



## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของความร้อนต่อการเหลือรอดของเชื้อ *Bacillus cereus* ในกะปิเคี้ยวสำเร็จรูป  
และอายุการเก็บรักษา

Effect of heat on *Bacillus cereus* survival in cooked shrimp paste  
“ready to eat” and shelf life

ผศ. ดร. อพีชชา จินดาประเสริฐ  
นายวัฒนาคุณบดี วัฒนหงส์ศิริ

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2559

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของความร้อนต่อการเหลือรอดของเชื้อ *Bacillus cereus* ในกะปิเคี้ยวสำเร็จรูป  
และอายุการเก็บรักษา

Effect of heat on *Bacillus cereus* survival in cooked shrimp paste

“ready to eat” and shelf life

ผศ. ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ

นายวัฒนาคนบดี วัฒนหงส์ศิริ

RCH  
0246๗  
2559

b. 1282754X  
i. ....

เลขที่ 145229  
เลขทะเบียน  
วันเดือนปี 31 ส.ค. 2560

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2559

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ	ผลของความร้อนต่อการเหลือรอดของเชื้อ <i>Bacillus cereus</i> ในกะปิเคี้ยวสำเร็จรูปและอายุการเก็บรักษา
แหล่งทุน	งบประมาณเงินรายได้ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
ประจำปีงบประมาณ	2559 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 80,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย	1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2558 ถึง 30 กันยายน 2559
ผู้รับผิดชอบโครงการวิจัย	ผศ. ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ หัวหน้าโครงการวิจัย นายวัฒนาคณบดี วัฒนหงส์ศรี ผู้ร่วมโครงการวิจัย คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### 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* ที่แยกได้จากกะปิในขั้นตอนทำกะปิเคี้ยวที่เติมเชื้อเริ่มต้นที่  $10^3$  cfu/g และ  $10^6$  cfu/g เคี้ยวกะปิที่อุณหภูมิ 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  $2.74 \pm 0.05$  Log spores/g ทำการผลิตกะปิเคี้ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด โดยการให้ความร้อนในขั้นตอนการเคี้ยวกะปิที่อุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ พบว่า กะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิห้อง ( $27 \pm 1$  องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิตู้เย็น ( $4 \pm 1$  องศาเซลเซียส) สามารถเก็บได้ที่ 30 และ 90 วัน ตามลำดับ โดยไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงสี กลิ่น และความชื้นหนืด ความเป็นกรด-ด่าง และ water activity ( $A_w$ ) และคุณภาพทางจุลชีวินวิทยา

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์กะปิเคี้ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด ช่วยเพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบ ทำได้ง่าย ปลอดภัยจากจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษ และเก็บไว้ได้นาน

**คำสำคัญ :** บาซิลลัส ซีเรียส กะปิเคี้ยวสำเร็จรูป สปอร์ อายุการเก็บรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Research Title:** Effect of heat on *Bacillus cereus* survival in cooked shrimp paste “ready to eat” and shelf life

**Researcher:** Assist. Prof. Dr. Aphacha Jindaprasert

**Co-researcher:** Mr. Wattanakanabordee Wattanahongsiri

Faculty of Agro-Industry, King Mongkut’s Institute of Technology Ladkrabang

## 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 cooked 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 heating step were inoculated with cells and spores of *B. cereus* at  $10^3$  cfu/g and  $10^6$  cfu/g and pasteurized 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  $2.74 \pm 0.05$  Log spores/g. Thus, cooked shrimp pastes “ready to eat” were produced, pasteurized at temperature range of 97-100°C for 20 minutes and stored at  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  for 90 days. It was found that they did not change in appearances, color, texture, pH, water activity ( $A_w$ ) and microbiological quality when stored at temperature of  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  for 30 days and  $4 \pm 1^\circ\text{C}$  for 90 days, respectively.

This research is a development of cooked shrimp pastes “ready to eat”, high value added products, used easy processes, safe for food-borne pathogen and prolong self-life.

**Keywords :** *Bacillus cereus*, shrimp paste “ready to eat”, spores, shelf life

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2559

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. อติสร เสวตวิวัฒน์ ที่ได้ให้แนวความคิดและคำปรึกษาเกี่ยวกับการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณสุภาวธรรม ริวบำรุง และเจ้าหน้าที่ทุกท่านในฝ่ายโภชนาการ โรงพยาบาลโรงพยาบาลหลวงพ่อทวีศักดิ์ ชุตินุชโร อุทิศ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์การสุ่มเก็บตัวอย่างวัตถุดิบในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิ และอำนวยความสะดวกต่างๆ และข้อมูลต่างๆ ด้วยดีโดยมาตลอด

ขอขอบพระคุณ คุณพลศักดิ์ อาจศิริ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านในฝ่ายโภชนาการ โรงพยาบาลลาดกระบังกรุงเทพมหานคร ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์การสุ่มเก็บตัวอย่าง วัตถุดิบในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิ และอำนวยความสะดวกต่างๆ และข้อมูลต่างๆ ด้วยดีโดยมาตลอด

ขอขอบพระคุณ คุณสมภพ วัฒนมณี หัวหน้ากลุ่มงานวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้ความร่วมมือในการตรวจยืนยันเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* ในตัวอย่างกะปิด้วยดีโดยตลอดมา

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณกำลังใจจากครอบครัวคุณพ่อ คุณแม่ น้องสาว ผศ. กรรณ จินดาประเสริฐ และเด็กชายกัณต์กัณ จินดาประเสริฐ ที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

อพัชชา จินดาประเสริฐ  
วัฒนาคนบตี วัฒนหงส์ศิริ

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย.....	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 แนวคิด และทฤษฎีหลัก.....	4
2.1.1 เชื้อบาซิลลัส ซีเรียส.....	4
2.1.2 ข้าวคดุกกะปิ.....	5
2.1.3 กะปิ.....	8
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	13
2.2.1 เชื้อที่ก่อโรคในกะปิ.....	13
2.2.2 ผลของการให้ความร้อนในการยับยั้งเชื้อ <i>Bacillus cereus</i> .....	14
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	16
3.1 วัตถุประสงค์.....	16
3.2 ตัวอย่างที่นำมาตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์.....	17
3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	17
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี.....	18
3.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	18
3.3.2 สารเคมี.....	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.5 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	19
3.5.1 การตรวจเชื้อ <i>Bacillus cereus</i> และ <i>Clostridium perfringens</i> ในตัวอย่างกะปิและ ขั้นตอนการทำข้าวคลุกกะปิ.....	19
3.5.2 การเลี้ยงเชื้อ <i>B. cereus</i> ปริสุทธิ.....	20
3.5.3 การศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนต่อการอยู่รอดของเซลล์ และสปอร์ <i>B. cereus</i> ในการทำกะปิเคี้ยว.....	21
3.5.4 การเตรียมกะปิเคี้ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด และศึกษาอายุการเก็บรักษา.....	23
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัย</b> .....	<b>27</b>
4.1 ปริมาณเชื้อ <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ที่ปนเปื้อนในกะปิจากแหล่งต่างๆ และ กระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล.....	27
4.1.1 ปริมาณเชื้อ <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ในกะปิ.....	27
4.1.2 ปริมาณเชื้อ <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ในการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล.....	31
4.2 ผลการแยกเชื้อ <i>B. cereus</i> จากกะปิ.....	35
4.3 ผลของการให้ความร้อนต่อการทำลายเซลล์และสปอร์ของเชื้อ <i>B. cereus</i> ในการทำกะปิเคี้ยว.....	38
4.3.1 ผลของการให้ความร้อนต่อการทำลายเซลล์ <i>B. cereus</i> .....	38
4.3.2 ผลของการให้ความร้อนต่อการทำลายสปอร์ <i>B. cereus</i> ทั้งหมด.....	40
4.4 การผลิตกะปิเคี้ยวสำเร็จรูปบรรจุขวดและอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์.....	42
4.5 การผัดข้าวคลุกกะปิจากกะปิเคี้ยวบรรจุขวด.....	49
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b> .....	<b>51</b>
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	51
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	52
<b>บทที่ 6 สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย</b> .....	<b>54</b>
<b>เอกสารอ้างอิง</b> .....	<b>55</b>
<b>ภาคผนวก</b> .....	<b>58</b>
ภาคผนวก ก ตัวอย่างกะปิ.....	59
ภาคผนวก ข การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์.....	61
ภาคผนวก ค การผลิตกะปิเคี้ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด.....	63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ง สรุปลำค่าใช้จ่ายการดำเนินโครงการวิจัย..... 65

ประวัตินักวิจัย..... 66



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ความแตกต่างของโรคอาหารเป็นพิษจาก <i>B. cereus</i> เป็นพิษ.....	5
2.2 โภชนาการข้าวคลุกกะปิต่องาน.....	7
2.3 คุณลักษณะทางเคมีของกะปิตาม (มอก. 1080-2535).....	9
2.4 สารปนเปื้อนของกะปิตาม (มอก. 1080-2535).....	9
2.5 ค่ามาตรฐานทางจุลชีววิทยาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมชุมชนของผลิตภัณฑ์กะปิตาม มอก. 1080 -2535.....	10
2.6 ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารหมักพื้นเมือง ที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น แหนม กะปิ ปลาจ่อม ส้มปึก และนูด.....	10
2.7 คุณค่าทางโภชนาการของกะปิทั้งหมด.....	12
4.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ของกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบปิดที่ถูกขายตามตลาดสด.....	27
4.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ของกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบเปิดจาก โรงงานอุตสาหกรรม.....	28
4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ของกะปิจาก โรงพยาบาลต่างๆ.....	29
4.4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ในกระบวนการผลิตข้าวคลุกกะปิของ โรงพยาบาลในเขตบางบอน.....	32
4.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด <i>B. cereus</i> และ <i>C. perfringens</i> ในกระบวนการผลิตข้าวคลุกกะปิของ โรงพยาบาลในเขตลาดกระบัง.....	33
4.6 ผลตรวจยืนยันเชื้อ <i>B. cereus</i> ในกะปิ จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กระทรวงสาธารณสุข โดยใช้วิธีการดัดแปลงจาก FDA-BAM (2001).....	37
4.7 การทนความร้อนของเซลล์ <i>B. cereus</i> ที่ $10^3$ cfu/g (เชื้อเริ่มต้น $3.43 \pm 0.11$ Log cfu/g ) ในการทำกะปิเคี้ยวที่อุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียสที่ เวลา 20 นาที.....	39
4.8 การทนความร้อนของเซลล์ <i>B. cereus</i> ที่ $10^6$ cfu/g (เชื้อเริ่มต้น $6.36 \pm 0.22$ Log cfu/g) ในการทำกะปิเคี้ยวที่อุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียสที่ เวลา 20 นาที.....	39
4.9 การทนความร้อนของสปอร์ <i>B. cereus</i> ที่ $10^3$ (เชื้อเริ่มต้น $3.71 \pm 0.37$ Log spores/g) ในการทำกะปิเคี้ยวที่อุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียสที่ เวลา 20 นาที.....	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.10 การทนความร้อนของสปอร์ <i>B. cereus</i> ที่ $10^6$ (เชื้อเริ่มต้น $6.30 \pm 0.27$ Log spores/g) ในการทำกะปิเคี้ยวที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียสที่ เวลา 20 นาที.....	41
4.11 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด, ยีสต์ รา, <i>E.coli</i> /Coliform, <i>B. cereus</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>Salmonella</i> และ <i>S. aureus</i> ของกะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิห้อง ( $27 \pm 1$ องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 90 วัน .....	43
4.12 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด, ยีสต์ รา, <i>E.coli</i> /Coliform, <i>B. cereus</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>Salmonella</i> และ <i>S. aureus</i> ของกะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น ( $4 \pm 1$ องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 90 วัน.....	43
4.13 ความเป็นกรด-ด่าง, ค่า Aw และ ความชื้น ของกะปิเคี้ยวบรรจุขวด เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ( $27 \pm 1$ องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 90 วัน .....	44
4.14 กะปิเคี้ยวบรรจุขวด เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ( $27 \pm 1$ องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 0, 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 วัน.....	45
4.15 ความเป็นกรด-ด่าง, ค่า Aw และ ความชื้น ของกะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น ( $4 \pm 1$ องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 90 วัน.....	47
4.16 กะปิเคี้ยวบรรจุขวด เก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น ( $4 \pm 1$ องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 0, 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 วัน.....	47
4.17 ลักษณะของข้าวกลูกกะปิ.....	50

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 การผลิตกะปิ.....	11
4.1 การติดสีแกรม รูปร่าง และการเรียงตัวของ <i>B. cereus</i> ที่แยกได้จากกะปิตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี.....	35
4.2 การติดสีสปอร์ <i>B. cereus</i> ที่แยกได้จากกะปิตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี.....	36
4.3 ผลิตกัณฑ์กะปิเกี่ยวข้องสำเร็จรูปบรรจุขวด.....	42
4.4 วิธีการผัดข้าวคลุกกะปิ.....	49



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

*Bacillus cereus* เป็นแบคทีเรียที่สร้างสปอร์และมีบทบาทสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ชื่อ *B. cereus* นี้มีการกระจายตัวสูงทั้งในธรรมชาติและในอาหารแห้ง สามารถพบได้จากดิน น้ำ ผัก และธัญพืช (บุญศรี, 2552) *B. cereus* พบในระดับต่ำที่  $10^3 - 10^4$  cells/g สามารถก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (Andersson et al., 1995) โดยเชื้อนี้สร้างสารพิษได้ในอาหารหลายชนิด (Agata et al., 2002) *B. cereus* ทำให้เกิดการของโรคอาหารเป็นพิษ 2 แบบคือ แบบที่มีอาการท้องร่วง และแบบที่มีอาการอาเจียน ซึ่งเกี่ยวข้องกับกรกินอาหารจำพวกข้าวที่มีเชื้อปนเปื้อน โดยเมื่อหุงข้าว ตัวเซลล์จะถูกทำลายแต่สปอร์ยังคงอยู่ และเมื่อเก็บข้าวที่หุงสุกแล้ว ไว้ที่อุณหภูมิห้อง โดยไม่แช่เย็น ก็จะมีผลให้สปอร์ของเชื้อเจริญขึ้นมาได้และจะสร้าง enterotoxin ที่เป็นพิษทนความร้อนออกมา ถึงแม้จะนำอาหารไปอุ่นซ้ำอีกครั้ง ก็ไม่สามารถทำลายสารพิษนี้ได้ ซึ่งใช้อุณหภูมิไม่สูงพอ จึงเป็นการกระตุ้นการงอกของสปอร์และสารพิษออกมา จนเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ (บุญศรี, 2552)

ข้าวคลุกกะปิเป็นอาหารดั้งเดิมของไทย สามารถบริโภคได้ทุกเพศทุกวัย ลักษณะของข้าวคลุกกะปิต้องมีสี รสชาติและมีกลิ่นหอมของกะปิ กะปิที่ใช้ต้องเลือกกะปิอย่างดีมีสีสวย สีไม่คล้ำมาก นอกจากนี้ยังใช้เป็นอาหารของผู้ป่วยในโรงพยาบาล ซึ่งในกระบวนการผลิตข้าวคลุกกะปิมีกระบวนการโดยเริ่มจากนำส่วนผสมซึ่งประกอบไปด้วยกะปิ น้ำตาลทรายและน้ำมัน ผสมส่วนผสมให้เข้ากันและเคี่ยวกะปิให้มีกลิ่นหอมโดยใช้ระยะเวลาการหัดประมาณ 5-10 นาที และนำมาผัดกับข้าวก็จะได้เป็นข้าวคลุกกะปิ มีรายงานพบว่ากะปิและผลิตภัณฑ์ มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษหลายชนิด ที่สำคัญตรวจพบเชื้อ *B. cereus* และ *Clostridium perfringens* (รวีวรรณ, 2545; ชันทอง, 2546) เชื้อ *B. cereus* มักปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ และมีโอกาสเหลือรอดและอาจเพิ่มจำนวนขึ้นได้ในผลิตภัณฑ์ ถ้าหากกระบวนการให้ความร้อนยังไม่เพียงพอที่สามารถทำลายสปอร์ที่ทนความร้อนได้ (Chang et al., 2011) ทำให้ผู้บริโภคที่เป็นกลุ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรค ได้แก่ เด็ก ผู้ป่วย และผู้สูงอายุ มีโอกาสเกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีอาการรุนแรงได้

ดังนั้นงานวิจัยนี้สนใจศึกษาหาสาเหตุการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคโดยเฉพาะเชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกะปิและกระบวนการเตรียมข้าวคลุกกะปิ ศึกษาการให้ความร้อนในการทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในขั้นตอนการทำกะปิเดี่ยวของโรงพยาบาล และผลิตกะปิ

เกี่ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด จากนั้นศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เพื่อพัฒนาเป็นกะปิเกี่ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อตรวจเชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกะปิและกระบวนการผลิตข้าวคลุกกะปิ

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อเซลล์และสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ในขั้นตอนการทำกะปิเกี่ยว

1.2.3 เพื่อทำการผลิตกะปิเกี่ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด และศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

## 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้มีเป้าหมายในการหาสาเหตุการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในกะปิและกระบวนการเตรียมข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล โดยตรวจวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกะปิที่ขายตามตลาดสดและกะปิจากโรงพยาบาลต่างๆ ตลอดจนเก็บตัวอย่างอาหารจากขั้นตอนการผลิตข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล 2 แห่ง ในเขตบางบอน และเขตลาดกระบัง ทำการแยกเชื้อ *B. cereus* ที่พบในกะปิให้บริสุทธิ์ ศึกษาผลของการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียส เวลา 0, 5, 10, 15 และ 20 นาที ในขั้นตอนการทำกะปิเกี่ยวที่มีเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ที่แยกได้ ที่ความเข้มข้น 2 ระดับ ( $10^7$  และ  $10^6$  cfu/g) ทำการตรวจหาเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ที่เหลือรอดจากการให้ความร้อนและคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการทำลายเชื้อ *B. cereus* ให้หมดจากกะปิเกี่ยว จากนั้นนำสภาวะดังกล่าว มาเตรียมกะปิเกี่ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด และศึกษาอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิต่ำเย็น เป็นเวลา 3 เดือน เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ในช่วงการเก็บรักษา ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของกะปิเกี่ยว คุณภาพทางจุลชีววิทยา และตรวจวิเคราะห์ทางเคมี

## 1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยประกอบด้วย 4 ขั้นตอน ดังนี้

1.4.1 การตรวจเชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกะปิและกะปิในโรงพยาบาล

1.4.2 การแยกเชื้อ *B. cereus* ที่พบในกะปิ และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ

1.4.3 ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนต่อการอยู่รอดของเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในกะปิเกี่ยว

1.4.4 การผลิตกะปิเกี่ยวบรรจุขวดและศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

### 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ทราบปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* ในกะปิและกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล

1.5.3 ทราบสถานะที่เหมาะสมในการให้ความร้อนต่อการทำลายเซลล์และสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ในการทำกะปิเคี้ยว

1.5.4 ได้กระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์กะปิเคี้ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด ทราบอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์



## บทที่ 2

### แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 แนวคิด และทฤษฎีหลัก

##### 2.1.1 เชื้อบาซิลลัส ซีเรียส (*Bacillus cereus*)

###### 2.1.1.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *B. cereus*

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

###### 2.1.1.2 อาหารที่เป็นพิษและแหล่งที่พบ

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

###### 2.1.1.3 อาการของโรคและอาหารที่เกี่ยวข้อง

*B. cereus* ทำให้เกิดอาการของโรคอาหารเป็นพิษ 2 แบบ ดังตารางที่ 2.1 คือ

1) แบบที่มีอาการท้องร่วง เกี่ยวข้องกับการกินอาหารจำพวกเนื้อ ชุป หรือผักที่มีเชื้อปนเปื้อน รวมทั้งพวกเครื่องเทศแห้ง อาการที่เกิดขึ้นหลังจากบริโภคอาหารเข้าไป 8–16 ชั่วโมง และจะหายภายใน 12–14 ชั่วโมง อาการที่เกิดขึ้นคือ ปวดท้อง ถ่ายอุจจาระเหลวเป็นน้ำและปวดอึดเสบอันเนื่องมาจากการถ่ายเบ่ง ส่วนอาการคลื่นไส้และอาเจียนนั้นมักไม่ค่อยเกิดขึ้น (บุญศรี, 2552)

2) แบบที่มีอาการอาเจียน เกี่ยวข้องกับการกินอาหารจำพวกข้าวที่มีเชื้อปนเปื้อน โดยเมื่อหุงข้าวตัวเซลล์จะถูกทำลาย แต่สปอร์ยังคงอยู่ เมื่อเก็บข้าวที่หุงสุกแล้วไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่แช่เย็น ก็จะมีผลให้สปอร์ของเชื้อเจริญขึ้นมาได้และจะสร้างสารพิษที่ทำให้อาเจียน (emetic toxin) ที่ทนความร้อนออกมา ถึงแม้จะนำอาหารไปอุ่นซ้ำอีกครั้งก็ไม่สามารถทำลายสารพิษนี้ได้ ซึ่งหากใช้อุณหภูมิไม่สูงพอ จะเป็นการกระตุ้นการงอกของสปอร์และสารพิษออกมาจนเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งเรียกว่า “Chinese Restaurant Syndrome” ระยะฟักตัวของเชื่อนี้กินเวลา 1–5 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง แต่จะไม่มีไข้ และท้องร่วง อาการดังกล่าวเป็นอยู่เพียงระยะเวลานั้นๆ 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)

### 2.1.2 ข้าวคลุกกะปิ

#### 2.1.2.1 ประวัติของข้าวคลุกกะปิสมัยรัชกาลที่ 5

มาจากวรรณกรรม ปกิณณะในรัชกาลที่ 5 หลากหลายเรื่องของพระราชจริยวัตรที่น่าประทับใจในพระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัวในเรื่องข้าวคลุกกะปิ กล่าวว่าการประณีตรับใช้มีรับสั่งว่า “ข้าฝืนไปว่าเสด็จยายทรงปรุงข้าวคลุกกะปิให้กินอร่อยมาก ทำให้ข้าอยากกินข้าวคลุกกะปิ เจ้าเตรียมกะปิและเครื่องต่างๆ สำหรับปรุงไว้ให้ข้า พู่นี้ข้าตื่นนอนข้าจะคลุกเอง” เมื่อเสวยเสร็จแล้ว พระทัยเบิกบานและได้ทรงคลุกข้าวพระราชทานด้วยฝีพระหัตถ์เป็นการตอบแทน นับว่าเป็นพระมหากษัตริย์ผู้ล้นเกล้าฯ ข้าวคลุกกะปินี้ เป็นพระอาหารที่โปรดเสวยเนื่องๆ อันที่จริงก็เป็นอาหารของเรา คนธรรมดาด้วยและอาจปรุงให้มีรสอร่อยพิเศษขึ้นอย่างไรก็ได้ (นวรรต, 2553)

#### 2.1.2.2 ต้นตำหรับข้าวคลุกกะปิ

ต้นตำรับของข้าวคลุกกะปิ คือ ข้าวคลุกปลาตุ๋นย่าง ลักษณะของข้าวคลุกกะปิต้องมีสีนวล มีรสชาติของกะปิและมีกลิ่นหอมของกะปิ กะปิที่ใช้ต้องเลือกกะปิอย่างดี มีสีสวย สีไม่คล้ำมาก ข้าวที่ใช้ต้องเป็นข้าวที่หุงไม่แฉะ เม็ดสวยจึงนิยมใช้ข้าวเสาไห้ โดยหุงใช้น้ำน้อย สมัยโบราณจะห่อกะปิด้วยใบตอง แล้วนำไปปิ้งไฟให้มีกลิ่นหอมก่อนนำมาคลุกกับข้าว ในปัจจุบันใช้วิธีนำกะปิลงไปผัดในกระทะให้หอมแล้ว คลุกกับข้าวเพื่อช่วยเพิ่มความหอมของกะปิและทำให้เม็ดข้าวมีสีสวย เครื่องเคียงสำคัญของข้าวคลุกกะปิ ซึ่งจะขาดไม่ได้คือ กุ้งแห้งทอดกรอบและเครื่องเคียงประกอบอื่นๆ ได้แก่ หมูหวาน ไข่เจียวหั่นฝอย หอมแดงซอย พริกขี้หนูซอย มะม่วงดิบ ผักชี และแตงกวา (ศศพินทุ์, 2549)

การทำข้าวคลุกกะปิที่ขายตามร้านอาหารทั่วไป มีการนำข้าวสวยกับกะปิมาผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันได้เป็นข้าวคลุกกะปิโดยที่ไม่มีการผ่านความร้อนหรือนำกะปิไปผัดกับน้ำมันในกระทะให้หอมก่อน จึงนำมาคลุกกับข้าวสวย การทำข้าวคลุกกะปิในโรงพยาบาลส่วนใหญ่ นำกะปิ น้ำมัน น้ำ และกะปิ มาผัดให้เข้ากันด้วยความร้อนที่ระยะเวลาสั้นๆ เมื่อได้กะปิที่ผ่านความร้อนแล้วนำมาผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันกับข้าวสวยก็จะได้เป็นข้าวคลุกกะปิ

### 2.1.2.3 วิธีทำข้าวคลุกกะปิ

• สูตรข้าวคลุกกะปิ (สูตรวิทยาลัยในวัง) (ศรีสมร, 2549)

เครื่องปรุงหมูหวาน

เนื้อหมูติดมันหรือหมูสามชั้น	350	กรัม
น้ำตาลปีบ	½	ถ้วย
น้ำปลา	3	ช้อนโต๊ะ

วิธีทำ

1) ต่างหมูทั้งชิ้นให้สะอาด ใส่หม้อเติมน้ำพอท่วมตั้งไฟต้มให้สุก ตักขึ้นมาผึ่งสักครู่ หั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมเล็กๆ

2) เอน้ำตาลปีบใส่กระทะตั้งไฟ ใส่น้ำปลา เติมน้ำ ใส่น้ำและเคี่ยวไฟอ่อน ให้เนื้อหมูนุ่มและเครื่องเข้าเนื้อ เคี่ยวจนงวด ยกลง

เครื่องปรุงข้าวคลุกกะปิ

ข้าวสุก	6	ถ้วย
น้ำมันหมู	¼	ถ้วย
กระเทียมลั่นละเอียด	3	ช้อนโต๊ะ
กะปิ	3	ช้อนโต๊ะ
หอมแดงซอย	½	ถ้วย
หมูหวาน	2	ถ้วย
มะม่วงซอย	½	ถ้วย
ไข่กรอกม้วนแล้วหั่นฝอย	2	ฟอง
กุ้งแห้ง	1	ถ้วย
น้ำปลา	1	ช้อนโต๊ะ
พริกชี้หนูซอย (หรือพริกชี้หนูแห้งทอด)	10	เม็ด

วิธีทำ

1) นำกุ้งแห้งปริมาณ ½ ถ้วย ปั่นละเอียด แล้วนำไปทอดให้กรอบ

พักไว้

2) ใส่น้ำมันลงกระทะ ตั้งไฟให้ร้อน ใส่วัตถุเคี้ยวลงเจียว พอเหลืองตักกระทะขึ้นใส่กะปilingไปผัดให้หอมตักขึ้น

3) คลุกกะปิผัดกับข้าวให้ทั่วชิมรสถ้าไม่เค็มเติมน้ำปลาตามชอบใส่กุ้งแห้งป่น หมูหวาน แบ่งหอมซอยมา ¼ ถ้วย คลุกทั้งหมดลงข้าว ให้เข้ากัน

4) จัดข้าวคลุกกะปิลงจาน โรยหน้าด้วย กุ้งแห้งทอด หอมซอย มะม่วงซอย ไข่หั่นฝอย ถ้าชอบเผ็ด โรยพริกขี้หนูตามชอบ

#### ● ขั้นตอนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาล

เริ่มจากการคัดเลือกซื้อวัตถุดิบกะปิคุณภาพดีแบบมีบรรจุภัณฑ์ปิดสนิทจากโรงงานอุตสาหกรรม ในการทำกะปิเคี้ยวมีส่วนประกอบดังนี้ กะปิ 300–400 กรัม น้ำมัน 40 กรัม น้ำตาลทราย 40 กรัม น้ำเปล่า 700–900 กรัม นำกระทะตั้งไฟใส่น้ำมันลงไปพอน้ำมันร้อนใส่กะปิและน้ำเปล่า ตามลงไปผัดผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันใส่น้ำตาลทราย เคี่ยวต่อไปจนได้กะปิที่ค่อนข้างข้น นำกะปิเคี้ยวใส่ในข้าวสวยที่อยู่ในอ่างผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน นำผัดลงในกระทะให้ความร้อนจัดเสิร์ฟ ซึ่งกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลส่วนใหญ่จะนำกะปิไปเคี่ยวผ่านความร้อนก่อนนำมาคลุกข้าวสวย ไม่เหมือนกับการทำข้าวคลุกกะปิทั่วไปคือจะนำกะปิไปคลุกกับข้าวสวยเลยหรือบางที่อาจนำกะปิไปผัดกับน้ำมันให้ร้อนแล้วนำมาคลุกกับข้าวสวยกลายเป็นข้าวคลุกกะปิ

#### 2.1.2.4 โภชนาการของข้าวคลุกกะปิ

ศสพินทุ์ (2549) กล่าวว่า คุณค่าทางโภชนาการของข้าวคลุกกะปิ 1 งาน ให้พลังงานประมาณ 613 กิโลแคลอรี (ในปริมาณ 296 กรัมต่อ 1 งาน) ซึ่งเป็นปริมาณพลังงาน 1 ใน 3 ของที่แนะนำให้บริโภคต่อวันสำหรับผู้ที่ต้องการพลังงาน 1,600 กิโลแคลอรีต่อวัน ส่วนปริมาณโปรตีน มีค่อนข้างสูงซึ่งมาจากเนื้อหมู กุ้งแห้ง และไข่เจียวเป็นส่วนใหญ่ แต่เมื่อดูปริมาณไขมัน อาจถือได้ว่าข้าวคลุกกะปิเป็นอาหารจานเดียวที่ให้ปริมาณไขมันสูงพอสมควร ข้าวคลุกกะปิที่จัดเสิร์ฟให้ผู้ป่วยในโรงพยาบาลจะจัดอยู่ในอาหารประเภททั่วไป ข้าวคลุกกะปิถือเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงและครบถ้วนจากการบริโภคอาหารจานเดียว ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 โภชนาการของข้าวคลุกกะปิต่องาน

ปริมาณ ต่องาน (กรัม)	พลังงาน กิโลแคลอรี	โปรตีน (กรัม)	ไขมัน (กรัม)	คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	เกลือ (กรัม)
296	613	20.3	24.3	78.8	4.7

ที่มา : กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข (2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.1.3 กะปิ

### 2.1.3.1 กะปิ

กะปิเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นเมืองที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมในการปรุงอาหารในหลายๆ เมนูของอาหารหรือเป็นเครื่องชูรสควบคู่ไปกับกับข้าว ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทำจากวัตถุดิบพื้นเมืองซึ่งหมักแล้วนำมาตากแห้งตามระยะเวลาที่กำหนด แล้วถึงจะนำมาบริโภค (นงนุช, 2538) กะปิเคยแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ ดังนี้ (อรุณี, 2534)

- กะปิแห้ง มีความชื้นเพียงเล็กน้อยและมีลักษณะเนื้อค่อนข้างเหนียว
- กะปิเหลว มีความชื้นสูงลักษณะเนื้อเหลวเหมือนซอสมะเขือเทศ กะปิ

ชนิดนี้มักทำจากเคยสำลี โดยจะสะเด็ดน้ำประมาณ 15 นาที ผสมเคยอดเกลือที่อัตราส่วน 2-3 ต่อ 1 สะเด็ดน้ำ 2-3 ชั่วโมง แล้วหมักใส่ภาชนะ

### 2.1.3.2 หลักการผลิตกะปิที่ดี

เคยสดทุกชนิดที่ใช้ในการผลิตกะปิควรทำความสะอาด และต้องเลือกล้างเจือปนออก นำเกลือเคล้ากับเคยให้เข้ากันให้ทั่ว ควรใช้เกลือชนิดเม็ดควรใส่ให้เพียงพอต่อเคยที่จะนำมาหมักกะปิ เพื่อไม่ให้เคยเน่าเสีย เคยที่เคล้ากับเกลือแล้วควรจะกรองหรือทับน้ำในภาชนะที่อากาศถ่ายเทได้ดี นอกจากนั้นเคยที่กรองแล้วรดแล้ว ควรนำเคยไปตากแดดก่อนการหมักกะปิทุกครั้ง การอัดกะปิเพื่อการหมักควรอัดให้แน่น โดยพยายามไม่ให้มีช่องอากาศอยู่ในกะปิในขั้นตอนการหมักเพราะจะทำให้กะปิมีกลิ่นไม่ดีหรือรสชาติที่เปลี่ยนแปลงไปได้หลังจากการหมัก ควรหมักกะปิในภาชนะดินเผา เช่น ไหหรือคุ่ม หรือภาชนะที่มีการป้องกันแมลงวันเข้าไป โดยจะขัดปากด้วยใบมะพร้าวและไม้ไผ่ โดยมีผ้าขาวบางคลุมอีกทีหมักกะปิอย่างน้อย 3 เดือน การบรรจุกะปิเพื่อจำหน่าย ควรจะอัดกะปิในภาชนะบรรจุให้แน่น พยายามอย่าให้มีช่องว่างของอากาศอยู่เพราะจะทำให้กะปิเน่าเสียได้ และราคาพาราฟินข้างบนอีกชั้นหนึ่งจึงจัดจำหน่ายได้ (เริงฤดี และจิราวรรณ, 2524)

### 2.1.3.3 มาตรฐานที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์กะปิดังนี้

- มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมชุมชนของผลิตภัณฑ์กะปิ (มอก. 1080-2535)

#### 1) ลักษณะทั่วไป

- ลักษณะเนื้อต้องละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน เหนียวและไม่แห้งหรือเปื่อยเกินไป
- กลิ่นต้องมีกลิ่นหอมตามธรรมชาติของกะปิ ไม่มีกลิ่นคาวปลา กลิ่นฉุนของแอมโมเนีย กลิ่นสาบ
- รส ต้องมีรสกลมกล่อม เค็มพอดีและไม่มีรสขม

- สี ต้องมีสีตามธรรมชาติของกะปิ เช่น สีเทาอมชมพู สีม่วงเทา สีแดงม่วง สีน้ำตาลอมแดง เป็นต้น
  - สิ่งปลอมปน ต้องปราศจากสิ่งปลอมปน เช่น แป้งมันสำปะหลัง หรือแป้งต่างๆ
  - สิ่งแปลกปลอม ต้องปราศจากสิ่งแปลกปลอม เช่น กรด กรวด ทราษ ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกลของแมลง หนูหรือนก
- 2) คุณลักษณะทางเคมี

ตารางที่ 2.3 คุณลักษณะทางเคมีของกะปิตาม มอก. 1080 – 2535

คุณลักษณะ	เกณฑ์ที่กำหนด
ไนโตรเจนทั้งหมด (กรัม)ต่อกิโลกรัมของน้ำหนักอบแห้ง ต้องไม่น้อยกว่า	58
ปริมาณเกลือร่อยละของน้ำหนักอบแห้ง ต้องไม่น้อยกว่า	36
ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดร่อยละของน้ำหนักอบแห้ง ต้องไม่เกิน	0.5
ค่าความเป็น กรด-ด่าง	6.5–7.8
ไนโตรเจนจากกรดอะมิโน (กรัม) ต่อกิโลกรัมต้องไม่น้อยกว่า	50
แอมโมเนียคัลไนโตรเจน (กรัม) ต่อกิโลกรัมต้องไม่เกิน	7
ร่อยละความชื้น ต้องไม่เกิน	45

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

### 3) วัตถุเจือปนอาหาร

- วัตถุกันเสีย ห้ามใช้วัตถุกันเสีย เว้นแต่ซัลเฟอร์ที่ติดมากับวัตถุดิบ และที่เกิดขึ้นเองจากการหมักหรือย่อยสลายตามธรรมชาติต้องไม่เกิน 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
- สี ห้ามใช้สีผสมทุกชนิดในกะปิ
- ห้ามใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาลทุกชนิด

### 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)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 5) การบรรจุ

- ต้องบรรจุกะปิในภาชนะที่สะอาดแห้ง ทนต่อการกักกรองและปิด

ได้สนิท

- น้ำหนักสุทธิของกะปิในแต่ละภาชนะบรรจุ ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุ

ไว้ที่ฉลาก

## 6) ค่ามาตรฐานทางจุลชีววิทยาของกะปิ

มาตรฐานทางจุลชีววิทยาของกะปิ ดังตารางที่ 2.5-2.6

## ตารางที่ 2.5 ค่ามาตรฐานทางจุลชีววิทยาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมชุมชนของผลิตภัณฑ์กะปิ

(มอก. 1080 – 2535)

ค่ามาตรฐาน	
Total plate count (cfu/g)	$1 \times 10^5$ 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)

## ตารางที่ 2.6 ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารหมักพื้นเมืองที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น แหนม กะปิ ปลาจ่อม ปลาจ่อม ส้มผัก 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)

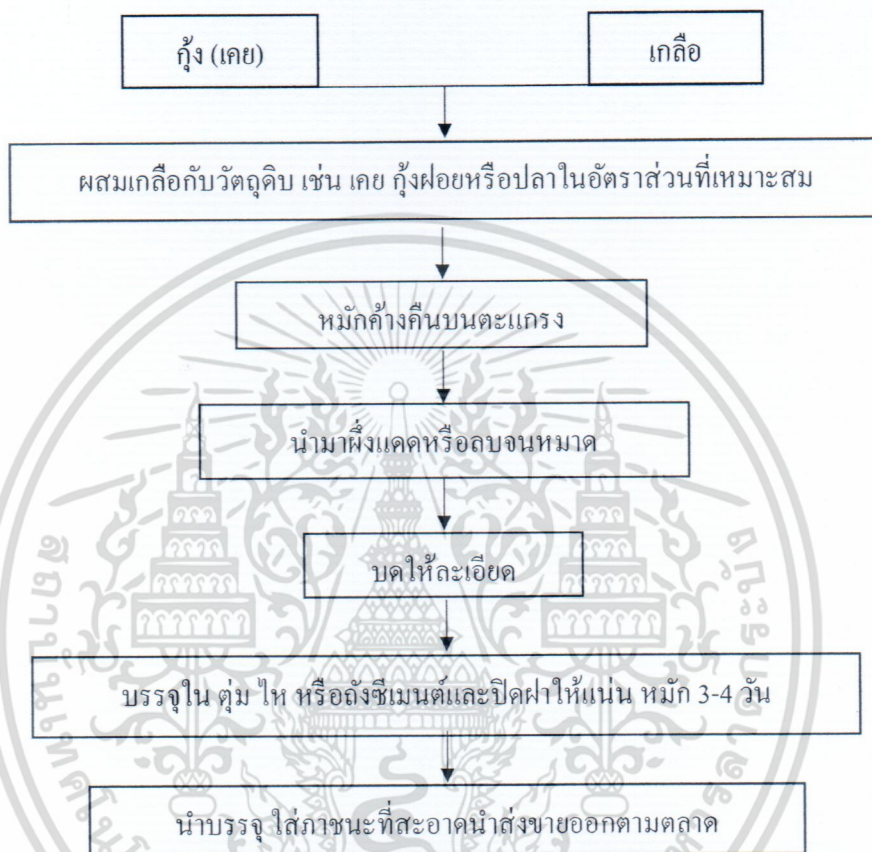
## 2.1.3.4 การผลิตกะปิโดยทั่วไป (นถมล, 2538; สุนทร, 2556)

การผลิตกะปิอาศัยหลักการเกี่ยวกับการหมักน้ำปลา คือ อาศัยจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการหมัก เช่น *Bacillus* *Pediococcus* *Lactobacillus* *Micrococcus* *Sarcina* *Clostridium*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Staphylococcus* และเอนไซม์จากเนื้อปลาเป็นตัวการที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในกระบวนการหมัก โดยใส่เกลือในปริมาณที่พอเหมาะ เพื่อยับยั้งการเน่าเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ ดังนั้นกระบวนการที่จำเป็นและที่สำคัญที่สุดคือ การย่อยสลายโดยเอนไซม์ โดยเฉพาะการย่อยโปรตีนและไขมัน ซึ่งเป็นผลให้เกิดสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นและรสในผลิตภัณฑ์ กระบวนการผลิตกะปิ ดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 การผลิตกะปิ

ที่มา: สิริพร (2535)

หลังจากชาวประมงจับกุ้งเคยได้แล้วจะใช้ตะแกรงตาถี่ หรือตะกร้าพลาสติกตาถี่ ร่อนตัวเคย โดยจะใช้น้ำทะเลทำความสะอาดเพื่อให้เคยคงความสดไม่ตายและไม่เสียรสชาติที่ดีของกะปิ ซึ่งตัวเคยละเอียดจะลอดตะแกรงลงไปอยู่ข้างล่างเหลือเศษใบไม้เคยหยาบและสิ่งที่ไม่ต้องการอยู่ข้างบน นำเคยสดที่ได้ไปคลุกเคล้ากับเกลือในอัตราส่วนโดยทั่วไปจะเป็นอัตราส่วนเกลือ 1 ส่วนต่อเคย 10 ส่วน หรือเกลือ 1 ส่วนต่อเคย 12 ส่วน (ถ้าไม่ต้องการเต็มจัด) หลังจากนั้นก็จะนำไปพักไว้โดยใส่ในภาชนะที่มีช่องระบาย เช่น ตะกร้าหรือห่อด้วยยวนตาถี่แล้วทับด้วยวัสดุหนักๆ เพื่อให้ น้ำออกไปบางส่วนทิ้งไว้ 1-2 คืน (เรียกว่าการเกรอะ) นำเคยที่ผ่านการหมักกับเกลือแล้ว ไปตาก

แดดจัดๆ โดยสามารถทำได้ 2 วิธี คือตากแบบแห้งโดยใช้ตะแกรงถี่ๆ หรืออวนลอมใต้เคยเพื่อให้ น้ำหยดลงด้านล่างได้และตากแบบเปียก จะนำไปตากบนผ้าพลาสติกหรือผ้ายาง ซึ่งวิธีนี้คุณค่าทางอาหารของเคยจะไม่สูญเสียไปกับน้ำเหมือนการตากแห้ง หมั่นกลับเอาข้างล่างขึ้น ตากแดดจัด 2-3 วันให้เคยแห้ง (ให้มีความชื้นอยู่บ้างไม่ต้องแห้งสนิท) นำเคยที่ตากแดดเรียบร้อยแล้วไปบดหรือไม่ให้ละเอียด นำเคยที่ม่แล้วมาอัดใส่ภาชนะหมักเช่น ไห โอ่งดินเผา หรือถังพลาสติก ให้แน่น พยายามไม่ให้มีช่องว่างระหว่างเนื้อกะปิ เพราะจะทำให้เนื้อกะปิทำปฏิกิริยากับอากาศแล้วเกิดกลิ่นหืนที่ไม่พึงประสงค์ หลังจากอัดแล้วปิดฝาภาชนะให้แน่นกันแมลงและหนอน ระยะเวลาในการหมักจะใช้เวลา 3-5 เดือน หลังจากหมักได้ที่ก็จะนำกะปิเคยที่ได้มาบรรจุในภาชนะที่มีฝาปิดสนิทสามารถนำจำหน่ายได้แต่ถ้าไม่บรรจุก็สามารถนำไปแช่เย็นหรือเก็บไว้ในที่ร่มที่มีฝาปิดเพื่อป้องกันแมลงรบกวน

#### 2.1.3.5 คุณค่าทางโภชนาการของกะปิ

กะปิมีคุณค่าทางโภชนาการ 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)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.1.3.6 คุณสมบัติของกะปิ (กฤษดา, 2558)

- 1) บำรุงกระดูก แคลเซียมจะถูกปลดปล่อยจากกะปิผ่านความร้อน เช่น ตอนปิ้งหรือทำข้าวคดลูกกะปิด้วยข้าวสวยร้อนๆ
- 2) แก้อาการโลหิตจาง กะปิอุดมไปด้วยวิตามินบี 12
- 3) ช่วยให้ฟันแข็งแรงเมื่อนำกะปิไปผ่านความร้อน
- 4) เยี่ยมด้วยโอเมก้า 3 เป็นน้ำมันโอเมก้าชนิดเดียวกับปลาน้ำลึกช่วยบำรุงให้สมองดี
- 5) ในกะปิมีสารพัดคุณประโยชน์ที่ดี ที่ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ไม่ให้เชื้อร้ายทำอันตรายกับร่างกาย
- 6) บำรุงสายตา มีแอนตีออกซิเจน
- 7) ในกะปิเป็นแหล่งสะสมของวิตามินดี
- 8) ช่วยระบบไหลเวียนเลือดทำงานได้ดี
- 9) ช่วยป้องกันโรคหัวใจจากโรคต่างๆ

## 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.2.1 เชื้อที่ก่อโรคในกะปิ

เดิมศักดิ์ (2523) วิเคราะห์กะปิที่เก็บจากตลาดและแหล่งผลิตต่างๆ ของไทยจำนวน 41 ตัวอย่าง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิดคือ Brain heart infusion agar (BHIA) เดิมเกลือ 10% และ Nutrient agar (NA) เดิมเกลือ 10% และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่า BHIA agar เดิมเกลือ 10% จะให้ผลในการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกะปิ ได้ดีกว่าการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar NA เดิมเกลือ 10% เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถเจริญได้เร็วและมีขนาดโคโลนีใหญ่กว่านอกจากนี้พบว่าปริมาณแบคทีเรียในตัวอย่างกะปิมีความแตกต่างกันตามอายุการหมักและปริมาณเกลือที่ใช้ กะปิที่มีอายุการหมักน้อยจะมีปริมาณแบคทีเรียมากกว่าที่มีการหมักนานตัวอย่างเช่น กะปิที่มีอายุการหมัก 2 – 3 วันจะมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด  $10^8$  cfu/g ขณะที่กะปิที่มีอายุการหมักมากกว่า 1 ปีจะมีปริมาณแบคทีเรีย  $10^3$  cfu/g สำหรับเกลือพบว่ากะปิที่มีปริมาณเกลือสูงจะมีปริมาณแบคทีเรียต่ำกว่ากะปิที่มีปริมาณเกลือต่ำ

อรุณี (2534) ตรวจสอบจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษและจุลินทรีย์ทั่วไปในกะปิ 3 กลุ่มราคา ได้แก่ ราคาถูก ราคาปานกลาง และราคาแพง พบว่าจำนวนเชื้อราที่ตรวจพบจะแปรผันตามกลุ่มราคาของกะปิกว่าคือ กะปิกกลุ่มราคาถูกจะตรวจพบเชื้อรามากที่สุดมีค่าเฉลี่ย  $2.6 \times 10^3$  cfu/g คิดเป็นร้อยละ 75% ของตัวอย่างทั้งหมด ในกลุ่มกะปिरาคาปานกลางและราคาแพงพบเพียง  $3.7 \times 10$  และ  $5.0 \times 10$  cfu/g ตามลำดับ ซึ่งปริมาณที่ตรวจพบนั้นยังอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้สำหรับการตรวจจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในกะปิทั้ง 3 กลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

ขันทอง (2546) คุณภาพทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างกะปิทั้งหมดจำนวน 50 ตัวอย่าง พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามมาตรฐานมอก. 1080 – 2535 ตรวจไม่พบ coliform bacteria *S. aureus* และ *Salmonella* ในทุกตัวอย่างกะปิที่ศึกษา ตรวจพบ *C. perfringens* และเชื้อราที่เกินเกณฑ์มาตรฐาน มอก. 1080 – 2535 จำนวน 9 ตัวอย่าง คิดเป็น 18% ของจำนวนตัวอย่างกะปิทั้งหมด ตรวจพบ *C. perfringens* ในกะปิชนิดที่ 1 จำนวน 6 ตัวอย่างและพบในกะปิชนิดที่ 2 จำนวน 3 ตัวอย่าง พบเชื้อราในกะปิชนิดที่ 2 จำนวน 9 ตัวอย่าง เมื่อแบ่งตามกลุ่มราคา พบว่าในกลุ่มกะปิราคาถูกตรวจพบ *C. perfringens* จำนวน 4 ตัวอย่าง และพบเชื้อราจำนวน 6 ตัวอย่างซึ่งมากกว่ากลุ่มกะปิราคาอื่น

นิภัชราพร และพัชราภรณ์ (2558) ศึกษาการตรวจหาปริมาณเชื้อ *B. cereus* ในน้ำพริก โดยใช้น้ำพริก 4 ชนิดในการตรวจสอบ ได้แก่ น้ำพริกปลาอย่าง น้ำพริกปลาร้า น้ำพริกปลาทุ และน้ำพริกกะปิ โดยแต่ละชนิดจะมี 5 ร้านค้า รวมทั้งหมด 60 ตัวอย่าง โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำพริกจากร้านขายน้ำพริกที่บริเวณตลาดในท่าซัวร์กำแพงเพชร และบริเวณตลาดศูนย์การค้าในอำเภอเมืองกำแพงเพชร จังหวัดกำแพงเพชร มาทำการตรวจนับจำนวนเชื้อ *B. cereus* ตามวิธีการของ Bacteriological Analytical Manual (BAM) Online ระหว่างเดือนกันยายน 2558 ถึงเดือนธันวาคม 2558 พบว่ามีกรปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* ในน้ำพริกปลาอย่างมากที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยมากถึง  $4.29 \times 10^3$  เซลล์ต่อกรัม ในขณะที่น้ำพริกปลาทุมีการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* ต่ำที่สุด โดยพบการปนเปื้อนของเชื้อเท่ากับ  $1.50 \times 10^2$  เซลล์ต่อกรัม และร้านจำหน่ายน้ำพริกที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของประกาศกระทรวงสาธารณสุขคือร้านที่ 2 สามารถตรวจพบปริมาณเชื้อ *B. cereus* เหลือได้ไม่เกินเกณฑ์ที่ประกาศกระทรวงสาธารณสุขได้กำหนดไว้

## 2.2.2 ผลของการให้ความร้อนในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus*

เสาวคนธ์ (2551) จากการศึกษาผลร่วมของความร้อนและความเป็นกรด-ด่างในการทำลายสปอร์ *B. cereus* และ *C. sporogenes* ในผลิตภัณฑ์หน่อไม้รวกต้มบรรจุถุงที่นิยมผลิตกันในจังหวัดกาญจนบุรี การยับยั้งสปอร์ของ *B. cereus* และ *C. sporogenes* มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันคือ การปรับกรดซิดริกที่ 3.5% สามารถยับยั้งสปอร์ได้ หน่อไม้ที่เดิมจำนวนสปอร์ระดับสูงที่  $10^8$  spores/g ส่วนหน่อไม้ที่เดิมสปอร์ระดับต่ำที่  $10^4$  spores/g ในสภาวะปรับกรดสามารถยับยั้ง

สปอร์ได้เร็วกว่าในสภาวะไม่ปรับกรด โดยที่หน่อไม้ขนาดใหญ่ใช้เวลาในการให้ความร้อนเพื่อ ยับยั้งสปอร์มากกว่าหน่อไม้ขนาดเล็กและอุณหภูมิใจกลางหน่อไม้ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งสปอร์ได้เร็วกว่าที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ทั้งในหน่อไม้ที่เดิมสปอร์ระดับต่ำ และสูง

Valero และคณะ (2003) ศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิที่มีการ เจริญเติบโตของเชื้อ *B. cereus* เชื้อ *B. cereus* เป็นจุลินทรีย์ก่อโรคที่ทำให้อาหารเป็นพิษ การทดลอง นี้ นำตัวอย่างผักคือ แครอท และชุกินี ซึ่งทำเป็นซूपข้นๆ พบว่าการทำให้มี pH เพิ่มขึ้น และการเก็บ รักษาในห้องที่เหมาะสม มีการเจริญของสปอร์แบคทีเรียของเชื้อ *B. cereus* เพิ่มขึ้นได้ ในระหว่างการ เก็บรักษาตัวอย่างที่ pH 5.0 และอุณหภูมิต่ำ น้อยกว่า 8 องศาเซลเซียส ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ที่ 60 วัน การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้ ใน แครอทและชุกินีการให้ความร้อนในการทำลายเชื้อ *B. cereus* ในซूपแครอทและซूपชุกินี พบว่าการ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7.5 นาที จะกลายเป็นซूपข้นๆ และลดอุณหภูมิ ให้เหลือ 8 องศาเซลเซียส แต่ถ้าตัวอย่างอยู่ในอุณหภูมิที่ 12 องศาเซลเซียส ต้องใช้ความร้อนมากขึ้น ในการทำลายเชื้อ *B. cereus* ที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

Byrne และคณะ (2006) ทำการศึกษาผลของความร้อนต่อการทำลาย *B. cereus* และ *C. perfringens* เซลล์และสปอร์ในหมู่ม้วน (pork luncheon roll) ทำการเติมเซลล์และสปอร์ของเชื้อ ทั้งสองลงในเนื้อหมู นำตัวอย่างไปให้ความร้อนและเวลาที่แตกต่างกัน เพื่อหาค่า decimal-reduction time (D-value) และ thermal resistance (z-value) จากค่า D และค่า z พบว่าความร้อนที่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ที่เวลา 12 วินาที ถึง 1.30 นาที ทำให้เซลล์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ลดลงถึง 6 log เช่นเดียวกับสปอร์ของ *B. cereus* และ *C. perfringens* เมื่อนำไปให้ ความร้อนที่อุณหภูมิ 105 และ 110 องศาเซลเซียส ที่เวลา 36 วินาที สามารถทำลายสปอร์ได้

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินการวิจัย

#### 3.1 วัตถุดิบ

วัตถุดิบการทำกะปิเคี้ยวประกอบด้วย

- |                           |                                   |
|---------------------------|-----------------------------------|
| 3.1.1 กะปิ                | (ตราช้าง, ประเทศไทย)              |
| 3.1.2 น้ำมันพืช           | (คิง, ประเทศไทย)                  |
| 3.1.3 น้ำตาลทราย          | (มิตรผล, ประเทศไทย)               |
| 3.1.4 เลซิดิน             | (1200 มิลลิกรัม, Mega, Australia) |
| 3.1.5 น้ำปราศจากอ็อกซิเจน |                                   |

#### 3.2 ตัวอย่างที่นำมาตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

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

3.2.2 กะปิจากโรงพยาบาลต่างๆ จำนวน 8 ตัวอย่าง ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงพยาบาลลาดกระบังกรุงเทพมหานคร กรุงเทพฯ โรงพยาบาลหลวงพ่อทวีศักดิ์ ชุตินุชโร 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

รายละเอียดของรหัสตัวอย่างกะปิต่างๆ แสดงในภาคผนวก ก.

### 3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.3.1 เครื่องชั่ง (Balance)	(Mettler Toledo, Germany)
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)	(Mettmert, 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 Industris, USA)
3.3.11 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)	(Inolab, Germany)
3.3.12 เครื่องวัดอุณหภูมิตัวอย่างอาหาร (Food Thermometer) (CENTER 370, Taiwan)	
3.3.13 เครื่องตีบีน (Stomacher)	(IUL instruments, Spain)
3.3.14 เครื่องวัดค่า water activity ( $A_w$ )	(4TE, AquaLab, USA)
3.3.15 เครื่องปั่น (Blender)	(Moulinex, France)
3.3.16 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)	(Nikon ECLIPSE E200, China)
3.3.17 จานเพาะเชื้อพลาสติก (Petri dish) ขนาด 15x100 มิลลิเมตร (Kartell, Italy)	
3.3.18 ทิป (Tips) ขนาด 200 และ 1000 ไมโครลิตร	(Gilson, USA)
3.3.19 ช้อนสแตนเลส (Stainless spoon)	(ห้วม้ลาย, ประเทศไทย)
3.3.20 กระจกน้ำแข็ง (Cooler)	(Everest, Thailand)
3.3.21 เจลความเย็น (Icepack)	(Coleman, China)
3.3.22 กระทะอลูมิเนียม (Pan) เส้นผ่านศูนย์กลาง 14 นิ้ว	(จระเข้, ประเทศไทย)
3.3.23 ตะหลิว (Flipper)	(ห้วม้ลาย, ประเทศไทย)
3.3.24 เตาแก๊สปิกนิก (Portable stove)	(ปราณีภัณฑท์, ประเทศไทย)
3.3.25 กระจบองแก๊สปิกนิก (Gas)	(Pro camping, Korea)
3.3.26 แผ่นกรองปลอดเชื้อ (Sterile filter) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร	(Whatman, UK)
3.3.27 ขวดแก้วเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร ขนาดบรรจุ 150 มิลลิตร พร้อมฝาเกลียว สำหรับบรรจุกะปิเคี้ยว	
3.3.28 เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่จำเป็น	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

#### 3.4.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

Agar	(Difco, USA)
Baird parker egg yolk medium (BP)	(Difco, USA)
Beef Extract	(V.S. Chem House, Thailand)
Blood Agar	(White Group Public, Thailand)
Brain Heart Infusion (BHI) Broth	(Hi Media, India)
Buttered Peptone Water (BPW)	(Difco, USA)
CookMeat Medium (CM)	(Difco, USA)
Dextrose	(Merck, Germany)
Hektoen Enteric (HE) Agar	(Merck, Germany)
Lactose Broth	(Merck, Germany)
Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin (MYP) Agar	(Difco, USA)
Muller Kauffman Tetrathionate Novobiosin (MKTTn)	(Merck, Germany)
Potato Dextrose Agar (PDA)	(Difco, USA)
Plate Count Agar (PCA)	(Difco, USA)
Rappaport Vassiliadis Salmonella (RVS) Soy Broth	(Difco, USA)
Trypticase Soy Agar (TSA)	(Difco, USA)
Trypticase Soy Broth (TSB)	(Difco, USA)
Xylose Lysine desoxycholate (XLD) Agar	(Difco, USA)
3M™ Petrifilm™ <i>E. coli</i> /Coliform Count Plates	(3M, USA)
ไข่ไก่	(CP, Thailand)

#### 3.4.2 สารเคมี

Neomycin sulfate	(Merck, Germany)
Phenol red	(Merck, Germany)
Polymyxin B solution	(Sigma P1004, Denmark)
Potassium dihydrogenphosphate (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	(Merck, Germany)
Potassium iodide (KI)	(Carlo Erba, Italy)
Sodium chloride (NaCl)	(Carlo Erba, Italy)
Sodium hydroxide (NaOH)	(Carlo Erba, Italy)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.5 วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.5.1 การตรวจเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* ในตัวอย่างกะปิและขั้นตอนการทำข้าวคลุกกะปิ

##### 3.5.1.1 การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างกะปิจากตลาดสดต่างๆ และกะปิในโรงพยาบาลต่างๆ รวม 24 ตัวอย่าง และเก็บตัวอย่าง กะปิ ข้าวสาร ข้าวสวย กะปิเคี้ยว และข้าวคลุกกะปิ ในขั้นตอนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลจำนวน 2 แห่ง ในเขตบางบอนและเขตลาดกระบัง ปริมาณ 50 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ จากนั้นเก็บตัวอย่างใส่ในกระติกน้ำแข็งที่บรรจุ ice pack เพื่อรักษาความเย็นไว้ที่อุณหภูมิ  $5 \pm 1$  องศาเซลเซียส ทำการวิเคราะห์ภายใน 12 ชั่วโมง ที่ห้องปฏิบัติการ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยนำมาวัดความเป็นกรด-ด่าง และการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยา

##### 3.5.1.2 การวัดความเป็นกรด-ด่าง

นำตัวอย่างกะปิตามตลาดสดต่างๆ กะปิในโรงพยาบาลต่างๆ วัดดูดิบที่ใช้ในกระบวนการทำข้าวคลุกกะปิจากโรงพยาบาล 2 แห่ง นำมาวัดค่าความเป็นกรด-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 การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยา

###### 3.5.1.3.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างกะปิจากตลาดสดต่างๆ กะปิในโรงพยาบาลต่างๆ ตัวอย่างอาหารในขั้นตอนการทำข้าวคลุกกะปิ นำตัวอย่างชั่ง 25 กรัม มาตีปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันกับ Buttlefields phosphate buffer ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องตีปั่นอาหาร (stomacher) เป็นเวลา 1 นาที ทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางที่ 1:10 1:100 และ 1:1000 และนำตัวอย่างที่ได้มาตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens*

###### 3.5.1.3.2 วิธีการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยา

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 ตรวจนับจำนวนโคโลนีและคำนวณค่าในหน่วย 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 ส่วน

การวิเคราะห์ปริมาณสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ให้นำตัวอย่างที่ตีบ้นแล้ว ผ่านความร้อนในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (สุวรรณมณฑ, 2546) ก่อนทำการเจือจางจากนั้นเปิดตัวอย่างที่ระดับความเจือจางที่ 1:10 1:100 และ 1:1000 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 สังเกตตรวจยืนยันเชื้อที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *C. perfringens* โดยวิธี Most Probable Number (MPN) (สมภพ และคณะ, 2538) ปิเปิดตัวอย่างเชื้อที่ระดับความเจือจางที่ 1:10 1:100 และ 1:1000 ลงใน Cook Meat Medium (CMM) ระดับความเจือจางละ 3 หลอด หลอดละ 1.0 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง สังเกตดูการเกิดก๊าซหรืออาหารพุ่ง จากนั้นถ่ายเชื้อ 1 หลบ ลงบนอาหารแข็ง Modified BHI (Modified Brain Heart Infusion) + Egg Yolk Agar plate บ่มในสถานะที่ไม่มีออกซิเจนที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ตรวจสอบจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ให้ลักษณะโคโลนีสีดำและมีโซนขุนขาวรอบๆโคโลนี สังเกตตรวจยืนยันเชื้อ *C. perfringens* โดยวิธีการ biochemical test ที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข และนำผลมาวิเคราะห์คำนวณหาปริมาณ MPN ต่อกรัมของ *C. perfringens*

### 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เตรียมสไลด์ที่สเมียร์ *B. cereus* แล้วทิ้งไว้ให้แห้งในอากาศแล้วนำไปลงไฟ 2-3 วินาที หยด malachite green ให้ทั่วบริเวณที่สเมียร์ แล้วใช้ตะเกียงลงไฟอ่อนๆ ให้มีไอขึ้น (แต่อย่าให้เดือด) นาน 5 นาที คอยเติมสีไม่ให้แห้ง เมื่อสไลด์เย็นล้างน้ำจนสีเขียวหมด ย้อมทับด้วย safranin O นาน 1 นาที ล้างน้ำใช้กระดาษทิชชูซับให้แห้ง ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ ลักษณะของสปอร์จะติดสีเขียวของ malachite green ส่วนตัวเซลล์จะติดสีแดงของ safranin O (คณาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์, 2529)

### 3.5.3 การศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนต่อการอยู่รอดของเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในการทำกะปิเคี้ยว

#### 3.5.3.1 การเตรียมเซลล์และสปอร์เชื้อ *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*

ทำการเลี้ยงสปอร์เชื้อ *B. cereus* โดยใช้ลูป (loop) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ถ่ายเชื้อ *B. cereus* บน TSA slant (ข้อ 3.5.3.1.1) จำนวน 1 ลูป โดยเทคนิคปลอดเชื้อ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ FNA slant (Margarita et al., 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 แล้วทำให้เย็นในอ่างน้ำแข็ง เป็นเวลา 5 นาที (กนกทิพย์, 2550) จากนั้นปิเปตมา 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ให้ได้ระดับความเจือจางที่ต้องการ นำมา spread plate ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร TSA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อ 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาลทราย	40	กรัม
น้ำมัน	40	กรัม
รวม	980	กรัม

ชั่งกะปิ 400 กรัม ตามสูตรใส่ขวดดูแรน นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเติมส่วนผสมอื่นๆ ตามสูตรที่กำหนด ได้แก่ น้ำ น้ำตาลทราย และน้ำมัน เขย่าให้เข้ากัน นำเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จะได้กะปิเคี้ยวที่ปลอดเชื้อ ทำการตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและเชื้อ *B. cereus* ในกะปิเคี้ยวปลอดเชื้อตามวิธีในข้อ 3.5.3.4

3.5.3.3 ผลการให้ความร้อนต่อการยู่รอดของเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในกะปิเคี้ยว

นำกะปิเคี้ยวปลอดเชื้อ 980 กรัม จากข้อ 3.5.3.2 ทิ้งให้เย็น จากนั้นเปิดเซลล์ *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 เทใส่กระโถมนิยมนึ่งที่ผ่านการฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำแล้ว ทำการให้ความร้อนกะปิเคี้ยวโดยนำกระโถมตั้งไฟให้ร้อนเคี้ยวกะปิให้ความร้อนโดยเดาแก๊สปิคนิคควบคุมความแรงของไฟที่ระดับไฟอ่อน ติดตามและตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในการเคี้ยวกะปิด้วยเครื่องวัดอุณหภูมิตัวอย่างอาหารแบบดิจิตอล จนกระทั่งถึงอุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที สุ่มเก็บตัวอย่างกะปิเคี้ยว ที่เวลา 1, 5, 10, 15 และ 20 นาที นำมาตรวจวิเคราะห์เซลล์หรือสปอร์เชื้อ *B. cereus* ที่เหลือรอด ภายหลังการให้ความร้อน ตามวิธีการในข้อ 3.5.3.4.2

3.5.3.4 การตรวจวิเคราะห์เซลล์หรือสปอร์เชื้อ *B. cereus* ที่เหลือรอด

3.5.3.4.1 การเตรียมตัวอย่างกะปิเคี้ยว

นำตัวอย่างกะปิเคี้ยวปริมาณ 25 กรัม มาตีปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันกับ Butterfly's phosphate buffer ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องตีปั่นอาหาร (stomacher) เป็นเวลา 1 นาที ทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางที่ 1:10, 1:100, 1:1000 จนถึง 1:100000 หรือตามความเหมาะสมของปริมาณเชื้อ และนำตัวอย่างที่ได้มาตรวจวิเคราะห์ปริมาณ *B. cereus* ที่เหลือรอดในกะปิเคี้ยว

3.5.3.4.2 การตรวจเซลล์ *B. cereus* ที่เหลือรอด

การวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ *B. cereus* ที่เหลือรอด โดยวิธี spread plate (FDA-BAM, 2001) เปิดตัวอย่างที่เจือจาง 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 เก็บเข้าสู่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่ง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เพื่อยืนยันเชื้อ *B.cereus* หลักจากได้รับการยืนยันแล้วทำการถ่ายเชื้อลงในอาหารใหม่ 2 ครั้ง ก่อนเก็บ stock culture ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2-5 องศาเซลเซียส แล้วนำมาใช้ในข้อ 3.5.4

#### 3.5.3.4.3 วิธีการตรวจสอบสปอร์ *B. cereus* ที่เหลือรอด

การวิเคราะห์ปริมาณสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ให้นำตัวอย่างที่ตีปั่นแล้ว (จากข้อ 3.4.3.4.1) แบ่งใส่ขวดคูเรนปริมาณ 125 มิลลิลิตร นำผ่านความร้อนในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (สุวรรณมณฑ์, 2546) ก่อนทำการเจือจาง จากนั้นปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจางที่ 1:10 1:100 1:1000 จนถึง 1:100000 หรือตามความเหมาะสมของปริมาณเชื้อ ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางปริมาตร 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 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป แล้วนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

### 3.5.4 การเตรียมกะปิเกี่ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด และศึกษาอายุการเก็บรักษา

#### 3.5.4.1 การเตรียมกะปิเกี่ยวบรรจุขวด

สูตรในการทำกะปิเกี่ยว

กะปิ	800	กรัม
น้ำตาลทราย	80	กรัม
น้ำมันพืช	80	กรัม
เลซิดิน	50	กรัม
น้ำ	1	ลิตร

วิธีทำ

- 1) ชั่งกะปิ น้ำตาลทราย น้ำมัน น้ำ ตามสูตร
- 2) ละลายเลซิดินในน้ำปราศจากอ็อกซิเจน ให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ คนให้เข้ากัน จนเลซิดินละลายเข้ากับน้ำ
- 3) นำ กะปิ น้ำตาลทราย น้ำมัน และส่วนผสมในข้อ 2 ใส่รวมกันในโถปั่น ปั่นเป็นเวลา 1.30 นาที ที่ระดับเบอร์ 1
- 4) เทใส่กระทะ จุดเตาแก๊ส ให้ความร้อนกะปิเกี่ยวที่อุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5) บรรจุกะปิเคี้ยวขณะร้อน ใส่ขวดที่ผ่านการต้มฆ่าเชื้อแล้ว ขวดละ 120-130 กรัม แล้วปิดฝาให้แน่น

6) เก็บกะปิเคี้ยวบรรจุขวด ที่อุณหภูมิห้อง ( $27 \pm 1$  องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิในตู้เย็น ( $4 \pm 1$ ) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วัน

#### 3.5.4.2 การเก็บตัวอย่างกะปิเคี้ยวบรรจุขวด

สุ่มเก็บตัวอย่างกะปิเคี้ยวบรรจุขวดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิในตู้เย็น จากข้อ 3.5.4.1 ที่ 0, 30, 60 และ 90 วัน ช่วงเวลาละ 2 ขวด นำไปวิเคราะห์ตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยา ได้แก่ เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด, ยีสต์ รา, *E. coli*/Coliform, *B. cereus*, *C. perfringens*, *Salmonella* และ *Staphylococcus aureus* และตรวจวิเคราะห์ค่าทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ความชื้น และค่า water activity ( $A_w$ )

##### 3.5.4.2.1 การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยา

ทำการเตรียมตัวอย่างกะปิเคี้ยวบรรจุขวด โดยนำตัวอย่าง 2 ขวด ใส่บีกเกอร์ 250 มิลลิลิตร ที่ปลอดเชื้อแล้ว ผสมให้เข้ากัน ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม มาตีปนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันกับ Buttlefields phosphate buffer ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องตีปั่นอาหาร (stomacher) เป็นเวลา 1 นาที ทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางที่ 1:10, 1:100 และ 1:1000 และนำตัวอย่างที่ได้มาตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

การตรวจเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด, *B. cereus* และ *C. perfringens* ตามวิธีการข้อ 3.5.1.3.2

การวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และรา (FDA-BAM, 2001) ปิเปิดตัวอย่างที่เจือจาง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เพื่อทำการ pour plate เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72-120 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีและคำนวณหาค่าในหน่วย cfu/g ของตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณ *E. coli*/Coliform โดยใช้ 3M™ Petrifilm™ *E. coli*/coliform Count Plate ปิเปิดตัวอย่างที่เจือจาง 1 มิลลิลิตร ลงตรงกลางของแผ่น petrifilm ปิดแผ่น petrifilm และใช้ spreader กดลงบนแผ่น petrifilm ด้านบนโดยให้หยดตัวอย่างอยู่ตรงกึ่งกลางของ spreader ทิ้งไว้ 1 นาที แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีบนแผ่น petrifilm โดยเลือกนับแผ่น petrifilm ที่มีโคโลนีประมาณ 10-150 โคโลนี นำไปคำนวณปริมาณ *E. coli*/Coliform ที่พบในตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณ *Salmonella* โดยวิธี ISO-AOAC 6579:2002 นำตัวอย่าง 25 กรัม ไปตีปั่นกับ buffered peptone water ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Kauffman Tetrathionate Novobiosin (MKTTn) Broth และลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Rappaport Vassiliadis Salmonella (RVS) Soy Broth 0.1 มิลลิลิตร บ่ม MKTTn ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ RVS บ่มที่อุณหภูมิ 41.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อจาก MKTTn และ RVS ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar และ Hektoen Enteric (HE) Agar ทั้งสอง บ่มจนเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีของเชื้อที่เกิดเป็นโคโลนีสีดำแกมม่วงใสรอบโคโลนี และอาหารเลี้ยงเชื้ออาจเปลี่ยนสี สุ่มเลือกโคโลนีที่สงสัยบนอาหารจนเพาะเชื้อ 3-5 โคโลนี มาทำการตรวจยืนยันเชื้อ *Salmonella* ด้วยวิธีการทดสอบทางชีวเคมี โดยแยกโคโลนีที่สงสัยดังกล่าวลงในหลอดอาหารทดสอบ Triple Sugar Iron (TSI) Agar slant, Lysine Indole Motility (LIM) medium และ Urease Agar slant บ่มเพาะเชื้ออาหารทั้งสามที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง อ่านผลปฏิกิริยาทางชีวเคมี

การวิเคราะห์ปริมาณ *Staphylococcus aureus* โดยวิธี FDA-BAM (2002) ปีเปิดตัวอย่างเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ลงบน Baird Parker (BP) Egg Yolk Medium บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจสอบโคโลนีที่มีจุดสีดำและมี clear zone หรือ opaque zone จากการสร้างเอนไซม์ lecithinase ของเชื้อที่ทำปฏิกิริยากับ lecithin ในไข่แดงทำการตรวจสอบการสร้างเอนไซม์ coagulase ของเชื้อดังกล่าวโดยสุ่มโคโลนีที่สงสัย 1-3 โคโลนีเพาะเลี้ยงในอาหาร Brain Heart Infusion (BHI) broth บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อจาก BHI broth 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดปลอดเชื้อแล้วเติม rabbit plasma 0.5 มิลลิลิตร ทำการบ่มเชื้อเพื่อดูการสร้างเอนไซม์ coagulase ของโคโลนีที่สงสัยใน water bath 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง สังเกตดูการแข็งตัวของ rabbit plasma ซึ่งถ้าเกิดการแข็งตัว ถือว่า coagulase positive ถ้าไม่เกิดการแข็งตัวถือว่าไม่ใช่ coagulase positive

#### 3.5.4.2.2 การตรวจสอบคุณภาพทางเคมี

การตรวจวัดความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่างตามวิธีการข้อ 3.5.1.2

การตรวจวัดความชื้น ตามมอก. 1080-2535 โดยชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ภาชนะอะลูมิเนียมฟอยล์สำหรับหาคความชื้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่โถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที นำไปชั่งน้ำหนัก นำเข้าตู้อบอีกครั้งเป็นเวลา 30 นาทีและทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้ง 2 ครั้ง ลดลงติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม คำนวณหาปริมาณความชื้น

การตรวจวัดค่า water activity ( $A_w$ ) นำตัวอย่างกะปิเคี้ยวมาใส่ตลับวัดค่า  $A_w$  ตลับละ 5 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องวัด water activity (4TE, AquaLab, USA) ก่อนทำการวัดตัวอย่างกะปิเคี้ยว ให้ใช้น้ำปราศจากไอออน (DI) ในการหาความแม่นยำของเครื่อง โดยใส่น้ำ DI ลงตลับปริมาณ 5 มิลลิลิตร ค่าที่ออกมาได้ต้องได้ระหว่าง 0.977-1.003 (ถ้าค่าที่ได้ไม่อยู่ระหว่างนี้ควรทำความสะอาดหัวเซ็นเซอร์ของเครื่องเพื่อจะได้การวัดค่าที่แม่นยำ) ทำการวัดเช่นนี้ 3 ครั้ง เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากนั้นจึงใส่ตัวอย่างกะปิเคี้ยววัดค่า Aw ปิดฝาเครื่องลงมาเลื่อนสวิทช์ไปที่ตำแหน่ง close แล้วเครื่องจะทำการประมวลผล เสร็จเลื่อนสวิทช์ไปที่ตำแหน่ง open แล้วฝาเครื่องจะเปิดขึ้นมา จากนั้นทำการจดบันทึกค่าที่ได้

#### 3.5.4.3 การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล

การวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) มีปัจจัยที่สำคัญคือ อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิในตู้เย็น กับระยะเวลาในการเก็บรักษากะปิเคี้ยว ที่เวลา 0, 30, 60 และ 90 วัน และการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปแล้วนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4 ผลการวิจัย

### 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	8.0	3.6
003 จ.ชุมพร	6.81 ± 0.00	230	20	20.0	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	<3.0 – 9.1

ND = not detectable

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กะปิในบรรจุภัณฑ์แบบเปิดที่ขายตามตลาดสดในจังหวัดต่างๆ มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ในช่วงระหว่าง 90 ถึง 800 cfu/g มีค่าเฉลี่ย 418.7 cfu/g เซลล์ *B. cereus* ตรวจพบ 87.5% (6 ตัวอย่างจากทั้งหมด 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	10.0	10	<3
009 จ.สมุทรปราการ	6.74 ± 0.01	955	35.0	ND	<3
010 จ.กรุงเทพฯ	6.88 ± 0.01	350	10.0	20	<3
011 จ.กรุงเทพฯ	6.95 ± 0.01	230	10.0	ND	<3
012 จ.สมุทรปราการ	7.26 ± 0.01	765	10.0	20	<3
013 จ.สมุทรสาคร	6.35 ± 0.01	250	30.0	ND	<3
014 จ.สมุทรสาคร	6.79 ± 0.01	100	10.0	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* ของกะปึกจากโรงพยาบาลต่างๆ แบบบรรจุภัณฑ์ปิดและเปิด

รหัสและแหล่งที่มา	ชนิดบรรจุ ภัณฑ์	ค่าความ เป็นกรด- 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)
016 โรงพยาบาลลาดกระบัง จ.กรุงเทพฯ	แบบปิด	7.60 ± 0.05	1710	331.0	165	<3
017 โรงพยาบาลเวชการุณย์รัศมี จ.กรุงเทพฯ	แบบปิด	7.24 ± 0.00	780	20.0	40	<3
018 โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี	แบบเปิด	-	5500	50.0	10	<3
019 โรงพยาบาลสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ จ.ชลบุรี	แบบเปิด	7.46 ± 0.00	825	ND	ND	<3
020 โรงพยาบาลรามาริษอดี จ.กรุงเทพฯ	แบบเปิด	6.70 ± 0.00	7900	33.3	ND	<3
021 โรงพยาบาลรามาริษอดี จ.กรุงเทพฯ	แบบเปิด	7.04 ± 0.00	4800	18.8	40	<3
022 โรงพยาบาลศิริราช จ.กรุงเทพฯ	แบบปิด	7.53 ± 0.00	1900	56.0	ND	3.6
023 โรงพยาบาลหลวงพ่อทวีศักดิ์ ชุตินุชโร อุทิศ จ.กรุงเทพฯ	แบบปิด	7.26 ± 0.01	470	266.0	133	<3
024 โรงพยาบาลกลาง จ.กรุงเทพฯ	แบบปิด	7.70 ± 0.00	1350	87.0	50	<3
ค่าเฉลี่ย		7.31	2803.8	102.7	73	0.4
ช่วงค่า		7.24–7.70	470–7900	ND–331	ND–165	<3.0–3.6

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 กะปิที่อยู่ในช่วงกระบวนการหมักมักพบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลักษณะกลิ่นและรสชาติของกะปิที่ดี 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 กะปิกลุ่มราคาถูกจะพบเชื้อรามากที่สุด โดยเฉลี่ย  $2.6 \times 10^3$  cfu/g กะปิกลุ่มราคาปานกลางและกลุ่มราคาแพงตรวจพบที่  $3.7 \times 10$  และ  $5.0 \times 10$  cfu/g ตามลำดับ ซึ่งปริมาณที่ตรวจพบนั้นยังอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ สำหรับการตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกะปิ 3 กลุ่มราคาพบว่า เฉลี่ยแล้วจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบนั้น ไม่มีความแตกต่างกันในกะปิทั้ง 3 กลุ่มราคา คือ  $1.3 \times 10^3$ ,  $7.0 \times 10^3$  และ  $7.7 \times 10^3$  ในกะปิกลุ่มราคาถูก ปานกลาง และแพง ตามลำดับ

การปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* และจุลินทรีย์อื่นๆในกะปಿನั้น สาเหตุส่วนใหญ่มาจากการปนเปื้อนของ *B. cereus* ที่มาจากกระบวนการผลิตที่มีการวางตากแดดกับพื้น (สิริพร, 2535) ทำให้เกิดการปนเปื้อนของฝุ่นละอองและดิน (สิริพร และคณะ, 2539) รวมทั้งขั้นตอนการผลิตที่มีการผ่านความร้อนไม่เพียงพอทำให้ไม่สามารถทำลายสปอร์ของ *B. cereus* ซึ่งสามารถทนความร้อน

ได้ ทำให้พบเชื้อ *B. cereus* ในกะปิ ซึ่งแม้พบเพียงจำนวนเล็กน้อย แต่เมื่อผ่านกระบวนการในขั้นตอนการผลิตและวางจำหน่ายที่อุณหภูมิปกติและอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เชื้อสามารถเจริญได้เติบโต สปอร์ที่รอดชีวิตก็งอกและเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนมากขึ้นในภายหลัง (Andersson, Rönner and Granum, 1995) นอกจากนี้กรรมวิธีในการวางขายก็อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อในภายหลัง (post-contamination) โดยหลังกระบวนการผลิตกะปิแล้ว ผู้ผลิตมีการวางขายในภาชนะเปิดหรือวางขายในกะละมังซึ่งไม่สามารถป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้ ซึ่งสาเหตุเหล่านี้ทำให้มีโอกาสเกิดเชื้อ *B. cereus* และ *C. perfringens* เพิ่มขึ้นในกะปิ ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ

จากผลตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างกะปิ มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและ *B. cereus* ในตัวอย่างกะปิทั้งหมด ไม่เกินเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2553) *B. cereus* ต้องน้อยกว่า 1000 cfu/g และมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกะปิ (มอก. 1080-2535) ระบุว่าจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน  $1 \times 10^5$  cfu/g, แบคทีเรีย Coliform (MPN) ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม, *S. aureus* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม *Salmonella* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม *C. 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 นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-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	161.0	80.9	<3
ข้าวสาร	6.64 ± 0.01	835	ND	ND	<3
กะปิเดี่ยว**	6.75 ± 0.01	85	100.0	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

\*\*ตรวจพบเชื้อ *B. cereus* ในกะปิเดี่ยวเพียงครั้งเดียว

การทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตบางบอนมีขั้นตอนและวิธีการทำดังนี้ ข้าวสารที่ตั่งซื้อมาเป็นกระสอบแล้วนำมาแบ่งใส่ถังเก็บข้าวสารไว้ ทำความสะอาดข้าวหรือข้าวด้วยน้ำประปา จากนั้นใส่น้ำตามสัดส่วนตามที่โรงพยาบาลกำหนด นำเข้าหม้อหุงข้าวแก๊ส นาน 30 นาที พักไว้ นำกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบปิดมาผสมกับน้ำต้มสุก คนให้ละลายเข้ากันในชามอ่างผสมแล้วเทลงในกระทะให้ความร้อนใส่น้ำตาลทรายทำการเคี่ยวกะปิที่ช่วงอุณหภูมิ 60–100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10–12 นาที จากนั้นนำกะปิเดี่ยวใส่ในอ่างผสมที่มีข้าวสวย คลุกเคล้าให้เข้ากันเป็นสีน้ำตาลอ่อน ต้มน้ำจนเดือดใส่น้ำมันพืช 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* ตัวอย่างกะปิเดี่ยวตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 85 cfu/g และยังพบเซลล์ *B. cereus* ที่ 100 cfu/g สปอร์ *B. cereus* ที่ 5 spores/g และตรวจไม่พบ *C. perfringens* ในตัวอย่างกะปิเดี่ยวและข้าวคลุกกะปิตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* (ตารางที่ 4.4)

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

ในการสำรวจการผลิตข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตลาดกระบัง ทำการเก็บตัวอย่างดังนี้ กะปิ ข้าวสาร กะปิเคี้ยว ข้าวสวย และข้าวคลุกกะปิ แล้วตรวจวัดอุณหภูมิในข้าวสวย ข้าวคลุกกะปิ และกะปิเคี้ยว ในระหว่างการทำข้าวคลุกกะปิ มาวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* (ตารางที่ 4.5)

กระบวนการทำข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลในเขตลาดกระบังมีขั้นตอนและวิธีการทำดังนี้ นำข้าวสารมาทำความสะอาดข้าวหรือข้าวขาวด้วยน้ำประปา จากนั้นใต้น้ำตามสัดส่วนตามที่โรงพยาบาลกำหนด นำเข้าหม้อหุงข้าวไฟฟ้า หุงประมาณ 30 นาที นำกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบปิด มาผสมกับน้ำต้มสุกคลุกเคล้าให้ละลายเข้ากัน ในชามอ่างผสมแล้วนำเทลงในกระทะ ผัดกะปิเคี้ยว ให้ความร้อนกะปิเคี้ยวที่ 98–100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2–7 นาที จากนั้นนำกะปิเคี้ยวใส่ในอ่างผสมที่มีข้าวสวย คลุกเคล้าให้เข้ากันเป็นสีน้ำตาลอ่อน ตั้งกระทะจุดไฟใต้น้ำมันพืชกระทะที่ยกเงียว 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

\*\*ค่าที่ได้ในกะปิเคี้ยวพบ *B. cereus* เพียงครั้งเดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้าวสารตรวจพบเพียงเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 1000 cfu/g ส่วนเซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ตรวจไม่พบในตัวอย่างข้าวสาร ข้าวสอยตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์เพียงอย่างเดียวที่ 415 cfu/g เซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ตรวจไม่พบในตัวอย่างข้าวสอย กะปิตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 2835 cfu/g ตรวจพบเซลล์ *B. cereus* ที่ 804.5 cfu/g สปอร์ *B. cereus* ที่ 854.5 spores/g และตรวจไม่พบ *C. perfringens* ตัวอย่างกะปิเคี้ยวพบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 1515 cfu/g และยังพบเซลล์ *B. cereus* ที่ 5 cfu/g สปอร์ *B. cereus* ที่ 35 spores/g ยังหลงเหลืออยู่ในกะปิเคี้ยวพบว่าการให้ความร้อนในกะปิเคี้ยวและเวลายังไม่เพียงพอที่จะสามารถทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ได้หมดในกะปิเคี้ยว ตรวจไม่พบ *C. perfringens* ในตัวอย่างกะปิเคี้ยว ข้าวคลุกกะปิตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 420 cfu/g เซลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* ตรวจไม่พบในตัวอย่างข้าวคลุกกะปิ

จากการสำรวจกระบวนการผลิตข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลทั้ง 2 แห่ง พบว่าขั้นตอนกระบวนการผลิตข้าวคลุกกะปิยังมีความไม่ปลอดภัย เนื่องจากตรวจพบจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษคือเชื้อ *B. cereus* ในตัวอย่างกะปิและเมื่อนำกะปิมาผ่านกระบวนการให้ความร้อนจนได้เป็นกะปิเคี้ยว ยังตรวจพบการเหลือรอดของเชื้อ *B. cereus* ในกะปิเคี้ยวหลังจากให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7.5 นาที (เฉลี่ยจาก 2 โรงพยาบาล) แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนในขั้นตอนการทำกะปิเคี้ยวยังไม่เพียงพอที่จะสามารถทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ได้หมด ซึ่งเชื้อ *B. cereus* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สร้างสปอร์และมีบทบาทสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ มีรายงานพบว่า *B. cereus* ในระดับต่ำที่  $10^3$ – $10^4$  เซลล์ต่อกรัมสามารถก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ (Andersson et al., 1995) Byrne (2006) รายงานว่าจากการให้ความร้อนต่อการทำลายเชื้อ *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* ได้หมดในความเข้มข้นสูงสุดวรรณนท์ (2546) รายงานว่าการอยู่รอดของ *B. cereus* ในก๊วยเตี้ยวเส้นใหญ่แช่แข็ง ที่ 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

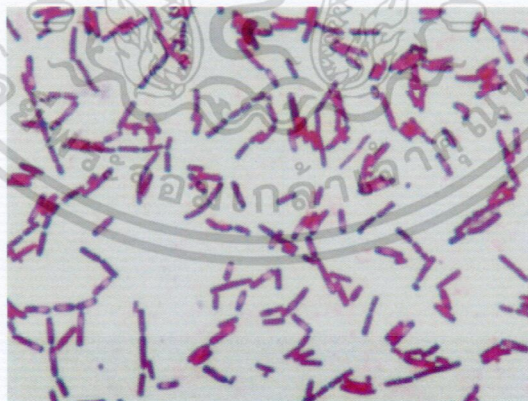
เชื้อ *B. cereus* มักปนเปื้อนมากับวัตถุดิบและมีโอกาสเหลือรอดและเพิ่มจำนวนขึ้นในผลิตภัณฑ์ได้และถ้าให้ความร้อนในขั้นตอนการผลิตข้าวคลุกกะปิที่ไม่เพียงพอ จะทำ

ให้เชื้อ *B. cereus* เหลือรอดในกระบวนการผลิตได้และส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ป่วยซึ่งเป็นประชากรกลุ่มเสี่ยงต่อการเกิดโรคทางเดินอาหารเป็นพิษ ดังนั้นถ้าทำลายเชื้อเหล่านี้ให้หมดในขั้นตอนการทำการปะกัยได้ จะทำให้ข้าวคลุกกะปิมีความปลอดภัยในการบริโภค

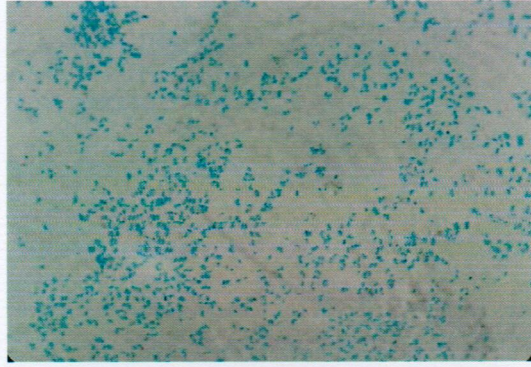
#### 4.2 ผลการแยกเชื้อ *B. cereus* จากกะปิ

จากการตรวจพบเชื้อ *B. cereus* ในตัวอย่างกะปิในจากข้อ 4.1 โดยตรวจพบลักษณะ โคโลนีสีชมพูของเชื้อที่สังสัยบนอาหาร Mannitol–Egg Yolk–Polymyxin (MYP) Agar เนื่องจากเชื้อดังกล่าวไม่สามารถหมักย่อยน้ำตาลแมนนิทอล (Mannitol) ให้เป็นกรดได้และมีรอยขาวขุ่น (opaque zone) รอบๆ โคโลนี เนื่องจากเชื้อดังกล่าวมีการสร้างเอนไซม์เลซิทีเนส (lecithinase) ทำการเก็บเชื้อ *B. cereus* ที่สังสัยและพบในตัวอย่างกะปิที่ไม่มีบรรจุภัณฑ์จากตลาดหัวตะเข้ 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

นำไอโซเลทที่แยกได้มาตรวจสอบลักษณะของสัณฐานวิทยาของเซลล์ *B. cereus* ด้วยการย้อมสีแบบแกรม (gram stain) ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเซลล์แบคทีเรียรูปร่างเป็นท่อนต่อกันเป็นสายยาวมีสีน้ำเงินเป็นแกรมบวก (ภาพที่ 4.1) ทำการย้อมสปอร์และส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าสปอร์ดิสเต็มของ 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 (+) การย่อยน้ำตาลกลูโคสในสภาวะไม่มีออกซิเจน (Glucose (AnO<sub>2</sub>)) ให้ผลเป็นบวก (+) การย่อยสลายกรดอะมิโนไทโรซีน (Tyrosine) ให้ผลเป็นบวก (+) การเจริญเติบโตของเชื้อที่ 43 องศาเซลเซียส (Growth 43 °C) ให้ผลเป็นบวก (+) การทดสอบการย่อยของเม็ดเลือดแดง (Hemolysis) ให้ผลเป็นบวก (++) และการเจริญแบบไรโซอิดบนอาหาร (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)

ไอโซเลท (Isolate)	แหล่งที่มา	ชื่อจังหวัด	NA	Gram stain	Motility	VP	Glucose (AnO <sub>2</sub> )	Hemolyse	Rhizoid growth	Tyrosine	Toxin crystal	Growth 43 °C	<i>B. cereus</i> (/ หรือ x)
E 01	013 ตลาดหัวตะเข้	กรุงเทพฯ	+	+	+	+	+	++	-	+	-	+	/
E 02	013 ตลาดหัวตะเข้	กรุงเทพฯ	+	+	+	+	+	++	-	+	-	+	/
F 01	011 ตลาดหลังสวน	ชุมพร	+	+	+	+	+	++	-	+	-	+	/
F 02	011 ตลาดหลังสวน	ชุมพร	+	+	+	+	+	++	-	+	-	+	/
G 01	010 ตลาดมหาชัย	สมุทรสาคร	+	+	+	+	+	++	-	+	-	+	/
G 02	010 ตลาดมหาชัย	สมุทรสาคร	+	+	+	+	+	++	-	+	-	+	/
H 01	012 ตลาดหนองมน	ชลบุรี	+	+	+	+	+	++	-	+	-	+	/
H 02	012 ตลาดหนองมน	ชลบุรี	+	+	+	+	+	++	-	+	-	+	/

\*\*หมายเหตุ

Nutrient growth (NA) = ลักษณะเจริญในอาหาร

Motility = การเคลื่อนที่ของเชื้อ

Glucose (AnO<sub>2</sub>) = การย่อยน้ำตาลกลูโคสในสภาวะไม่มีออกซิเจน

Rhizoid growth = การเจริญเติบโตแบบไรซอยด์บนอาหาร

Toxin crystal = การสร้างผลึกสารพิษบนอาหาร

Gram stain = การย้อมแกรม

Voges-Proskauer (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 แล้วยังตรวจพบอีกว่าในกระบวนการผลิตข้าวคลุกกะปิของโรงพยาบาลทั้ง 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*

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

เซลล์ *B. cereus* มีเชื้อเริ่มต้นที่  $6.36 \pm 0.22$  Log cfu/g พบว่าเวลา 1 นาที มีปริมาณเชื้อเหลือรอดที่  $5.28 \pm 0.10$  Log cfu/g และ%การลดลงของเชื้ออยู่ที่ 92.30% เวลาที่ 5 นาที มีปริมาณเชื้อเหลือรอดที่  $3.49 \pm 0.31$  Log cfu/g และ%การลดลงของเชื้ออยู่ที่ 99.85% เวลาที่ 10 นาที มีปริมาณเชื้อเหลือรอดที่  $2.31 \pm 0.30$  Log cfu/g และ%การลดลงของเชื้ออยู่ที่ 99.98% เวลาที่ 15 นาที มีปริมาณเชื้อเหลือรอดที่  $2.18 \pm 0.42$  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 ซึ่งการให้ความร้อนทำให้โปรตีนของเชื้อเกิดการสูญเสียธรรมชาติไป แล้วเกิดลิ่ม ทำให้โปรตีนของเชื้อตกตะกอนและเอนไซม์ของเชื้อไม่สามารถทำหน้าที่เจริญเติบโตได้ ถ้ามีน้ำเป็นตัวกลางจะเร่งให้โปรตีนเป็นก้อนเร็วขึ้น เช่น การนึ่ง การต้ม การเคี้ยว จะเร่งให้โปรตีนเกิดการตกตะกอนเร็วขึ้น ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ อายุของจุลินทรีย์ อุณหภูมิ และเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนของจุลินทรีย์และสภาพแวดล้อม (อัมพร, 2559) สวรรณมณฑ์ (2546) รายงานพบว่าเซลล์ *B. cereus* ในปริมาณที่  $10^6$  cfu/g มาให้ความร้อนในถ้วยเตี๋ยวเส้นใหญ่ ด้วยไมโครเวฟด้วยเวลา 1 นาที (อุณหภูมิเฉลี่ย 97.2 องศาเซลเซียส) สามารถทำลายเซลล์ *B. cereus* ที่ปนเปื้อนในตัวอย่างอาหารลงได้ 5.6 Log cfu/g ได้หมด

ตารางที่ 4.7 การทนความร้อนของเซลล์ *B. cereus* ที่  $10^3$  cfu/g (เชื้อเริ่มต้น  $3.43 \pm 0.11$  Log cfu/g) ในการทำกะปิเตี๋ยวที่อุณหภูมิ 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	$2.36 \pm 0.11^a$	1.07	90.13
5	$0.46 \pm 0.80^b$	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 =  $\frac{[\text{เซลล์ } B. cereus \text{ เริ่มต้น (cfu/g)} - \text{เซลล์ } B. cereus \text{ ที่เหลือรอด (cfu/g)}] \times 100}{\text{เซลล์ } B. cereus \text{ เริ่มต้น (cfu/g)}}$

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

ตารางที่ 4.8 การทนความร้อนของเซลล์ *B. cereus* ที่  $10^6$  cfu/g (เชื้อเริ่มต้น  $6.36 \pm 0.22$  Log cfu/g) ในการทำกะปิเตี๋ยวที่อุณหภูมิ 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	$5.28 \pm 0.10^a$	1.08	92.30
5	$3.49 \pm 0.31^b$	2.87	99.85
10	$2.31 \pm 0.30^c$	4.05	99.98
15	$2.18 \pm 0.42^c$	4.18	99.98
20	$0.00^d$	0.00	100.00

\*ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.3.2 ผลของการให้ความร้อนต่อการทำลายสปอร์ *B. cereus* ทั้งหมด

การศึกษาผลการให้ความร้อนในการทำลายสปอร์ *B. cereus* ในกะปี้เคี้ยวที่มีสปอร์เริ่มต้นที่  $3.71 \pm 0.37$  Log spores/g พบว่าเวลา 1 นาที ไม่พบการลดลงของสปอร์เหลือรอดที่  $3.83 \pm 0.37$  และ %การลดลงของสปอร์อยู่ที่ 0.00% ที่เวลา 5 นาที มีปริมาณสปอร์เหลือรอดที่  $2.73 \pm 0.20$  Log spores/g และ %การลดลงของสปอร์อยู่ที่ 99.16% และเวลาที่ 10, 15 และ 20 นาที ไม่พบสปอร์ *B. cereus* เหลือรอด (ตารางที่ 4.9)

สปอร์ *B. cereus* ที่ สปอร์เริ่มต้นที่  $6.30 \pm 0.27$  Log spores/g พบว่าเวลา 1 นาที มีปริมาณสปอร์เหลือรอดที่  $6.23 \pm 0.08$  Log spores/g และ %การลดลงของเชื้ออยู่ที่ 24.37% เวลาที่ 5 นาที มีปริมาณเชื้อเหลือรอดที่  $5.89 \pm 0.40$  Log spores/g และ %การลดลงของสปอร์อยู่ที่ 83.29% เวลาที่ 10 นาที มีปริมาณสปอร์เหลือรอดที่  $4.47 \pm 0.19$  Log spores/g และ %การลดลงของสปอร์อยู่ที่ 98.53% เวลาที่ 15 นาที มีปริมาณสปอร์เหลือรอดที่  $3.77 \pm 0.11$  Log cfu/ml และ %การลดลงของเชื้ออยู่ที่ 99.64% และเวลาที่ 20 นาที มีปริมาณเชื้อเหลือรอดที่  $2.74 \pm 0.05$  Log spores/g และ %การลดลงของสปอร์อยู่ที่ 99.96% (ตารางที่ 4.10) จากการให้ความร้อนในการทำกะปี้เคี้ยวที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียส ที่เวลา 20 นาที ทำให้ปริมาณสปอร์ลดลงตามลำดับแต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ที่  $10^6$  spores/g ได้หมดภายในเวลา 20 นาที (ภาพที่ 4.4) สปอร์มีน้ำอิสระน้อยมาก ชั้นสปอร์โคท มีโปรตีนมาก ซึ่งมีกรดอะมิโนซิสทีนมากทำให้เกิดพันธะเชื่อมเนื่องจากทำให้ทำให้สปอร์ทนความร้อนได้ดีและมีรายงานพบว่าสปอร์ทนต่อการต้มหลายชั่วโมง ความสามารถในการทนความร้อนของเอนโดสปอร์แตกต่างกันไปตามสปีชีส์ แต่ส่วนใหญ่ทนได้ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 10 นาที (นงลักษณ์และปรีชา, 2550) ซึ่งสอดคล้องกับ สวรรณมณฑ์ (2546) รายงานว่า สปอร์ *B. cereus* ลดลง 1 Log cfu/g หลังจากให้ความร้อนในถ้วยเต็วเส้นใหญ่ 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* ในกะปี้เคี้ยว 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 4.9 การทนความร้อนของสปอร์ *B. cereus* ที่  $10^3$  (เชื้อเริ่มต้น  $3.71 \pm 0.37$  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	$3.83 \pm 0.37^a$	- 0.12***	0.00
5	$2.73 \pm 0.20^b$	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 =  $\frac{[\text{สปอร์ } B. cereus \text{ เริ่มต้น (cfu/g)} - \text{สปอร์ } B. cereus \text{ ที่เหลือรอด (cfu/g)}] \times 100}{\text{สปอร์ } B. cereus \text{ เริ่มต้น (cfu/g)}}$

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

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

ตารางที่ 4.10 การทนความร้อนของสปอร์ *B. cereus* ที่  $10^6$  (เชื้อเริ่มต้น  $6.30 \pm 0.27$  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	$6.23 \pm 0.08^a$	0.07	24.37
5	$5.89 \pm 0.40^a$	0.41	83.29
10	$4.47 \pm 0.19^b$	1.83	98.53
15	$3.77 \pm 0.11^c$	2.53	99.64
20	$2.74 \pm 0.05^d$	2.72	99.96

\*ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาในหลอดทดลองนี้เป็นลักษณะ worse case ซึ่งในความเป็นจริงแล้วจะตรวจพบปริมาณเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในกะปิไม่เกิน  $10^3$  cfu/g (ตารางที่ 4.1- 4.3) ดังนั้นดำเนินการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียส มาประยุกต์ใช้ในการทำกะปิเดี่ยวของโรงพยาบาลและเวลาที่เหมาะสมที่สามารถทำลายเซลล์ *B. cereus* ในกะปิเดี่ยวที่เชื้อเริ่มต้น  $10^3$  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 20 นาที มาใช้ในการทำกะปิเดี่ยว

#### 4.4 การผลิตกะปิเดี่ยวสำเร็จรูปบรรจุขวดและอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

ทำการเตรียมกะปิเดี่ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด โดยให้ความร้อนในขั้นตอนการเคี่ยวกะปิที่อุณหภูมิ 97–100 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที ได้กะปิเดี่ยว 1200 กรัม บรรจุขวด (ภาพที่ 4.3) พบว่ากะปิเดี่ยวมีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอม มีลักษณะข้นหนืด จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างกะปิเดี่ยวบรรจุขวด ที่อุณหภูมิห้อง ( $27 \pm 1$  องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิตู้เย็น ( $4 \pm 1$  องศาเซลเซียส) ที่ 0, 30, 60 และ 90 วัน ศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏของกะปิเดี่ยว คุณภาพทางจุลชีววิทยา ความเป็นกรด-ด่าง water activity ( $A_w$ ) และความชื้น ดังตารางที่ 4.11-4.16



ภาพที่ 4.3 ผลิตภัณฑ์กะปิเดี่ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด, บีสต์ รา, *E.coli*/Coliform, *B. cereus*, *C. perfringens*, *Salmonella* และ *S. aureus* ของกะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่ อุณหภูมิห้อง ( $27 \pm 1$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 90 วัน

ระยะเวลา (วัน)	Total plate count (cfu/g)	Yeast/Mold (cfu/g)	<i>E.coli</i> /Coliform (cfu/g)	<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores /g)	<i>C. perfringens</i> (MPN/g)	<i>Salmonella</i> in 25 g	<i>S. aureus</i> (cfu/g)
0	$5.1 \times 10^2$	ND	ND	ND	ND	<3	ND	ND
30	$4.3 \times 10^2$	ND	7.5	ND	ND	<3	ND	ND
60	$3.3 \times 10^2$	ND	17.5	ND	ND	<3	ND	ND
90	$2.8 \times 10^2$	10.0	7.5	ND	ND	<3	ND	ND

ND = not detectable

\*ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจาก 2 ซ้ำ

ตารางที่ 4.12 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด, บีสต์ รา, *E.coli*/Coliform, *B. cereus*, *C. perfringens*, *Salmonella* และ *S. aureus* ของกะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิ ต่ำเย็น ( $4 \pm 1$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 90 วัน

ระยะเวลา (วัน)	Total plate count (cfu/g)	Yeast/Mold (cfu/g)	<i>E.coli</i> /Coliform (cfu/g)	<i>B. cereus</i> cell (cfu/g)	<i>B. cereus</i> spore (spores /g)	<i>C. perfringens</i> (MPN/g)	<i>Salmonella</i> in 25 g	<i>S. aureus</i> (cfu/g)
0	$5.1 \times 10^2$	ND	ND	ND	ND	<3	ND	ND
30	$3.3 \times 10^2$	ND	ND	ND	ND	<3	ND	ND
60	$4.7 \times 10^2$	ND	ND	ND	ND	<3	ND	ND
90	$6.5 \times 10^2$	ND	ND	ND	ND	<3	ND	ND

ND = not detectable

\*ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจาก 2 ซ้ำ

คุณภาพทางจุลชีววิทยาของกะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิห้อง ( $27 \pm 1$  องศาเซลเซียส) ในช่วงการเก็บรักษา พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง  $2.8 \times 10^2 - 5.1 \times 10^2$  cfu/g เชื้อ *E.coli*/Coliform ตรวจพบที่ 7.5, 17.5 และ 7.5 cfu/g ที่ 30, 60 และ 90 วัน และยีสต์รา ตรวจพบ 10 cfu/g ที่ 90 วัน ตรวจไม่พบเซลล์และสปอร์ *B. cereus*, *C. perfringens*, *Salmonella* และ *S. aureus* ในช่วงการเก็บรักษา (ตารางที่ 4.11) ซึ่งผลตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาในกะปิเคี้ยวบรรจุขวด เปรียบเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำพริกแกงและเครื่องปรุงแต่งกลิ่นรส (มอก. 429-2548) ระบุว่าจุลินทรีย์อย่างมีได้ในน้ำพริกแกงและเครื่องปรุงแต่งกลิ่นรส ต้องไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนด ดังนี้ รา ไม่เกิน 100 โคลนิต่อกรัม *C. perfringens* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.01 กรัม *E. coli* (MPN) ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม *S. aureus* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.01 กรัม *Salmonella* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม และ *B. cereus* ต้องไม่เกิน  $1 \times 10^3$  โคลนิต่อกรัม พบว่า *E.coli*/Coliform ตรวจพบใน 30, 60 และ 90 วัน มีค่าเกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ทำให้กะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิห้อง ไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค และการตรวจพบ ยีสต์/รา เนื่องจากเชื้อดังกล่าวต้องการอากาศในการเจริญและในระหว่างการเก็บรักษาอากาศสามารถเข้าไปภายในขวดได้ จึงทำให้เชื้อเจริญได้ แต่กะปิเคี้ยวบรรจุขวด ตรวจไม่พบ *B. cereus*, *C. perfringens*, *Salmonella* และ *S. aureus* เนื่องจากมีการให้ความร้อนที่เพียงพอต่อการทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ในขั้นตอนการทำกะปิเคี้ยว และสภาวะในการเก็บรักษาไม่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อ *C. perfringens* ซึ่งไม่ต้องการอากาศ และเชื้อ *Salmonella* ไม่สามารถเจริญได้ในกะปิเคี้ยวที่มีค่า Aw อยู่ในช่วง 0.74-0.75 (ตารางที่ 4.13) และตรวจไม่พบเชื้อ *S. aureus* เนื่องจากผู้ปฏิบัติงานมีสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ดีในทุกขั้นตอนการทำกะปิเคี้ยวบรรจุขวด

ตารางที่ 4.13 ความเป็นกรด-ด่าง, ค่า Aw และ ความชื้น ของกะปิเคี้ยวบรรจุขวด เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ( $27 \pm 1$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	Water activity (Aw)	ความชื้น (%)
0	7.32	0.74	45.64
30	7.50	0.75	46.79
60	7.24	0.75	46.87
90	7.45	0.75	47.05

\*\*ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจาก 2 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 กะปิเคี้ยวบรรจุขวด เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ( $27 \pm 1$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 0, 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 วัน

ระยะเวลาในการเก็บ	ลักษณะของกะปิเคี้ยว
0 วัน	กะปิเคี้ยวมีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอม มีลักษณะขุ่นหนืด
15 วัน	กะปิเคี้ยวมีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอม มีลักษณะขุ่นหนืด
30 วัน	กะปิเคี้ยวมีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอม มีลักษณะเหลวไม่คงตัว มีจุดสีขาวขึ้นเป็นจุดเล็กๆ และมีจุดสีแดงขนาดเล็กเกิดขึ้น
45 วัน	กะปิเคี้ยวมีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอม มีลักษณะเหลวไม่คงตัว พบมีจุดสีขาวขึ้นเป็นจุดเล็กๆ และมีจุดสีแดงเกิดขึ้น
60 วัน	กะปิเคี้ยวมีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอม มีลักษณะเหลวไม่คงตัว จุดสีขาวขยายขนาดใหญ่ขึ้นกระจายตัวทั่วไปในกะปิเคี้ยวอย่างชัดเจน และพบมีจุดสีแดงขนาดเล็กเกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ตารางที่ 4.14 (ต่อ)

ระยะเวลาในการเก็บ	ลักษณะของกะปิเคี้ยว
75 วัน	กะปิเคี้ยวมีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอม มีลักษณะเหลวไม่กวดัวเพิ่มขึ้น มีจุดสีขาวขนาดใหญ่ขึ้นอย่างชัดเจนกระจายตัวอยู่ในกะปิเคี้ยว และมีจุดสีแดงเล็กๆที่เห็นได้อย่างชัดเจน
90 วัน	กะปิเคี้ยวมีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอม มีลักษณะเหลวไม่กวดัวมีจุดสีขาวขนาดใหญ่ขึ้นอย่างชัดเจนกระจายตัวอยู่ในกะปิเคี้ยว และมีจุดสีแดงเล็กๆที่เห็นได้อย่างชัดเจน

ผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง Aw และความชื้น กะปิเคี้ยวบรรจุขวด พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 7.32-7.50 ค่า Aw ไม่เปลี่ยนแปลง ที่ 0.74-0.75 และค่าความชื้นของกะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิห้องเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในระหว่างการเก็บรักษาจาก 45.64 เป็น 47.05% ตามลำดับ (ตารางที่ 4.13) และจากการเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 90 วัน พบว่ากะปิเคี้ยวมีสีน้ำตาลเข้มและกลิ่นหอมไม่เปลี่ยนแปลงลักษณะเหลวเพิ่มขึ้น แตกต่างจากกะปิเคี้ยวเริ่มต้น (ตารางที่ 4.14) พบมีฟองอากาศเกิดขึ้นในขวด มีจุดสีขาวเริ่มเกิดขึ้นในกะปิเคี้ยวบรรจุขวดในวันที่ 30 ของการเก็บ พบมีจุดสีแดงเล็กๆ เกิดขึ้น จากนั้นจุดสีขาวมีมากขึ้น การกระจายตัวทั่วไป จนเห็นได้ชัดในวันที่ 60 และจุดสีขาวเพิ่มมากขึ้น เกิดการแยกชั้นของไขมันในช่วงการเก็บรักษา

คุณภาพทางจุลชีววิทยาของกะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น ( $4 \pm 1$  องศาเซลเซียส) ในช่วงการเก็บรักษา พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีแนวโน้มคงที่ไม่เปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง  $3.3 \times 10^2 - 6.4 \times 10^2$  cfu/g ส่วนยีสต์ รา, *E.coli*/Coliform, เชลล์และสปอร์ *B. cereus*, *C. perfringens*, *Salmonella* และ *S. aureus* ตรวจไม่พบในทุกช่วงของการเก็บรักษา (ตารางที่ 4.12) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็นกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำพริกแกงและเครื่องปรุงแต่งกลิ่นรส (มอก. 429-2548) พบว่าเป็นไปตามค่ามาตรฐาน แสดงว่ากะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็นปลอดภัยในการบริโภค

ผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 7.32- 7.51 ค่า Aw ลดลงเล็กน้อยจาก 0.74 เป็น 0.72 และค่าความชื้นอยู่ในช่วง 43.65 - 45.64% ตามลำดับ (ตารางที่ 4.15) จากการเก็บกะปิเคี้ยวบรรจุเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขวดเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น พบว่า กะปิเคี้ยวมีกลิ่นหอม สีน้ำตาลเข้ม ความชื้นหนืดเพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 4.16) เกิดจากไขมันในกะปิเคี้ยวเกิดการแข็งตัวในอุณหภูมิต่ำและเกิดการระเหยของน้ำออกจากกะปิเคี้ยว ในระหว่างการเก็บรักษา

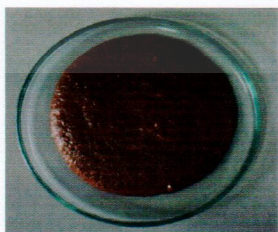
**ตารางที่ 4.15** ความเป็นกรด-ด่าง, ค่า Aw และ ความชื้น ของกะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 ± 1 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	Water activity (Aw)	ความชื้น (%)
0	7.32	0.74	45.64
30	7.51	0.72	44.41
60	7.33	0.72	43.65
90	7.48	0.73	44.44

\*\*ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจาก 2 ซ้ำ






**ตารางที่ 4.16** กะปิเคี้ยวบรรจุขวด เก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 ± 1 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 0, 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 วัน

ระยะเวลาในการเก็บรักษา	ลักษณะของกะปิเคี้ยว
0 วัน	กะปิเคี้ยวมีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอม มีลักษณะชื้นหนืด
15 วัน	กะปิเคี้ยวมีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอม มีลักษณะชื้นหนืด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตารางที่ 4.16 (ต่อ)

ระยะเวลาในการเก็บ	ลักษณะของกะปิเคี้ยว
30 วัน	กะปิเคี้ยวมีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอม มีลักษณะข้นหนืดเพิ่มขึ้น
	
45 วัน	กะปิเคี้ยวมีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอม มีลักษณะข้นหนืดเพิ่มขึ้น
	
60 วัน	กะปิเคี้ยวมีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอม มีลักษณะข้นหนืดเพิ่มขึ้น
	
75 วัน	กะปิเคี้ยวมีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอม มีลักษณะข้นหนืด มีจุดไขมันแยกตัวออกมา
	
90 วัน	กะปิเคี้ยวมีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นหอม มีลักษณะข้นหนืด มีจุดไขมันแยกตัว
	

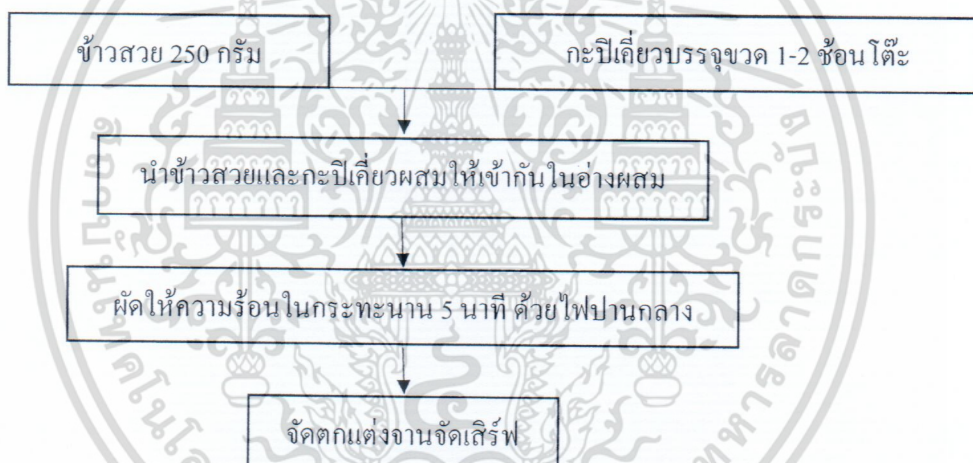
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจไม่พบ ยีสต์/รา, *E.coli*/Coliform, *B. cereus*, *C. perfringens*, *Salmonella* และ *S. aureus* ในกะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น เนื่องจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นอีกวิธีการหนึ่งซึ่งจะถนอมอาหาร จึงทำให้ตรวจไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษในกะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น

กะปิเคี้ยวบรรจุขวดที่อุณหภูมิห้อง สามารถเก็บได้ที่ 30 วัน โดยไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงสี กลิ่น และความข้นหนืด รวมทั้งคุณภาพทางจุลชีววิทยา ความเป็นกรด-ด่าง Aw และความชื้น ส่วนกะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น พบว่ากะปิเคี้ยวมีกลิ่นหอม และลักษณะไม่เปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกับกะปิเคี้ยวเริ่มต้น และสามารถเก็บได้นาน เป็นเวลา 90 วัน

#### 4.5 การผัดข้าวคลุกกะปิจากกะปิเคี้ยวบรรจุขวด

นำกะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น มาทำการผัดข้าวคลุกกะปิ ตามแผนภูมิในภาพที่ 4.4 เพื่อหาสูตรที่เหมาะสมในการทำข้าวคลุกกะปิ





ภาพที่ 4.4 วิธีการผัดข้าวคลุกกะปิ

จากการเปรียบเทียบสูตรในการทำข้าวคลุกกะปิ 2 สูตร คือ สูตรที่ 1 กะปิเคี้ยว 2 ช้อนโต๊ะ ต่อ ข้าวสวย 250 กรัม กับสูตรที่ 2 กะปิเคี้ยว 1 ช้อนโต๊ะ ต่อ ข้าวสวย 250 กรัม พบว่าข้าวคลุกกะปิที่มีรสชาติเหมาะสมสำหรับการบริโภคคือ ผสมกะปิเคี้ยวปริมาณ 2 ช้อนโต๊ะ ต่อข้าวสวย 200-250 กรัม ต่อการบริโภค 2 คน ทำให้ได้ข้าวคลุกกะปิที่มีสีน้ำตาลเข้ม รสชาติเค็มระดับกลาง และมีกลิ่นหอมของกะปิเคี้ยว (ตารางที่ 4.17) และถ้าต้องการความเค็มเพิ่มขึ้นอาจเพิ่มปริมาณกะปิเคี้ยว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.17 ลักษณะของข้าวคูกกะปิ

สูตรที่	อัตราส่วน	ลักษณะของข้าวคูกกะปิ
1	กะปิเคี้ยว 2 ช้อนโต๊ะ ต่อ ข้าวสวย 250 กรัม	 <p>ข้าวคูกกะปิมีสีน้ำตาลเข้ม รสชาติเข้มข้นระดับกลาง และมีกลิ่นหอมของกะปิเคี้ยว</p>
2	กะปิเคี้ยว 1 ช้อนโต๊ะ ต่อ ข้าวสวย 250 กรัม	 <p>ข้าวคูกกะปิมีสีน้ำตาลอ่อน รสชาติเข้มข้นเล็กน้อย มีกลิ่นหอมของกะปิเคี้ยว</p>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด *B. cereus* และ *C. perfringens* ของกะปิในบรรจุภัณฑ์แบบปิดจากโรงงานอุตสาหกรรม กะปิในบรรจุภัณฑ์แบบเปิดที่วางขายตามตลาดสด และกะปิในโรงพยาบาล จำนวน 24 ตัวอย่าง พบเชื้อ *B. cereus* ในกะปิจากการเก็บตัวอย่างคิดเป็น เชลล์ *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 พบว่าอยู่ในเกณฑ์ตามมาตรฐาน (มอก. 1080-2535) พบเชลล์ *B. cereus* ที่ 17.0-102.7 cfu/g สปอร์ *B. cereus* ที่ 6.3-7.3 spores/g ซึ่งการรับประทานกะปิที่มีเชื้อ *B. cereus* ในระดับที่ตรวจพบได้ในบุคคลทั่วไปที่มีร่างกายแข็งแรงไม่เกิดโรคอาหารเป็นพิษ แต่มีความเสี่ยงต่อผู้ป่วยที่มีร่างกายอ่อนแอ และภูมิคุ้มกันต่ำ

5.1.2 ผลการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เชลล์และสปอร์ *B. cereus* และ *C. perfringens* จากการสำรวจและเก็บตัวอย่าง กะปิ ข้าวสาร กะปิเคี้ยว ข้าวสวย ข้าวคดุกกะปิ ในกระบวนการทำข้าวคดุกกะปิของโรงพยาบาลทั้ง 2 แห่ง พบมีการปนเปื้อนเชลล์และสปอร์ *B. cereus* อยู่ในขั้นตอนการทำกะปิเคี้ยวช่วงค่า เชลล์ *B. cereus* ที่ 5-100 cfu/g สปอร์ *B. cereus* ที่ 5-35 spores/g และตรวจไม่พบ *C. perfringens*

5.1.3 ในการศึกษาผลการให้ความร้อนในการทำลายเชลล์และสปอร์ *B. cereus* ที่อุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียส ในกะปิเคี้ยวที่เชลล์และสปอร์ *B. cereus* เชื้อเริ่มต้นที่  $10^3$  cfu/g ใช้เวลา 10 นาที และในกะปิเคี้ยวที่เชลล์ *B. cereus* ที่  $10^6$  cfu/g ใช้เวลา 20 นาที ในการทำลายเชลล์ส่วนสปอร์ *B. cereus* ที่  $10^6$  spores/g ไม่สามารถทำลายสปอร์ *B. cereus* ได้หมด ดังนั้นจึงคัดเลือกช่วงเวลาที่ดีที่สุดในการทำลายเชลล์และสปอร์ *B. cereus* ในกะปิเคี้ยวที่อุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที

5.1.4 จากการศึกษาอายุการเก็บรักษากะปิเคี้ยวบรรจุขวดที่อุณหภูมิห้อง ( $27 \pm 1$  องศาเซลเซียส) สามารถเก็บกะปิเคี้ยวบรรจุขวดที่อุณหภูมิห้องได้ เป็นเวลา 30 วัน ส่วนกะปิเคี้ยวบรรจุขวดเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น ( $4 \pm 1$  องศาเซลเซียส) สามารถเก็บได้นาน เป็นเวลา 90 วัน ซึ่งไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น และความขุ่นหนืด รวมทั้งคุณภาพทางจุลชีววิทยาและค่าทางเคมี

5.1.5 ข้าวคดุกกะปิที่มีรสชาติเหมาะสมสำหรับการบริโภคคือ ผสมกะปิเคี้ยวปริมาณ 2 ช้อนโต๊ะ ต่อข้าวสวย 200-250 กรัม ต่อการบริโภคต่อ 2 คน ทำให้ได้ข้าวคดุกกะปิที่มีสีน้ำตาลเข้ม รสชาติเข้มข้นระดับกลาง และมีกลิ่นหอมของกะปิเคี้ยว

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 จากผลการวิจัย พบว่า กะปิเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ โดยเฉพาะเชื้อ *B. cereus* ซึ่งมาจากกระบวนการผลิตและวิธีเก็บรักษาที่ไม่ถูกต้อง ดังนั้นควรเลือกซื้อกะปิที่เป็นบรรจุภัณฑ์แบบปิดจากโรงงานอุตสาหกรรมเท่านั้น ถ้านำกะปิมาประกอบอาหารควรนำมาผ่านความร้อนและอุณหภูมิที่เพียงพอต่อการทำลายเซลล์และสปอร์ *B. cereus* ไม่ควรบริโภคกะปิโดยไม่ผ่านความร้อน เพราะทำให้เสี่ยงต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษได้

5.2.2 จากการทดสอบประสิทธิภาพของการใช้ความร้อนในการทำลาย *B. cereus* ในกะปิเคี้ยว ทำการวิจัยภายใต้สภาวะที่กำหนด คือ ใช้กะปิเคี้ยว 980 กรัม ที่มีปริมาณเซลล์ *B. cereus*  $10^3$  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 ดังนั้นถ้ามีการเพิ่มปริมาณวัตถุดิบ เช่น กะปิหรือน้ำที่ใช้ในการทำกะปิเคี้ยว แนะนำให้เพิ่มจำนวนครั้งในการทำกะปิเคี้ยว และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 97 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เพื่อจะได้กะปิเคี้ยวที่ปลอดภัยปราศจากเชื้อ *B. cereus* และจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษ และต้องควบคุมระดับความร้อนในขณะการเคี้ยวกะปิ ถ้าใช้ความร้อนสูงจะทำให้กะปิเคี้ยวแห้ง และเกิดการแยกชั้น ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการทำข้าวคลุกกะปิ

5.2.3 ผลึกภัณฑ์กะปิเคี้ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด ช่วยเพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบ ทำได้ง่าย สะดวกในการรับประทาน นอกจากนี้ยังมีความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษ และเก็บไว้ได้นาน และควรมีการพัฒนาด้านการออกแบบบรรจุภัณฑ์ต่อไป

## บทที่ 6

### สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย

#### 6.1 การเผยแพร่ผลงานทางวิชาการ (Publications)

##### ระดับชาติ

- การประชุม / สัมมนา ระดับชาติ (National Conference)
  - วัฒนาคณบดี วัฒนหงษ์ศิริ อพัชชา จินดาประเสริฐ และอดิศร เสวตวิวัฒน์. 2558. การเฝ้าระวังเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* ในกะปี้ที่ขายในตลาดสด. การประชุมวิชาการบัณฑิตศึกษาระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 5, 16- 17 กรกฎาคม 2558, ศูนย์มานุษยวิทยาสิรินธร (องค์การมหาชน) ดลิ่งชัน กรุงเทพฯ.

##### ระดับนานาชาติ

- การประชุม / สัมมนา ระดับนานาชาติ (International Conference)
  - Jindaprasert, A., Arjsiri, P. and Swetwiwathana, S. 2016. Effect of heat on *Bacillus cereus* survival in cooked shrimp paste. The 19<sup>th</sup> Food Innovation Asia Conference 2017 (FIAC 2017). In preparation.

#### 6.2 การผลิตบัณฑิต

- ผลิตบัณฑิตศึกษา 1 คน
  - นาย วัฒนาคณบดี วัฒนหงษ์ศิริ หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดและบริการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2559

#### 6.3 การผลิต ชิ้นงาน/นวัตกรรม/ผลิตภัณฑ์

- กรรมวิธีในการผลิตกะปี้กะปิเดี่ยวสำเร็จรูปพร้อมปรุง สำหรับทำข้าวคลุกกะปิ

## เอกสารอ้างอิง

- 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 ศิรามาชูช. 2558. ประโยชน์ของกะปิ 10 ข้อดีต่อสุขภาพ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <http://shrimp-saucedd.blogspot.com/>. 3 พฤษภาคม 2559.
- ชั้นทอง เพ็ชรนอก. 2545. คุณภาพของกะปิที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล. วิทยานิพนธ์สาขาวิชาผลิตภัณฑ์ประมง บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- คณาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์. 2529. คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยา. ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. 2549. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เครือวัลย์ แก้วเย็น และคณะ. 2557. มาตรฐานอาหารปลอดภัยในโรงพยาบาล (ฉบับกระทรวงสาธารณสุข). นนทบุรี : ชุมชมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- เต็มศักดิ์ โชติวรรณวิรัช. 2523. การศึกษาจุลชีววิทยาของอาหารหมักพื้นเมือง: กะปิ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ทศพร แจ่งคำ. 2558. การเหลือรอดของเซลล์และสปอร์ของ *Bacillus cereus* ในระหว่างการเตรียมอาหารเหลวสำหรับผู้ป่วย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- รัชต์ลักษณ์ 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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

นวรรต ไกรฤกษ์. 2553. เรื่องปกิณกะในรัชกาลที่ 5. กรุงเทพฯ : อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.

นิกัชรพร สภาพพร และพัชราภรณ์ น้อยพันธ์. 2558. การแพร่กระจาย *Bacillus cereus* ในน้ำพริก อำเภอเมือง จังหวัดกำแพงเพชร. นเรศวรวิจัย ครั้งที่ 12: วิจัยและนวัตกรรมกับการพัฒนา ประเทศ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <http://conference.nu.ac.th/nrc12/downloadPro.php?pID=50&file=50.pdf>. 30 กันยายน 2559.

บุญศรี จงเสรีจิตต์. 2552. จุลชีววิทยาทางอาหาร. นครปฐม : โรงพิมพ์แห่งมหาวิทยาลัยศิลปากร.

มันทนา แสงจินดาวงษ์. 2538. จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ประมง. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
รวีวรรณ พรหมเจริญ. 2545. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสร้างสารพิษของ *Bacillus cereus* ในน้ำพริก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยาประยุกต์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระเจ้าเกล้าธนบุรี.

เริงฤดี พฤทธิอนันต์. 2524. การฝึกอบรม / สาธิตเพื่อการปรับปรุงกะปิพื้นเมือง. หน้า 84-95. ในรายงาน การทดลองประจำปี 2524. กรุงเทพฯ : กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ศรีสมร คงพันธุ์. 2549. ตำรับอาหารวิทยาลัยในวัง. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แสงแดด.

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

ศุภชัย เนื่อนवलสุวรรณ. 2549. ความปลอดภัยอาหาร. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุวรรณมนท์ เหล็กเพชร. 2546. การเจริญและอยู่รอดของ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* เซลล์และสปอร์ในก้วยเดี่ยวแช่เย็นและแช่แข็ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขา วิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมภพ วัฒนมณี, สินี จันทฤทธิรัตน์ และธัญลักษณ์ นินบดี. 2538. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์เชื้อโรคอาหาร เป็นพิษ *Clostridium perfringens* ในอาหาร น้ำ และเครื่องดื่ม. วารสารวิทยาศาสตร์การแพทย์ 37. (มกราคม-มีนาคม): 73-83.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 1080-2535). 2535. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กะปิ. กรุงเทพฯ : สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 429-2548). 2548. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำพริกแกงและเครื่องปรุงแต่งกลิ่นรส. กรุงเทพฯ : สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.

สิริพร สรณเสาวภาคย์. 2535. กะปิแนวทางพัฒนาอุตสาหกรรมเพื่อการส่งออก. วารสารอาหาร. 22(4): 1-7.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สิริพร สชนเสาวภาคย์ ปราโมทย์ ชรรมรัตน์ และกาญจนิจ วาจนะวินิจ. 2539. การปนเปื้อนของ เชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในวัตถุดิบสำหรับผลิตน้ำพริกสำเร็จรูป และการศึกษาระยะเวลาในการอบเพื่อลดปริมาณ. วารสารวิทยาศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์. 30(2): 193-199.
- สุนทร ศรีนนท์. 2556. กะปิ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://edtech.ipst.ac.th>. 5 พฤษภาคม 2558.
- เสาวคนธ์ ต่วนเทศ. 2551. ผลของความชื้นและค่าความเป็นกรดต่างต่อการยับยั้งสปอร์ของเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Clostridium sporogenes* ในผลิตภัณฑ์หน่อไม้รวกต้มบรรจุถุง. วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อรุณี เอกพาณิชย์ถาวร. 2534. สุกลักษณะของผลิตภัณฑ์กะปิในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย ประมง บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อัมพร เทียงตรงดี. 2559. เอกสารประกอบการสอนวิชาจุลชีวและปรสิตวิทยา. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก [http://61.19.86.230/manage/Plan\\_pic/20130323161154.docx](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. Röner, 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.
- Food and Drug Administration (FDA). 2001. **BAM: Aerobic Plate Count**. [Online]. Available from: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063346.htm>. December 12, 2015.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Food and Drug Administration (FDA). 2001. **BAM: *Staphylococcus aureus***. [Online]. Available from: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071429.htm>. December 12, 2015.
- Food and Drug Administration (FDA). 2001. **BAM: *Bacillus cereus***. [Online]. Available from: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070875.htm>. December 12, 2015.
- Food and Drug Administration (FDA). 2001. **BAM: Yeasts and Molds**. [Online]. Available from: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071435.htm>. December 12, 2015.
- 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.
- 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.
- 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 ก

## ตัวอย่างกะปิ

## 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

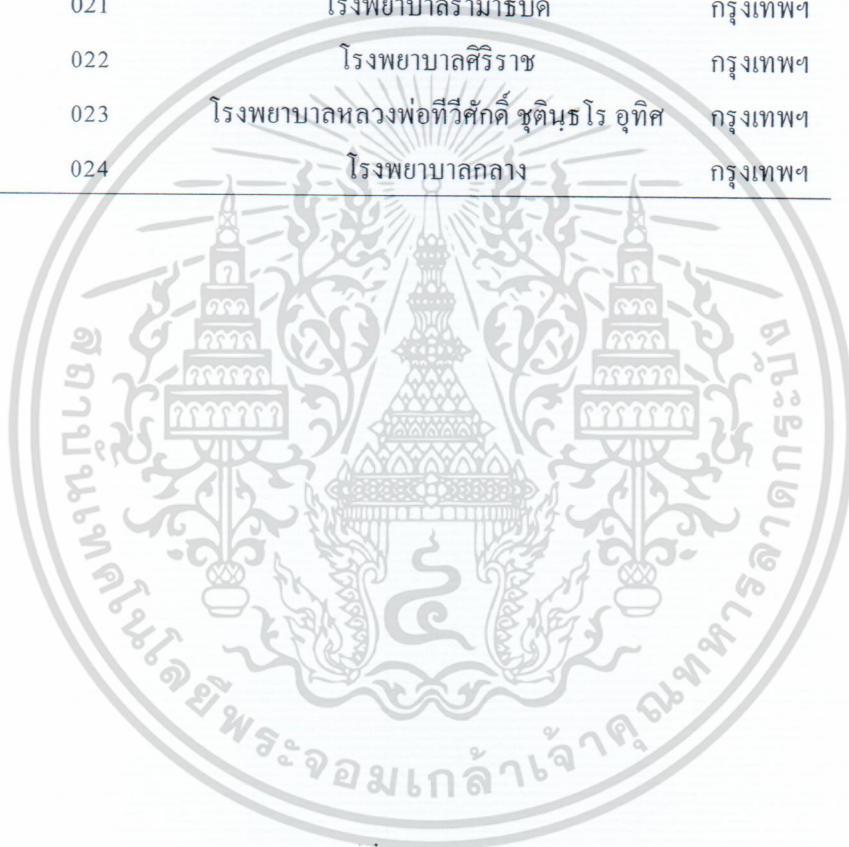
รหัส	ชื่อจังหวัด	ยี่ห้อ
008	ปราจีนบุรี	กะปิแท้
009	สมุทรปราการ	ตราปากน้ำ
010	กรุงเทพฯ	ตราไก่อู้
011	กรุงเทพฯ	ตราปู
012	สมุทรปราการ	ตราเรือใบ
013	สมุทรสาคร	กะปิคลองโคสน
014	สมุทรสาคร	กะปิแท้คู่ครัวไทย
015	กรุงเทพฯ	ตราซั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ 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	โรงพยาบาลรามาริบัติ	กรุงเทพฯ
021	โรงพยาบาลรามาริบัติ	กรุงเทพฯ
022	โรงพยาบาลศิริราช	กรุงเทพฯ
023	โรงพยาบาลหลวงพ่อทวีศักดิ์ ชุตินฺธโร อุทิศ	กรุงเทพฯ
024	โรงพยาบาลกลาง	กรุงเทพฯ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

### ข.1 ลักษณะการเจริญของ เชื้อ *B. cereus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ



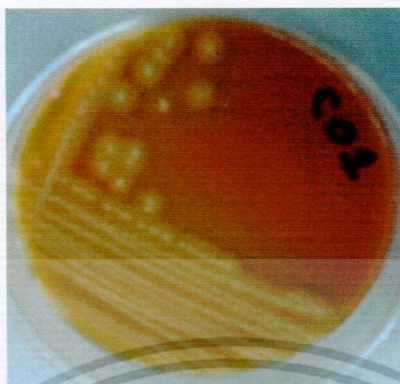
ภาพภาคผนวกที่ ข.1 เชื้อ *B. cereus* ที่แยกได้จากกะปิบนอาหาร MYP Agar



ภาพภาคผนวกที่ ข.2 เชื้อ *B. cereus* ที่แยกได้จากกะปิบนอาหารอาหาร Blood Agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.2 ลักษณะการเจริญของ เชื้อ *C. perfringens* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ



ภาพภาคผนวกที่ ข.3 เชื้อ *C. perfringens* ที่แยกได้จากกะปิบนอาหาร Modified BHI-Egg Yolk Medium



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค  
การผลิตกะปิเคี้ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด

ค.1 สูตรในการผลิตกะปิเคี้ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด

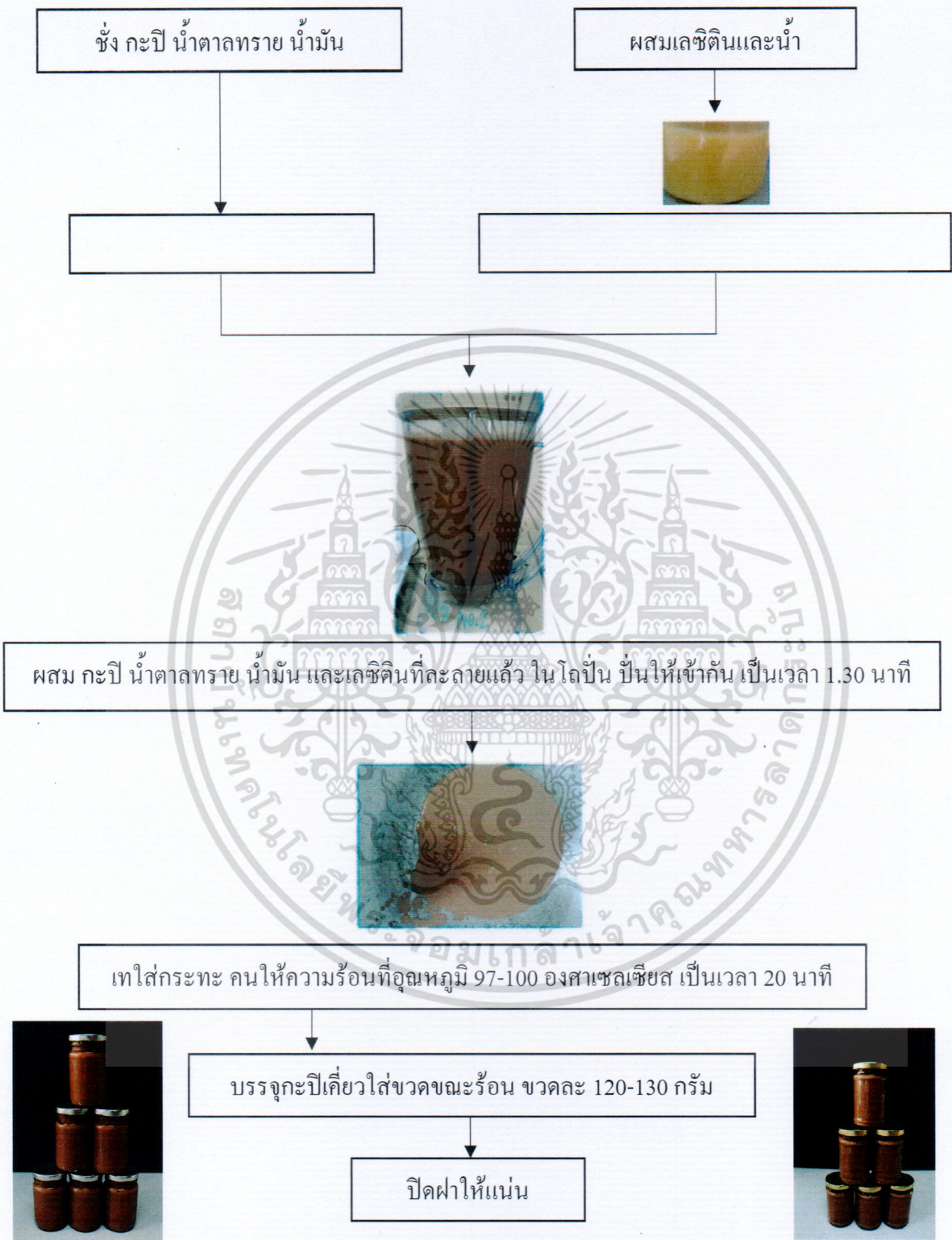
กะปิ	800	กรัม
น้ำตาลทราย	80	กรัม
น้ำมันพืช	80	กรัม
เลซิทิน	50	กรัม
น้ำ	1	ลิตร



ภาพภาคผนวกที่ ค.1 วัตถุดิบในการทำกะปิเคี้ยว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ค.2 ขั้นตอนการผลิตกะปิเคี้ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด



สูตรนี้ได้กะปิเคี้ยว 1200 กรัม บรรจุขวดๆ ละ 120-130 กรัม ได้ประมาณ 10 ขวด

### ภาพภาคผนวกที่ ค.2 การผลิตกะปิเคี้ยวสำเร็จรูปบรรจุขวด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง

## สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินโครงการวิจัย

รหัสโครงการ/รหัสสัญญา 2559-17-005



## แบบรายงานการใช้จ่ายเงินโครงการวิจัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

รายงานความก้าวหน้า ครั้งที่ - รอบ - เดือน ประจำปีงบประมาณ 2559

 แหล่งงบประมาณแผ่นดิน (แบบปกติ)  แหล่งเงินรายได้
ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) ผลของความร้อนต่อการเหี่ยวรอดของเชื้อ *Bacillus cereus* ในกะปิเคี้ยวและอายุการเก็บรักษา(ภาษาอังกฤษ) Effect of heat on *Bacillus cereus* survival in cooked shrimp paste and shelf life

ชื่อ-สกุลหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน/ผู้วิจัย ผศ.ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2558 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2559

## ข้อมูลการรายงานค่าใช้จ่ายงบประมาณโครงการวิจัย

## 1. การเบิกจ่ายงบประมาณ

งวดที่ 1 68,000 บาท 85 % วันที่ได้รับอนุมัติให้เบิกจ่ายเงิน 17 ธันวาคม 2558

งวดที่ 2 12,000 บาท 15 % วันที่ได้รับอนุมัติให้เบิกจ่ายเงิน 30 มิถุนายน 2559

## 2. สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินการวิจัย

หมวดค่าใช้จ่าย	ค่าใช้จ่าย (บาท)
งบบุคลากร :ค่าจ้างชั่วคราว	-
งบดำเนินงาน	
ค่าตอบแทน	10,000.00
ค่าใช้สอย	14,000.00
ค่าวัสดุ	56,000.00
ค่าสาธารณูปโภค	-
งบลงทุน: ค่าครุภัณฑ์	-
<b>รวม</b>	<b>80,000.00</b>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ข้อมูลประวัติคณะผู้วิจัย

### ประวัติส่วนตัว

#### 1. ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ

เพศ  ชาย  หญิง

สถานภาพ  โสด  สมรส

ตำแหน่งปัจจุบัน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ถนนฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

### ประวัติการศึกษา

ชื่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต	เภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ ธรรมชาติ	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2551
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	เทคโนโลยีทางชีวภาพ	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2537
วิทยาศาสตรบัณฑิต	เทคโนโลยีชีวภาพ	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	2534

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

- เทคโนโลยีชีวภาพผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ
- จุลชีววิทยาและความปลอดภัยทางอาหาร
- การประยุกต์ใช้เทคนิคพีซีอาร์ในการตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร

ทุนการศึกษาและทุนวิจัยที่เคยได้รับ (ในช่วง 5 ปีที่ผ่านมา)

ปี พ.ศ.	ทุนการศึกษาและทุนวิจัย	สถาบันที่ให้
2558 - 2559	โครงการศึกษาและพัฒนาการสุ่มตัวอย่างเพื่อ รองรับแผนเฟ้าระวังความปลอดภัยของ ผลิตภัณฑ์อาหาร (นักวิจัย)	สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
2558 - 2559	ผลของความร้อนต่อการเหลือรอดของเชื้อ <i>Bacillus cereus</i> ในกะปิเคี้ยวและอายุการเก็บ รักษา (หัวหน้าโครงการวิจัย)	งบประมาณเงินรายได้ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สจล.
2557 - 2558	ผลของ Quaternary Ammonium Compound ต่อ ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อซัลโมเนลลา (หัวหน้า โครงการวิจัย)	งบประมาณเงินรายได้ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สจล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปี พ.ศ.	ทุนการศึกษาและทุนวิจัย	สถาบันที่ให้
2557	การประเมินความเสี่ยงด้านจุลินทรีย์ตาม สัญลักษณ์ที่ดีของร้านอาหาร (นักวิจัย)	สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม
2556	การเฝ้าระวังการปนเปื้อนของเชื้อ <i>Salmonella</i> spp. ในอาหารพร้อมบริโภค โดยใช้ชุดทดสอบ 3M Petrifilm™ <i>Salmonella</i> Express Systems เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน ISO 6579 : 2007 (นักวิจัย)	บริษัท 3เอ็ม ประเทศไทย
2556 - ปัจจุบัน	การพัฒนากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก จากข้าวไร้และการใช้ประโยชน์ (ผู้ร่วมวิจัย)	กองทุนวิจัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอม เกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
2555 - 2556	การคัดเลือกแบคทีเรียจากถั่วเน่าที่ผลิต เอนไซม์อะไมเลสเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการย่อย แป้ง (หัวหน้าโครงการวิจัย)	งบประมาณเงินรายได้ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สจล.
2555 - 2556	การตรวจและการจำแนกเชื้อ <i>Salmonella</i> <i>Enteritidis</i> , <i>S. Anatum</i> , <i>S. Derby</i> และ <i>S. Ratchaburi</i> ในระดับซีโรวาร์ที่พบในอาหาร โดยใช้วิธีพีซีอาร์ (หัวหน้าโครงการวิจัย)	สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
2554 - 2555	ผลของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่อการ ควบคุมการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลาใน ระหว่างการหมักหม้า (หัวหน้าโครงการวิจัย)	งบประมาณเงินรายได้ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สจล.
2554 - 2555	ประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นในการลด การปนเปื้อนของเชื้อ <i>Salmonella</i> Ratchaburi ในโหระพา (หัวหน้าโครงการวิจัย)	งบประมาณเงินรายได้ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สจล.

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ (ในช่วง 5 ปีที่ผ่านมา)

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ที่ตีพิมพ์เผยแพร่ (ระดับชาติและนานาชาติ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## การเสนอผลงานวิชาการ

### ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ (จำแนกระดับชาติและระดับนานาชาติหรือเทียบเท่า)

- Wanangkarn, A., Liu, D. C., Swetwathana, A., Jindaprasert, A., Phraephaisarn, C., Chumnqoen, W., and Tan, F. J.. 2014. Lactic acid bacterial population dynamics during fermentation and storage of Thai fermented sausage according to restriction fragment length polymorphism analysis. *International Journal of Food Microbiology*. 186: 61–67.

### ผลงานที่ได้รับการนำเสนอผลงานในที่ประชุม

- Jindaprasert, A., Kerdpi boon, S. and Swetwathana, S. 2016. Monitoring of *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 starter culture during Nham fermentation using RAPD-PCR. *International Conference on Beneficial Microbes 2016, Microbes for the Benefits of Mankind, 31st May-2nd June, 2016*. Duangitt Resort & Spa, Phuket, Thailand.
- Jindaprasert, A., Pornpukdeewatana, S. Kerdpi boon, S, and Krusong, W. 2016. Improvement of  $\alpha$ -amylase and glucoamylase production from *Amylomyces* spp. using metal ions in wheat bran. *International Conference on Beneficial Microbes 2016, Microbes for the Benefits of Mankind, 31st May-2nd June, 2016*. Duangitt Resort & Spa, Phuket, Thailand.
- วลีพร วลีภรณ์ และ อพัชชา จินดาประเสริฐ. 2559. ผลของความเข้มข้นและระยะเวลาในการสัมผัสของ alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride ในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella Anatum* และ *Salmonella Corvallis*. การประชุมวิชาการบัณฑิตศึกษาระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 6, 11-12 กรกฎาคม 2559, ศูนย์สันสกฤตศึกษา กรุงเทพฯ.
- วัฒนาคณบดี วัฒนหงษ์ศิริ อพัชชา จินดาประเสริฐ และ อติสร เสวตวิวัฒน์. 2558. การเฝ้าระวังเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* ในกะปิที่ขายในตลาดสด. การประชุมวิชาการบัณฑิตศึกษาระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 5, 16-17 กรกฎาคม 2558, ศูนย์มานุษยวิทยาสิรินธร (องค์การมหาชน) ดลิ่งชัน กรุงเทพฯ.
- Jindaprasert, A., Banjong, K., Kerdpi boon, S., and Swetwathana, A. 2015. Use of probiotic starter culture *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 in Nham. *The 8th Asia Conference on Lactic Acid Bacteria (ACLAB), July 8 – 10, 2015, the Emerald Hotel, Bangkok, Thailand*.
- Jindaprasert, A., Vichitraka, A., Fuangpaiboon, J., Promla, N., and Swetwathana, A. 2014. Comparison between 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express System and ISO 6579 Conventional Method for the Detection of *Salmonella* spp. in Cook-chill and Cook-freeze Retail Foods in Bangkok, Thailand. *IAFP2014, August 3-5, 2014. Indianapolis, Indiana USA*.
- อพัชชา จินดาประเสริฐ กัญญา จิระเจริญรัตน์ และ อติสร เสวตวิวัฒน์. 2557. การเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของไส้กรอกอีสานที่เติมกลีเซอรีน *Weissella cibaria* SI 21. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีเนื้อสัตว์ครั้งที่ 5, 25 กรกฎาคม 2557, คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กนกภรณ์ ครุฑภาพันท์ และ อพัชชา จินดาประเสริฐ. 2557. การศึกษาความปลอดภัยและคุณค่าทางโภชนาการของการรับประทานอาหารตามสั่ง. การประชุมวิชาการมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์ระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 1, 31 ตุลาคม พ.ศ.2557, โรงแรม เคยู โฮม กรุงเทพฯ.
- เสาวลักษณ์ ศรีภักดี, อนุศักดิ์ เกิดสิน และอพัชชา จินดาประเสริฐ. 2556. ผลของเอนไซม์ต่อการทำปฏิกิริยามัลติเพ็กทีซีอาร์ในการตรวจแยก Sequence type 64 ของเชื้อ *Streptococcus suis* serotype 2. การประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 2 ความท้าทายของอุตสาหกรรมอาหาร: สังคมผู้สูงอายุและการเปลี่ยนแปลงของโลก, 30 สิงหาคม 2556, โรงแรมวินเซอร์ สวีทส์ สุขุมวิท กรุงเทพฯ. หน้า 64-69.
- อุกฤษฏ์ ปริญญาวุฒิชัย, พรทิพา วุฒิประเสริฐ, พูลลักษณ์ อาจศิริ, อพัชชา จินดาประเสริฐ และอดิศร เสวตวิวัฒน์. 2556. การประเมินการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวในโรงครัวโรงพยาบาล. การประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 2 ความท้าทายของอุตสาหกรรมอาหาร: สังคมผู้สูงอายุและการเปลี่ยนแปลงของโลก, 30 สิงหาคม 2556, โรงแรมวินเซอร์ สวีทส์ สุขุมวิท กรุงเทพฯ. หน้า 70-75.
- อัสณี วิจิระกะ และอพัชชา จินดาประเสริฐ. 2556. ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเห็ดจีน. การประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 2 ความท้าทายของอุตสาหกรรมอาหาร: สังคมผู้สูงอายุและการเปลี่ยนแปลงของโลก, 30 สิงหาคม 2556, โรงแรมวินเซอร์ สวีทส์ สุขุมวิท กรุงเทพฯ. หน้า 76-82.
- ทศพร แจ็งคำ, พูลลักษณ์ อาจศิริ, อพัชชา จินดาประเสริฐ และอดิศร เสวตวิวัฒน์. 2556. การประเมินคุณภาพด้านจุลชีววิทยาในการผลิตอาหารเหลวสายสำหรับผู้ป่วยในโรงพยาบาล. การประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 2 ความท้าทายของอุตสาหกรรมอาหาร: สังคมผู้สูงอายุและการเปลี่ยนแปลงของโลก, 30 สิงหาคม 2556, โรงแรมวินเซอร์ สวีทส์ สุขุมวิท กรุงเทพฯ. หน้า 91-97.
- อพัชชา จินดาประเสริฐ, ชุมพล นาครินทร์, จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และอดิศร เสวตวิวัฒน์. 2556. การประเมินสถานที่ผลิตหม้าและคุณภาพผลิตภัณฑ์หม้าในจังหวัดชัยภูมิภายหลังการฝึกอบรม โดยใช้หลักเกณฑ์ GMP. 2556. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีเพื่อสังคมครั้งที่ 4. 19 กรกฎาคม 2556. โรงแรมรามารการ์เด้น คอนมือง กรุงเทพฯ.
- Limsombun, T., Nakrin, C., Jindaprasert, A., Sethakul, J. and Swetwivathana, A. 2012. Microbiological Quality of Mum (Thai Traditional Fermented Beef). Proceedings of the 15th AAAP Animal Science Congress 26-30 November 2012, Thammasat University, Rangsit Campus, Thailand.
- Jindaprasert, A., Jirajoenrat, K. and Swetwivathana, A. 2012. Microbial community during Thai traditional fermented sausage (Isan sausage) fermentation. The 24<sup>th</sup> Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology, November 29-30<sup>th</sup>, 2012, Sunee Grand Hotel and Convention Center, Ubon Ratchatani, Thailand. pp. 549-551.
- กัญญา หมอกกลาง และอพัชชา จินดาประเสริฐ. 2555. ผลของน้ำส้มสายชูกลั่น โปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนต และโซเดียมไบคาร์บอเนตต่อการลดลงของเชื้อ *Salmonella* Typhimurium ในหลอดทดลอง. การประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 1 อุตสาหกรรมเกษตรไทยเทิดไท่ องค์ราชันย์, 7 กันยายน 2555 ณ โรงแรมดิเอ็มเมอรัลด์ รัชดาภิเษก ดินแดง กรุงเทพฯ. หน้า 89-93.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ทศนีย์ อินทร์วิมล, อพัชชา จินดาประเสริฐ และอดิศร เสวตวิวัฒน์. 2555. การศึกษาการเจริญ การผลิตกรดแลคติกและแบคทีเรียโอซินของ *Pediococcus pentosaceus* M13 ใน MRS broth. การประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 1 อุตสาหกรรมเกษตรไทยเทคไท่ องค์กรฯ, 7 กันยายน 2555, โรงแรมดิเอ็มเมอรัลด์ รัชดาภิเษก คินแดง กรุงเทพฯ. หน้า 467-473.
- ธีรธร ลีสมบูรณ์, ชุมพล นาครินทร์, กิตติชัย บรรจง อพัชชา จินดาประเสริฐ และอดิศร เสวตวิวัฒน์. 2555. สถานภาพสุขลักษณะของโรงงานผลิตหม้าในจังหวัดชัยภูมิภายใต้ GMP ของไทย. การประชุมวิชาการครั้งที่ 50 ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 31 มกราคม – 3 กุมภาพันธ์ 2555, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. หน้า 287-294.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2. นาย วัฒนภคณบดี วัฒนหงส์ศิริ

เพศ  ชาย  หญิง

สถานภาพ  โสด  สมรส

วัน เดือน ปีเกิด 1 ตุลาคม พ.ศ. 2532 จังหวัด กรุงเทพมหานคร

ที่อยู่ 1301/15-16 ซอยวชิรธรรมสาริต แขวงบางจาก เขตพระโขนง  
จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10260

ประวัติการศึกษา - พ.ศ. 2555 จบการศึกษาหลักสูตร คหกรรมศาสตร์  
คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ สาขาวิชาอาหารและโภชนาการ มหาวิทยาลัย  
เทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ (วิทยาเขตพระนครใต้)

- พ.ศ. 2556 ศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยี  
การจัดและบริการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอม  
เกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังและสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2559

ประวัติการทำงาน - พ.ศ. 2557 ผู้ช่วยนักวิจัย เรื่องการประเมินความเสี่ยงด้านจุลินทรีย์ตาม  
สุขลักษณะที่ดีของร้านอาหาร กิจกรรมที่ 5 การวิจัยและประเมินความเสี่ยงด้าน  
อาหารปลอดภัย ภายใต้โครงการ “การพัฒนาอุตสาหกรรมอาหารของไทยให้  
เป็นครัวอาหารคุณภาพของโลก” ปีงบประมาณ 2557 (Thailand Food Quality  
to the World)

การนำเสนอผลงาน - นำเสนอโปสเตอร์ เรื่อง การเฝ้าระวังเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Clostridium*  
*perfringens* ในกะปิที่ขายในตลาดสด ในงานประชุมวิชาการบัณฑิตศึกษา  
ระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 5 วันที่ 16-17 กรกฎาคม 2558 ณ ศูนย์  
มานุษยวิทยาสิรินธร (องค์การมหาชน) ตลิ่งชัน กรุงเทพมหานคร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้