่าๆกัน
2. ใช้เข็มจ็อยเชื้อจาก Trypticase soy agar (TSA) ให้เชื้อติดที่ปลายเข็มเพียงเล็กน้อย
3. นำเชื้อที่ติดอยู่ปลายเข็มไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy sheep blood agar โดยแต่ละเชื้อลงบนผิวอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าว (1 ช่อง ต่อ 1 โคโลนี)
4. คว้าจานเพาะเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
5. คุผลปฏิกิริยา hemolytic positive ซึ่ง *B. cereus* จะให้ผลดังนี้ รอบๆโคโลนีของเชื้อจะมีลักษณะที่เรียกว่า clear zone ทั้งนี้เนื่องจากระหว่างที่เชื้อเจริญบนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าวนี้เชื้อ

จะสร้างเอนไซม์ hemolysin ซึ่งเอนไซม์ที่ *B. cereus* ผลิตขึ้นนี้จัดว่าเป็น strongly hemolysin จะมีผลเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการสลายเม็ดเลือดแดงของแคะซึ่งเป็นส่วนผสมอยู่ในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ จึงมีผลทำให้เม็ดเลือดแดงที่อยู่ใต้และรอบๆ โคลนีสลาย รอบโคลนิจองเชื้อจะใสเป็นวงกว้าง 2-4 มิลลิเมตร นับจากขอบโคลนีส



ภาพภาคผนวกที่ ข. 1 เชื้อ *B. cereus* ที่คัดแยกได้จากกะปิบนอาหารอาหาร Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin (MYP) Agar



ภาพภาคผนวกที่ ข. 2 เชื้อ *B. cereus* ที่คัดแยกได้จากกะปิบนอาหารอาหาร Blood agar

ข. 12 วิเคราะห์เชื้อ *C. perfringens* โดยวิธี Most Probable Number (MPN)

(สมภพ และคณะ, 2538)

อุปกรณ์ในการเพาะเชื้อ

- ถุงพลาสติกปลอดเชื้อ (สำหรับใส่ตัวอย่างอาหาร)
- จานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เครื่องตีปั่นอาหาร
- ขวดน้ำยาสำหรับเจือจาง (Buttlefield's phosphate buffered) 225 และ 9 มิลลิลิตร
- ไมโครปิเปตขนาด 1000 ไมโครลิตร
- Anaerobic jar
- Cooked Meat medium (CMM)
- Modified BHI-Egg yolk medium
- Agar
- เข็มหรือลูปเย็บเชื้อ

การทดลองและรายงานผลเป็น (MPN)

1. เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ถุงพลาสติกปิดเชื้อ
2. เทน้ำยาสำหรับเจือจาง (Buttlefield's phosphate buffered) 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่องตีปั่นอาหาร
3. ทำการเจือจางตัวอย่างที่ 10:10 10:100 และ 10:1000 ด้วยน้ำยาเจือจาง (Buttlefield's phosphate buffered) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร
4. ใส่วัตถุตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางใส่ลงในหลอด Cooked meat medium (CMM) ซึ่งฟุ้งออกจากหม้อนึ่งมาเชื้อความดันไอน้ำใหม่ๆ (ถ้าใช้ CMM ที่มีการเตรียมไว้ค้างคืนก่อนหน้านี้จะมีอากาศเข้าไปอยู่ในอาหารดังกล่าวในปริมาณมาก ดังนั้นก่อนการใช้อาหาร CMM ควรนำหลอดอาหารไปต้มในน้ำเดือดเพื่อไล่อากาศออกก่อน 15 นาที) โดยใส่ตัวอย่างอาหารหลอดละ 1 มิลลิลิตร ระดับความเจือจางละ 3 หลอด
5. ใส่วุ้น (Agar) 2.5 เปอร์เซ็นต์ ปิดหน้าอาหาร CMM
6. นำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
7. ใช้ลูปจุ่มเชื้อจากหลอด CMM โดยพยายามเย็บเชื้อจากก้นหลอดของ Cooked meat medium (CMM) ถ่ายเชื้อลงบนอาหาร Modified BHI-Egg yolk medium
8. คว่ำจานเพาะเชื้อทั้งหมดใส่ใน Anaerobic jar เพื่อขจัดออกซิเจนออกจาก Anaerobic jar
9. นำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
10. ตรวจสอบจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ให้ลักษณะ โคโลนีสีดำและมีโซนขุนขาวรอบๆ โคโลนี (Opaque zone) (ภาพภาคผนวกที่ ข. 3)
11. เช็ยโคโลนีดังกล่าวที่สงสัยว่าเป็น *C. perfringens* ลงในอาหาร CMM อีกครั้ง
12. นำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
13. เปิดตารางเทียบผลเป็น MPN/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวกที่ ข. 3 เชื้อ *C. perfringens* ที่คัดแยกได้จากกะปิบนอาหาร
Modified BHI-Egg yolk medium



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ค
ขั้นตอนการทำข่าวคลุกกะปิงของโรงพยาบาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.1 วิธีการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตบางบอน



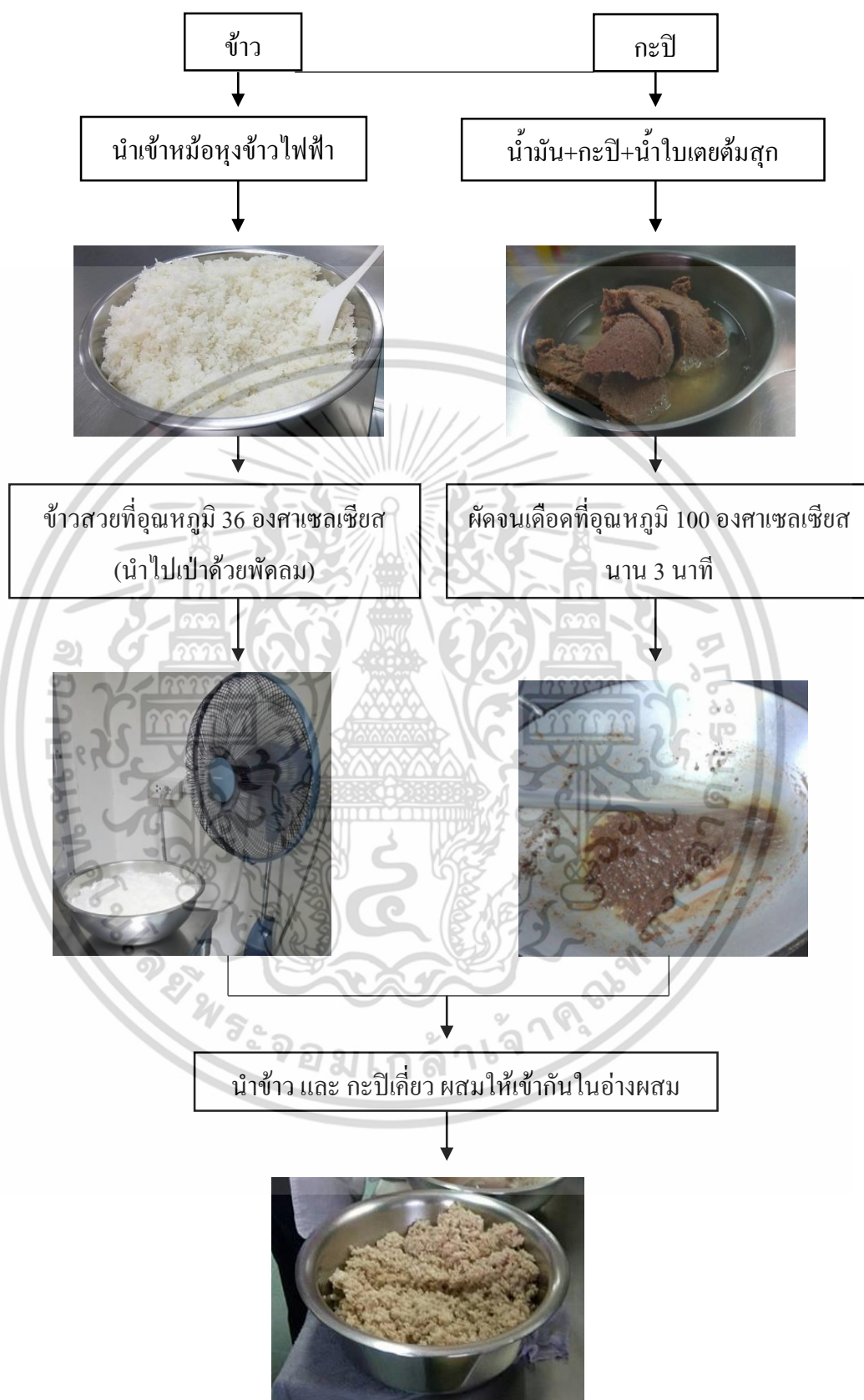
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวกที่ ค.1 ขั้นตอนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลแห่งหนึ่งในเขตบางบอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.2 วิธีการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2

เทน้ำมันพืช+กระเทียมเจียวลงในกระทะ และข้าวคลุกกะปิที่ผสมแล้วลงในกระทะ



ผัดข้าวคลุกกะปิที่ผสมแล้ว ที่อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส นาน 4-5 นาที



นำข้าวคลุกกะปิมาจัดเสิร์ฟ (ภายใน 30 นาที)



ภาพภาคผนวกที่ ค.2 ขั้นตอนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลแห่งหนึ่งในเขตลาดกระบัง เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้เผยแพร่เห็นใบแจ้งประโยชน์ในการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ง
ผลวิเคราะห์คุณภาพทางจุดชีววิทยาของการผลิตข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง. 1. ผลวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล ก่อนการปรับ
อุณหภูมิและเวลาตามที่กำหนด

ตารางภาคผนวกที่ ง.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตบางบอน (วันที่ 11 กุมภาพันธ์ 2558)

ตัวอย่างอาหาร	ค่าความเป็นกรด- ด่าง	Total plate count (cfu/g)	<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores/g)	<i>C.</i> <i>perfringens</i> (MPN/g)
กะปิ	-	900	56	28.8	<3
ข้าวสาร	-	200	ND	ND	<3
กะปิเคี้ยว	-	ND	ND	ND	<3
ข้าวสวย	-	ND	ND	ND	<3
ข้าวคลุกกะปิ	-	ND	ND	ND	<3

ND = not detectable

ตารางภาคผนวกที่ ง.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตบางบอน (วันที่ 12 สิงหาคม 2558)

ตัวอย่างอาหาร	ค่าความเป็นกรด- ด่าง	Total plate count (cfu/g)	<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores/g)	<i>C.</i> <i>perfringens</i> (MPN/g)
กะปิ	7.26±0.01	470	266	133	<3
ข้าวสาร	6.64±0.01	1470	ND	ND	<3
กะปิเคี้ยว	6.75±0.01	170	200	10	<3
ข้าวสวย	6.75±0.02	ND	ND	ND	<3
ข้าวคลุกกะปิ	7.16±0.01	ND	ND	ND	<3

ND = not detectable

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ง.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ในการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตลาดกระบัง (วันที่ 16 ตุลาคม 2558)

ตัวอย่างอาหาร	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	Total plate count (cfu/g)	<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores/g)	<i>C. perfringens</i> (MPN/g)
กะปิ	7.50±0.10	4800	796	1333	<3
ข้าวสาร	6.56±0.01	1810	ND	ND	<3
กะปิเคี้ยว	7.40±0.05	2540	10	70	<3
ข้าวสวย	6.81±0.00	830	ND	ND	<3
ข้าวคลุกกะปิ	7.40±0.05	540	ND	ND	<3

ND = not detectable

ตารางภาคผนวกที่ ง.4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ในการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตลาดกระบัง (วันที่ 19 พฤศจิกายน 2558)

ตัวอย่างอาหาร	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	Total plate count (cfu/g)	<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores/g)	<i>C. perfringens</i> (MPN/g)
กะปิ	7.60±0.00	870	813	376	<3
ข้าวสาร	6.40±0.01	190	ND	ND	<3
กะปิเคี้ยว	7.25±0.00	490	ND	ND	<3
ข้าวสวย	6.69±0.00	ND	ND	ND	<3
ข้าวคลุกกะปิ	7.23±0.00	300	ND	ND	<3

ND = not detectable

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง.2 ผลวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล เมื่อมีการให้ความร้อนในการทำข้าวคลุกกะปิในขั้นตอนการทำกะปิเดี่ยวของโรงพยาบาลที่อุณหภูมิจาก 97-100 องศาเซลเซียส ที่เวลา 15 นาที

ตารางภาคผนวกที่ ง.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิที่ปลอดภัยสำหรับผู้ป่วยในโรงพยาบาลในเขตบางบอน โดยกำหนดให้ใช้อุณหภูมิจาก 97-100 องศาเซลเซียส ในขั้นตอนการทำกะปิเดี่ยว เวลา 15 นาที (วันที่ 26 กุมภาพันธ์ 2559)

ตัวอย่างอาหาร	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	Total plate count (cfu/g)	<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores/g)	<i>C. perfringens</i> (MPN/g)
กะปิ	7.75±0.10	1960	994	511	<3
ข้าวสาร	6.24±0.00	1490	ND	ND	<3
กะปิเดี่ยว	7.35±0.10	670	ND	ND	<3
ข้าวสวย	6.83±0.00	350	ND	ND	<3
ข้าวคลุกกะปิ	7.18±0.00	210	ND	ND	<3

ND = not detectable

ตารางภาคผนวกที่ ง.6 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิที่ปลอดภัยสำหรับผู้ป่วยในโรงพยาบาลในเขตบางบอน โดยกำหนดให้ใช้อุณหภูมิจาก 97-100 องศาเซลเซียส ในขั้นตอนการทำกะปิเดี่ยว เวลา 15 นาที (วันที่ 9 มีนาคม 2559)

ตัวอย่างอาหาร	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	Total plate count (cfu/g)	<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores/g)	<i>C. perfringens</i> (MPN/g)
กะปิ	7.73±0.01	3100	272	311	<3
ข้าวสาร	6.58±0.01	600	47.7	51.4	<3
กะปิเดี่ยว	7.31±0.01	66	ND	ND	<3
ข้าวสวย	6.87±0.01	100	ND	ND	<3
ข้าวคลุกกะปิ	7.20±0.01	ND	ND	ND	<3

ND = not detectable

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ๗.7 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกระบวนการผลิตข้าวคลุกกะปิที่ปลอดภัยสำหรับผู้ป่วยในโรงพยาบาลในเขต ลาดกระบัง โดยกำหนดให้ใช้อุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียส ในการทำกะปิเคี้ยว เวลา 15 นาที (วันที่ 13 พฤศจิกายน 2558)

ตัวอย่างอาหาร	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	Total plate count (cfu/g)	<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores/g)	<i>C. perfringens</i> (MPN/g)
กะปิ	7.60±0.01	1420	620	853	<3
ข้าวสาร	6.42±0.01	370	ND	ND	<3
กะปิเคี้ยว	7.30±0.02	1180	ND	ND	<3
ข้าวสวย	6.72±0.03	100	ND	ND	<3
ข้าวคลุกกะปิ	7.22±0.03	180	ND	ND	<3

ND = not detectable

ตารางภาคผนวกที่ ๗.8 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกระบวนการผลิตข้าวคลุกกะปิที่ปลอดภัยสำหรับผู้ป่วยในโรงพยาบาลในเขต ลาดกระบัง โดยกำหนดให้ใช้อุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียส ในการทำกะปิเคี้ยว เวลา 15 นาที (วันที่ 17 ธันวาคม 2558)

ตัวอย่างอาหาร	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	Total plate count (cfu/g)	<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores/g)	<i>C. perfringens</i> (MPN/g)
กะปิ	7.60±0.00	1710	331	165	<3
ข้าวสาร	6.24±0.00	650	ND	ND	<3
กะปิเคี้ยว	7.30±0.00	4300	ND	ND	<3
ข้าวสวย	6.60±0.01	950	ND	ND	<3
ข้าวคลุกกะปิ	7.06±0.01	430	ND	ND	<3

ND = not detectable

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก จ
ผลการยืนยันสายพันธุ์เชื้อ *C. perfringens* จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ จ.1 ผลตรวจยืนยันเชื้อ *C. perfringens* ที่แยกได้จากกะปิ

ไอโซเลต (Isolate)	แหล่งที่มา	ชื่อจังหวัด	Motility	Nitrate	Lactose	Gelatin
A 01	กะปิหัวตะเข้	กรุงเทพฯ	---	+++	+++	+++
C 01	กะปิมหาชัย	สมุทรสาคร	---	+++	+++	+++

**หมายเหตุ

Motility = การทดสอบการเจริญของเชื้อ

Nitrate = ความสามารถในการ reduce nitrate เป็น nitrite

Lactose = การทดสอบปฏิกิริยาการสร้างแก๊สและกรดในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Gelatin = ความสามารถในการย่อย gelatin



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นาย วัฒนาคณบดี วัฒนหงษ์ศิริ
วัน เดือน ปีเกิด	1 ตุลาคม พ.ศ. 2532 จังหวัด กรุงเทพมหานคร
ที่อยู่	1301/15-16 ซอยวชิรธรรมสาริต แขวงบางจาก เขตพระโขนง จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10260
ประวัติการศึกษา	- พ.ศ. 2555 จบการศึกษาลัทธิศาสตร์ คหกรรมศาสตร์ คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ สาขาวิชาอาหารและโภชนาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ (วิทยาเขตพระนครใต้) - พ.ศ. 2556 ศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขา เทคโนโลยีการจัดและบริการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบัน เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังและสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2559
ประวัติการทำงาน	- พ.ศ. 2557 ผู้ช่วยนักวิจัย เรื่องการประเมินความเสี่ยงด้านจุลินทรีย์ตาม สุขลักษณะที่ดีของร้านอาหาร กิจกรรมที่ 5 การวิจัยและประเมินความ เสี่ยงด้านอาหารปลอดภัย ภายใต้โครงการ “การพัฒนาอุตสาหกรรม อาหารของไทยให้เป็นครัวอาหารคุณภาพของโลก” ปีงบประมาณ 2557 (Thailand Food Quality to the World)
การนำเสนอผลงาน	- นำเสนอโปสเตอร์ เรื่อง การเฝ้าระวังเชื้อ <i>Bacillus cereus</i> และ <i>Clostridium perfringens</i> ในกะปឹที่ขายในตลาดสด ในงานประชุมวิชาการ บัณฑิตศึกษาระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 5 วันที่ 16- 17 กรกฎาคม 2558 ณ ศูนย์มานุษยวิทยาสิรินธร (องค์การมหาชน) ตลิ่งชัน กรุงเทพมหานคร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้