19772

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

T096952

# ใบรับรองปัญหาพิเศษ

**เรื่อง**

การศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่

(Study on Microbiological Quality of Bakery Products)

**โดย**

นางสาวฐปนัท มานิตย์กุล รหัสนักศึกษา 43040644

นางสาวรุจชานี บัณฑิธาดาวิทย์ รหัสนักศึกษา 43040655

**ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก**

..... 5 / ม.ค. / 47 **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**

**(ผศ. อดิศร เสวตวิวัฒน์)**

ปพ.
ส129ก
2547

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 96952
วัน.เดือน.ปี 5 JUN 2009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทคัดย่อ

**ฐปนัท มานิตย์กุล และรุจชานี บัณฑิธาดาวิทย์ . 2547. : การศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ ( Study on Microbiological Quality of Bakery Products. ).**
**ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร**
**สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง**
**อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ. อดิศร เสวตวิวัฒน์**

---

ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์เบเกอรี่เป็นที่นิยมในการบริโภคเป็นอย่างมาก จึงมีกาผลิตกันอย่างแพร่หลาย มีร้านค้าทั้งในห้างสรรพสินค้า และตลาดสดรวมทั้งสถานที่ชุมชนต่างๆ ซึ่งส่งผลถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคได้รับ จึงทำให้มีการตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์ ที่ปรากฏในผลิตภัณฑ์ ทั้งในด้านสุขาภิบาล และเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค โดยทำการตรวจสอบผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ทั้งหมด 25 ตัวอย่าง แบ่งเป็นผลิตภัณฑ์ต้องมีการตกแต่งหลังการอบหรือหลังกระบวนการให้ความร้อน 14 ตัวอย่าง และผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังกระบวนการให้ความร้อน 12 ตัวอย่าง พบว่าผลิตภัณฑ์ที่มีการตกแต่งหลังจากกระบวนการให้ความร้อนมีการปนเปื้อนของเชื้อที่เป็นดัชนีบ่งบอกถึงด้านสุขาภิบาล ที่เกินมาตรฐาน ในปริมาณที่มากกว่า ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังผ่านกระบวนการให้ความร้อนแล้ว และพบเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษในผลิตภัณฑ์ แต่ในผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังผ่านกระบวนการให้ความร้อนแล้ว ไม่พบเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งสาเหตุของผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้มาตรฐาน เนื่องจากมีการสัมผัสมากนี้อาจเกิดจากขั้นตอนของการตกแต่ง ที่มีการใช้มือในการช่วยตกแต่งผลิตภัณฑ์ เช่น มีการทาครีม แยม เป็นต้น อีกทั้งของเหล่านี้ไม่ได้มีการผ่านกระบวนให้ความร้อนก่อนนำมาตกแต่ง จึงอาจเป็นสาเหตุให้มีการปนเปื้อนของเชื้อลงในผลิตภัณฑ์ ซึ่งบ่งชี้ถึงสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ไม่ถูกต้องของผู้ผลิตนั้นเอง

| | | |
|---|---|---|
| น.ส. ฐปนัท มานิตย์กุล<br>น.ส. รุจชานี บัณฑิธาดาวิทย์ | | 5 ม.ค. 47 |
| ลายมือชื่อนักศึกษา | ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา | วัน / เดือน / ปี |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

หน้า


บทคัดย่อ.....I

กิตติกรรมประกาศ.....II

สารบัญ.....III

สารบัญตาราง.....

สารบัญภาพ.....

บทที่ 1. บทนำ..... 1

1. ประวัติความเป็นมาของผลิตภัณฑ์ขนมอบ..... .....1

1.1 อุตสาหกรรมขนมอบในสหรัฐอเมริกา..... .....2

1.2 อุตสาหกรรมขนมอบทางด้านตะวันออก..... .....2

1.3 อุตสาหกรรมขนมอบในประเทศไทย..... .....3

1.4 เครื่องมือเครื่องใช้..... .....3

1.5 ความสำคัญของเครื่องมือ..... .....5

2. ส่วนผสมของขนมปัง..... 8

3. กรรมวิธีการผลิต..... 11

4. การเสื่อมคุณภาพของขนมปัง..... ..... 15

5. การเสื่อมเสียของขนมปัง.....15

6. การป้องกันการเสื่อมเสียของขนมปังและการเก็บรักษาขนมปัง..... 16

บทที่ 2. เชื้อที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ..... ..... 19

2.1 *Staphylococcus aureus*..... ..... 19

2.2 *Bacillus cereus and Bacillus* spp.....22

2.3 *Salmonella* spp..... .....24

2.4 *Clostridium perfringens*..... 31

บทที่ 3. เชื้อจุลินทรีย์ที่บ่งบอกถึงสุขลักษณะการผลิตและสุขลักษณะส่วนบุคคล ..... .....35

3.1 แบคทีเรียโคลิฟอร์ม..... ..... 35

3.2 *Escherichia coli* O157:H7 ..... ..... 37

3.3 *Staphylococcus aureus*..... ..... 39

3.4 เชื้อราและยีสต์..... 40



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า


บทที่ 4. อุปกรณ์และวิธีการ

4.1 อุปกรณ์และวิธีการ..... .....42

4.2 สารเคมี..... .....42

4.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ..... ..... 43

4.4 วิธีการทดลอง..... ..... 44

บทที่ 5. ผลการทดลอง.....57

บทที่ 6. สรุปผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง..... ..... 61

บรรณานุกรม..... 64

ภาคผนวก

ก. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ.....65

ข. การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์..... .....74

ค. ตาราง MPN..... 77

ง. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เบเกอรี่และร้านค้าเบเกอรี่..... 79

ประวัติผู้เขียน.....



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง


ตารางที่ หน้า

1. รายชื่อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ.....18
2. เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค การจำแนกลักษณะการเกิดอาหารเป็นพิษจาก เชื้อแบคทีเรีย ระยะเวลาในการฟักตัว และอาการหลักที่เกิดจากการบริโภค..... 33
3. สารพิษจากเชื้อรา ( mycotoxin ) เชื้อราที่ผลิตสารพิษ อาการของโรค และอาหารที่เกิดการปนเปื้อนจากเชื้อรา..... 40
4. ตารางแสดงปริมาณจุลินทรีย์ชนิดต่างๆที่พบในตัวอย่าง..... 58
5 ตารางแสดงผลการตรวจจำนวนจุลินทรีย์ในอาหาร.....75
6. ตาราง MPN.....77



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญภาพ


ภาพที่ หน้า

1. ลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus*.....19
2. ลักษณะของเชื้อ *Bacillus cereus*.....22
3. ลักษณะของเชื้อ *Salmonella spp* .....24
4. เด็กที่มีอาการ *S.*Typhimurium .....25
5. อาการของผู้ที่มีไข้ไทฟอยด์ .....26
6. รายงานการเกิดไข้ไทฟอยด์ในสหรัฐอเมริกา.....27
7. การทดลองที่แสดงให้เห็นว่าเปลือกไข่มีรูหรือรอยแยกเล็กๆ.....30
8. ลักษณะของเชื้อ *Clostridium perfringens*.....31
9. ลักษณะของเชื้อ *Escherichai coli*.....37
10. ขั้นตอนการใส่ตัวอย่างอาหารที่เจือจางแล้วลงในplate ..... 45
11. เขย่า plate เพื่อให้ตัวอย่างอาหารกระจายทั่ว plate .....45
12. ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่ขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....46
13. ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่ขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18.....46
14. ตัวอย่างโคโลนีของยีสต์ที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....46
15. เชื้อราและยีสต์ที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA..... .46
16. การทดสอบ IMViC test.....48
17. โคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *Staphylococcus aureus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ.....49
18. การทดสอบ hemolytic activity test..... 51
19. การตรวจสอบ *Clostridium perfringens* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ cooked meat .....52
20. การตรวจสอบลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Clostridium perfringens* โดย streak plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ modify ( BHI ) ..... ...52
21. ตัวอย่างอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ..... 54
22. ตัวอย่างจาก TSBลงใน อาหารTTB และSCB.....54
23. ตัวอย่างจาก TSBลงใน อาหารTTB และSCB.....54
24. ตัวอย่างโคโลนีบนอาหาร SS agar.....56
25. ตัวอย่างโคโลนีบนอาหาร XLD agar.....56
26. เค้กช็อคโกแลต.....74
27. พายสับปะรด.....75
28. ร้านค้าตามตลาดสด.....75



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญภาพ ( ต่อ )

29. ร้านค้าตามตลาดสด..... 75
30. ร้านค้าบนห้างสรรพสินค้า.....75
31. ร้านค้าตามตลาดนัด..... 75



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่เข้ามามีบทบาทกับชีวิตประจำวันของคนเรามากขึ้น เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถบริโภคได้ง่ายและมีวางขายอยู่ทั่วไป ทั้งตลาดสด ห้างสรรพสินค้าและสถานที่ชุมชนต่าง ๆ ทำให้เกิดความหลากหลายของคุณภาพและกระบวนการผลิต ดังนั้นปัญหาพิเศษนี้ได้นำเสนอ การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาต่าง ๆ ที่พบในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ ที่ส่งผลถึงความปลอดภัยของผู้บริโภค

## 1.2 ขอบเขตของงานวิจัย

ตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์ ที่ก่อให้เกิดโรค ได้แก่ *Staphylococcus aureus* , *Bacillus cereus* , *Clostridium perfringens* , *Salmonella spp.*

ตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์ ที่บ่งบอกถึงสุขลักษณะการผลิตและสุขลักษณะส่วนบุคคล ได้แก่ Staphylococcus aureus , Escherichai coli , Mold & yeast , total plate count

## 1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 เพื่อศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ที่มีในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ ทั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษและเชื้อที่บ่งบอกด้านสุขาภิบาล ( Sanitary index micoorganism )

1.3.2 เพื่อศึกษาถึงแนวโน้มการปนเปื้อนของเชื้อต่าง ๆ ที่มีในผลิตภัณฑ์ที่มีกระบวนการผลิตที่แตกต่างกัน

1.3.3 เพื่อศึกษาถึงความเสี่ยงที่ผู้บริโภคจะได้รับจากผลิตภัณฑ์เบเกอรี่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่1
# ผลิตภัณฑ์ขนมอบ

## 1. ประวัติความเป็นมาของผลิตภัณฑ์ขนมอบ

จากหนังสือเทคโนโลยีเบเกอรี่เบื้องต้นได้กล่าวว่าขนมปังเป็นสัญลักษณ์ของความดีงาม ความอบอุ่น ความปลอดภัย ที่มีปรากฏมาตั้งแต่สมัยคัมภีร์ไบเบิ้ลแต่ก็ไม่มีใครยืนยันว่าเป็นผู้ที่ผลิตขึ้นเป็นคนแรก

ได้มีบันทึกไว้ว่าชาวสวิสที่อาศัยอยู่ตามทะเลสาบเป็นผู้ที่นำเมล็ดข้าวสาลีมาบดโดยครกหยาบๆ แล้วนำไปแช่น้ำ และเทส่วนผสมนี้ลงไปบนครกร้อนๆเพื่อทำให้สุก ผลที่ได้คือ ได้ขนมปังที่มีการขึ้นฟูโดยไม่ได้ตั้งใจ และจากการค้นพบต่อมาพบว่า 3,000 ปีก่อนคริศตกาล ทาสในสมัยราชวงศ์อียิปต์ ได้ผสมก้อนแป้งเก่าที่ลืมทิ้งไว้เข้ากับก้อนแป้งใหม่ ทำให้ได้ขนมปังที่มีลักษณะเบากลิ่นและรสดีกว่าเดิม

ความรู้เกี่ยวกับการทำขนมปังได้แพร่หลายจากอียิปต์ไปสู่ภูมิภาคต่างๆแถบเมดิเตอร์เรเนียนในกลุ่มเยรูซาเล็มโบราณรวมทั้งเมืองเล็กที่อยู่บนเส้นทางค้าขายของพวกตะวันออกกลาง การทำผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ได้เป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวาง ในยุคนั้นผลิตภัณฑ์ที่มีออกมาจะมีลักษณะที่มีขนาดเล็ก คล้ายกับ ขนมปังโรลในปัจจุบัน คนโบราณส่วนมากนิยมใช้ขนมปังแบนๆที่ไม่มีการทิ้งไว้ให้ขึ้นฟูในโอกาสพิเศษ เช่น พิธีทางศาสนา และพวกชาวเขาฌูดีนซึ่งมีอาชีพเลี้ยงสัตว์ก็ยังนิยมใช้ขนมปังประเภทนี้อยู่ การเผยแพร่การทำขนมปังเกิดจากกลุ่มพ่อค้าชาวโฟนิเซียนที่เดินทางออกค้าขายมุ่งทางตะวันออกไปยังเปอร์เซียและไกลกว่านั้น และอยู่เหมือนว่าชาวกรีกยุคแรกได้เรียนรู้การทำขนมปังที่ขึ้นฟูจากกลุ่มพ่อค้านี้ ในศตวรรตต่อมา กลุ่มก้าวหน้ากรีก วิวัฒนาการในศิลปการทำขนมปังก้าวหน้าไปมาก โดยได้ประดิษฐ์หินโม่แป้งจากข้าวสาลี และผลิตออกมาถึงสี่ชนิด ซึ่งแป้งขาว ( White flour ) เป็นชนิดหนึ่งที่สามารถผลิตได้ มีการดัดแปลงเตาอบขนมปังแบบโบราณมาเป็นการใช้อิฐก่อเป็นรูปโดม ซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่าเก่า ชาวกรีกนั้นนอกจากจะเป็นผู้ที่ผลิตภัณฑ์จากแป้งขาวได้ดีเยี่ยมแล้ว ยังผลิตเค้กและขนมอบนานาชนิด โดยการใช้ส่วนผสมของเหล้าไวท์ น้ำมัน เนยแข็ง และน้ำผึ้ง ตลอดสมัยกรีก โรม จนถึงยุโรปตอนกลาง ศิลปการทำขนมอบดำเนินไปอย่างเชื่องช้า แต่ได้ผลที่คงที่ ความก้าวหน้าอย่างมหาศาลทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีได้ทำให้เกิดวิวัฒนาการครั้งใหญ่ของผลิตภัณฑ์ขนมอบ พื้นฐานของการเปลี่ยนแปลงครั้งใหญ่นี้มีผลมาจาก กลางปี 1800 ได้มีการแนะนำเกี่ยวกับโรงโม่แป้งสาลีและได้มีแป้งสาลีคุณภาพดีออกสู่ตลาด และในตอนปลายศตวรรตได้มีการใช้ยีสต์ ซึ่งเป็นตัวที่มีบทบาทสำคัญในการทำให้ขนมขึ้นฟูและมีการใช้อย่างแพร่หลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในปัจจุบันการผลิตขนมอบถือเป็นศิลปแขนงหนึ่ง ซึ่งต้องอาศัยความชำนาญอย่างมาก ในกรณีที่มีการผลิตเป็นจำนวนมากเพื่อที่จะจำหน่าย ซึ่งจะมีปัญหาทางด้านของเครื่องมือเครื่องใช้ ทุกวันนี้ความเจริญก้าวหน้าของการทำขนมอบนั้นไม่ได้ขึ้นอยู่กับผู้ผลิตเพียงอย่างเดียวแต่ต้องอาศัยโรงโม่แป้งที่ต้องผลิตแป้งทีมีคุณภาพดีออกมา เครื่องมือที่ทันสมัยและมีประสิทธิภาพ เช่น เตาอบ เครื่องผสม เครื่องปั่น ผู้ค้นคว้าคุณสมบัติของก้อนแป้งที่มีส่วนช่วยให้เกิดการเจริญก้าวหน้าของขนมอบด้วย

## 1.1 อุตสาหกรรมขนมอบในสหรัฐอเมริกา

ชาวอาณานิคมเจมส์ทาวน์เป็นผู้นำผลิตภัณฑ์ขนมอบเข้าสู่สหรัฐอเมริกาในปี ค.ศ. 1604 ธุรกิจการค้าได้เริ่มขึ้น ได้มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยจากสมัยโรมัน จนกระทั่งยุคอุตสาหกรรมเฟื่องฟูในสหรัฐอเมริกา ในช่วงครึ่งหลังศตวรรตที่ 19 วิวัฒนาการใหม่ๆเกิดขึ้น ได้แก่ การสร้างตู้อบและเครื่องผสมแป้ง ผู้ทำขนมอบได้ทำขนมปัง เค้ก พาย คุกกี้ และเคร็กเกอร์ขึ้นมา ในระหว่างนั้นการค้าระหว่างรัฐเกิดได้เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ มีการส่งข้าวสาลีที่ดีไปฝั่งตะวันออก ยิ่งทำให้กิจการมีการแพร่หลายอย่างรวดเร็ว

## 1.2 อุตสากรรมขนมอบทางด้านตะวันออก

คนเอเชียที่อยู่ด้านตะวันออกมีการบริโภคข้าวเป็นหลัก ถ้าพูดถึงข้าวสาลีนั้นจะคิดถึงการทำอาหารประเภทเส้น เช่น บะหมี่ หรือเป็นการทำอาหารแบบตะวันตก เนื่องจากความคิดที่ว่าแป้งสาลีเป็นผลิตภัณฑ์ที่สิ้นเปลือง ไม่มีความจำเป็น จึงมีความต้องการที่ลดลง ดังนั้นประสิทธิภาพการผลิตด้านคุณภาพจึงล่าช้ามาก ผู้ที่ทำกิจการจะทำแค่พอจำหน่ายเท่านั้น ไม่ได้คิดที่จะปรับปรุงหรือพัฒนาให้ดีขึ้น ฉะนั้นจึงไม่แปลกถ้าจะพบว่าหลายๆร้านที่ยังคงผลิตด้วยเตาอบที่ทำจากอิฐอันล้าสมัย

หลังสงครามโลกครั้งที่ 2 ได้มีวิวัฒนาการทางด้านอุตสาหกรรมขนมอบอย่างใหญ่หลวง เนื่องจากมีการติดต่อกับต่างประเทศมากขึ้น จึงทำให้มีการเปลี่ยนแปลงนิสัยการบริโภคที่คล้อยตามชาวตะวันตกมากขึ้น จากการได้รับการช่วยเหลือในรูปแบบของการบริจาคข้าวสาลีเพื่อนำมาทำขนมอบต่างๆให้แก่แหล่งที่ยากจน ตามโรงเรียน ทำให้เด็กมีโอกาสเรียนรู้การบริโภคแบบชาวตะวันตกมากขึ้น ในระยะนั้นมีการส่งข้าวสาลีจากสหรัฐอเมริกา แคนาดา และออสเตรเลีย ไปยังประเทศต่างๆในเอเชีย ซึ่งทำให้มีโรงแป้งที่ทันสมัยเกิดขึ้น ต่อมาเมื่อประชากรประเทศต่างๆมีรายได้ที่เพิ่มมากขึ้น ทำให้คนมีอำนาจในการซื้อขายอาหารที่เพิ่มขึ้นจากอาหารพื้นบ้านธรรมดา

อุตสาหกรรมการท่องเที่ยวเป็นอีกรูปแบบของการทำให้ผลิตภัณฑ์ขนมอบแพร่หลาย โดยเฉพาะในโรงแรมที่มีการบริการอาหารเหล่านี้เพื่อเป็นการบริการนักท่องเที่ยวต่างชาติ ผู้ผลิตได้มีการเพิ่มผลผลิตและได้พัฒนารูปแบบให้มีความหลากหลายมากขึ้นตามความต้องการของตลาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยเหตุนี้จึงทำให้วิธีการผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ได้เปลี่ยนไปจากเดิมที่เป็นร้านเล็กๆ ทำด้วยมือ ทำจากสูตรที่คิดขึ้นเอง มาเป็นอุตสาหกรรมขนาดย่อม หรือร้านค้าเฉพาะ หรือส่วนหนึ่งในซุปเปอร์มาเก็ต เป็นอาหารว่างที่ขายตามธุรกิจการค้า มีการแข่งขันกันมากขึ้น ร้านค้าต่างๆก็ได้ปรับปรุงและคิดค้นเพื่อให้ ผลิตภัณฑ์เป็นที่นิยมแต่คงต้นทุนเดิมไว้ ได้มีการสัมมนา สาธิตการทำ และมีการแลกเปลี่ยนความคิดเห็น เทคนิคใหม่ๆระหว่างกันมากขึ้น

## 1.3 อุตสาหกรรมขนมอบในประเทศไทย

อุตสาหกรรมขนมอบในประเทศไทยไม่ปรากฏแน่ชัดว่าถือกำเนิดในสมัยใด แต่จากประมาณว่าเมื่อก่อนสงครามโลกครั้งที่ 2 ในกรุงเทพนั้นมีร้านเบเกอรี่เพียง 2-3 ร้าน ซึ่งส่วนใหญ่ผลิตเค้กและคุกกี้ออกขาย ในระยะเวลานั้นคนไทยส่วนมากยังไม่นิยมบริโภคขนมปังเหมือนในปัจจุบัน ส่วนใหญ่จะนิยมในโอกาสพิเศษ ต่อมาในสมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 ได้เกิดร้านเบเกอรี่ที่ผลิตขนมอบทุกชนิด เช่น ขนมเค้ก ขนมปัง แซนวิช เพสตรี และคุกกี้เพิ่มมากขึ้น และการที่คนไทยได้รับเอาอารยธรรมตะวันตกมามากขึ้น ทำให้มีนิสัยการบริโภคที่เปลี่ยนไป คนไทยได้เริ่มรู้จักการบริโภคขนมปังในรูปของแซนวิช และส่วนใหญ่มีการทาน้ำพริกเผา แต่ก็ยังคงบริโภคเป็นครั้งคราวและในโอกาสพิเศษเท่านั้น

เมื่อสมัยสงครามเวียดนาม ประเทศไทยเป็นประเทศที่เป็นที่พักอาศัยของทหารชาวอเมริกัน จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้อุตสาหกรรมเบเกอรี่ก้าวหน้าไปอย่างมาก มีการสั่งซื้อข้าวสาลีจากต่างประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา แคนาดา ออสเตรเลีย และมีผู้คิดตั้งโรงโม่ขึ้นเป็นแห่งแรก ทำการผลิตแป้งสาลีออกสู่ตลาดหลายชนิดด้วยกัน เพื่อให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ที่ทำ โรงโม่ได้มีการจัดให้ผู้ชำนาญด้านผลิตภัณฑ์เบเกอร์รี่ไปแนะนำและสาธิตการใช้แป้งสาลี ทำให้อุตสาหกรรมด้านนี้เป็นที่รู้จักกันอย่างมาก ประกอบกับที่มีความต้องการทางด้านนี้สูง เนื่องจากสาเหตุของสงครามดังกล่าวนี้จึงทำให้เกิดมีร้านเบเกอรี่ต่างๆเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก อุตสาหกรรมด้านนี้ได้มีการพัฒนาขึ้นเรื่อยๆ มีผู้สนใจและรู้จักการบริโภคอาหารจากแป้งสาลีเพิ่มมากขึ้น มีโรงโม่เพิ่มขึ้น มีโรงงานทั้งขนาดใหญ่ขนาดย่อม โรงงานผลิตขนมปัง และร้านค้าย่อย นับได้ว่าเป็นธุรกิจที่ใหญ่อย่างหนึ่งทีเดียว

## 1.4 เครื่องมือเครื่องใช้

ในโรงงานอุตสาหกรรมเบเกอรี่ที่มีการผลิตในปริมาณมาก และส่งขายในท้องตลาดทั่วๆไป เครื่องมือเครื่องใช้ส่วนใหญ่จะเป็นแบบระบบต่อเนื่อง โดยใช้แรงเครื่องจักรในการผลิตเป็นสำคัญ และใช้แรงงานคนช่วยบ้างในบางขั้นตอนของการผลิต สำหรับประเทศไทยหรือประเทศในแถบเอเชียนั้น ไม่ได้บริโภคผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ในแบบเดียวกันกับตะวันตก การทำอุตสาหกรรมเบเกอรี่เป็นโรงงานใหญ่ๆ ผลิตออกมาในปริมาณมากจึงไม่จำเป็นนัก อีกประการหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบริโภคผลิตภัณฑ์เหล่านี้มักบริโภคของสดที่เพิ่งอบออกมาจากตู้ใหม่ๆ ดังนั้น ในการผลิตเป็นจำนวนมากจะต้องคำนึงถึงเศรษฐกิจและการตลาดให้ดี เพื่อที่จะไม่ให้มีผลิตภัณฑ์เหลือตกค้างเนื่องจากการขายไม่ทัน ในบ้านเราเป็นโรงงานขนาดย่อม ใช้เครื่องทุ่นแรงที่ทันสมัยและให้ประโยชน์ในการใช้ได้หลากหลาย และผลิตเพื่อส่งขายในถิ่นที่อยู่หรือในท้องถิ่นใกล้เคียง

**เครื่องมือเครื่องใช้ในอุตสาหกรรมเบเกอร์รี่แบ่งเป็น 2 ประเภท**

**1.4.1 ประเภทที่ใช้มือ ( Handtools )** เครื่องมือนี้จำเป็นที่จะต้องมีใช้ในการทำเบเกอรี่ ไม่ว่าจะเป็นอุตสาหกรรมขนาดย่อมหรือขนาดเล็กก็ตาม เพราะผลิตภัณฑ์บางอย่างแม้ว่าจะใช้เครื่องจักรแล้วก็ยังต้องอาศัยเครื่องมือที่ใช้มือเข้าช่วยด้วย

1.4.1.1 พายยาง ใช้สำหรับการกวาดส่วนผสมที่มีอยู่ในชามผสม

1.4.1.2 มีดปาดหน้าเค้กขนาดต่าง ทำด้วยโลหะแบนปลายโค้งมนหรือปลายตัด ด้านเป็นไม้ ใช้สำหรับป้ายครีมที่ตัวเค้กและปาดให้เรียบเพื่อใช้ในขั้นตอนการตกแต่งต่อไป

1.4.1.3 มีด ใช้สำหรับตัด หั่นส่วนประกอบต่างๆในขั้นตอนการผลิต มีขนาดแตกต่างกันเพื่อความสะดวกในการใช้

1.4.1.4 เทอร์โมมิเตอร์ ใช้วัดอุณหภูมิก้อนโดหลังการผสม

1.4.1.5 เทอร์โมมิเตอร์ที่ใช้วัดอุณหภูมิของตู้อบ

1.4.1.6 ลูกกลิ้งสำหรับตัดแป้งเพสตรี

1.4.1.7 ลูกกลิ้งหยักสำหรับตัดริมขนมพาย

1.4.1.8 ลูกกลิ้งไม้ขนาดต่างๆ ใช้รีดคลึงโดให้เป็นแผ่นเรียบบาง

1.4.1.9 แปรงใช้สำหรับปัดแป้ง

1.4.1.10 แปรงสำหรับปัดแป้งออกจากเพสตรี

1.4.1.11 พายไม้สำหรับคนส่วนผสมที่มีความหนืดและใช้คนไส้ขนมที่มีการเคี่ยวบนเตา

1.4.1.12 ตะกร้อลวด ใช้สำหรับการตีไข่หรือส่วนผสมต่างๆให้เข้ากัน มีการต่างๆกัน

1.4.1.13 แผ่นโลหะหรือแผ่นพลาสติกใช้สำหรับตัดแบ่งก้อนดหรือใช้ขูดแป้งแข็งที่ติดกับโต๊ะ

1.4.1.14 พิมพ์ตัดคุกกี้

1.4.1.15 หัวบีบที่ใช้บีบหน้าเค้กให้เป็นลวดลายต่างๆ

1.4.1.16 พิมพ์ขนาดต่างๆสำหรับขนมเค้ก

1.4.1.17 แป้นหมุนสำหรับช่วยในการแต่งหน้าเค้ก

1.4.1.18 ตะแกรงลวดที่ใช้วางผลิตภัณฑ์ที่อบเสร็จจากตู้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**1.4.2 เครื่องมืออื่นๆ ( Equipments )** เครื่องมือประเภทนี้ส่วนใหญ่เป็นเครื่องใช้ไฟฟ้า ซึ่งแต่ละชนิดเป็นเครื่องมือที่มีความสำคัญกับการผลิตทั้งสิ้น

1.4.2.1 เครื่องชั่ง

1.4.2.2 เครื่องผสมแบบต่างๆ

1.4.2.3 ตู้หมักและพักก้อนโด

1.4.2.4 เครื่องแบ่งก้อนโด

1.4.2.5 เครื่องรีดม้วนก้อนโดให้เป็นรูป

1.4.2.6 ตู้อบ

1.4.2.7 เครื่องหั่นขนมปัง

แต่ในโรงงานขนาดเล็ก อาจมีการใช้แรงงานคนแทนเครื่องมือบางชนิด เช่น เครื่องตัดแบ่งก้อนโด เครื่องรีดม้วนก้อนโด

## 1.5 ความสำคัญของเครื่องมือ

### 1.5.1 เครื่องชั่ง

ในการผลิตผลิตภัณฑ์ในปริมาณน้อย นิยมใช้ถ้วยตวงและช้อนตวงที่เป็นมาตรฐานโดย ถ้วยตวงนั้นจะมี 4 ขนาด รวมเป็น 1 ชุด คือ ขนาด 1 ถ้วยตวง ½ ถ้วยตวง 1/3 ถ้วยตวง และ ¼ ถ้วยตวง มีทั้งที่ทำจากโลหะอลูมินั่มหรือเหล็กปลอดสนิมและทำจากพลาสติก ถ้วยตวงประเภทนี้ใช้ตวงพวกส่วนผสมที่เป็นของแห้ง เช่น แป้ง น้ำตาล นมผง เนย ส่วนถ้วยตวงที่ใช้สำหรับของเหลวจะเป็นแก้วหรือพลาสติกที่มีขีดบอกปริมาตรอยู่ด้านข้าง มีขนาดตั้งแต่ 1 จนถึง 6 ถ้วยตวง ใช้ตวงของเหลวจำพวก น้ำ นมสด ไข่ขาว และของเหลวอื่นๆ นอกจากนี้ยังมีช้อนตวงขนาด 1 ช้อนโต๊ะ 1 ช้อนชา ½ ช้อนชา และ ¼ ช้อนชา สำหรับถ้วยตวงและช้อนตวงนี้เหมาะสำหรับการผลิตในปริมาณน้อย แต่ถ้าผลิตในระดับอุตสาหกรรม จำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการปรับสูตรเป็นร้อยละ เพื่อความเหมาะสมในการผลิต ดังนั้น การชั่งตวงส่วนผสมจึงต้องใช้เครื่องชั่งที่มีการชั่งตวงที่ถูกต้อง เพราะจะมีผลถึงรูปลักษณ์ของผลิตภัณฑ์

### 1.5.2 เครื่องผสมแบบต่างๆ

การผสมเป็นการรวมเอาส่วนผสมต่างๆทั้งเปียกและแห้งให้เข้ากันอย่างทั่วถึงจนได้สารที่เป็นเนื้อเดียวกัน เช่น การผสมแป้งขนมปัง การผสมจะเป็นการช่วยทำให้โปรตีน รวมตัวกันน้ำเกิดเป็นกลูเต็น เป็นก้อนแป้งที่มีลักษณะเหนียว ยืดหยุ่น สามารถจับปั้นเป็นรูปได้ด้วยมือ ซึ่งเรียกว่า "โด" ( Dough ) การผสมจะทำให้เกิดการรวมตัวกันของน้ำกับสิ่งที่เป็นไขมัน และส่วนผสมอื่นๆ ของแป้งเค้ก ซึ่งมีลักษณะเป็นของไหล ข้น เทใส่ภาชนะได้ แต่ไม่สามารถจับปั้นเป็นรูปได้ ซึ่งเรียกว่า "แบตเตอร์" ( Batter ) เป็นการให้อากาศกันแป้งเค้ก ทำให้เกิดการขึ้นฟองจากการตีไข่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากเครื่องผสมเครื่องหนึ่งสามารถทำหน้าที่ได้หลายอย่าง และเพื่อให้การทำงานเหล่านี้เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ จึงได้มีการปรับปรุงการทำงานที่สำคัญของเครื่องให้ดีขึ้นและผลิตออกมาในรูปแบบที่หลากหลาย

1.5.2.1 เครื่องผสมแบบแนวตั้ง ( Vertical mixer )

แบบที่นิยมใช้กันมากในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากสามารถใช้งานได้หลายอย่าง ตั้งแต่ตีไข่จนกระทั่งการนวดแป้ง ด้วยเหตุนี้จึงเหมาะสมกับความต้องการของโรงงานทั้งขนาดย่อมและขนาดเล็ก

การผสมแบบแนวตั้ง คือ ตัวเครื่องจะประกอบด้วยแกนกลางที่มีเดือยสำหรับใส่เครื่องช่วยในการผสม ซึ่งมีอยู่ 3 ชนิด ชนิดที่หนึ่ง เป็นตะของอ ( Dough hook ) ใช้สำหรับนวดแป้งผสมให้แป้งเป็นก้อนโดในการทำขนมปัง โดยที่ตะขอนี้จะทำการม้วนพับ ดึงก้อนแป้งเพื่อให้เกิดเป็นกลูเต็นที่ดี ชนิดที่สองเป็นเหล็กที่มีลักษณะแบนเป็นรูปใบไม้ ( Paddle ) ใช้สำหรับการทำเค้กที่ต้องตีเนยกับน้ำตาลให้ขึ้นฟู และชนิดที่สามเป็นลวดตะกร้อ ใช้ในการตีไข่ให้เกิดฟอง

1.5.2.2 เครื่องผสมแบบแนวนอน ( Horizontal )

เป็นเครื่องที่ใช้ในการนวดแป้งผสมในการทำขนมปังอย่างเดียว ไม่สามารถตีเนยและไข่ได้ ใช้ในการทำผลิตภัณฑ์เป็นจำนวนมาก มีอัตราเร็วของเครื่องสูง ส่วนใหญ่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม

1.5.2.3 เครื่องผสมแบบสองแขน ( Double arm mixer )

ตัวเครื่องประกอบด้วย แขนเหล็ก 2 แขน ปลายงอ หมุนเข้าหากัน จะช่วยยืดดึงก้อนโดอย่างช้าๆ เมื่อเดินเครื่อง แขนทั้ง 2 จะหมุนมาสวนกันตรงกลางของอ่างผสม และดึงก้อนโดอย่างช้าๆ เครื่องแบบนี้เหมาะสำหรับการนวดแป้งชนิดต่างๆ โดยเฉพาะขนมปังหวานที่ใช้เวลาในการผสมนาน และผสมแป้งพัฟ เพสตรี และแป้งพาย

**1.5.3 ห้องหมักและพักก้อนโด ( Fermentor )**

สำหรับผลิตภัณฑ์ที่ใช้ยีสต์เป็นตัวช่วยทำให้ขึ้นฟู จำเป็นที่จะต้องทำการหมักไว้ในห้องหรือตู้ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิและความชื้นได้ดี เพื่อให้ยีสต์สามารถทำงานได้ดีในระหว่างที่ทำการหมัก แป้งเมื่อได้รับการผสมและนวดจนได้ที่แล้วจะต้องนำมาหมักทิ้งไว้ระยะเวลาหนึ่งเพื่อให้เกิดการขึ้นฟูของโดโดยเกิดจากการกระทำของยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**1.5.4 เครื่องตัดแบ่งก้อนโด ( Dough divider )**

หลังการหมักก้อนโดแล้ว จะทำการตัดแบ่งก้อนโดให้ได้ก้อนที่มีขนาดเท่าๆกัน สำหรับโรงงานขนาดเล็กอาจไม่จำเป็นที่ต้องมีเครื่องนี้ ใช้แรงงานที่เป็นผู้ชำนาญแล้ว

**1.5.5 เครื่องรีดม้วนโด( Moulder )**

ก้อนโดที่ตัดแบ่งแล้วจะถูกทิ้งไว้ 10-20 นาทีเพื่อให้ก้อนโดพักตัว แล้วนำเข้าเครื่องรีดม้วนให้เป็นรูปทรงกระบอกหรือรูปหมอน ให้มีขนาดความยาวของโดเท่ากับความยาวของพิมพ์ที่ใช้ วัตถุประสงค์ของการรีดโด เพื่อที่จะปั้นให้เป็นรูปตามต้องการ เครื่องรีดนั้นจะช่วยม้วนให้เป็นรูปร่างที่สม่ำเสมอเป็นแบบเดียวกัน ขั้นตอนของการรีดโด คือ การนำก้อนโดที่พักตัวแล้วป้อนลงไปในระหว่างลูกกลิ้ง 2 ตัว ลูกกลิ้งจะรีดให้เป็นแผ่นบางๆ และจะม้วนแผ่นโดให้เป็นรูปหมอนหรือทรงกระบอกออกมาสามารถจับใส่พิมพ์ได้โดยไม่ต้องม้วนด้วยมืออีก

บางโรงงานอาจมีเครื่องที่ใช้รีดแป้งให้บางเพียงอย่างเดียว แล้วมารีดด้วยลูกกลิ้งไม้แล้วพับม้วนเป็นรูปโดยผู้ที่มีความชำนาญแล้วจะสามารถทำได้รวดเร็วและเรียบร้อย

**1.5.6 ตู้อบ ( Oven )**

มีทั้งแบบที่ใช้ไฟฟ้า ก๊าซ น้ำมัน สำหรับตู้ที่มีการใช้น้ำมัน มักเป็นการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ โดยมีสายพานส่งผลิตภัณฑ์ที่เข้าอบไปตลอดทั้งตู้ มีเครื่องควบคุมอุณหภูมิและระยะเวลา สำหรับตู้อบที่ใช้ทั่วไปมีหลายแบบ แบบเป็นชั้น โดยบานตู้เปิดออกด้านหน้า ( Peel oven ) และแบบที่เป็นชั้นหมุนรอบตัว ( Rotary oven ) เนื่องจากผลิตภัณฑ์เบเกอรี่เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ จึงควรที่จะมีเทอร์โมมิเตอร์ที่ใช้สำหรับใช้ในตู้อบโดยเฉพาะวางไว้ เพื่อเป็นการตรวจสอบอุณหภูมิที่แน่นอนของตู้

**1.5.7 เครื่องหั่นขนมปัง ( Slicer )**

เป็นเครื่องที่ประกอบด้วยฟันเลื่อยหลายเส้นที่ทำหน้าที่ตัดขนมปังให้เป็นแผ่นที่มีความหนาเท่าๆกัน เครื่องหั่นขนมปังนี้เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับโรงงานที่มีผลิตขนมปังออกขายเพราะกันตัดขนมปังให้เรียบด้วยมือเป็นสิ่งที่ยากที่จะได้แผ่นเรียบและสม่ำเสมอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2. ส่วนผสมของขนมปัง

ประกอบด้วยแป้งสาลีโปรตีนสูง หรือที่เรียกทั่วไปว่า แป้งสาลีชนิดทำขนมปังผสมกับน้ำ ยีสต์ และเกลือ ทั้ง 4 อย่างนี้จัดเป็นส่วนผสมหลัก ซึ่งจำเป็นต้องมีในสูตรที่ทำขนมปังทั่วไป นอกจากนั้น อาจใส่สารอื่นเพื่อปรับปรุงคุณลักษณะของขนมปังให้แตกต่างกันออกไปตามความต้องการของผู้บริโภค ได้แก่ ไขมัน แป้งมอลต์ แป้งถั่วเหลือง ธัญชาติอื่นๆ อาหารยีสต์ สารที่ทำให้น้ำกับน้ำมันเข้ากันได้ ( Emulsifier ) น้ำนม และผลิตภัณฑ์จากน้ำนม ผลไม้และกลูเตน

### แป้งสาลี

ที่ใช้ทำขนมปังเป็นแป้งโม่จากข้าวสาลีธรรมดาชนิดแข็ง มีโปรตีนสูง (12 – 14%) ในบางประเทศอาจใช้แป้งโม่จากข้าวสาลีชนิดดูรัมโปรตีนสูง เพื่อทำเป็นขนมปังชนิดแบนแบบอาหรับ แต่โดยทั่วไปแล้ว แป้งที่ใช้จะมีสีขาวนวล มีความชื้นไม่เกิน 14% เป็นแป้งที่ดูดซึมน้ำได้มาก (60 – 65 %) มีเถ้า 0.40-0.50 % และโปรตีน 10-16 % มีลักษณะทางกายภาพที่เหมาะสม สามารถวัดได้จากเครื่องฟาริโนกราฟ และเอกซ์เทนซิกราฟ ส่วนปริมาณเอนไซม์ในแป้งวัดได้จากเครื่องอะมิโลกราฟ โดยรายละเอียดลักษณะคุณภาพแป้ง ที่เหมาะสมแตกต่างกันออกไป

หน้าที่ของแป้งสาลีในขนมปัง คือ เป็นโครงสร้างสำคัญ มีความยืดหยุ่นขณะผสม ขึ้นฟูขณะหมัก และแข็งตัวเป็นโครงร่างของขนมปังเนื้อนุ่ม เหนียวต่อการเคี้ยว เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค โดยลักษณะการเปลี่ยนแปลงเกิดจากองค์ประกอบทางเคมีในแป้งสาลี ที่สำคัญคือ สตาร์ชและกลูเตน รวมทั้ง องค์ประกอบอื่น เช่น น้ำตาล เพนโทแซน ไขมัน และอื่นๆ ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงเมื่อผสมแป้งกับน้ำ ยีสต์ และเกลือ เข้าด้วยกันจนเป็นโด

### น้ำ

เป็นส่วนผสมหลักที่สำคัญ ทำให้แป้งกลายเป็นโด และมีผลต่อลักษณะโดโดยตรง กล่าวคือโดจะมีความนุ่ม ยืดหยุ่น และไม่ติดมือ ถ้าน้ำที่ใช้เป็นน้ำกระด้างปานกลาง ซึ่งมีแร่ธาตุบางชนิดปนอยู่อย่างพอเหมาะ จะช่วยให้โดมีความแข็งแรงและยืดหยุ่นตัวดี ถ้าน้ำกระด้างมากหรือถาวร จะทำให้โดแข็งเกินไป ส่วนน้ำอ่อนก็มีผลให้โดนิ่มเกินไป อาจแฉะติดมือได้ง่าย ดังนั้น การตรวจสอบคุณภาพของน้ำก่อนนำไปใช้ทำขนมปังจึงเป็นสิ่งที่จำเป็น เพื่อการปรับปรุงแก้ไขสภาพน้ำให้เหมาะสม โดยการใช้เกลือและอาหารของยีสต์ ซึ่งประกอบด้วยสารประกอบแร่ธาตุชนิดต่างๆเข้าช่วย เช่น ถ้าน้ำอ่อนมากก็ควรเพิ่มเกลือและอาหารยีสต์ในสูตร แต่ถ้าน้ำกระด้างมากก็ลดเกลือ ลดอาหารยีสต์และเพิ่มปริมาณยีสต์ พร้อมทั้งใช้เวลาในการหมักให้นานขึ้น เป็นต้น โดยปริมาณน้ำที่เติมในสูตร จะอยู่ในช่วง 55-56% ขึ้นอยู่กับชนิดของขนมปัง

กล่าวได้ว่าน้ำมีผลที่สำคัญกับการทำขนมปังอย่างมาก เริ่มจากหน้าที่ละลายเกลือ ยีสต์ หรือส่วนผสมอื่น ให้สามารถผสมเข้าไปในเนื้อโดได้อย่างสม่ำเสมอ หลังจากการนวดแป้งกับน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จนกลายเป็นโด จะมีกลูเตนเกิดขึ้น ให้ความยืดหยุ่นดี มีอุณหภูมิของโดที่เหมาะสมต่อการเจริญของเอนไซม์ซึ่งทำงานได้เนื่องจากน้ำในส่วนผสม จนเกิดก๊าซ ทำให้โดพองฟูขึ้นขณะหมัก เมื่อนำเข้าอบ น้ำมีส่วนทำให้สตาร์ชเกิดเจลเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น กลูเตนขยายตัว และส่วนอื่นเปลี่ยนสภาพจากดิบเป็นสุกและคงรูปร่างของขนมปัง ส่วนน้ำที่ยังเหลืออยู่จะทำให้ขนมปังนุ่มเมื่อใช้มือกด และเนื้อขนมปังเหนียวเคี้ยวอร่อย จนในที่สุดมีผลต่อการเก็บรักษาขนมปัง กล่าวคือ ถ้าเก็บขนมปังในภาชนะบรรจุที่ไม่เหมาะสม ทำให้ขนมปังแห้ง มีน้ำระเหยออกมาจากภายในเนื้อขนม หรือขนมปังแฉะจนมีราขึ้นเพราะมีความชื้นในขนมมากเกินไปจนทำให้ขนมปังนั้นเป็นที่ไม่ยอมรับของผู้บริโภค

เกลือ

เกลือที่เติมลงไปเป็นส่วนผสมของขนมปังเพื่อวัตถุประสงค์ 3 ประการ ที่สำคัญคือ ทำให้ขนมปังมีกลิ่นรสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ประการที่สอง คือ ช่วยให้กลูเตนแข็งแรงและคงทน ทำให้โดไม่ชื้นแฉะ ประการที่สาม คือ มีส่วนที่ช่วยให้การทำงานของยีสต์ช้าลง มีการหมักนานขึ้น ทำให้ขนมปังขึ้นฟูสม่ำเสมอ และมีโครงสร้างดี ปริมาณเกลือที่ใส่อยู่ระหว่าง 1.75-2.2% ซึ่งเป็นเกลือป่นธรรมดาที่ใส่อาหาร ประกอบด้วยโซเดียมคลอไรด์ 99% โดยมีน้ำและซัลเฟตของธาตุอื่นปนอยู่ 1%

ยีสต์

เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว ที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Saccharomysis cerevisiae* หรือมีชื่อทั่วไปว่า ยีสต์สำหรับช่างทำขนมอบ( Bakers's yeast ) ซึ่งมีหน้าที่หลักในส่วนผสมขนมปัง 3 อย่าง คือ ช่วยให้เกิดก๊าซภายในโด ช่วยในการปรับสภาพโดให้เหมาะสม ช่วยส่งเสริมกลิ่นรสแก่ขนมปัง

ยีสต์ที่มีผสมอยู่ในโด จะเริ่มเติบโตเนื่องจากมีน้ำและอากาศจากการผสม มีน้ำตาลและสารอาหารอื่นๆจากโด ทำให้ยีสต์มีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น พร้อมกันนี้เอนไซม์ต่างๆในยีสต์ จะแปรสภาพสารอาหารโดยเฉพาะคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ น้ำตาลเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แอลกอฮอล์ และพลังงาน

$$\underset{\text{100 ส่วน ของน้ำตาลกลูโคส}}{C_6H_{12}O_6} \xrightarrow{\text{ยีสต์}} \underset{\text{48.9 ส่วน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์}}{2CO_2} + \underset{\text{51.1 ส่วน แอลกอฮอล์}}{2C_2H_5OH} + \text{27 แคลอรี}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยกระบวนการที่เกิดขึ้นนี้ จะอยู่ในสภาพที่ไม่มีอากาศ เรียกว่ากระบวนการหมัก ซึ่งเป็นผลให้ภายในโดมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้น ดันให้โดพองตัวขึ้นจากเดิมหลายเท่า ในขณะเดียวกันก็ปรับสภาพโดให้ยืดตัว มีก๊าซแทรกอยู่ พร้อมทั้งให้กลิ่นหมักของแอกอฮอล์ ร่วมกับกลิ่นอื่นๆ เมื่อนำโดเข้าเตาอบ ขณะที่ความร้อนยังไม่มีการแผ่กระจายเข้าสู่โดมากนัก ยีสต์จะยังคงทำงานเป็นเหตุให้โดขึ้นฟูในเตาอบอีกระยะหนึ่ง จนในที่สุด ความร้อนได้กระจายทั่วก้อนโด ทำให้ยีสต์ตายและขนมปังคงรูปร่างขึ้นฟู พร้อมกับมีกลิ่นหมัก กลิ่นยีสต์และสารอื่นๆ ที่เป็นกลิ่นเฉพาะของขนมปังที่ผู้บริโภคพอใจ

ยีสต์ที่ใช้มีอยู่ 2 ลักษณะ คือ สดและแห้ง ยีสต์สดเป็นยีสต์อัดสี่เหลี่ยมผืนผ้า ยังมีความชื้นอยู่มาก (70%) ต้องใช้ในปริมาณมาก ให้กลิ่นรสของขนมปังที่ดี ส่วนยีสต์แห้งจะเป็นยีสต์สายพันธุ์พิเศษ ทนความแห้งได้ดีกว่าชนิดอื่น ยีสต์แห้งนี้จะมีความชื้นต่ำมาก ( 7.5-9 % ) จึงสามารถเก็บไว้ได้นานกว่ายีสต์สด ทั้งการเก็บในสภาพเย็นและสภาพปกติ ใช้สะดวก โดยสามารถผสมลงไปในแป้งได้เลย และใช้ในปริมาณที่น้อยกว่ายีสต์สดมาก เนื่องจากอยู่ในสภาพที่แห้ง น้ำหนักเพียงเล็กน้อยก็มียีสต์มากเท่ากับยีสต์สดที่มีน้ำมาก จึงเป็นเหตุต้องใช้ยีสต์สดมากกว่า 3-4 เท่าของยีสต์แห้ง นอกจากนี้ปริมาณยีสต์ที่ใส่ในขนมแต่ละชนิดก็ยังไม่เท่ากันอีกด้วย เนื่องจากขั้นตอนการทำ โดยเฉพาะขั้นการหมักนั้น ใช้เวลาแตกต่างกัน ถ้าเป็นวิธีหมักนานก็ใช้ยีสต์ปริมาณน้อย แต่ถ้าหมักไม่นาน จะใช้ยีสต์มากกว่า ส่วนการทำงานของยีสต์ ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของโด ถ้าอุณหภูมิสูง (80° ฟ) จะทำให้ยีสต์ทำงานเร็วกว่าในสภาพที่โดมีอุณหภูมิต่ำ

**ส่วนผสมอื่นๆ**

ไขมันเป็นส่วนผสมที่นิยมใส่ จนดูเหมือนว่าเป็นส่วนผสมที่จำเป็น เนื่องจากไขมันช่วยในการหล่อลื่นกลูเตน ให้ยืดหยุ่นได้ดี เก็บก๊าซได้เหมาะสม ทำให้เนื้อขนมปังนุ่ม มีเซลล์บาง มีปริมาตรที่มากขึ้น และให้กลิ่นรสขนมปังที่ดี เช่นเดียวกันอิมัลซิไฟเออร์ที่ใส่ในขนมปังบางชนิด แป้งมอลต์ช่วยปรับสภาพเอนไซม์ในแป้งให้เหมาะสม แป้งถั่วเหลืองช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหาร อาหารยีสต์และน้ำตาล ช่วยให้การทำงานของยีสต์ดีขึ้น น้ำนมและผลิตภัณฑ์ช่วยเสริมคุณค่าทางอาหารและช่วยให้ขนมปังมีรสชาติดีขึ้น กลูเตนช่วยเสริมลักษณะของโดให้ดีขึ้น ส่วนธัญชาติและผลไม้ต่างๆ มีผลให้ขนมปังมีรสชาติและรูปร่างแปลกไปหลายๆแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3. กรรมวิธีการผลิต

ขั้นตอนในการทำขนมปังเป็นลำดับ 5 ขั้นตอน คือ

<u>ขั้นตอนที่ 1. การผสม</u> เป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญในการทำขนมปัง เพื่อจุดประสงค์ 2 ประการ คือ เพื่อทำการผสมส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันอย่างดีสม่ำเสมอทุกส่วน และช่วยให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและทางกายภาพ เกิดกลูเตนในโด ให้ความยืดหยุ่นเหมาะสมในการทำขนมปัง

ในการผสมนี้สามารถแบ่งการผสมเป็น 6 ขั้น คือ

1.1 ) การผสมให้เข้ากัน ( Pickup stage ) เป็นการเริ่มผสม จะเห็นว่าส่วนผสมแห้ง คือ แป้งจะเริ่มดูดซึมของเหลว คือ น้ำ เข้ามารวมเป็นก้อนโดที่ยังหยาบและไม่สม่ำเสมอ

1.2 ) การทำความสะอาดอ่าง ( Cleanup stage ) ส่วนผสมของโดเริ่มจับตัวกันมากขึ้น ทำให้อ่างที่ใช้สะอาดไม่มีโดติดอยู่อีกต่อไป

1.3 ) โดเริ่มลักษณะดี ( Development stage) เมื่อผสมนานขึ้นโดเริ่มมีความยืดหยุ่นสามารถดึงได้แต่ยังขาดง่ายอยู่ ผิวเรียบและเนียนขึ้น

1.4 ) ลักษณะโดเหมาะสม ( Final stage ) เป็นระยะที่โดได้รับการผสมถึงจุดที่เหมาะสมที่สุด มีความยืดหยุ่นดี สามารถดึงเป็นฟิล์มบางได้ แสงส่องผ่านได้ มีเนื้อเนียนเป็นมัน มีความนิ่มตัวดี ดังนั้นเมื่อผสมถึงจุดนี้ควรหยุดได้ เพราะได้ลักษณะโดที่สามารถอุ้มก๊าซได้ดีที่สุดแล้ว

1.5 ) โดเริ่มขาดง่าย ( Letdown stage ) ถ้าผสมโดต่อจากขั้นที่ 4 จะมีผลทำให้โครงร่างของโดเริ่มอ่อนแอ ขาดง่ายและมีลักษณะแฉะ เป็นโดไม่ดีอีกต่อไป

1.6 ) โดขาดง่ายและไหลได้ ( Breakdown stage ) เป็นขั้นที่โดขาดไม่มีชิ้นดี จนสามารถไหลได้ แฉะมาก ไม่สามารถนำไปทำเป็นขนมปังได้

<u>ขั้นตอนที่ 2. การหมัก</u> เมื่อผสมส่วนต่างๆจนเป็นโดที่ดีแล้ว จึงมาหมักไว้ระยะหนึ่งเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมี โดยเอนไซม์และยีสต์ ทำให้โดมีสภาพขึ้นฟู จากการเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายในโด การเปลี่ยนแปลงที่สำคัญ เกิดจากเอนไซม์ย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต คือ แอลฟา-และบีตา-อะมิเลส รวมทั้งเอนไซม์อื่น เช่น ไดเอสเทส มอลเทส อินเวอร์เทส ไซเมส ซึ่งเป็นเอนไซม์หลายชนิด ( ประมาณ 14 ชนิด ) ที่มีในยีสต์ ทำการย่อยสตาร์ช โดยเฉพาะสตาร์ชเสียหายจะย่อยได้มากและเร็วทำให้ได้น้ำตาลกลูโคส ซึ่งกลุ่มเอนไซม์ไซเมสในยีสต์ จะแปรสภาพเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ พร้อมกับกลิ่นแอลกอฮอล์ ทำให้สภาพโดเปลี่ยนไป มีความฟูตัวขึ้น ช่วยให้เก็บก๊าซไว้ได้ ดังนั้นจึงมีความสัมพันธ์กันระหว่างการเกิดก๊าซและการเก็บก๊าซของโด เพื่อให้ได้ขนมปังเนื้อนุ่ม เป็นรูพรุน ซึ่งสามารถควบคุมได้จากปริมาณเอนไซม์ หรือปฏิกิริยาการหมักต้องพอดี จึงจะได้ลักษณะโดหลังหมักที่ดี ซึ่งโดยทั่วไปในระหว่างการหมักถึงระยะหนึ่ง จะมีการนำโดมาไล่ลม ( Punching ) โดยการนวดให้โดยุบตัวลง ไล่ก๊าซออกจากโด ปรับสภาพอุณหภูมิใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดใหม่ นวดให้โดมีโครงสร้างที่แข็งแรงขึ้นอีกครั้ง เพิ่มอากาศเข้าไปในโด เพื่อให้ยีสต์ได้ใช้ในการเจริญเติบโต ช่วยให้โดมีความยืดหยุ่นในการอุ้มก๊าซได้ดีขึ้นเมื่อทำการหมักต่อไปอีก จะได้โดที่มีลักษณะที่ดี มีโครงร่างเป็นร่างแห ดึงยืดได้ ไม่แฉะ แสดงว่าหมักได้ที่แล้ว

สิ่งที่ควรคำนึงถึงในขั้นตอนการหมัก คือ ตู้หมัก หรือสภาพห้องหมัก เนื่องจากอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสม มีส่วนช่วยให้กระบวนการหมักดำเนินไปได้ด้วยดี ตามเวลาที่ต้องการ โดยอุณหภูมิของโดขณะหมัก ควรจะประมาณ 25-26 °ซ (77-79 °ฟ) และอุณหภูมิห้องควรจะเป็น 27-29 °ซ (80-85 °ฟ) และความชื้นสัมพัทธ์ที่ 75% ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไป จะทำให้เร่งการทำงานของเอนไซม์และยีสต์ ส่วนอุณหภูมิที่ต่ำเกินไปจะเกิดกระบวนการหมักที่ช้าไป นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงน้ำหนักโดที่หายไปขณะหมัก เนื่องจากขณะหมักเกิดการเปลี่ยนแปลงภายในโด มีการเปลี่ยนแปลงสภาพน้ำตาลของโด ให้กลายเป็นก๊าซและสารอื่นเกิดขึ้น รวมทั้งการระเหยน้ำออกจากโด เนื่องจากอุณหภูมิโดเพิ่ม อุณหภูมิห้องเพิ่ม จึงมีผลให้น้ำหนักลดลง ประมาณ 0.5-3% ขึ้นอยู่กับวิธีการทำ เวลาที่ใช้ในการหมัก ปริมาณยีสต์และเอนไซม์ที่มีในสูตร สภาพห้องหมักและอื่น แต่โดยทั่วไป น้ำหนักโดที่หายจะประมาณ 1% เท่านั้น

ขั้นตอนที่ 3. การปั้นแต่งโด ( Dough make-up ) เป็นขั้นตอนเตรียมโด หลังการหมักจนถึงการเข้าเตาอบ ประกอบด้วยการทำงานเป็นขั้นลำดับดังนี้

3.1) การตัดแบ่ง นำโดที่หมักดีแล้ว มาแบ่งตัดเป็นก้อน น้ำหนักเท่าๆกัน ตามต้องการ

3.2) การคลึงให้กลม นำก้อนโดที่ตัดแบ่งแล้วมาคลึงให้กลม เป็นการไล่อากาศและปั้นโดใหม่ ให้มีผิวหน้าที่เรียบตึง จะได้เก็บก๊าซอีกครั้ง

3.3) การพักโด เพื่อให้โดที่กลมนี้ได้พักตัว และเกิดการหมักอีกระยะหนึ่ง เนื่องจากในการตัดและคลึง มีผลให้ก๊าซออกจากโด โดหดตัวลง จึงต้องพักให้โดปรับสภาพโดอีกครั้ง และให้กระบวนการหมักเกิดขึ้นอีกประมาณ 2-20 นาที แล้วแต่ชนิดขนมปังที่ต้องการถ้าระยะพักตัวนาน จะนำโดเข้าพักไว้ในตู้พิเศษ ที่ควบคุมอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์เช่นเดียวกันตู้หมัก

3.4) การปั้นรูปร่าง เมื่อโดพักตัวดีแล้ว นำมาปั้นเป็นรูปร่างตามต้องการ โดยเริ่มจากการรีดให้เป็นแผ่นยาวเพื่อเป็นการไล่ลมด้วย ทำได้โดยใช้ไม้กลมรูปทรงกระบอก หรือเข้าเครื่องรีดจนได้ขนาดแผ่นที่ต้องการ ต่อมาจึงนำไปม้วนให้เป็นรูปร่าง

3.5) ใส่ลงพิมพ์ในม้วนโดมาใส่พิมพ์ทาด้วยไขมันบางๆ เพื่อไม่ให้ขนมติดพิมพ์

3.6) การพักโดครั้งสุดท้ายเนื่องจากการปั้นเป็นรูปร่างมีผลทำให้โดหดตัว และไม่มีอากาศอยู่ภายในอีกครั้ง จึงจำเป็นต้องพักโดเพื่อให้เกิดการหมัก และมีก๊าซเกิดขึ้นทำให้โดขึ้นฟูในพิมพ์เป็นครั้งสุดท้ายก่อนอบ ขั้นตอนนี้นับว่าสำคัญมากจึง ต้องมีการควบคุมอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์และเวลาให้เหมาะสม โดยมีอุณหภูมิอยู่ที่ 30-54 °ซ ( 90-130°ฟ ) ความชื้นสัมพัทธ์ 60-90% และเวลาประมาณ 55-65 นาที แต่ทั้งหมดขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและลักษณะของขนมปังด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่ 4 เป็นขั้นตอนสุดท้าย และเป็นขั้นตอนที่สำคัญที่สุดในการทำขนมปัง เนื่องจากเป็นการเปลี่ยนสภาพของโดที่ยังดิบให้สุกโดยความร้อน จนได้ขนมปังที่กินได้ในที่สุด ปัจจัยที่สำคัญในการอบ คือ การควบคุมอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และเวลาที่ให้ความร้อน เพราะมีผลต่อการสุกของขนมปัง โดยเฉพาะเนื้อในส่วนกลางของขนมปัง ควรจะสุกพอดีกับเปลือกนอกที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลสวย มีกลิ่นรสที่ดี ซึ่งทั่วไปแล้วเตาอบจะมีอุณหภูมิระหว่าง 191 –232 °ซ (375 –450 °ฟ) โดยอาจแบ่งอุณหภูมิของเตาเป็นช่วงๆ ขึ้นอยู่กับชนิดของเตาอบ ส่วนความชื้นสัมพัทธ์ อาจแตกต่างกันมากจากความชื้นต่ำจนถึงความชื้นสูง ด้วยจากพ่นไอน้ำเข้าไปในเตาเป็นช่วงๆ และเวลาที่ใช้ในการอบ อยู่ระหว่าง 18-35 นาที ซึ่งจะใช้เวลานานแค่ไหนขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและขนาดขนมปัง

ส่วนการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและทางเคมีเมื่ออยู่ในเตาอบนั้น จะเริ่มจากการแผ่ความร้อนภายในเตากระจายไปยังโด กระตุ้นให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีแรงดัน น้ำในโดกลายเป็นไอ และแอกอฮอล์มีการขยายตัว ช่วยกับดันปริมาตรของโดให้มีปริมาตรเพิ่มขึ้น ขณะเดียวกับความร้อนในช่วงแรกจะช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์และยีสต์ให้เกิดกระบวนการหมักเพิ่มขึ้น มีก๊าซและแอกอฮอล์เสริมในการขยายตัวของโด เมื่อความร้อนเพิ่มขึ้นสตาร์ชภายในโดจะเกิดการพองตัวและกลายเป็นเจล ในขณะขนมปังสุกนี้ องค์ประกอบของสตาร์ชเปลี่ยนแปลง โดยเฉพาะส่วนอะมิโลส จะเคลื่อนย้ายออกจากเม็ดสตาร์ช เมื่อทำให้ขนมปังเย็นและทิ้งไว้นาน อะมิโลสจะเปลี่ยนกลับ มีลักษณะขุ่นเป็นตะกอนขาวอีกครั้ง ซึ่งถือเป็นลักษณะที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับอย่างหนึ่ง

ในระหว่างที่สตาร์ชเกิดการเจลาติไนซ์ จะดึงน้ำจากโดมา ทำให้กลูเตนสูญเสียน้ำเปลี่ยนสภาพจากเดิมที่เคยยืดหยุ่น เป็นโครงสร้างเซลล์ที่มีรูพรุน ผนังเซลล์บางและมีใยเชื่อมกัน รูปรีบ้างกลมบ้าง กระจายทั่วก้อนขนมปัง ในขณะที่ยีสต์และเอนไซม์ค่อยๆตายไป เนื่องจากทนความร้อนที่เพิ่มมากขึ้นไม่ได้

ส่วนผิวนอกของขนมปัง ก็จะเริ่มเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาล ทั้ง 2 แบบ คือ การเกิดคาราเมลเนื่องจากความร้อนทำให้น้ำตาลที่ผิวโดเปลี่ยนสภาพให้สีน้ำตาล และการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด ( Maillard reaction ) จากน้ำตาลและกรดอะมิโน ให้สารสีน้ำตาลที่เรียกว่า มิลานอยดิน ( Melanoidin ) พร้อมกันนี้จะเกิดสารที่ให้กลิ่นรสแก่ขนมปัง และในที่สุดขนมปังก็สุกโดยมีน้ำหนักที่ลดลงจากเดิม 9-10% เนื่องจากการระเหยของน้ำและสารอื่นๆ

ขั้นตอนที่ 5. การทำให้เย็นและการบรรจุ เมื่อนำขนมปังออกจากเตาอบนั้นถือว่าเป็นขนมปังที่มีคุณภาพที่ดีที่สุด มีกลิ่นหอมและรสชาติดี เปลือกนอกกรอบแข็งสีน้ำตาล เนื้อในนุ่ม มีความเหนียวเมื่อเคี้ยว แต่เราจะได้บริโภคขนมปังในลักษณะนี้เมื่อเราทำเองเท่านั้น ในทางการค้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำเป็นต้องนำขนมปังมาทำให้เย็นสนิทเสียก่อนที่จะตัดเป็นชิ้น และบรรจุใส่ภาชนะที่ดหมาะสม นิยมใส่ในถุงพลาสติกหรือกระดาษไข

เมื่อนำขนมปังที่อบออกมาจากเตา จะมีอุณหภูมิ ภายในประมาณ 98°ซ ( 208 °ฟ ) และมีความชื้นประมาณ45% ส่วนด้านนอกที่เป็นเปลือกของขนมปังจะมีอุณหภูมิประมาณ150°ซ(302 °ฟ) และมีความชื้นประมาณ 43% ดังนั้นจึงควรลดอุณหภูมิของขนมปังลงให้ปกติโดยใช้ลมเป่า อัตรา 600 – 800 ฟุตต่อนาที ด้วยอุณหภูมิประมาณ 21°ซ ( 70 °ฟ ) และมีความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 80% เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับปริมาณและขนาดขนมปัง ในขณะที่ลมเย็นเป่าขนมปังนั้น ความร้อนและความชื้นภายในเนื้อขนมจะระเหยมายังผิวเปลือก ทำให้เปลือกที่เคยกรอบและแข็ง กลับนุ่มเหนียวคล้ายหนัง ถ้าทิ้งไว้นานเกินไปน้ำในขนมปังจะลดลงมาก และทำให้เนื้อขนมปังแข็งได้ แต่ถ้าใช้เวลาในการทำให้เย็นน้อยเกินไป ขนมปังยังไม่เย็น เมื่อนำมาตัดได้ชิ้นขนมปังที่เหนียวติดกัน ตัดยากไม่เป็นชิ้น เมื่อนำไปบรรจุในถุงพลาสติก จะเกิดเหงื่อในถุงและย้อนกลับเข้าสู่ขนมปัง ทำให้เกิดจุลินทรีย์ในขนมปังได้ง่าย ดังนั้นจึงควรระวังในการทำให้เย็น เพื่อให้ได้ขนมปังที่มีคุณภาพดีในการเก็บรักษาก่อนถึงผู้บริโภค

**เพสตรี**

คือ ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นแผ่น กรอบ เป็นเกล็ดหรือเป็นชั้น หรือขึ้นฟูเบาตัว มีหลายชนิด เช่น พาย ( Pie crust ) พัฟเพสตรี ( Puff pastry ) รวมทั้ง เอแคลร์ ( Éclair ) และครีมพัฟ ( Cream puff ) ซึ่งอาจบรรจุไส้ชนิดต่างๆ ตามความต้องการของผู้บริโภค

**เค้ก**

หมายถึงอาหารหวานที่มีลักษณะเนื้อนุ่ม ฟูตัวและมีรสหวาน ทำมาจากแป้งสาลีชนิดอ่อน น้ำตาล ไข่ น้ำนม ไขมัน ผงฟู เกลือ และกลิ่นรส โดยที่ส่วนผสมแต่ละชนิดควรมีคุณภาพดี ผสมด้วยวิธีที่ถูกต้องตามประเภทของเค้ก และมีปริมาณส่วนผสมที่สมดุล จึงจะได้เค้กที่มีคุณภาพดี

**บิสกิต แครกเกอร์ และคุกกี้**

บิสกิต เป็นผลิตภัณฑ์ขนมอบ ที่มีสูตรการทำมากมาย ตั้งแต่คล้ายขนมปังมีลักษณะโดแข็ง (Hard dough ) ไปจนถึงคล้ายเค้กลักษณะโดนิ่ม ( Soft dough ) แต่ในสูตรจะมีส่วนผสมของน้ำหรือของเหลวน้อยกว่าทั้งขนมปัง และเค้ก ผลิตภัณฑ์มีลักษณะแข็งและกรอบเป็นส่วนใหญ่ แต่บิสกิตบางชนิดมีลักษณะคล้ายขนมปังมาก มีความเหนียวหยุ่นตัวและพองฟู ซึ่งชาวยุโรปนิยมบริโภคเป็นอาหารเช้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แครกเกอร์ เป็นบิสกิต ที่มีสูตรคล้ายขนมปัง โดยมียีสต์ในส่วนผสมพร้อมกับโซดาหรือผงฟู มีน้ำน้อยจึงมีลักษณะโดแข็ง ผลิตภัณฑ์ที่ได้กรอบแข็งเป็นชั้นๆ ส่วนคุกกี้จะมีสูตรคล้ายเค้กที่มีน้ำน้อย ลักษณะโดจึงนิ่ม เนื้อขนมกรอบและร่วน

**โดนัท ( Doughnut )**

มีรูปร่างเป็นวงแหวน ผิวนอกจะมีสีน้ำตาลทองหลังจากที่ทอดแล้ว ส่วนถัดไป คือ เปลือกนอกมีขอบแข็ง ส่วนเนื้อในสีนวลหรือเหลืองอ่อน ถ้าเป็นโดนัทเค้กจะมีเนื้อในนุ่ม แต่ถ้าเป็นโดนัทยีสต์จะมีเนื้อเหนียวคล้ายขนมปัง

## 4. การเสื่อมคุณภาพของขนมปัง

ขนมปังที่ออกมาจากเตาใหม่ๆ เป็นขนมปังที่มีคุณภาพที่ดีที่สุด โดยจะมีลักษณะภายนอกที่ดี มีเปลือกนอกแข็งกรอบ สีน้ำตาล เนื้อในนุ่มสีขาว เหนียวเป็นใย เซลล์รูปรี มีกลิ่นรสดี เมื่อเคี้ยวจะเหนียวเล็กน้อย รสชาติอร่อย แต่พอทิ้งขนมปังนี้ไว้ให้เย็น แล้วใส่ภาชนะบรรจุที่เป็นถุงพลาสติกธรรมดาหรือทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องนานขึ้น จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของขนมปังทั้งภายนอกและภายใน โดยเปลือกนอกจะไม่กรอบ แต่เหนียวคล้ายหนัง เนื่องจากความชื้นจากการระเหยมายังเปลือก ส่วนเนื้อขนมปังมีลักษณะร่วน สีขาวขุ่น ทั้งนี้เชื่อว่าเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของสตาร์ชในส่วนของอะมิโลสที่แยกตัวออกจากเม็ดสตาร์ช และเกิดเป็นตะกอนสีขาวขุ่นเมื่อเย็นตัวลง กลูเตนสูญเสียน้ำมีผลทำให้โครงสร้างแข็งตัวขึ้น สีขุ่น มีผลให้เนื้อขนมปังมีลักษณะร่วน ไม่นุ่ม เคี้ยวแล้วไม่เหนียวเหมือนเดิม จึงไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคอีกต่อไป โดยทั่วไปขนมปังจะมีคุณภาพหลังจากการเก็บในสภาพปกติ 2-5 วัน แต่ถ้ามีการควบคุมสภาพการเก็บ ก็จะสามารถเก็บรักษาคุณภาพของขนมปังได้นานขึ้น

## 5. การเสื่อมเสียของขนมปัง

นอกจากการเสื่อมคุณภาพ เพราะการเปลี่ยนแปลงภายในของขนมปัง ยังอาจเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ที่หลงเหลืออยู่ หรือติดมาในระหว่างขั้นตอนการผลิต เพราะการรักษาความสะอาดของอุปกรณ์และสถานที่ทำงานไม่ดีพอ มีเชื้อรา แบคทีเรีย ปนลงไปในขนมปังก่อนการบรรจุ จากสภาพความชื้นและอาหารที่อุดมสมบูรณ์ของขนมปัง ทำให้เชื้อรา และแบคทีเรียเจริญเติบโตบนขนมปัง มีผลให้กลิ่นรส สีเนื้อขนมปัง สีเปลือก และรสชาติของขนมปังเสียไป นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียบางชนิด ยังมีผลเสียต่อสุขภาพร่างกายของผู้บริโภคอีกด้วย เช่น *Bacillus subtilis* var *mesentericus* และ *B.licheniformis* เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 6. การป้องกันการเสื่อมเสียและการเก็บรักษาขนมปัง

ขนมปังจะเริ่มเสื่อมคุณภาพและเสื่อมเสียภายใน 2-5 วัน แล้วแต่ชนิดและสภาพการเก็บรักษาของขนม ถ้าต้องการให้ขนมปังคงคุณภาพเดิมอยู่ได้นาน จะต้องปรับปรุงสภาพการเก็บ ใช้ภาชนะบรรจุพิเศษ และเติมสารเคมีเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อราและแบคทีเรีย

การปรับปรุงสภาพการเก็บ เกี่ยวข้องกับอุณหภูมิและความชื้นในการเก็บรักษาขนมปังที่บรรจุอยู่ในถุงพลาสติกธรรมดา วิธีที่เก็บได้นานที่สุด คือ การทำให้เย็นเยือกแข็ง( Freezing ) ที่อุณหภูมิ –20 $^{\circ}$ซ (-4 $^{\circ}$ฟ) ขนมปังจะคงความสดอยู่ได้นาน จนกว่าจะนำมาบริโภคจึงลดอุณหภูมิให้เท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วนำเข้าอบใหม่อีกครั้ง โดยใช้เวลาอบเพียงเล็กน้อย ก็จะได้ขนมปังที่มีลักษณะใหม่สดได้เหมือนเดิม หรือเก็บขนมปังไว้ที่อุณหภูมิมากกว่า 55$^{\circ}$ ซ ก็สามารถป้องกันการเสื่อมคุณภาพได้ แต่อาจมีปัญหาเรื่องการเสื่อมเสียจากความชื้นและเชื้อรา จึงสู้วิธีเก็บด้วยความเย็นไม่ได้ นอกจากนี้ อาจใช้ภาชนะบรรจุแบบพิเศษ ที่ทำจากพลาสติกไนลอน-พอลิพรอไพลีน ( Nylon-polyprolyne ) และภายในถุงอัดด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แล้วนำมาฆ่าเชื้อด้วยรังสีอินฟลาเรด จะทำให้ขนมปังนี้เก็บไว้ได้นานถึง 90 วัน เป็นอย่างน้อย

เติมสารเคมี เช่น กรดพรอพิโอนิก (Propionic acid ) หรือเกลือของกรดนี้ กรดแอซิติก และกรดซอร์บิก ในปริมาณที่เหมาะสม ซึ่งกฎหมายอาหารแต่ละประเทศยินยอมให้ใช้ได้ จะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและแบคทีเรีย เนื่องจากสารเคมีเหล่านี้ จะปรับสภาพขนมปังให้เป็นกรด ซึ่งไม่เหมาะสมกับสภาพการเจริญของจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2
# เชื้อที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ

จากหนังสือจุลินทรีย์กับการควบคุมสุขลักษณะการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร เล่มที่ 1 ได้กล่าวไว้ว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร ไม่ว่าจะเป็นเชื้อแบคทีเรีย เชื้อยีสต์ หรือเชื้อรา มักจะปนเปื้อนอยู่ทั่วไปทั้งในวัตถุดิบและในสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิต ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคเหล่านี้ คือ เมื่อเชื้อเจริญเติบโตก็ไม่ทำให้อาหารแปรสภาพ กล่าวคือ กลิ่นหรือรสชาติไม่เปลี่ยนแปลง ทำให้ผู้บริโภคไม่เห็นความผิดปกติได้ การติดเชื้อจากอาหารที่มาจากเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคปนเปื้อนลงไปในอาหาร แล้วมีการเจริญเติบโต และยิ่งไปกว่านั้นเชื้อเหล่านี้ยังสามารถเจริญเติบโตในร่างกายผู้บริโภคอีกทำให้ผู้บริโภคป่วยและเกิดอาการของโรคติดเชื้อ

การบริโภคสารพิษมีสาเหตุมาจากการที่เชื้อแบคทีเรียก่อให้เกิดโรคปนเปื้อนลงไปในอาหาร แล้วเจริญเติบโตและสร้างสารพิษในผลิตภัณฑ์อาหารเมื่อบริโภคอาหารที่มีสารพิษปนเปื้อนอยู่ก็จะทำให้ผู้บริโภคป่วยเนื่องจากสารพิษในอาหารนั้นๆ

สำหรับการบูดเน่า หรือการเปลี่ยนสภาพของอาหารนั้นมักจะเกิดจากการปนเปื้อนในขั้นปฐมภูมิ เช่น การปนเปื้อนในวัตถุดิบ และการปนเปื้อนในขั้นทุติยภูมิ หรือปนเปื้อนภายหลัง เช่น การปนเปื้อนในขั้นตอนการผลิต การแปรรูป การจัดเก็บ การขนส่ง การจำหน่าย เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนส่วนใหญ่ เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อม ( เช่น สารอาหาร น้ำ อุณหภูมิ และความเป็นกรด-ด่าง ) ที่เหมาะสม ก็จะเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ทำให้อาหารบูดเน่าหรือเปลี่ยนสภาพไปไม่สามารถบริโภคได้ ทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ และทำให้ผู้ผลิตเสียชื่อเสียง ยิ่งไปกว่านั้น ผู้บริโภคสูญเสียความเชื่อมั่นในคุณภาพได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
96952

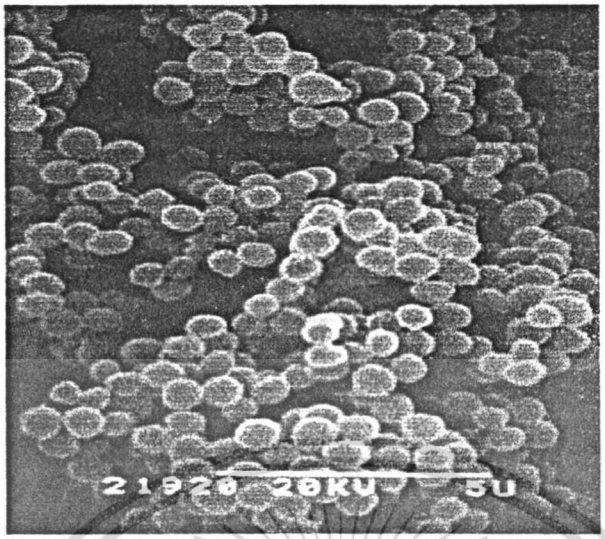
**ตารางที่ 1 รายชื่อเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ**

**อ้างอิงจาก : ฟุจิโอะ อิโนะอุเอะ , 2546**

| | |
|---|---|
| เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดปัน โรคอาหารเพิษตามที่กฎหมายระบุ | *Salmonella* spp.<br>*Vibrio parahaemolyticus*<br>*Staphylococcus aureus*<br>*Escherichai coli* ที่ก่อให้เกิดโรค<br>*Clostridium botulinum*<br>*Clostridium perfringens*<br>*Bacillus cereus*<br>*Campylobacter jejuni*<br>*Campylobacter coli*<br>*Yersinia enterolitica*<br>*Aeromonas hydrophila*<br>*Aeromonas sobria*<br>*Plesiomonas shigelloides*<br>*Vibrio cholerae* non-O1<br>*Vibrio mimicus*<br>*Vibrio fluvialis* |
| เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค ที่กฎหมายไม่ได้ระบุ | *Listeria monocytogenes*<br>*Yersinia psudotuberculosis*<br>*Vibrio vulnficus*<br>*Clostridium difficile* |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.1 *Staphylococcus aureus*




**ภาพที่ 1** ลักษณะของเชื้อ *Stahaylococcus aureus*

( อ้างอิงจาก : http:// techno.msu.ac.th/fn/ecenter/pathogens/staphylococcus_aureus.htm )

*S. aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกทรงกลม ( Gram positive cocci ) อยู่ในตระกูลไมโครค็อกคาซี ( Micrococcaceae ) จีนัส Staphylococcus ( อ้างอิงจาก ภาพที่ 1 ) ซึ่งมีลักษณะ ดังนี้

1. เซลล์เป็นทรงกลมมักเรียงเป็นกลุ่ม 4 เซลล์ หรือ 8 เซลล์
2. ไม่ทนรังสีแกมมาหรือรังสีอัลตราไวโอเลต
3. ไม่เคลื่อนที่ คาตาเลสให้ผลบวก แฟคัลเตติฟแอนแอโรบ มีทั้งออกซิเดติฟและเฟอร์เมนเตติฟเมแทบอลิซึม
4. เป็นปรสิตที่ผิวหนัง เยื่อเมือก สัตว์เลือดอุ่น

เชื้อชนิดนี้ เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็นแบคทีเรียรูปร่างกลม มักพบเป็นคู่เกาะกันด้วยสายสั้นๆ เป็นกิ่งหรือเป็นลักษณะพวงองุ่น เป็นแบคทีเรียแกรมบวกบางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษที่เป็นโปรตีนซึ่งทนต่อความร้อนได้ดีและเป็นสาเหตุให้เกิดอาการเจ็บป่วยในมนุษย์ ซึ่งโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* นั้นมีชื่อเรียกคือ Stapyhloenterotoxicosis , Staphylorenterotoxemia เหล่านี้เป็นชื่อของโรคที่เกิดจากเชื้อ *Staphylococcus aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สาเหตุที่ทำให้เกิดโรค

เชื้อ *Staphylococcus aureus* จะมีชีวิตอยู่ในอากาศ ฝุ่นละออง ขยะมูลฝอย น้ำ อาหารและนม หรืออาหารบรรจุเสร็จ สภาวะแวดล้อมภายนอกมนุษย์และสัตว์ ซึ่งมนุษย์และสัตว์นั้นเป็นแหล่งปฐมภูมิของเชื้อชนิดนี้โดยจะพบอยู่ตามทางเดินหายใจ ลำคอ หรือ เส้นผมและผิวหนังถึง 50% หรือมากกว่านี้ในคนที่มีสุขภาพดี และอาจพบเชื้อชนิดนี้ 60-80 %ในผู้ที่สัมผัสโดยตรงกับผู้ป่วยหรือผู้ที่สัมผัสกับสภาพแวดล้อมในโรงพยาบาล ตลอดจนผู้ประกอบอาหาร รวมทั้งในขั้นตอนของการบรรจุและสภาพแวดล้อมภายนอกนั้นก็เป็นสาเหตุส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการปนเปื้อน สิ่งที่ต้องคำนึงถึงอีกอย่างหนึ่งก็คือการเก็บอาหารไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมเป็นผลให้อาหารที่มีการปนเปื้อนอยู่แล้วมีการเพิ่มจำนวนของเชื้อและสร้างสารพิษอย่างรวดเร็ว

## อาการของโรค

ลักษณะอาการที่บ่งบอกว่าติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* นั้นจะแสดงให้เห็นอย่างรวดเร็วและรุนแรงในหลายๆกรณี โดยทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานสารพิษของร่างกาย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในอาหารและปริมาณสารพิษที่สร้างขึ้นในอาหาร รวมทั้งสภาพร่างกายโดยทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อด้วย อาการทั่วไปที่พบคือผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้องและอ่อนเพลีย ในผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการอื่นแทรกซ้อน หลายรายจะมีอาการปวดหัวเป็นตะคริวที่กล้ามเนื้อ และมีการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเป็นระยะ ๆ รวมทั้งอาจมีการเต้นของชีพจรผิดปกติซึ่งโดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นภายใน 2-3 วัน

ปริมาณการติดเชื้อ : สามารถเกิดอาการได้เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษน้อยกว่า 1 ไมโครกรัมที่ปนเปื้อนในอาหาร ซึ่งสารพิษชนิดนี้จะมีปริมาณสูงมากเมื่อมีเชื้อถึง 100,000 ต่อกรัม อาหารการวินิจฉัยอาการป่วยในคนและวิธีการตรวจเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ได้ผลดีนั้นนิยมใช้วิธี ทางเซรุ่มวิทยา (serology)

การตรวจสอบอาหาร : อาหารโดยทั่วไปควรมีการตรวจสอบหาความเป็นพิษจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* อยู่เป็นประจำ เช่น เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ เนื้อสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์จากไข่ อาหารประเภทสลัดเช่น ไข่ ทูน่า เนื้อไก่ มันฝรั่ง และมักกะโรนี ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ครีมพาย เอแคลร์ ชอกโกแลต แซนวิช และผลิตภัณฑ์นม สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงในระหว่างการเตรียมอาหารนั้นก็คือ การเก็บอาหารที่เตรียมเสร็จแล้วไว้ในที่ที่มีอุณหภูมิสูงเป็นสาเหตุให้มีการเพิ่มจำนวนเชื้ออย่างรวดเร็วซึ่งกรณีดังกล่าวเป็นกรณีที่พบได้บ่อยในการเกิดอาหารเป็นพิษจากเชื้อ

***Staphylococcus aureus***

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

19772

ในการตรวจหาปริมาณของสารพิษที่สร้างจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* เพื่อพิสูจน์ความเป็นพิษของอาหารนั้นจะมีการแยกสารพิษจากส่วนประกอบของอาหารและพิจารณาที่ความเข้มข้นของสารพิษด้วย และต่อมาจะทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีที่มีความจำเพาะสูงขึ้นนั่นก็คือการตกตะกอนด้วยแอนติซีรัมหรือสารต้านสารพิษ (antienterotoxin) โดยมีหลักการ 2 หลักการที่นำมาใช้คือ

1.) การดูดซับของสารพิษที่สกัดได้จากอาหารบนแผ่น ion exchange resin และ

2.) ใช้หลักการทางเคมีและกายภาพแยกสกัดสารพิษออกจากอาหารให้ได้สารพิษอยู่ในสารละลายที่ใช้สกัด การใช้เทคนิคนี้และการดูความเข้มข้นของสารพิษที่ผลิตขึ้นมา (มากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้) มีความเป็นไปได้ที่จะใช้ตรวจสอบสารพิษที่มีปริมาณน้อยๆในอาหาร

เมื่อไม่นานมานี้ได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจสอบให้รวดเร็วยิ่งขึ้นโดยอาศัยหลักการของ monoclonal antibodies เพื่อใช้ในการประเมินประสิทธิภาพในการตรวจสอบความเป็นพิษในอาหาร ซึ่งเป็นวิธีที่รวดเร็วสามารถตรวจสอบความเป็นพิษได้แม้ในปริมาณของสารพิษเพียง 1 นาโนกรัม/ อาหาร 1 กรัม

ความถี่ในการเกิดโรค : ไม่มีใครสามารถบอกจำนวนการเกิดโรคที่แท้จริงได้จากการไม่ให้ความร่วมมือในการสัมภาษณ์ของตัวผู้ป่วยและการวินิจฉัยโรคที่ผิดพลาดเนื่องจากอาการที่ผู้ป่วยแสดงออกมีความคล้ายคลึงกับอาการของโรคอาหารเป็นพิษอื่นๆ (เช่นอาการอาเจียนคล้ายกับการได้รับสารพิษในอาหารที่สร้างจากเชื้อ *Bacillus cereus*) และปัญหาในการวินิจฉัยโรคอื่นๆคือการมีตัวอย่างที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการน้อยเกินไป และวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ไม่ถูกต้อง

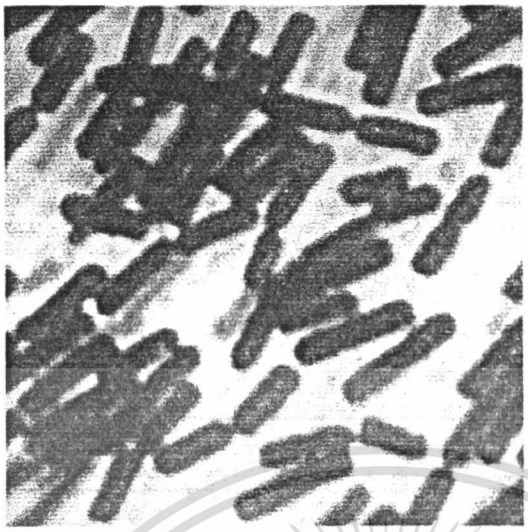
โรคแทรกซ้อน : พบว่าผู้ป่วยที่เสียชีวิตด้วยโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* นั้นมีน้อยมากรวมทั้งกรณีที่เกิดขึ้นกับผู้ป่วยสูงอายุ เด็กแรกเกิด และผู้ป่วยโรคเบาหวานขั้นรุนแรง

<u>การป้องกัน</u>

1. อบรมให้ผู้ประกอบอาหารมีความรู้และเห็นถึงความสำคัญของการรักษา ความสะอาดในขณะปรุงอาหารเพื่อเป็นการลดโอกาสการปนเปื้อน
2. รับประทานอาหารที่ปรุงสุกใหม่ๆ
3. นำอาหารที่ปรุงสำเร็จแล้วไปเก็บที่อุณหภูมิต่ำเพียงพออย่างรวดเร็วเพื่อป้องกัน การเจริญของเชื้อหากยังไม่รับประทานในทันที
4. อุ่นอาหารให้ร้อนก่อนรับประทานทุกครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

## 2.2 *Bacillus cereus* and other *Bacillus spp.*



**ภาพที่ 2 :** ลักษณะของเชื้อ *Bacillus* spp.

( ที่มา : http://techno.msu.ac.th/fn/ecenter/pathogens/bacillus_cereus.htm )

*Bacillus cereus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก สามารถสร้างสปอร์ได้ทั้งในที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนเซลล์ของมันเป็นแท่งขนาดใหญ่ และ sporangium ในสปอร์ของมันจะไม่บวม ( อ้างอิงจากภาพที่ 2 ) ลักษณะพิเศษเหล่านี้และอื่น ๆรวมถึงลักษณะสำคัญทางชีวเคมี ซึ่งใช้บอกความแตกต่างและยืนยันลักษณะเฉพาะของ *B. cereus* แม้ว่าลักษณะลักษณะพิเศษนี้จะมีอยู่ใน B. *cereus* var. *mycoides* , *B. thuringiensis* และ *B. anthracis*

การแยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตชนิดนี้อาศัยการวิเคราะห์การเคลื่อนไหว (*B. cereus* ส่วนใหญ่จะเคลื่อนไหวได้) การมี toxin crystals ของ *B. thuringiensis* การกระตุ้นการแตกของเม็ดเลือดซึ่งใน *B. cereus* และตัวอื่น ๆจะเป็นเบตาฮีโมลีติก ส่วน *B. anthracis* ปกติแล้วจะไม่ทำให้เม็ดเลือดแตก และการงอกของไรซอยด์เป็นลักษณะพิเศษของ *B.cereus* var. *mycoides*

<u>สาเหตุที่ทำให้เกิดโรค</u>

การวินิจฉัยโรคของมนุษย์ : มีการยืนยันว่า *B. cereus* เป็นตัว etiologic ใน foodborne การระบาดของโรคต้องมีการตรวจสอบ

(1) การแยกเชื้อสายพันธุ์ที่เป็น serotype เหมือนกัน จากอาหารที่สงสัย รวมถึงอุจจาระและอาเจียนของผู้ป่วย

(2) การแยก *B. cereus* จำนวนมากที่ทราบว่าเป็น serotype ซึ่งทำให้เกิด foodborne illness จากอาหารที่สงสัย รวมถึงอุจจาระและอาเจียนของผู้ป่วย หรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(3) การแยก *B. cereus* จากอาหารที่สงสัยและวิเคราะห์ enterotoxigenicity ของเชื้อ โดยการทดสอบทาง serological (พิษที่ทำให้ท้องร่วง) หรือทางชีวเคมี (ท้องร่วงหรืออาเจียน) โรคที่มีการอาเจียนจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วซึ่งเกิดขึ้นเมื่อทานอาหารบางชนิด ซึ่งบ่อยครั้งก็พอเพียงที่จะวินิจฉัยโรคว่าเป็นชนิดของอาหารเป็นพิษ อาหารที่เป็นตัวกลาง : เป็นอาหารที่มีอย่างกว้างขวางและหลายชนิด รวมถึงพวกเนื้อสัตว์ นม ผัก และปลา ก็มีส่วนที่ทำให้ท้องร่วงจากอาหารเป็นพิษได้การระบาดของอาหารที่ทำให้เกิดโรคโดยทั่วไปจะเกิดจากผลิตภัณฑ์จากข้าว

อย่างไรก็ตาม อาหารจำพวกแป้งอื่น ๆ เช่น มันฝรั่ง พาสต้า และผลิตภัณฑ์เนยแข็งก็มีส่วนเกี่ยวข้อง อาหารปรุงแต่ง เช่น ซอส พุดดิ้ง ซุป ลูกชิ้น พาย และสลัด ซึ่งบ่อยครั้งก็มีส่วนเกี่ยวข้องที่ทำให้เกิดการระบาดของอาหารเป็นพิษ

<u>อาการของโรค</u>

อาการ ที่เกิดจาก *B. cereus* คือท้องร่วงที่เกิดจากอาหารเป็นพิษซึ่งจะเหมือนกับอาการท้องร่วงที่เกิดจากการได้รับเชื้อ *Clostridium perfringens* เมื่อถ่ายอุจจาระเป็นน้ำมีอาการปวดและเกร็งที่ช่องท้อง ประมาณ 6 - 15 ชั่วโมง หลังจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อน มีอาการคลื่นไส้พร้อม ๆ กับปวดท้อง แต่อาการอาเจียนเกิดขึ้นไม่บ่อย

อาการของโรคจะยังคงอยู่นานที่สุด 24 ชั่วโมงอาหารเป็นพิษชนิดที่ทำให้เกิดอาการอาเจียนจะมีลักษณะเฉพาะคือมีอาการคลื่นไส้และอาเจียน ในเวลา 0.5 - 6 ชั่วโมงหลังจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนบางครั้งมีอาการปวดเกร็งที่ช่องท้องและ/หรือท้องร่วง ซึ่งก็แล้วแต่โอกาส ระยะเวลาของอาการตามปกติจะน้อยกว่า 24 ชั่วโมง อาการของอาหารเป็นพิษชนิดนี้สามารถเปรียบเทียบได้กับอาการที่เกิดจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* บางสายพันธุ์ของ *B. subtilis* และ *B. licheniformis* ที่แยกได้จากลูกแกะและไก่ซึ่งบางครั้งเป็นตัวทำให้อาหารเป็นพิษ สิ่งมีชีวิตชนิดนี้จะมีการผลิตสารพิษที่สามารถทนความร้อนได้สูงมาก ซึ่งบางครั้งจะเหมือนกับสารพิษที่ทำให้เกิดอาการอาเจียนที่ผลิตขึ้นโดย *B. cereus* การที่ *B. cereus* มีจำนวนมาก ๆ (มากกว่า $10^6$ organism / g) ในอาหารแสดงว่ามีการเจริญเติบโตที่ดีแพร่ขยาย organism และมีความคงทน สามารถทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้

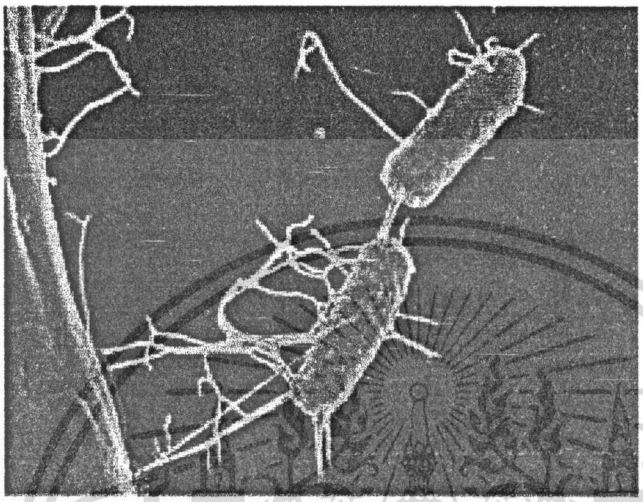
<u>การป้องกัน</u>

เป็นที่ทราบกันดีว่าเชื้อ *Bacillus cereus* นั้นเป็นเชื้อที่มีอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ และยังมักพบเสมอในอาหารที่ผ่านการทำแห้งที่เก็บไว้นานๆ การป้องกันนั้นสามารถทำได้โดยการป้องกันการงอกของสปอร์เชื้อชนิดนี้ด้วยการเก็บอาหารที่ปรุงเสร็จแล้วไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 7 °C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(4-6°F) หรือเก็บที่อุณหภูมิสูงกว่า 55-60°C (131-140°F) และควรจะมีการอุ่นอาหารที่เก็บไว้ก่อนที่จะนำมารับประทานเสมอ

**2.3 *Salmonella* spp.**



**ภาพที่** 3. ลักษณะของเชื้อ *Samonella spp.*
( อ้างอิงจาก : http://techno.msu.ac.th/fn/ecenter/pathogens/salmonella__spp.htm )

เชื้อ *Salmonella* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน แฟคัลเตตีปแอนแอโรบ ( Facultative anaerobic gram negative rods ) อยู่ในตระกูลเอนเทอโรแบคทีริเอซี ( Enterobacteriaceae ) (อ้างอิงจากภาพที่ 3 ) ซึ่งมีลักษณะที่สำคัญ คือ

1. เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 ไมโครเมตร ถึง 1.5 ไมโครเมตร
2. รูปร่างเป็นท่อนตรง
3. ถ้าเคลื่อนที่สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบตัว
4. ให้ผลออกซิเดสเป็นลบ
5. ไม่ต้องการ $Na^+$ เพื่อเพิ่มการเจริญของเซลล์
6. เซลล์มีแอนติเจนพิเศษ เรียก เอนเทอโรแบคทีเรียลคอมมอนแอนติเจน ( enterobacterial common antigen )
7. ความต้องการอาหารเป็นแบบง่าย ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *Samonella* spp. ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ ย้อมติดสีแกรมลบยกเว้น *S.*Gallinarum และ *S.*Pullorum ( อ้างอิงจาก http://vm.cfsan.fda.gov/~mow /chap1.html) เจริญได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจน แต่ในที่มีออกซิเจนเพียงเล็กน้อยก็สามารถเจริญได้ เชื้อ *Salmonella* spp. มีหลายชนิด แต่ละชนิดมีลักษณะความเป็นอยู่หรือการดำรงชีวิตที่ต่างกันไป เช่น เชื้อ *S.*Typhi เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารที่เรียกว่า ไข้ไทฟอยด์ ซึ่งจะพบในมนุษย์มากกว่าสัตว์อื่น ๆ แต่อย่างไรก็ตามจะพบเชื้อจากสัตว์ติดต่อสู่มนุษย์ และสัตว์อื่น ๆ ได้เช่นกัน เช่น หนู สัตว์ปีก แมลง วัว ควาย สุนัข แมว และม้า เป็นต้น สำหรับการติดเชื้อในมนุษย์นั้นส่วนมากจะได้รับเชื้อปะปนมากับน้ำ และอาหาร และบางครั้งอาจเกิดจากสัตว์เลี้ยงที่อาศัยตามอาคารบ้านเรือน ซึ่งเป็นพาหะของเชื้อ ด้วยเหตุนี้จึงทำให้เชื้อ *Salmonella* spp. เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดอาการท้องร่วงประกอบกับเชื้อมีอัตราการแพร่ระบาดสูง จึงสามารถพบผู้ป่วยที่เป็นโรคจากเชื้อนี้ในอัตราสูงด้วย และเราเรียกโรคที่เกิดจากเชื้อ *Salmonella* spp. ว่า salmonellosis

จากที่ได้กล่าวมาแล้วว่าเชื้อ *Salmonella* spp. มีหลายชนิดแต่ละชนิดมีลักษณะทางนิเวศวิทยาที่แตกต่างกันไป ทำให้การติดเชื้อแตกต่างกันตามไปด้วย เช่น การติดเชื้อ *Salmonella* spp. ในสัตว์ที่มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรงก็จะพบเชื้อนี้แตกต่างกันไป รวมถึงชนิดของสัตว์ด้วย เช่น พบการติดเชื้อในห่าน 50 เปอร์เซ็นต์ แต่จะพบในวัวควาย 24 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้น

สำหรับโรคที่เกิดจากเชื้อ *Salmonella* spp. ที่สำคัญได้แก่ โรคกระเพาะอาหาร และลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis) โรคโลหิตเป็นพิษ (Septicemia) และไข้ไทฟอยด์ (Typhoid fever)

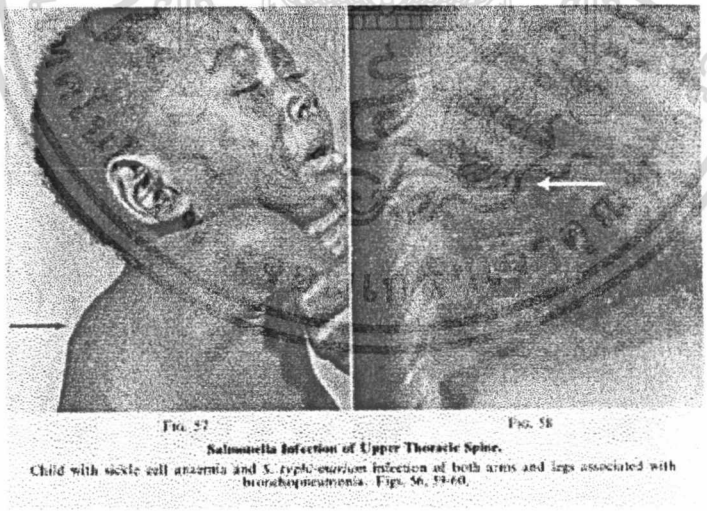


FIG. 57 FIG. 58

**Salmonella Infection of Upper Thoracic Spine.**

Child with sickle cell anaemia and *S. typhi-murium* infection of both arms and legs associated with bronchopneumonia. Figs. 56, 59-60.

**ภาพที่ 4 เด็กที่มีการคิดเชื้อ** *S.*Typhimurium

**( อ้างอิงจาก : http://techno.msu.ac.th/fn/ecenter/pathogens/salmonella__spp.htm )**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**โรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ :โรคชนิดนี้มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อ** *S.*Typhimurium **( อ้างอิงจาก ภาพที่ 4 ) เชื้อมีระยะฟักตัว 4-48 ชั่วโมง อาการในระยะแรกจะเกิดคลื่นไส้อาเจียน เจ็บปวดบริเวณท้อง หรือท้องร่วง ผู้ป่วยจะมีอุณหภูมิของร่างกายสูงถึง 38-39 องศาเซลเซียส และจะพบเม็ดเลือดขาวปะปนมากับอุจจาระด้วย อาการผู้ป่วยจะกลับเข้าสู่ภาวะปกติภายใน 5 วัน ไม่ว่าจะได้รับการรักษาหรือไม่ก็ตาม**

**โรคโลหิตเป็นพิษ : โรคชนิดนี้เป็นผลมาจากมีเชื้ออยู่ในร่างกายเป็นเวลานาน เชื้อจะเข้าสู่กระแสเลือด และสามารถแพร่กระจายไปเจริญตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ทำให้เกิดการอักเสบที่อวัยวะต่าง ๆ เช่น ไต ตับ ม้าม หัวใจ ปอด และเยื่อหุ้มประสาท เป็นต้น สำหรับอาการที่เกิดขึ้นได้แก่ การครั่นเนื้อครั่นตัว หรือหนาวสั่น เบื่ออาหาร และน้ำหนักตัวลดลง เชื้อที่เป็นสาเหตุสำคัญนี้ ได้แก่ เชื้อ** *S.*Cholerasuis

**ไข้ไทฟอยด์ : มีสาเหตุมาจาก** *S.*Typhi **และ** *S.*Paratyphi **ชนิด (type) A, B, C โดยอาจได้รับเชื้อโดยตรงจากผู้ป่วย หรือผู้ที่เป็นพาหะ หรืออาจได้รับเชื้อทางอ้อม โดยปนเปื้อนอยู่ในอาหารหรือน้ำ เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วเชื้อมีระยะฟักตัว 3-35 วัน แต่โดยทั่วไปประมาณ 7-14 วัน สำหรับอาการที่ปรากฏ ได้แก่ อาการหนาวสั่น อ่อนเพลีย ปวดศรีษะ ปวดหลัง ท้องร่วง และมีอุจจาระเหม็นมาก ในบางรายอาจเกิดหลอดลมอักเสบได้ อุณหภูมิในร่างกายเพิ่มสูงขึ้น 39-40 องศาเซลเซียส จะเป็นเช่นนี้นาน 1-2 สัปดาห์ และอาการไข้จะค่อย ๆ ลดลง จนกระทั่งถึงสัปดาห์ที่ 4 จะไม่มีอาการไข้เลย**

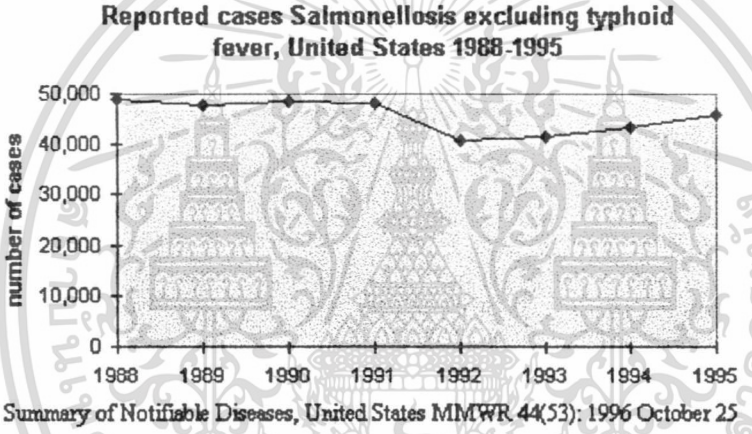
**ภาพที่ 5 อาการของผู้ที่เป็นไข้ไทฟอยด์**

**( อ้างอิงจาก : จักรพันธุ์ ปัญจะสุวรรณ, 2542 )**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในผู้ป่วยที่ไม่ได้มีการรักษาจนถึงสัปดาห์ที่ 2-3จะเกิดจุดสีแดงขนาดประมาณ 2-5 มิลลิเมตร ตามผิวหนัง เนื่องมาจากเชื้อแพร่กระจายอยู่ตามเส้นเลือดฝอยจำนวนมาก ผู้ป่วยอาจมีอาการทางสมองเลอะเลือน คลื่นไส้อาเจียน ปวดท้อง เจ็บคออย่างรุนแรง ชีพจรเต้นเร็ว มีเลือดออกตามบริเวณลำไส้ และอุจจาระจะมีเยื่อเมือกออกมาด้วย ( อ้างอิงจาก ภาพที่ 5 )

คำว่า "ไข้ไทฟอยด์" คนทั่วไปเรียกว่า "ไข้ราดสาด" เหตุที่เรียกอย่างนี้อาจเป็นเพราะคำว่า "ราก" คืออาการอาเจียนอย่างแรง สิ่งที่อาเจียนออกมาพุ่งไปข้างหน้า "สาด" คืออาการของเหลวพุ่งกระจายไปข้างหน้าจึงเรียกว่า "ไข้รากสาด" นอกจากนี้แล้วในสหรัฐอเมริกามีรายงานในแต่ละปีว่ามีผู้ป่วยที่เป็น โรค salmonelosis 2-4 ล้านราย โดยมีรายงานอีกว่า ในปี 1988-1955 นั้นมีผู้ป่วยเป็นไข้ไทฟอยด์อยู่ในช่วง 40,000-50,000 ราย (อ้างอิงจาก http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap1.html) ดังภาพที่ 6




**ภาพที่ 6** รายงานการเกิดไข้ไทฟอยด์ในสหรัฐอเมริกา
( อ้างอิงจาก : http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap1.html )

<u>สาเหตุที่ทำให้เกิดโรค</u>

อาหารที่เป็นสาเหตุได้แก่ เนื้อหมู เนื้อวัว เนื้อไก่ ไข่ นม ผลิตภัณฑ์ จากนม เนื้อปลา และอาหารทะเลที่ไม่ได้ผ่านความร้อนอย่างเพียงพอ ซึ่งการรับประทานอาหารสุก ๆ ดิบ ๆ ไม่ว่าจะเป็นแหนม ลาบ ยำ ปูเค็ม ปูดอง ผักสด หากมีเชื้อโรคก็มีโอกาสติดโรคได้เท่ากัน สำหรับในไข่นั้นหลายคนอาจคิดว่าไข่ที่มีเปลือกหุ้ม โดยที่เปลือกไม่มีรอยร้าว หรือแตก เชื้อโรค จะไม่สามารถปนเปื้อนเข้าไปได้ แต่ในความเป็นจริงแล้วเปลือกไข่นั้นมีความพรุน ซึ่งหากเปลือกไข่มีเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Salmonella* spp. อยู่มันก็จะสามารถผ่านเข้าไปในไข่ขาว และไข่แดงได้ ดังนั้นในการปรุงอาหารที่มีไข่เป็นส่วนประกอบจึงควรจะปรุงให้สุกด้วยความร้อนที่พอเหมาะ

นอกจากนี้แล้วถ้าหากมีผู้ป่วยเป็นโรค salmonellosis ทำงานที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปอาหาร แล้วมีสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ไม่ดีพอ เช่น ไว้เล็บยาว และหลังจากกลับจากห้องน้ำมิได้มีการล้างมือให้สะอาดเสียก่อน เชื้อ *Salmonella* spp. ก็มีโอกาสที่จะปนเปื้อนลงไปยังอาหารได้

<u>อาการของโรค</u>

ปริมาณที่ทำให้เกิดโรค salmonellosis ประมาณ 108-109 เซลล์ แต่ในบางกรณี แม้ปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp จะต่ำกว่า 108-109 เซลล์ ก็สามารถ ทำให้เกิดโรคได้ ( อ้างอิงจาก DoyleM.P. และ Cliver D.O. , 1990) อาการจะเกิดขึ้นหลังจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนแล้วประมาณ 6-48 ชั่วโมง และจะมีอาการอยู่ในระหว่าง 1-5 วัน สำหรับอาการของโรค salmonellosis ที่พบได้ทั่วไป คือ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเดิน ปวดศรีษะ ปวดท้อง มีไข้ หนาวสั่น และอ่อนเพลีย ความรุนแรงของอาการที่เกิดขึ้นนั้น จะแตกต่างไปตามปริมาณเชื้อที่บริโภค ชนิดของเชื้อที่บริโภค และความต้านทานของผู้บริโภค ถ้าหากเป็นผู้สูงอายุ หรือเด็กทารก จะพบว่าอาการจะหนักกว่าคนในวัยอื่นที่บริโภคเชื้อชนิดเดียวกันเข้าไปในปริมาณที่เท่ากัน และยังพบอีกว่าผู้ป่วยโรค AIDS มีโอกาสเกิดโรคแทรกซ้อนจากเชื้อ *Salmonella* spp. ได้มากกว่าคนธรรมดาถึง20 เท่า
( อ้างอิงจากhttp://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap1.html) เมื่อร่างกายเราได้รับเชื้อ *Salmonella* spp. เข้าสู่ร่างกายแล้วเชื้อโรคจะมุ่งเข้าสู่เซลล์น้ำเหลืองของลำไส้เล็กและจะเจริญแบ่งตัวที่นั่นในระยะนี้จะยังไม่มีอาการอะไรเป็นระยะฟักตัวต่อมาเชื้อจะแพร่เข้าสู่กระแสเลือดและกระจายสู่ส่วนต่างๆ ของร่างกายผู้ป่วยจะเริ่มแสดงอาการต่าง ๆ ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

ในรายที่ไม่มีโรคอื่นแทรกซ้อนจะมีชีพจรเต้นช้ากว่าปกติ ผู้ป่วยที่เสียชีวิตด้วยโรคนี้มักจะเสียชีวิตเนื่องจากเลือดออกในลำไส้เล็ก และลำไส้ทะลุ ซึ่งอันตรายที่มักเกิดกับผู้ป่วยที่รู้เท่าไม่ถึงการณ์โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีอาการท้องผูกคือ ผู้ป่วยจะซื้อยาถ่ายอย่างแรงมากิน โดยหวังจะถ่ายท้องให้สบาย แต่ยาถ่ายกลับจะเร่งให้เลือดออก และลำไส้ทะลุเร็วขึ้น ส่วนในรายที่ไม่มีโรคแทรกซ้อน ไข้จะค่อย ๆ ลดลงจนหายเป็นปกติได้ ผู้ป่วยที่หายเองร่างกายจะผอม และทรุดโทรมมากต้องใช้เวลานานในการรักษา ซึ่งอันตรายที่สำคัญที่สุดสำหรับผู้ป่วยที่หายเอง หรือผู้ป่วยที่รักษาไม่ถูกต้อง คือผู้ป่วยนั้นอาจกลายเป็น คนนำเชื้อ และจะเป็นพาหะในการแพร่เชื้อต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**การป้องกัน**

**เชื้อ *Salmonella* spp ถูกทำลายได้ง่ายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 4-5 นาที หรืออุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ก็สามารถทำลายเชื้อได้ ดังนั้น การรับประทานอาหารที่ปรุงสุกใหม่ ๆ และรับประทานในขณะที่ยังร้อน จะช่วยลดการติดเชื้อ *Salmonella* spp ได้เป็นอย่างมาก การแช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Salmonella* spp ได้**

**นอกจากนี้แล้วเราควรล้างอุปกรณ์ เครื่องมือ เครื่องใช้ ที่ใช้ในการบรรจุ หั่น หรือรองหั่นอาหารที่ใช้เสร็จแล้วให้สะอาด เนื่องจากอาจเกิดการปนเปื้อนขึ้นอีกครั้งถ้าหากเรานำภาชนะที่มีการปนเปื้อนนั้นไปบรรจุ หรือหั่น หรือรองหั่นอาหารที่ผ่านการแปรรูปแล้ว ยกตัวอย่างเช่น ถ้าเรานำมีดที่หั่นเนื้อหมูดิบไปหั่นผักสดที่ล้างสะอาดแล้วโดยที่มีดนั้นไม่ได้ทำการล้างน้ำให้สะอาดก่อนก็จะทำให้ผักสดมีโอกาสปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp ได้อีกครั้ง**

**สำหรับในคนที่ชอบกินอาหารที่มีส่วนผสมของไข่ดิบ เช่น โจ๊กร้อนใส่ไข่ดิบ หรือไข่ดาว ไข่ลวก ไข่ต้มที่ผ่านความร้อนเพียงเล็กน้อย ก็มีโอกาสได้รับเชื้อ *Salmonella* spp เข้าสู่ร่างกายได้ซึ่งในนิตยสารหมอชาว ฉบับเดือนมกราคม 2534 ได้แนะนำวิธีกินไข่อย่างปลอดภัย ดังนี้**

**1. ไข่ดาว : วิธีที่คนส่วนใหญ่นิยมประกอบอาหารชนิดนี้ นับว่าเป็นวิธีที่เสี่ยงพอดูเพราะว่าพวกผู้ประกอบอาหารมักจะไม่ทำให้ไข่สุกทั่วทั้งฟอง แต่จะทำให้สุกเพียงแค่เป็นยางมะตูม ถ้าต้องการให้ไข่ดาวปลอดจากเชื้อโรค ต้องใช้เวลาในการปรุงนาน 4 นาที ใช้ไฟอ่อนถึงปานกลาง โดยใช้กระทะที่มีฝาปิด และปิดฝาไว้จนกระทั่งไข่แดงฟูขึ้น และไข่ขาวเกาะตัวกันเป็นแผ่น จึงตักออกใส่จาน**

**2. ไข่เจียว : เทไข่ที่ตีจนฟูลงในกระทะ ทอดนาน 3 นาที แล้วกลับอีกด้านหนึ่ง ใช้เวลาทอด 2 นาที โดยใช้ไฟอ่อนถึงปานกลางในกระทะที่มีฝาปิด**

**3. ไข่ต้ม : ควรต้มในน้ำเดือดนาน 7 นาที**

**4. ไข่น้ำ : ควรต้มนาน 5 นาที**

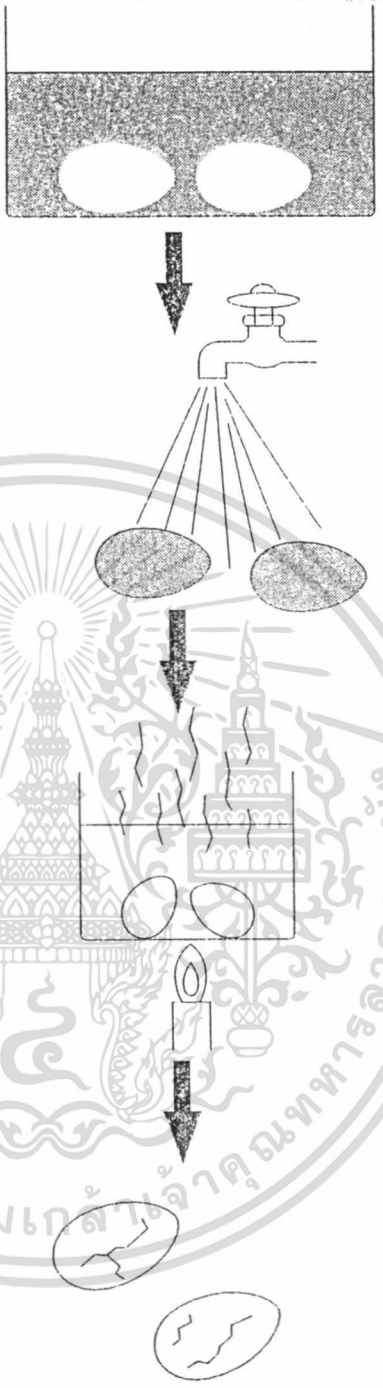
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แช่ไข่ในน้ำผสมหมึกดำ
เล็กน้อยเป็นเวลา 1 คืน

ล้างไข่เพื่อกำจัดหมึกดำ
ที่ผิวเปลือกไข่ออก

ให้ความร้อนเพื่อต้มไข่

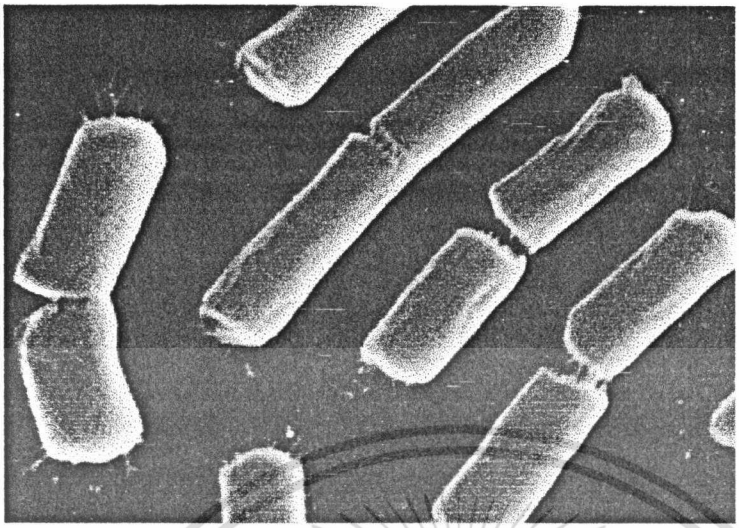
เมื่อแกะเปลือกไข่ต้มออกจะเห็นเป็นเส้นสีดำ
ของหมึกดำบนไข่ต้ม ซึ่งเกิดจากการที่
หมึกดำแทรกซึมผ่านเข้าไปตามรูหรือ
รอยแยกเล็ก ๆ ของเปลือกไข่นั่นเอง



**ภาพที่ 7 ภาพแสดงการทดลองที่แสดงให้เห็นว่าเปลือกไข่มีรูหรือรอยแยกเล็กๆ**
**( อ้างอิงจาก : ฟุจิโอะ อิโนะอุเอะ , 2546 )**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.4 *Clostridium perfringens*



**ภาพที่ 8** ลักษณะของเชื้อ *Clostridium perfringens*
( อ้างอิงจาก : http://techno.msu.ac.th/fn/ecenter/pathogens/clostridium__perfringens.htm )

*Clostridium perfringens* เป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต (anaerobic) ย้อมติดสีแกรมลบ สามารถสร้าง spore ได้ ( อ้างอิงจากภาพที่ 8 ) พบได้ทั่วไปในดิน ในทางเดินอาหารของคน และสัตว์ *Clostridium perfringens* ที่พบ และมีการศึกษาแล้วมีอยู่ 5 ชนิด คือ type A, B, C, D และ E ซึ่งทั้ง 5 ชนิดนี้สามารถสร้างสารพิษได้ 4 ชนิดคือ alpha ,beta, epsilon และ iota ( อ้างอิงจาก : http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/ chap11.html )

จากการศึกษาพบว่ามีเพียง type A เท่านั้น ที่วิเคราะห์ พบในดิน และทางเดินอาหารของคน และสัตว์ ส่วนชนิดอื่น ๆ เป็น obligate parasite type B, C และ D จะเป็นสาเหตุให้เกิดโรคในสัตว์ ส่วน type C นั้นทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบในคน และ type A นั้น เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารขึ้นมากที่สุด ( อ้างอิงจาก : ศิวาพร ศิวเวชช, 2542 )

*Clostridium perfringens* ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้จากการที่มันสร้าง spore ที่ทนความร้อน และ spore จะสร้าง enterotoxin ขึ้นมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**สาเหตุที่ทำให้เกิดโรค**

อาหารที่พบว่ามักจะเป็นสาเหตุของการระบาดได้แก่ เนื้อ ผลิตภัณฑ์เนื้อ ปลา ไก่ และผลิตภัณฑ์ไก่ ที่มีการปนเปื้อนจากเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ และสปอร์ของเชื้อชนิดนี้ผักชนิดต่าง ๆ และเครื่องเทศ ที่มีการปนเปื้อนเนื่องมาจากฝุ่นผง ดิน มูลสัตว์ อุปกรณ์เครื่องมือที่ไม่สะอาด หรือพนักงานที่มีสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ไม่ดี

**อาการของโรค**

อาการของโรคจะเกิดขึ้นเมื่อบริโภคเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของ *Clostridium perfringens* เข้าไปในปริมาณที่มากพอคือ มากกว่า 108 (อ้างอิงจาก : Johnson E.A., 1990) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสุขภาพของผู้บริโภคซึ่งพบว่าจะไม่มีอาการผิดปกติเกิดขึ้น อาการของโรคจะเกิดขึ้นเมื่อ *Clostridium perfringens* ที่บริโภคเข้าไป สร้างสปอร์ และมีการปล่อยสารพิษออกมาในลำไส้เล็ก อาการของโรคที่เกิดขึ้นจะประกอบด้วย อาการเป็นตะคริวที่ท้อง ท้องเดินอย่างแรง ไม่ค่อยพบอาการคลื่นไส้อาเจียน ระยะฟักตัวสำหรับเชื้อนี้จะอยู่ในช่วง 8-22 ชั่วโมงหลังจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนเข้าไป

**การป้องกัน**

เชื้อ *Clostridium perfringens* จะไม่เจริญเติบโตที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส โดย Vegetative cell ส่วนใหญ่จะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตที่ 5-6.5 % NaCl และ spore จะไม่งอกที่ 10 % NaCl ซึ่งพิษของ *Clostridium perfringens* นั้นจะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ดังนั้น ก่อนนำอาหารที่เก็บค้างคืนไว้มารับประทานควรอุ่นอาหารให้สุกเพียงพอก่อนจึงนำมารับประทานได้ และในผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษจาก *Clostridium perfringens* เข้าไปไม่ควรรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 2 เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค การจำแนกลักษณะการเกิดอาหารเป็นพิษจากเชื้อแบคทีเรีย ระยะเวลาในการฟักตัว และอาการหลักที่เกิดจากการบริโภค**

| เชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค | การจำแนกลักษณะ การเกิดอาหารเป็นพิษ | ระยะฟักตัว ( ระยะปกติ ) | อาการหลัก | ระยะเวลาที่ ทำให้เกิดอาการ |
|---|---|---|---|---|
| *Vibrio parahaemolyticus* | การติดเชื้อ (infaction)<br>( กรณีของ Kanagawa )<br>สารพิษที่ทำให้เกิด Hemolysin | 6-32 ชั่วโมง<br>(10-18ชั่วโมง) | ท้องร่วง ปวดท้อง อาเจียน เป็นไข้ | 2-5วัน |
| *Salmonella* spp. | การติดเชื้อ (infaction)<br>(แทรกตัวเข้าไปในเนื้อเยื่อ) | 6-48ชั่วโมง<br>(12-24ชั่วโมง) | ท้องร่วง ปวดท้อง อาเจียน เป็นไข้ ปวดหัว | 1-7วัน |
| *Escherichia coli*<br>1. ETEC<br><br><br>2.EIEC<br><br><br>3.EPEC | <br>การติดเชื้อ (infaction)<br>(สร้างสารพิษ enterotoxin ในร่างกาย)<br>การติดเชื้อ (infaction)<br>(แทรกตัวเข้าไปในเนื้อเยื่อและสร้างสารพิษ enterotoxin)<br>การติดเชื้อ (infaction) | <br>6-72ชั่วโมง<br>(10-15ชั่วโมง) | <br>ท้องร่วง ปวดท้อง อาเจียน เป็นไข้ | <br>2-4วัน |
| *Clostridium perfringens* | การติดเชื้อ (infaction)<br>(สร้างสารพิษ enterotoxin ในร่างกาย) | 6-22ชั่วโมง | ท้องร่วง ปวดท้อง | 1-2วัน |
| *Yersinia enterolitica* | การติดเชื้อ (infaction)<br>(แทรกตัวเข้าไปในเนื้อเยื่อ) | 1-3วัน | ท้องร่วง ปวดท้อง อาเจียน เป็นไข้ | 2-5วัน |

**ตารางที่ 2 ( ต่อ ) เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค การจำแนกลักษณะการเกิดอาหารเป็นพิษจากเชื้อแบคทีเรีย ระยะเวลาในการฟักตัว และอาการหลักที่เกิดจากการบริโภค**

| เชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค | การจำแนกลักษณะ การเกิดอาหารเป็นพิษ | ระยะฟักตัว ( ระยะปกติ ) | อาการหลัก | ระยะเวลาที่ ทำให้เกิดอาการ |
|---|---|---|---|---|
| *Bacillus cereus* | | | | |
| 1.ประเภทที่ทำให้อาเจียน | การบริโภคสารพิษ (intoxication) (สร้างสารพิษ enterotoxin ในร่างกาย) | 1-5ชั่วโมง | อาเจียน | 12-24 ชั่วโมง |
| 2.ประเภทที่ทำให้ท้องร่วง | การติดเชื้อ (infaction) | 8-20ชั่วโมง | ท้องร่วง ปวดท้อง | 12-48 ชั่วโมง |
| *Staphylococcus aureus* | การบริโภคสารพิษ (intoxication) (สร้างสารพิษ enterotoxin ในร่างกาย) | 1-6ชั่วโมง | อาเจียน ท้องร่วง ปวดท้อง | 1-8วัน (ตาย) |
| *Yersinia enterolitica* | การบริโภคสารพิษ (intoxication) (แทรกตัวเข้าไปในเนื้อเยื่อ) | 12-96ชั่วโมง 18-36 ชั่วโมง | เห็นภาพซ้อน กลืนอาหารได้ยาก หายใจไม่ออก พูดไม่ออก | 1-8 เดือน (หายป่วย) |

**ตารางที่ 2 : อ้างอิงจาก : จุลินทรีย์กับการควบคุมสุขลักษณะการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารเล่มที่ 1 , 2546 )**

# บทที่ 3
# เชื้อจุลินทรีย์ที่บ่งบอกถึงสุขลักษณะการผลิตและสุขลักษณะส่วนบุคคล

## 3.1 แบคทีเรียโคลิฟอร์ม

หมายถึง กลุ่มแบคทีเรียรูปร่างท่อนสั้น ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เป็น aerobe หรือ facultative anaerobe สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลแลคโตสให้กรด และแก๊สภายในเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เช่น พวก *Escherichai coli* ซึ่งมีแหล่งอาศัยในทางเดินอาหารของคนและสัตว์เลือดอุ่น จึงพบมากในอุจจาระ และ แบคทีเรียจีนัส*Enterobacter* ซึ่งนอกจากจะพบในทางเดินอาหารแล้วยังพบได้ในดิน ปนเปื้อนกับพืชผักต่าง ๆ ดังนั้นการตรวจพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มจึงเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า *coli – aerogenes* group จึงเป็นดัชนีแสดงว่าอาจจะมีการปนเปื้อนของอุจจาระ ซึ่งเป็นที่มาของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคได้

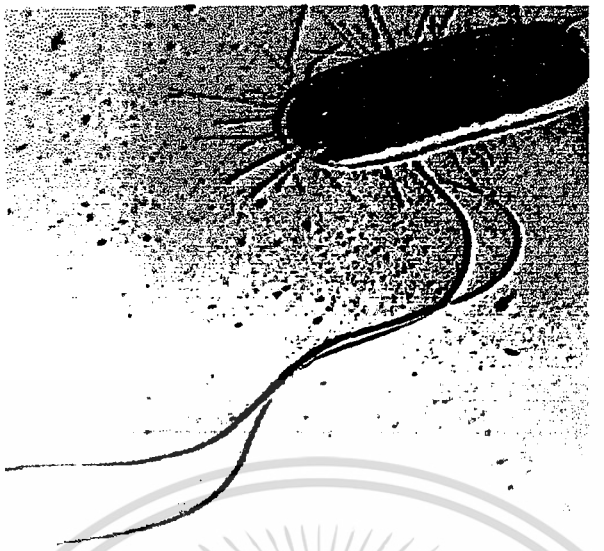
Fecal coliform และ *E.coli*

*E.coli* เป็นแบคทีเรียที่มีแหล่งอาศัยปกติในท่อทางเดินอาหารของคนและสัตว์เลือกอุ่น การตรวจพบ *E.coli* จึงแสดงว่ามีการปนเปื้อนของอุจจาระโดยตรง แบคทีเรียโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนจากอุจจาระโดยตรง เรียกว่า fecal coliform ส่วนแบคๆ เช่น *Enterobacter aerogenes* ซึ่งไม่อาจใช้เป็นดัชนีแสดงการปนเปื้อนจากอุจจาระโดยตรง จึงเรียกกลุ่มนี้ว่าเป็น non-fecal coliform เนื่องจาก *E.coli* มีคุณสมบัติแตกต่างจาก *Enterobacter sp.* คือ

1. *E.coli* สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลแลคโตส แล้วเกิดแก๊สที่อุณหภูมิ 44.5 องศาเซลเซียล ภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง ซึ่งการทดสอบทำได้ง่าย
2. *E.coli* ให้ผลการทดสอบปฏิกิริยา IMViC ( indole, methyl red, Voges-Proskauer, citrate test ) เป็น + + - - ส่วน *Enterobacter aerogenes* ให้ผลเป็น - - + + แต่การตรวจวิเคราะห์ยุ่งยากและสิ้นเปลืองกว่าวิธีที่ 1ด้วยเหตุนี้จึงใช้ปฏิกิริยาการเฟอร์เมนต์น้ำตาลแลคโตสแล้วเกิดแก๊สที่อุณหภูมิ44.5องศาเซลเซียล เป็นการแยกกลุ่มแบคทีเรียโคลิฟอร์มเป็น 2 พวก คือ fecal coliform และ non-fecal coliform

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2 *Escherichia coli* O157:H7



**ภาพที่ 9** ลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli*

( อ้างอิงจาก : http://techno.msu.ac.th/fn/ecenter/pathogens/escherichai__coli.htm )

แบคทีเรีย *Escherichia coli* นั้นเป็นจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในลำไส้ใหญ่ของสัตว์และมนุษย์ พบได้ในอุจจาระและเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มโคลิฟอร์มที่จะบ่งชี้ว่าอาหารมีการสุขาภิบาลที่ดีเพียงพอหรือไม่ แบคทีเรียชนิดนี้มีประโยชน์ต่อระบบขับถ่ายของร่างกายคือช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นโทษต่อร่างกาย มีเพียงไม่กี่สายพันธุ์ของ *Escherichia coli* เท่านั้นที่เป็นโทษต่อมนุษย์ สายพันธุ์ *Escherichia coli* O157:H7 เป็นหนึ่งในจำนวนนั้นโดยมันจะสร้างสารพิษที่มีผลทำให้เกิดการระคายเคืองเยื่อบุผนังลำไส้ สารพิษชนิดนี้คือ verotoxin (VT) , shiga-like toxin ซึ่งเป็นสารพิษที่มีความใกล้เคียงกับสารพิษที่ผลิตโดยเชื้อ *Shigella dysenteriae*

**ชื่อโรคที่เกิดจากเชื้อชนิดนี้** : เรียกว่า โรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ Escherichia coli O157:H7

**สารพิษ** : (Toxin) กลไกของการก่อให้เกิดโรคของ *Escherichia coli* O157:H7 ยังไม่เป็นที่เข้าใจกันดีนักแต่ก็รู้ถึงสารต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคบ้างแล้ว สารพิษตัวแรกที่ค้นพบคือ Vero cell toxin ซึ่งพบใน bacteria extract สารพิษนี้จะถูก neutralized ได้ดีด้วยแอนติซีรัมที่ต้าน Shigella toxin ทำให้เรียกสารพิษของเชื้อนี้ว่า Shigella-like toxin แทน vero cytotoxin การศึกษาต่อมาพบว่าสารพิษทั้งสองมีคุณสมบัติคล้ายคลึงกันและมีโครงสร้าง subunit เหมือนกันด้วย การที่จุลินทรีย์สามารถจับกับผนังลำไส้ได้เป็นสิ่งสำคัญมากต่อการเกิดโรคในคน การที่ผู้ป่วยไม่แสดงอาการไข้แสดงว่าจุลินทรีย์ไม่ผ่านลำไส้ออกสู่ระบบอื่น และไม่เข้าสู่กระแสเลือด ทำให้คาดว่าจุลินทรีย์จะเจริญที่ผนังลำไส้และสร้างสารพิษที่มีผลต่อการทำงานของลำไส้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาเหตุที่ทำให้เกิดโรค

อาหารที่ปรุงไม่สุกหรืออาหารดิบ โดยเฉพาะเนื้อดิบซึ่งเคยมีรายงานการแพร่ระบาดและยังเคยมีการแพร่ระบาดผ่านทางน้ำนมดิบซึ่งเกิดขึ้นที่โรงเรียนในประเทศแคนนาดา แต่ทั้งนี้ได้เคยมีการตรวจพิสูจน์เพียง 2 ครั้งเท่านั้น และคาดว่าเนื้ออื่นๆที่ไม่ผ่านการตรวจนั้นก็น่าจะมีการติดเชื้อชนิดนี้ด้วย

การวินิจฉัยโรค : มีอาการเลือดออกในลำไส้ใหญ่ ซึ่งวินิจฉัยว่า เชื้อ Escherichia coli สายพันธุ์ 0157 : H7 ที่สร้างสารพิษ verotoxin หรือสายพันธุ์อื่นๆ ที่สร้างสารพิษชนิดนี้ โดยสามารถตรวจหาสารพิษชนิดนี้ได้โดยตรงจากอุจจาระของผู้ป่วยและเพื่อเป็นการยืนยันก็สามารถตรวจวิเคราะห์ได้จากอาหาร

อาการของโรค

อาการของโรคชนิดนี้คือ อาการท้องเสีย ปวดท้อง เป็นตะคริวในช่องท้อง อุจจาระมีลักษณะคล้ายน้ำซาวข้าว บางครั้งมีลิ่มเลือดออกมาด้วย มีการอาเจียนในบางครั้งและมีไข้ อาการป่วยมักจะหายไปเองโดยเฉลี่ยแล้วประมาณ 8 วัน แต่ในบางครั้งอาจมีการถ่ายเป็นน้ำมากผิดปกติ

อัตราการติดเชื้อ : ยังไม่มีรายงานที่แน่ชัดถึงอัตราการติดเชื้อ แต่อัตราอาจมีความใกล้เคียงกับการติดเชื้อ *Shigella* spp.

เลือดออกในลำไส้ : ( Hemorrhagic colitis)

สาเหตุ : เกิดจาก verotoxin ที่ผลิตโดยเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 ( VTCE )

อาการ : เกิดอาการท้องเสียกระทันหัน และปวดท้องมาก มักจะท้องเสียภายใน 24 ชั่วโมง ถ่ายอุจจาระเป็นน้ำ และจะถ่ายเป็นเลือด อาเจียน ไม่มีไข้หรือมีไข้เล็กน้อย ระยะฟักตัวของโรคอาจนาน 3-9 วัน โดยทั่วไปมักมีอาการใน 4 วัน และช่วงเวลาที่ผู้ป่วยมักจะเป็นติดต่อกัน 2-9 วันส่วนใหญ่จะเป็นอยู่ 4 วัน สามารถเกิดได้ในคนทุกวัยแต่ส่วนใหญ่พบในเด็ก ซึ่งอาการจะหายไปได้เอง

ถ่ายเป็นเลือด : (Hemolytic uremic syndrom) ส่วนใหญ่พบในเด็กประมาณ 5-10% ที่เป็น Hemorrhagic colitis จะมีการพัฒนาของโรคไปเป็น Hemolytic uremic syndrom

VEROTOXIN

อาการ : เริ่มมีอาการอาเจียน ชีดขาวเนื่องจาก verotoxin ทำลาย endothelial cell ใน renal arteriotes ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก และเป็นสาเหตุของโรคไตวายในเด็กและ *Escherichia coli* O157:H7 ก็เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคนี้ด้วยโดยจะปรากฏอาการหลาย แบบด้วยกันคือ การจับรวมตัวกันของเม็ดเลือดขาว ทำให้ถูกทำลายไป ไตทำงานผิดปกติทำให้ปัสสาวะออกมาเป็นเลือดและโลหิตจางเนื่องจากมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลือดออกในลำไส้ใหญ่ คนที่เป็นโรคนี้อย่างรุนแรงมักต้องให้การรักษาโดย dialysis และการถ่ายเลือดผู้ป่วยอาจมีอาการทางประสาท คือมีอาการนิ่งไปนานๆ และมีอาการโคม่าเป็นเวลานาน ในที่สุดอาจเสียชีวิตได้ ในผู้ป่วยสูงอายุอาการดังกล่าวจะรุนแรงมากขึ้นและมีอัตราการตายสูงถึง 50%

<u>การป้องกัน</u>

1. รับประทานเนื้อสัตว์และเนื้อแฮมเบอเกอร์ที่ผ่านการให้ความร้อนจนแน่ใจว่าสุกแล้วซึ่งในการให้ความร้อนควรมีเทอร์โมมิเตอร์ใช้เพื่อวัดอุณหภูมิให้ถึงอย่างน้อยที่สุด 72 องศาเซลเซียส ผู้ประกอบอาหารที่ไม่ได้ใช้เทอร์โมมิเตอร์ในการประกอบอาหารนั้นจะเป็นการเพิ่มความเสี่ยงที่จะติดเชื้อชนิดนี้

2. ดื่มนม น้ำผลไม้ และเครื่องดื่มชนิดอื่น ๆ ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์แล้วเท่านั้น รวมทั้งสังเกตวันหมดอายุของเครื่องดื่มทุกชนิดที่จะรับประทานเช่น น้ำผลไม้บรรจุในภาชนะปิดสนิท

3. ล้างผักผลไม้ที่จะรับประทานให้สะอาดโดยเฉพาะผักผลไม้ที่มีการรับประทานสดและควรมีการเอาใจใส่เป็นพิเศษสำหรับเด็กที่อายุต่ำกว่า 5 ขวบในการที่จะรับประทานผักและผลไม้สด

4. เก็บเนื้อดิบแยกออกจากอาหารที่พร้อมจะรับประทาน ล้างมือ ภาชนะที่ใสและวัสดุที่ใช้สัมผัสกับเนื้อดิบด้วยน้ำสบู่ร้อนๆรวมทั้งไม่ใช้วัสดุอุปกรณ์ของอาหารพร้อมรับประทานร่วมกับวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้กับเนื้อดิบ

### 3.3. *Staphylococcus aureus*

เป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีการกระจายอยู่ทั่วไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในโพรงจมูก ผิวหนัง บาดแผลที่มีหนอง เต้านมวัวที่อักเสบ เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ทนความร้อน สามารถถูกทำลายได้โดยความร้อนที่อุณหภูมิ 65 °C เป็นเวลา 30 นาที แต่สารพิษ ( ซึ่งเป็น enterotoxin ) ที่เชื้อแบคทีเรียนี้สร้างขึ้นสามารถทนความร้อนได้สูงถึง 100-110 °C เป็นเวลา 30 นาที นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียนี้ยังทนทานต่อความแห้งแล้ง และสามารถเติบโตได้ในสภาพแวดล้อมที่มีเกลือ 7% เชื้อแบคทีเรียนี้สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้าง คือ 10-45 °C และสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดและด่าง

เมื่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ปนเปื้อนในอาหาร จะเจริญเติบโตและสร้างสารพิษ enterotoxin ในอาหาร เมื่อสารพิษนี้ถูกบริโภคเข้าสู่ร่างกายก็จะถูกดูดซึมเข้าสู่กระเพาะและลำไส้ ทำให้ปวดท้องและอาเจียนอย่างรุนแรง ท้องร่วงบางรายอาจมีไข้ ( 30% ของผู้ป่วยจะมีไข้เล็กน้อย) โดยทั่วไปจะเกิดอาการอาหารเป็นพิษหลังจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนประมาณ 3 ชั่วโมง

การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียนี้ในอาหารเกิดจากการสัมผัสอาหารด้วยมือหรือผิวหนังที่มีบาดแผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4 เชื้อราและยีสต์

จุลินทรีย์ประเภทยูคาริโอตที่ปนเปื้อนในอาหารส่วนใหญ่พบว่าเป็นเชื้อยีสต์และเชื้อราที่ไม่สมบูรณ์

เชื้อยีสต์เป็นเชื้อจุลินทรีย์ประเภทยูคาริโอตที่จัดอยู่ในอาณาจักรฟังไจเช่นเดียวกับเชื้อรา เชื้อยีสต์เพิ่มจำนวนโดยการแตกหน่อ (budding) ส่วนเชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่เพิ่มจำนวนโดยการสร้างเส้นใย

Vegetative cell ของเชื้อยีสต์ในสกุล *Saccharomyces* spp. เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารต่างๆ เช่น ผลไม้ น้ำผลไม้ Soft drink น้ำเชื่อม น้ำผึ้ง อาหารหมัก ( Fermentative food ) ในขณะเดียวกันเชื้อยีสต์ในสกุลนี้บางชนิดก็เป็นยีสต์ที่มีความสามารถในการผลิตแอลกอฮอล์ได้สูง จึงสามารถนำใช้ประโยชน์ในการผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆได้

**ตารางที่ 3 :** สารพิษจากเชื้อรา(mycotoxin ) เชื้อราที่ผลิตสารพิษ อาการของโรค และอาหารที่เกิดจากปนเปื้อนจากเชื้อรา

| สารพิษ ( mycotoxin ) | ชนิดของเชื้อราที่ผลิต | อาการเมื่อได้รับสารพิษ | อาหารที่เกิดการปนเปื้อน |
|---|---|---|---|
| อะฟลาทอกซิน ( aflatoxin ) | *Aspergillus flavus* *Aspergillus parasiticus* | มีอาการทางสมองเฉียบพลัน ทำให้เกิดโรคมะเร็งตับ ตับแข็ง | ข้าวเจ้า ข้าวบาร์เลย์ ข้าวโพด, ถั่วต่าง นม, เนื้อสัตว์ |
| สเตอริกมาโตซิสติน ( sterigmatocystin ) | *Aspergillus versicolor* *Aspergillus nidulans* | ทำลายตับ ทำให้เกิดโรคมะเร็งตับ | ข้าวเจ้า ข้าวโพด |
| ไซโคลคลอโรทีน ( cyclochlorotine ) | *Pennicillium islandicum* | ทำลายตับ ทำให้เกิดโรคมะเร็งตับ | ข้าวเจ้า |
| ลูทิโอไกริน ( luteoskyrin ) | *Pennicillium islandicum* | ทำลายตับ ทำให้เกิดโรคมะเร็งตับ ทำให้เกิดโรคตับแข็ง | ข้าวเจ้า |
| ซิตริโอไวริดิน ( citreoviridin ) | *Pennicillium citreoviride* | ทำให้เกิดอาการหัวใจวาย ทำลายเส้นสมองส่วนกลาง ทำลายตับ | ข้าวเจ้า |

**ตารางที่ 3 (ต่อ ) : สารพิษจากเชื้อรา(mycotoxin ) เชื้อราที่ผลิตสารพิษ อาการของโรค และอาหารที่เกิดจากปนเปื้อนจากเชื้อรา**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| สารพิษ ( mycotoxin ) | ชนิดของเชื้อราที่ผลิต | อาการเมื่อได้รับสารพิษ | อาหารที่เกิดการปนเปื้อน |
|---|---|---|---|
| รูบราทอกซิน ( rubratoxin ) | *Pennicillium rubrum* *Pennicillium purpurogenum* | ทำลายตับและไต ทำให้เลือดออกในอวัยวะภายใน เช่น ลำไส้ กระเพาะ และไต เป็นต้น | ธัญพืช |
| ซิตรินิน ( citrinin ) | *Pennicillium citrinum* | ทำให้ไตอักเสบ | ข้าวเจ้า,ธัญพืช |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4
# อุปกรณ์และวิธีการ

## 4.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

4.1.1 ตู้บ่มเชื้อ ยี่ห้อ Memmert รุ่น GTR0214

4.1.2 หม้อนึ่งความดัน ( autoclave ) ยี่ห้อ Hirayama รุ่น HVE-25 ประเทศญี่ปุ่น

4.1.3 ตู้อบฆ่าเชื้อแบบแห้ง ( hot air oven ) ยี่ห้อ Kendro รุ่น D-63450 Hanau ประเทศเยอรมัน

4.1.4 water bath ยี่ห้อ Memmert

4.1.5 auto pipette ขนาด 1000 µl

4.1.6 auto pipette ขนาด 200 µl

## 4.2 สารเคมี

4.2.1 10% tartaric acid

4.2.2 Methyl red

4.2.3 glycerol 4

4.2.4 5% α-naphthol

4.2.5 rabbit plasma

4.2.6 alcohol

4.2.7 *Cl.perfringens* diagnostic antitoxin A

4.2.8 creatine KOH

4.2.9 Agglutinating antiserum ( polyvalent ) A-67

4.2.10 KOVAC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## .3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

4.3.1 peptone solution

4.3.2 plate count agar ( PCA )

4.3.3 Potato dextrose agar ( PDA )

4.3.4 DG- 18

4.3.5 Lauryl sulphate trytose broth ( LST )

4.3.6 2% Brilliant sulphate lactose bile broth ( BGLB )

4.3.7 EC broth

4.3.8 Eosin methylene blue ( EMB ) agar

4.3.9 Triple sugar iron agar ( TSI ) slant

4.3.10 Tryptone broth

4.3.11 MR-VP medium

4.3.12 Simmon citrate broth

4.3.13 Baird-Parker medium (BP ) + egg yolk

4.3.14 Brain heart infusion ( BHI ) broth

4.3.15 Cook meat ( CM ) medium

4.3.16 TSC + egg yolk

4.3.17 Mannitol-egg yolk polymyxin ( MYP ) agar

4.3.18 Trypticase soy-sheep blood agar

4.3.19 Trypticase soy broth ( TSB )

4.3.20 Tetrathionate broth ( TTB ) + Iodine solution

4.3.21 Selenite cystine broth ( SCB )

4.3.22 Salmonella-Shigella ( SS ) agar

4.3.23 Xylose-Lysine-Desoxycholate ( XLD ) agar

4.3.24 Lysine-Indole-Motility ( LIM ) medium

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.4 วิธีการทดลอง**

**4.4.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา**

ผลิตภัณฑ์เบเกอร์รี่ 25 ตัวอย่างแบ่งออกเป็น กลุ่มที่ 1 ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังจากการผ่านการอบกระบวนการให้ความร้อน การสัมผัสโดยส่วนใหญ่เกิดจากการ บรรจุลงภาชนะ และกลุ่มที่ 2 ผลิตภัณฑ์ที่มีการตกแต่งหลังจากผ่านการอบหรือกระบวนการให้ความร้อน หรือ มีการตกแต่งด้วยครีม, แยม หรือของตกแต่งอื่นๆ

ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังจากการผ่านการอบกระบวนการให้ความร้อนที่นำมาทำการทดลอง

1. ชีสเค้ก
2. ขนมปังปอนด์
3. ขนมปังไส้กรอก
4. พายไก่
5. บราวนี่
6. ท้อฟฟี่เค้ก

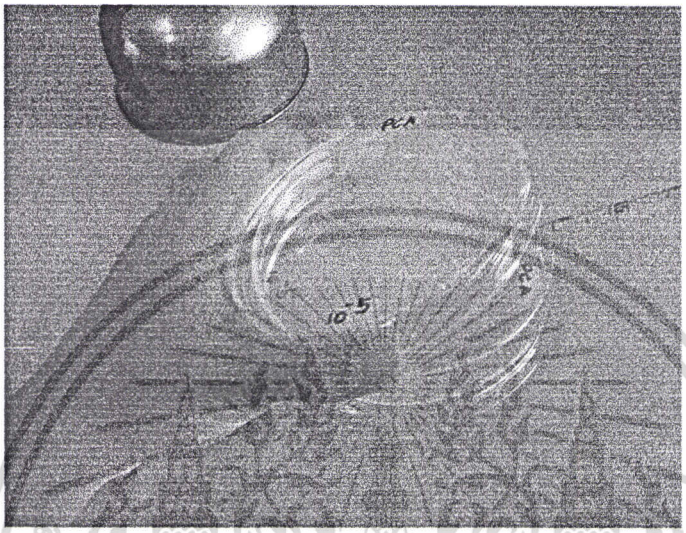
ผลิตภัณฑ์ที่มีการตกแต่งหลังจากผ่านการอบหรือกระบวนการให้ความร้อนที่นำมาทำการทดลอง

1. เอแคลร์
2. เค้กช็อคโกแล็ต
3. Sofe cake
4. แยมโรล
5. โดนัทแบบสอดไส้
6. ช็อคบอล
7. ขนมปังเนยสด

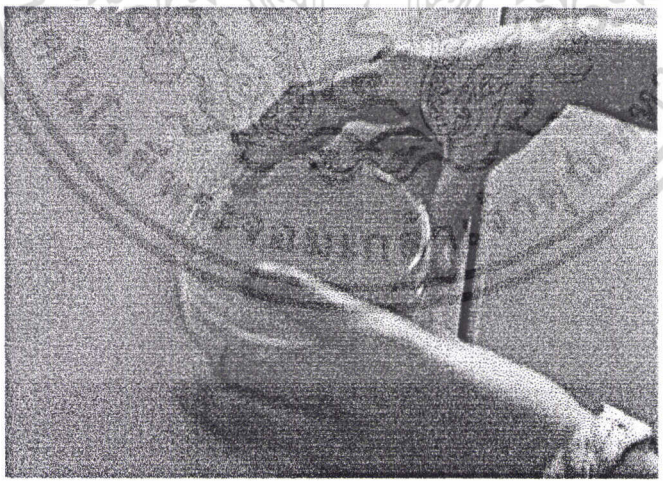
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**I.4.2 การตรวจนับจุลินทรีย์รวม ( Total plate count )**

1. เตรียมตัวอย่างอาหารเจือจางที่ความเข้มข้น 1:10 , $10^{-2}$, $10^{-3}$, $10^{-4}$, $10^{-5}$, $10^{-6}$
2. ตรวจด้วยวิธี pour plate ใช้ PCA เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ
3. บ่มที่ อุณหภูมิ 35-37 $^{\circ}$ ซ
4. รายงานผลเป็นจุลินทรีย์ต่อกรัมอาหาร




**ภาพที่ 10** : ใส่ตัวอย่างอาหารที่เจือจางแล้วลงใน plate ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

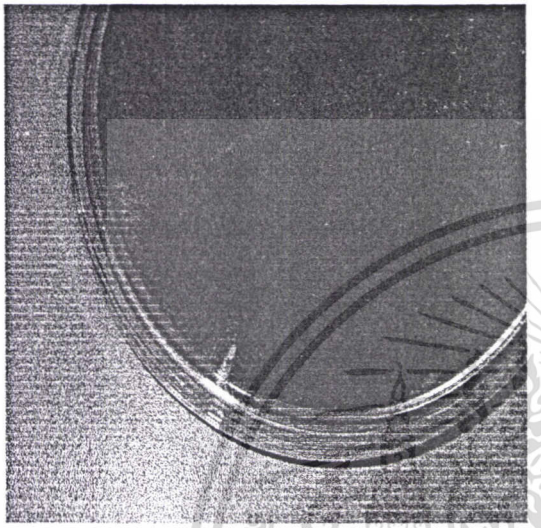


**ภาพที่ 11** : เขย่า plate เพื่อให้ตัวอย่างอาหารกระจายทั่วplate

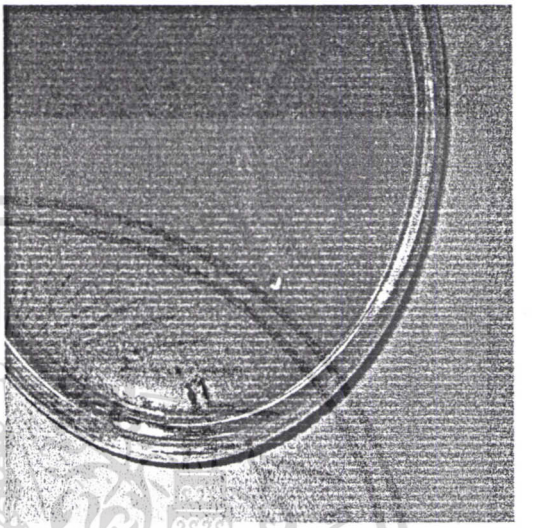
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**I.4.3 การตรวจนับเชื้อราและยีสต์**

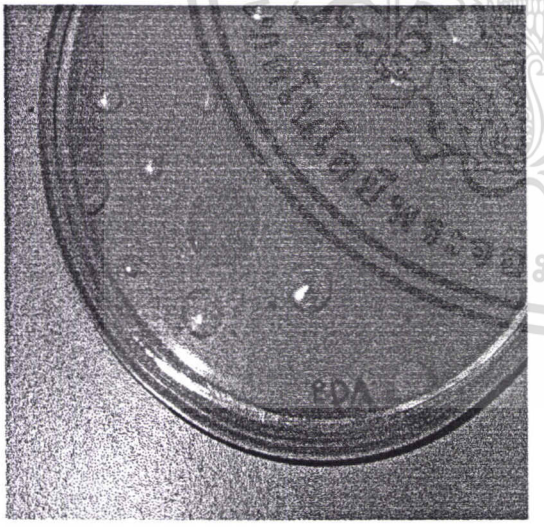
1. เตรียมตัวอย่างอาหารเจือจางที่ความเข้มข้น 1:10 , $10^{-2}$, $10^{-3}$, $10^{-4}$, $10^{-5}$, $10^{-6}$
2. ตรวจด้วยวิธี pour plate ใช้ PDA และ DG-18 เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ
3. บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 2-5 วัน
4. รายงานผลเป็นจุลินทรีย์ต่อกรัมอาหาร



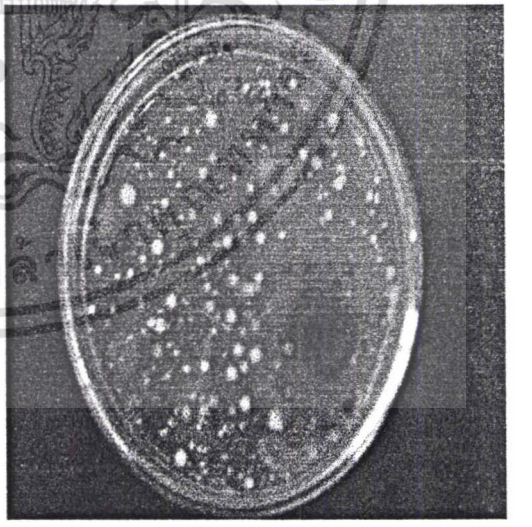
**ภาพที่ 12 :** รา ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA



**ภาพที่ 13 :** รา ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ DG-18




**ภาพที่ 14 :** ตัวอย่างโคโลนีของยีสต์ที่ขึ้น บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA



**ภาพที่ 15 :** เชื้อราและยีสต์ที่เจริญ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

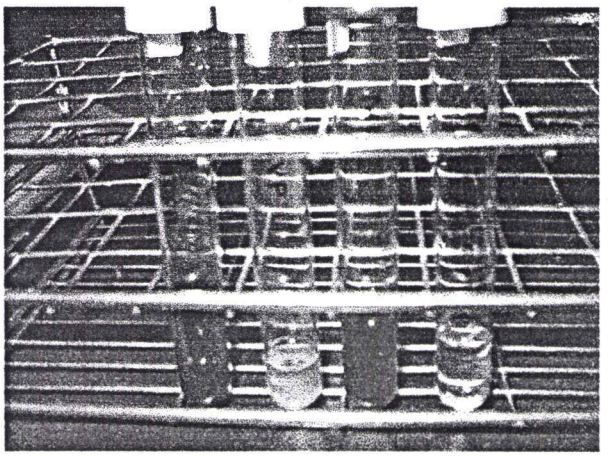
**4.4.4 การตรวจวิเคราะห์โคลิฟอร์มด้วยวิธีMPN**

1. เตรียมตัวอย่างอาหารเจือจางที่ความเข้มข้น 1:10 , $10^{-2}$, $10^{-3}$
2. Pipette 1 มิลลิลิตรของตัวอย่างอาหารแต่ละความเข้มข้น ลงใน LST ที่มี หลอดดักก๊าซที่มีฮยู่ภายในความเจือจางละ 3หลอด
3. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 $^{\circ}$ ซ เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
4. อ่านผลการทดลองที่เกิดก๊าซภายใน เมื่อครบ 48 ชั่วโมง
5. ทำการยืนยันโดยการใส่ 1 loop จากอาหาร LST ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BGLB ที่มีหลอดดักก๊าซอยู่ภายใน
6. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 $^{\circ}$ ซ เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
7. ทำการประเมิณผลด้วย ตาราง MPN

**4.4.5 การสอบ *Escherichia coli* ด้วยวิธี AOAC**

1. เตรียมตัวอย่างอาหารเจือจางที่ความเข้มข้น 1:10 , $10^{-2}$, $10^{-3}$
2. Pipette 1 มิลลิลิตรของตัวอย่างอาหารแต่ละความเข้มข้น ลงใน LST ที่มี หลอดดักก๊าซที่มีฮยู่ภายในความเจือจางละ 3หลอด
3. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 $^{\circ}$ ซ เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
4. อ่านผลการทดลองที่เกิดก๊าซภายใน เมื่อครบ 48 ชั่วโมง
5. ทำการยืนยันโดยการใส่ 1 loop จากอาหาร LST ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth ที่มีหลอดดักก๊าซอยู่ภายใน
6. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 45-46 $^{\circ}$ ซ ในwater bath เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
7. เขี่ยเชื้อ 1 loop จากหลอด EC broth ที่มีก๊าซเกิดขึ้น ทำการ Streak ลงบน EMB
8. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 $^{\circ}$ ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
9. นำไปทดสอบ IMViC test ( Indole , MR , VP , Citrate )
10. ประเมิณค่า MPN เป็น + + - - หรือ - + - -

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 16 : ขั้นตอนการทดสอบ IMViC test

**1.4.6 การตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus aureus* ตัวอย่างอาหาร**

การทดลองและรายงานผลการหาปริมาณโดยวิธี direct plate count

1.) เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัมในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ

2.) เทน้ำยาสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วย stomacher

3.) ทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับ ตามความเหมาะสมด้วยน้ำยาสำหรับเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร

4.) ดูดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางหยดลงบน BP medium ที่มีการเติมไข่แดงที่ปราศจากเชื้อ ระดับความเจือจางละ 2 จานเพาะเชื้อ จานละ 0.1 มิลลิลิตร

5.) ใช้แท่งแก้วรูปตัว L ทำการเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ทั่วตามวิธี spread plate ให้ครบทุกระดับความเจือจางที่ต้องการ

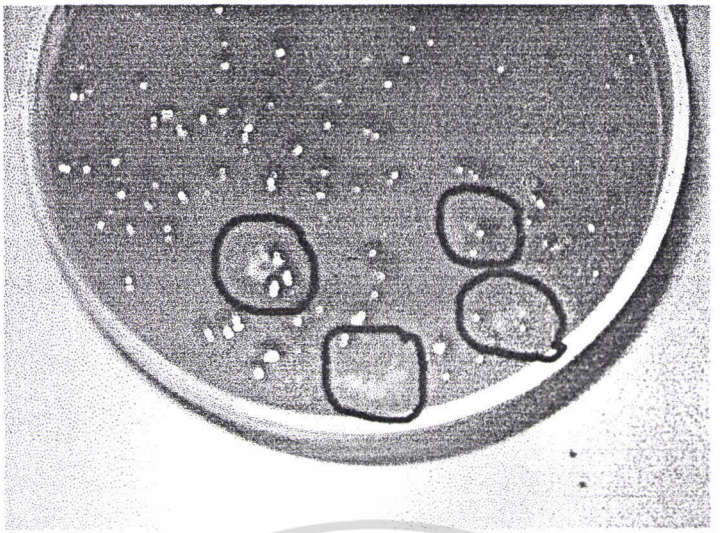
6.) บ่มเพาะเชื้อทั้งหมดในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 ° ซ เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

7.) ตรวจนับโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S.aureus* ตามลักษณะที่เจริญในอาหารแต่ละชนิด ( *S.aureus* โดยมากจะมีเอนไซม์ lecithinase ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับเลซิทินในไข่แดงที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้เกิดตะกอนของเกลือฟอสเฟต เห็นเป็นตะกอนขุ่น ( oplaque/creamy zone) รอบโคโลนีของเชื้อที่เจริญบนอาหาร )

8.) นำลักษณะโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S.aureus* ไปทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์ coagulase ต่อไป

9.) รายงานจำนวน *S.aureus* ที่ได้ในลักษณะของ coagulase positive S.aureus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**ภาพที่ 17** : โคโลนีที่คาดว่าจะเป็นเชื้อ *S.aureus*

<u>การทดสอบการสร้างเอนไซม์ของ *S.aureus*</u>

1.) เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI broth ลงในหลอดทดลองปราศจากเชื้อขนาดเล็กหลอดละ 0.3 มิลลิลิตร

2.) ใช้เข็มเขี่ยเชื้อเขี่ยโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S.aureus* เพาะเลี้ยงเชื้อในหลอดที่มี BHI broth บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 °ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3.) ดูด rabbit plasma ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองเพาะเชื้อ BHI broth บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 °ซ เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง

4.) อ่านผล โดยดูการแข็งตัวของ plasma อันเนื่องมาจากเอนไซม์ coagulase ที่เชื้อ *S.aureus* สร้างขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**.4.7 การตรวจหาเชื้อ B.cereus**

**ารทดลองและรายงานผลการตรวจนับเชื้อโดยวิธี spread plate technique**

.) เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัมในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ

.) เทน้ำยาสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วย stomacher

.) ทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับตามความเหมาะสมด้วยน้ำยาเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร

.) ดูดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางใส่ลงใน จานเพาะเชื้อ MYP agar ระดับความเจือจางละ 2 จาน เพาะเชื้อ จานเพาะเชื้อละ 0.1 มิลลิลิตร

.) ใช้แท่งแก้วรูปตัว L เกลี่ยตัวอย่างอาหารแต่ละระดับความเจือจางให้ทั่วจาน

.) คว่ำจานเพาะเชื้อแล้วนำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 $^{\circ}$ ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

.) ตรวจนับโคโลนีของเชื้อที่ให้ลักษณะดังนี้ คือ โคโลนีสีชมพู เนื่องจากเชื้อดังกล่าวไม่สามารถหมักย่อยน้ำตาล mannitol ให้เป็นกรดได้ โคโลนีที่เจริญบนอาหารนี้จึงยังคงมีสีชมพูหมือนสีของอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังเดิมมี opaque zone รอบโคโลนี เนื่องจากเชื้อดังกล่าวมีเอนไซม์ lecithinase เช่นเดียวกับ *S.aureus* และ *Cl.perfringens* ดังนั้น เมื่อเชื้อเจริญบนอาหารเพาะเชื้อ MYP agar ซึ่งมีส่วนผสมของ egg yolk อยู่เอนไซม์ lecithinase จะไปทำปฏิกิริยากับเลซิทินในไข่แดง ทำให้เกิดตะกอนขุ่น ( opeque zone ) รอบ ๆ โคโลนีของเชื้อคล้าย *S.aureus* และ *Cl.perfringens* แต่สีของ opazone จะยังคงเป็นสีชมพูเหมือนเดิมเหมือนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกัน

.) นำลักษณะโคโลนีดังกล่าวไปทำการตรวจยืนยันโดยดูปฏิกิริยา hemolytic activity test เพื่อดูการสลายเม็ดเลือดแดงของแกะบนอาหารแข็งที่มีส่วนผสมของเลือดแกะ ( blood agar )

.) นับจำนวนโคโลนีที่ให้ผลการทดสอบ hemolytic positive ไปคำนวณหาปริมาณของเชื้อ *B.cerues* ต่อกรัมของตัวอย่างอาหาร

<u>ารทำปฏิกิริยา</u> hemolytic activity test

.) แบ่งจานเพาะเชื้อออกเป็น 6 หรือ 8 ส่วนเท่า ๆกัน

.) ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ เขี่ยโคโลนีของเชื้อที่สงสัยว่าเป็น *B.cereus* บน MYP agar ให้เชื้อติดที่ปลายเข็มเพียงเล็กน้อย

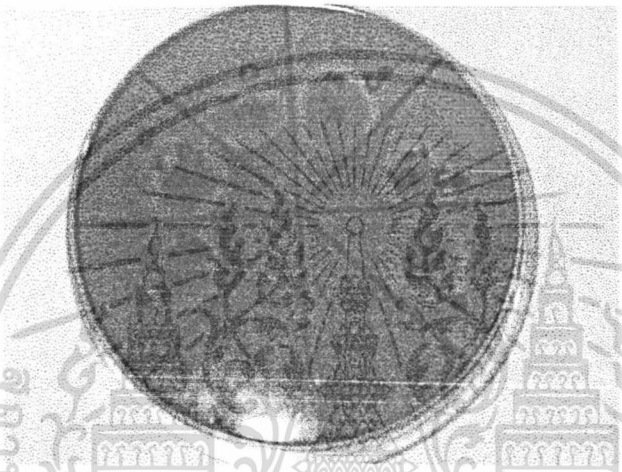
.) นำเชื้อที่ติดอยู่ปลายเข็มไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อ Trypyicase soy sheep blood agar โดยแตะเชื้อลงบนผิวของอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าว ( 1 ช่อง ต่อเชื้อ 1 โคโลนี )

.) คว่ำจานเพาะเลี้ยงเชื้อทั้งหมดแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30$^{\circ}$ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

.) ดูผลปฏิกิริยา hemolytic positive ซึ่ง *B.cereus* จะให้ผลดังนี้ คือ รอบ ๆ โคโลนีของเชื้อจะมีลักษณะที่เรียกว่า clear zone ทั้งนี้เนื่องจากระหว่างที่เชื้อเจริญบนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าวนี้ เชื้อจะสร้างเอนไซม์ hemolysin ซึ่งเอนไซม์ที่ *B.cereus* ผลิตขึ้นนี้จัดว่าเป็น strongly hemolysin จะมีผลในการสลายเม็ดเลือดแดงของแกะซึ่งเป็นส่วนผสมอยู่ในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จึงมีผลทำให้เม็ดเลือดแดงที่อยู่ใต้และรอบ ๆ โคโลนีสลาย ดังนั้น รอบโคโลนีของเชื้อจะใส ( clear zone ) เป็นวงกว้าง 2-4 มิลลิเมตร นับจากขอบโคโลนี ซึ่งลักษณะรอบโคโลนีที่ใสนี้อาจเรียกว่า beta-hemolytic แต่ถ้าเป็นเชื้อในกลุ่มอื่นที่ให้ลักษณะโคโลนีที่คล้ายกับ *B.cereus* บน MYP agar เช่น *B.thuringensis* และ *B.anthracis* การเกิด hemolysis จะให้ผลแตกต่างจาก *B.cereus* กล่าวคือ *B.thuringensis* จะให้ผล beta-hemolytic เช่นเดียวกับ *B.cereus* แต่ clear zone รอบโคโลนีของเชื้อจะน้อยกว่า *B.cereus* ( ประมาณ 1-2 มิลลิเมตร ) ทั้งนี้เนื่องจาก *B.thuringensis* จะผลิตเอนไซม์ hemolysin ได้เพียงเล็กน้อย ( weakly hemolysin ) ส่วน *B.anthracis* จะไม่มี clear zone รอบ ๆ โคโลนี เนื่องจากว่าเชื้อดังกล่าวไม่สามารถผลิตเอนไซม์ hemolysin ได้



**ภาพที่ 18** : การทำปฏิกิริยา hemolytic activity test

**4.4.8 การตรวจหาเชื้อ *Cl. perfringens***

**การทดลองโดยการตรวจว่าพบหรือไม่พบเชื้อในตัวอย่างอาหาร**

1.) เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัมในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ

2.) เทน้ำยาเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วย stomacher

3.) ทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับตามความเหมาะสมด้วยน้ำยาสำหรับเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร

4.) ดูดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางใส่ลงในหลอด Cooked meat ( CM ) medium ซึ่งเพิ่งออกจาก autoclave ใหม่ ๆ ( ถ้าใช้ CM medium ที่เตรียมไว้นานแล้วอาจมีอากาศเข้าไปอยู่ในอาหารดังกล่าวเป็นปริมาณมาก ดังนั้นก่อนใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้นานนี้ ควรนำหลอดอาหารดังกล่าวไปทำการต้มในน้ำเดือด เพื่อไล่อากาศประมาณ 15 นาทีก่อนนำมาใช้ ) โดยใส่ตัวอย่างอาหารหลอดละ 1 มล. ระดับความเจือจางละ 2 หลอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

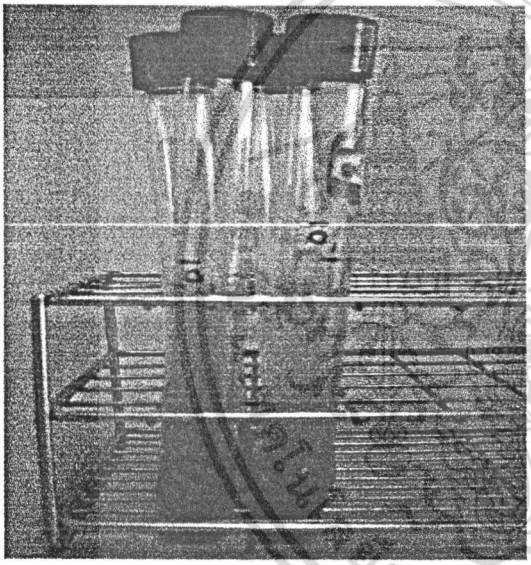
5.) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 ° ซ เป็นเวลา 18-234 ชั่วโมง

6.) ใช้ลูบจุ่มเชื้อจากหลอด CM medium โดยพยายามเขี่ยเชื้อจากก้นหลอดของ CM medium ( เนื่องจาก *Cl.perfringens* เป็นเชื้อในกลุ่ม facultative anaerobe ดังนั้นการเจริญของเชื้อมักจะอยู่ทางด้านก้นหลอด ) นำมาถ่ายเพาะเชื้อบน TSC + egg yolk agar

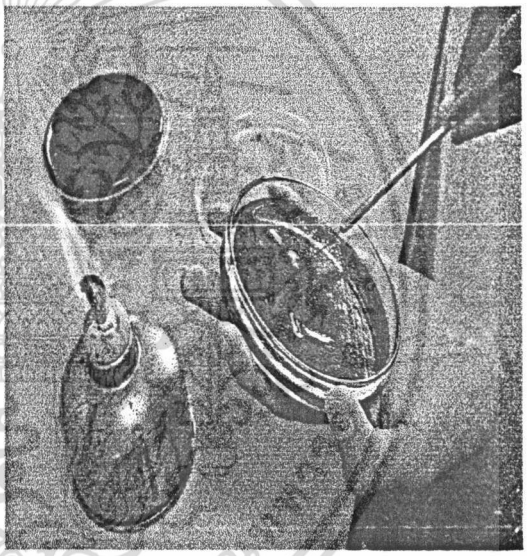
7.) คว่ำจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปใส่ไว้ใน Anaerobic jar บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 ° ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

8.) ตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ให้ลักษณะโคโลนีสีดำและมีโซนขุ่นขาวรอบ ๆ โคโลนี (opaque zone ) เนื่องจาก lecithinase positive เหมือนกับ *S.aureus*

9.) นำลักษณะโคโลนีดังกล่าวไปทำการทดสอบยืนยัน โดยการทำปฏิกิริยาที่เรียกว่าNagler reaction test



**ภาพที่ 19** : อาหารเลี้ยงเชื้อ Cooked meat



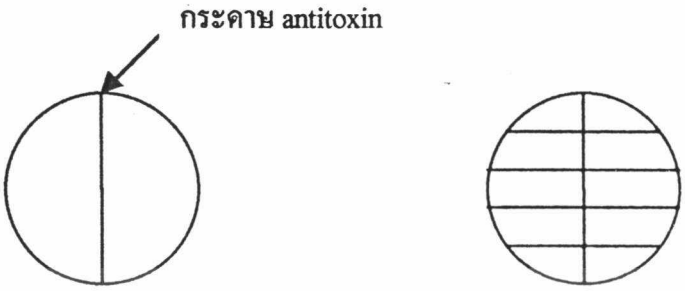
**ภาพที่ 20** : Streak plate ตัวอย่างอาหารจาก Cooked meat ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Cl.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ารทดสอบปฏิกิริยา Nagler reaction test</u>

1.) แบ่งครึ่งจานเพาะเชื้อ TSC + egg yolk agar ที่ผิวหน้าวุ้นไม่มีหยดน้ำ

2.) แบ่งเส้นผ่านครึ่งของจานเพาะเชื้อ 5-6 เส้น ( ดังรูป )




3.) ใช้ลูบหรือเข็มเขี่ยเชื้อ เขี่ยโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *Cl.perfringens* มาทำการทดสอบ Nagler reaction test โดยลากเชื้อให้เป็นเส้นตรง บนจานเพาะเชื้อ TSC + egg yolkagar

4.) ตัดกระดาษทดสอบ *Cl.perfringens* diagnostic antitoxin A วางลงบนกึ่งกลางจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร TSC + egg yolk agar

5.) นำจานเพาะเชื้อทั้งหมดใส่ใน anaerobic jar แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 o ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

6.) ตรวจสอบผลของปฏิกิริยา nagler reaction โดยดูการเกิด opaque zone ของเชื้อ ซึ่งจะเห็นการเจริญของเชื้อตามแนวที่ลาก และมี opaque zone เกิดขึ้น แต่ในส่วนที่อยู่ใกล้กับ antitoxin จะเห็นการเจริญของเชื้อตามแนวที่ opaque zone เกิดขึ้น ทั้งนี้เนื่องจาก antitoxin A จะยับยั้งการสร้างเอนไซม์ lecithinase ของเชื้อ *Cl.perfringens* type A รายงานผลโคโลนีที่ให้ลักษณะดังกล่าวว่าเป็น *Cl.perfringens* type A แต่ถ้าส่วนที่อยู่ใกล้กับ antitoxin A มีเชื้อเจริญและยังคงมี opaque zone เกิดขึ้น แสดงว่า โคโลนีดังกล่าว อาจเป็น *Cl.perfringens* type อื่น ๆ หรือเชื้อ anaerobe อื่นที่สามารถเจริญบนอาหารชนิดนี้ได้ อาจทำการตรวจยืนยันโดยใช้ antitoxin ของ type อื่น มาทำปฏิกิริยาnagler reaction test ต่อได้ โดยปฏิบัติตามขั้นตอนดังกล่าวตั้งแต่ต้น

7.) รายงานผลจำนวนโคโลนีที่เป็น *Cl.perfringens* type A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.4.9 การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp.**

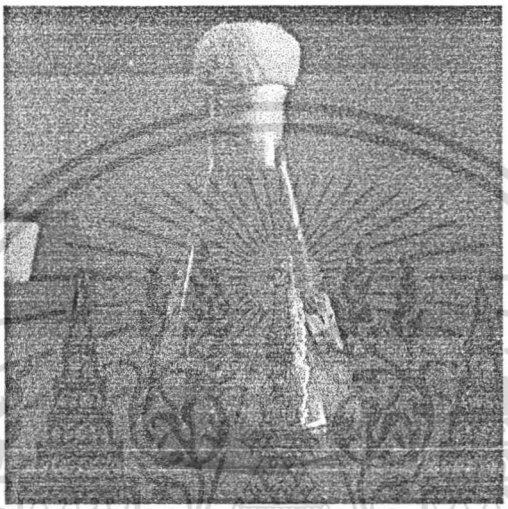
**การทดลองและรายงานผล**

Pre-enrichment

1.) เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัมใส่ลงในภาชนะปิดที่ปลอดเชื้อ ( ฟลาส์กอุดจุกสำลี )

2.) เติม TSB 225 มิลลิลิตร เขย่าให้ตัวอย่างอาหารกระจายในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ TSB อย่างสม่ำเสมอ

3.) นำไปบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 o ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง



**ภาพที่ 21 : ตัวอย่างอาหาร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB**

Selective enrichment

1.) ใช้ปิเปตปลอดเชื้อถ่ายเพาะเชื้อจาก TSB ลงในหลอดทดสอบที่มีอาหารเหลวเพาะเชื้อ TTB ( 9 มิลลิลิตร ) และ SCB ( 9 มิลลิลิตร ) หลอดละ 1 มิลลิลิตร

2.) นำหลอดทั้งหมดไปบ่มในตู้อุณหภูมิ 35-37 ° ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3.) เขี่ยเชื้อจากหลอด TTB และ SCB ลงบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อ SS และ XLD agar

4.) คว่ำจานและบ่มจานเพาะเชื้อทั้งหมดในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 ° ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

5.) ดูลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อ SS และ XLD agar ซึ่งโคโลนีของซาลโมเนลลาบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อทั้งสองจะมีลักษณะ ดังนี้

SS agar ลักษณะโคโลนีของซาลโมเนลลาจะกลมใส มีหรือไม่มีจุดสีดำของการเกิดไฮโรเจนซัลไฟด์ในโคโลนี

XLD agar ลักษณะโคโลนีจะกลมมีสีชมพู มีหรือไม่มีจุดโคโลนีสีดำของการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในโคโลนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ภาพที่ 22 และ ภาพที่ 23** : ถ่ายตัวอย่างอาหารจาก TSB ลงใน TTBและ SCB

Biochemical screening test

1.) นำลักษณะเฉพาะของโคโลนีดังกล่าวในแต่ละอาหารเลี้ยงเชื้อไปทำการทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมี โดยใช้เข็มเขี่ยโคโลนีที่สงสัยไปเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI agar , LIM medium และ TSA slant

2.) นำหลอดทดสอบทั้งหมดไปบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 $^{\circ}$ ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3.) ดูผลปฏิกิริยาทางชีวเคมีในหลอด TSI agar slant และ LIM medium ซึ่งเชื้อซาลโมเนลลาจะให้คุณสมบัติทางชีวเคมี ดังนี้

| TSI | | | | LIM | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Slant | Butt | $H_2S$ | gas | lysine | indole | Motile |
| K | A | +/- | +/- | + | - | +/- |

K = alkaline ปลายหลอด ( slant ) ของ TSI จะมีสีแดง ( ชมพูบานเย็น )

A = acid ก้นหลอด ( butt ) ของ TSI จะมีสีเหลือง

$H_2S$ + = ในหลอด TSI จะเกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งซาลโมเนลลาส่วนใหญ่จะให้ผล +

$H_2S$ - = ไม่มีตะกอนสีดำในหลอด TSI ทั้งนี้เนื่องจากไม่มีไฮโดรเจนซัลไฟด์

Gas + = มีฟองอากาศดันวุ้นของ TSI เนื่องจากซาลโมเนลลาส่วนใหญ่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วได้กรดและแกสเพียงเล็กน้อย

Gas - = ไม่มีฟองอากาศให้เห็นในหลอด TSI ซึ่งมีบางเซโรวาร์ให้ผล –

Lysine + = จะมีสีม่วงทั้งหลอดเนื่องจากซาลโมเนลลามีเอนไซม์ lysine decarboxylase ไปย่อย lysine ทำให้อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีความเป็นด่างมากขึ้น มีผลทำให้ brom cresol purple ซึ่งใช้เป็น indicator ในอาหารดังกล่าวและมีสีม่วงที่พีเอชเป็นกลางมีสีม่วงเข้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากยิ่งขึ้น ซึ่งซาลโมเนลลาส่วนมากจะมีเอนไซม์ดังกล่าวนี้

ysine - = หลอดอาหารจะมีสีเหลือง เนื่องจากเชื้อที่ไม่มีเอนไซม์ lysine decarboxylase แต่มีเอนไซม์ lysine deaminase ซึ่งจะไปย่อย lysine ทำให้พีเอชของอาหารต่ำลง มีผลทำให้สีม่วงของ brom cresol purple เปลี่ยนแปลงไปเป็นสีเหลือง

ndole + = จะมีสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจากหยดน้ำยา KOVAC

ndole - = ไม่เกิดสีแดงหลังจากหยดน้ำยา KOVAC ซึ่งซาลโมเนลลาจะไม่มีเอนไซม์ tryptophanase จึงไม่เกิดปฏิกิริยากับKOVAC

notile + = หลอดอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ LIM จะขุ่นทั้งหลอด ทั้งนี้เนื่องจากซาลโมเนลลาส่วนมากจะมีแฟลกเจลลาใช้ในการเคลื่อนที่ ดังนั้น เมื่อทำการ stab เชื้อลงในหลอดอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ LIM แล้วบ่มเพาะเชื้อซาลโมเนลลาจะเจริญเคลื่อนที่ออกจากรอย stab ไปทุกทิศทุกทาง จึงทำให้หลอดขุ่น

notile - = หลอดอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจะมีเชื้อเจริญบริเวณรอย stab เท่านั้น ส่วนบริเวณอาหารรอบรอย stab จะใส ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อไม่มีแฟลกเจลลาใช้ในการเคลื่อนที่ จึงเจริญอยู่เฉพาะบริเวณรอย stab ซาลโมเนลลาที่ไม่มีแฟลกเจลลา ได้แก่ *S.Pullorum* และ *S.Gallinarum*

Serological test

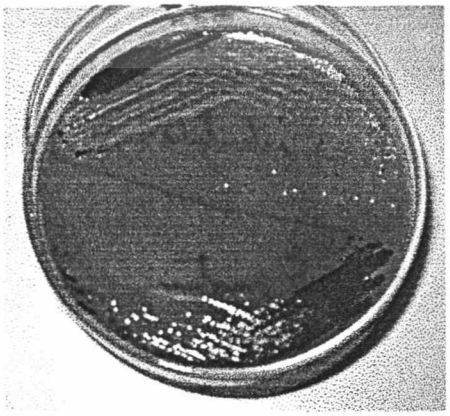
1.) นำหลอด TSA salnt ที่สงสัยว่าเป็นซาลโมเนลลาจากการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีข้างต้นมาทำการทดสอบยืนยันคุณสมบัติทางเซโรโลยี

2.) หยด Agglutinating antiserum ( polyvalent ) A-67 ลงบนสไลด์ที่สะอาด

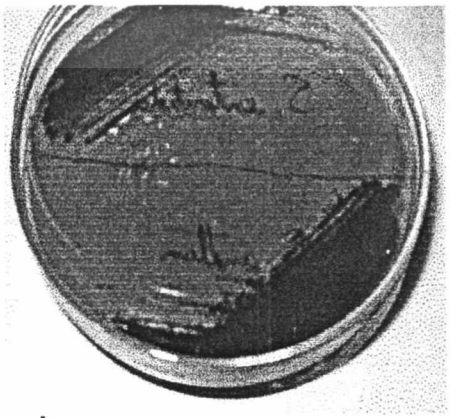
3.) ใช้ห่วงหรือเข็มเขี่ยเชื้อจาก TSA slant เกลี่ยเชื้อให้ทั่วหยดของ antiserum บนสไลด์

4.) สังเกตดูการเกิดตะกอนของเชื้อในหยด antiserum ถ้าหากเชื้อดังกล่าวเป็นซาลโมเนลลาจะเกิดการตกตะกอนของเชื้อขึ้น ถ้าไม่ใช่เชื้อจะละลายอยู่ในหยดของ antiserum ขาวขุ่นเหมือนน้ำนมทั้งหยด

5.) ส่งตรวจวิเคราะห์ยืนยันเพื่อหาชนิดเซโรวาร์หรือเพื่อเก็บเป็นข้อมูลตามหน่วยงานที่รับตรวจวิเคราะห์ เช่น กองพยาธิวิทยาคลีนิค กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เป็นต้น



**ภาพที่ 24 :** ตัวอย่าง โคโลนีบนอาหาร SS agar



**ภาพที่ 25 :** ตัวอย่าง โคโลนีบนอาหาร XLD agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5

## ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ โดยที่ทำการแบ่งกลุ่มของผลิตภัณฑ์ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังจากผ่านการอบหรือกระบวนการให้ความร้อนแล้ว ได้แก่

1. พายไก่
2. บราวนี่
3. ขนมปังไส้กรอก
4. ขนมปังปอนด์
5. ชีสเค้ก
6. ทอฟฟี่เค้ก

และ กลุ่มของผลิตภัณฑ์ที่มีการตกแต่งหลังผ่านการอบหรือกระบวนการให้ความร้อน ได้แก่

1. แยมโรล
2. ขนมปังเนยสด
3. เค้กช็อคโกแล็ต
4. เอแคลร์
5. Sofe cake
6. โดนัทแบบสอดไส้
7. ช็อคบอล

ปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์แสดงไว้ใน ตารางที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4 :** ตารางแสดงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆที่พบในตัวอย่างที่ทำการตรวจพบ

| ชนิดอาหาร | Sanitary index microorganism | | | | Pathogens | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | จำนวนจุลินทรีย์รวม (cfu/g) | เชื้อรา (cfu/g) | MPN coliforms / กรัม | *E.coli* (MPN*E.coli*/g) | *S.aureus* (cfu/g) | *B.cereus* (cfu/g) | *Cl.perfringens* / 0.01 g(cfu/g) | *Salmonella* spp. /25 g (cfu/g) | |
| มาตรฐาน * | $1 \times 10^6$ | ++ | < 500 | < 3 | < 100 | < 100 | ไม่พบ | ไม่พบ | |
| 1.) แยมโรล 1 | $3.50 \times 10^6$ * | / | >1100 * | < 3 | - | - | - | - | + |
| แยมโรล 2 | $2.98 \times 10^6$ * | / | >1100 * | < 3 | - | - | - | - | + |
| 2.) ขนมปังเนยสด 1 | < 300 | - | 460 | < 3 | - | - | - | - | // |
| ขนมปังเนยสด 2 | $4.33 \times 10^7$ * | - | 29 | < 3 | - | - | - | - | + |
| 3.) เค้กช็อกโกแลต 1 | $3.59 \times 10^8$ * | / | >1100 * | 6.2** | $1.7 \times 10^4$* | $3 \times 10^2$* | - | - | + |
| เค้กช็อกโกแลต 2 | $2.07 \times 10^9$ * | - | >1100 * | 7.2 * | - | - | - | - | + |
| 4.) เอแคลร์ 1 | $8.03 \times 10^8$ * | - | >1100 * | 43** | 100* | - | - | - | + |
| เอแคลร์ 2 | $2.49 \times 10^5$ | / | 1100 * | 1100 * | - | - | - | - | + |
| 5.) soft cake 1 | $3.34 \times 10^8$ * | / | >1100 * | < 3 | - | - | - | - | + |
| soft cake 2 | $1.44 \times 10^7$ * | - | >1100 * | 1100 * | - | - | - | - | + |
| 6.) โดนัทสอดไส้ 1 | $5 \times 10^7$ * | / | >1100 * | >1100 * | - | - | - | - | + |
| โดนัทสอดไส้ 2 | $2.27 \times 10^9$ * | / | >1100 * | < 3 | - | $7 \times 10^2$* | - | - | + |

ตารางที่ 4 ( ต่อ ): ตารางแสดงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆที่พบในตัวอย่างที่ทำการตรวจพบ

| ชนิดอาหาร | Sanitary index microorganism | | | | Pathogens | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | จำนวนจุลินทรีย์รวม (cfu/g) | เชื้อรา (cfu/g) | MPN coliforms / กรัม | *E.coli* (MPN*E.coli*/g) | *S.aureus* (cfu/g) | *B.cereus* (cfu/g) | *Cl.perfringens* / 0.01 g(cfu/g) | *Salmonella* spp. /25 g (cfu/g) | |
| มาตรฐาน * | $1 \times 10^6$ | ++ | < 500 | < 3 | < 100 | < 100 | ไม่พบ | ไม่พบ | |
| 7.) ช็อคบอล 1 | $4.22 \times 10^{10}$ * | - | >1100 * | >1100 * | - | - | - | - | + |
| ช็อคบอล 2 | $6.95 \times 10^7$ * | / | >1100 * | >1100** | - | - | - | - | + |
| 8.) พายไก่ 1 | $2 \times 10^4$ | / | 240 | 29 * | - | - | - | - | + |
| พายไก่ 2 | $1.26 \times 10^7$ * | - | 23 | 23 * | - | - | - | - | + |
| 9.)ทอฟฟี่เค้ก 1 | $2.28 \times 10^8$ * | - | < 3 | < 3 | - | - | - | - | + |
| ทอฟฟี่เค้ก 2 | $3.76 \times 10^7$ * | / | 11 | < 3 | - | - | - | - | + |
| 10.) บราวนี่ 1 | $8.31 \times 10^7$ * | / | 12 | < 3 | - | - | - | - | + |
| บราวนี่ 2 | $1.56 \times 10^8$ * | - | 3 | < 3 | - | - | - | - | + |
| 11.)ขนมปังไส้กรอก 1 | $1.46 \times 10^6$ * | - | 9.1 | < 3 | - | - | - | - | + |
| ขนมปังไส้กรอก 2 | $8.5 \times 10^4$ | / | 240 | < 3 | - | - | - | - | // |
| 12.) ขนมปังปอนด์ 1 | $2.04 \times 10^8$ * | - | >1100 * | >1100 * | - | - | - | - | + |
| ขนมปังปอนด์ 2 | $2.45 \times 10^8$ * | - | >1100 * | >1100 * | - | - | - | - | + |
| 13.) ชีสเค้ก | $4.9 \times 10^4$ | - | 3 | < 3 | - | - | - | - | + |

* คือ ตรวจพบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆเกินมาตรฐานที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนดไว้

** คือ ทำการยืนยันผลด้วย Imvic test ได้ผล + + - -

+ คือ เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีเชื้อจุลินทรีย์มากเกินมาตรฐานที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้กำหนดไว้

++ คือ ปริมาณเชื้อราที่ตรวจ แต่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทยไม่ได้มีการกำหนดไว้

/ คือ ตัวอย่างที่มีการตรวจพบเชื้อรา

- คือ ไม่มีการตรวจพบในผลิตภัณฑ์นั้นๆ

# บทที่ 6
## สรุปผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการศึกษาเพื่อตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีในผลิตภัณฑ์ขนมอบ โดยในแบ่งกลุ่มที่ใช้ทดสอบออกเป็น 2 กลุ่มหลักๆ คือ ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน และผลิตภัณฑ์ที่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อนแล้ว โดยตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมด 25 ตัวอย่าง และใช้มาตรฐานที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนดขึ้น สำหรับ อาหารปรุงสุกทั่วไปเป็นเกณฑ์ โดยเชื้อจุลินทรีย์ ที่ใช้ตรวจสอบออกเป็น 2 กลุ่มคือ เชื้อที่บ่งบอกสุขลักษณะ ( Sanitary index ) ซึ่งเชื้อที่ทำการตรวจสอบ คือ จุลินทรีย์รวม (Total plate count ) , โคลิฟอร์ม ( Coliform ) , *E.coli* , *S.aureus* และ เชื้อรา เชื้อที่ก่อให้เกิดโรค ( Pathogen ) ซึ่งเชื้อที่ทำการตรวจสอบ คือ *Salmonellae.* , *Clostridium perfringens* , *S.aureus* และ *B.cereus*

ผลการทดลองที่ได้จากการตรวจสอบเชื้อที่บ่งบอกสุขลักษณะ(Sanitary index)จำนวนจุลินทรีย์รวมมาตรฐานที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนดไว้ $1x\ 10^6$ cfu/g จากตัวอย่างที่ใช้ทดลอง 25 ตัวอย่าง พบว่า เกินมาตรฐาน จำนวน 20 ตัวอย่าง คิดเป็น 80% แบ่งเป็น ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน พบปริมาณจุลินทรีย์ที่ไม่ได้มาตรฐาน 8 จาก 11 ตัวอย่าง คิดเป็น72.73 % ส่วนผลิตภัณฑ์ที่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน พบว่าเกินมาตรฐาน 12 จาก 14 ตัวอย่าง คิดเป็น 85.71% เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มโคลิฟอร์มที่มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนดไว้ ต้องพบน้อยกว่า 500 MPN/g จากตัวอย่างที่ใช้ทดลอง 25 ตัวอย่างพบว่า เกินมาตรฐานจำนวน 14 ตัวอย่าง คิดเป็น 56% แบ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน พบว่าไม่ได้มาตรฐาน 2 จาก 11 ตัวอย่าง คิดเป็น 18.18 % และ ผลิตภัณฑ์ที่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน พบ 12 จาก 14 ตัวอย่าง คิดเป็น 85.71% เชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม *E.coli* มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนดไว้ ต้องพบน้อยกว่า 3 MPN *E.coli* /g จากตัวอย่างที่ใช้ทดลอง 25 ตัวอย่าง พบว่า เกินมาตรฐานจำนวน 3 ตัวอย่าง คิดเป็น 12 % โดยไม่พบในผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน ส่วน ผลิตภัณฑ์ที่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน พบ 3 จาก 14 ตัวอย่าง คิดเป็น 21.43 % เชื้อ *S.aureus* มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนดไว้ ไม่เกิน 100 cfu/g จากตัวอย่างที่ใช้ทดลอง 25 ตัวอย่าง พบว่า เกินมาตรฐาน จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็น 8 % โดยไม่พบในผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน ส่วนผลิตภัณฑ์ที่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน พบ 2 จาก 14 ตัวอย่าง คิดเป็น 14.29 % เชื้อรา ไม่มีการระบุมาตรฐานในกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จากตัวอย่างที่ใช้ทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25 ตัวอย่าง พบว่า เกินมาตรฐานจำนวน 9 ตัวอย่าง คิดเป็น 36% แบ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน พบว่าไม่ได้มาตรฐาน 9 จาก 11 ตัวอย่าง คิดเป็น 36.36 % และผลิตภัณฑ์ที่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน พบ 6 จาก 14 ตัวอย่าง คิดเป็น 42.86 %

เชื้อที่ก่อให้เกิดโรค( Pathogen ) การตรวจสอบเชื้อ *Salmonellae* มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนดไว้ ต่อ 25 กรัม ต้องไม่พบ และ จากการทดสอบไม่ตรวจพบ เชื้อ *Salmonellae* ทั้งในผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน และ ผลิตภัณฑ์ที่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน เชื้อ *Clostridium perfringens* มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนดไว้ ต่อ 0.01 กรัม ต้องไม่พบ จากการทดสอบไม่ตรวจพบ เชื้อ *Clostridium perfringens* ทั้งในผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน และ ผลิตภัณฑ์ที่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน ส่วนเชื้อ *S.aureus* และ *B.cereus* มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนดไว้ ไม่เกิน 100 cfu/g จากตัวอย่างที่ใช้ทดลอง 25 ตัวอย่าง พบว่า เกินมาตรฐานจำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็น 8 % โดยไม่พบในผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน ส่วนผลิตภัณฑ์ที่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน พบ 2 จาก 14 ตัวอย่าง คิดเป็น 14.29 %

จากการทดลอง พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่มีการตกแต่งหลังการอบหรือผ่านกระบวนการให้ความร้อนแล้วนั้น มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆในปริมาณที่มากกว่า ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน ทั้งเชื้อที่บ่งบอกสุขลักษณะส่วนบุคคล และสุขลักษณะในการผลิต เช่น การตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์รวม การตรวจหา MPN coliform การตรวจหา *E.coli* และการตรวจหา *S.aureus* ที่เป็นเชื้อก่อให้เกิดโรค ซึ่งสามารถบ่งบอกถึงสุขลักษณะส่วนบุคคลได้เป็นอย่างดี เนื่องจาก เชื้อในประเภทนี้ จะพบตามผิวหนัง ใบหน้า นั้นหมายถึงในระหว่างการผลิตผู้ที่ทำการผลิตใช้มือมาสัมผัสกับใบหน้าและไม่มีการล้างมือก่อนที่ทำการผลิตต่อไป

ส่วนในกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ นอกจาก *S.aureus* แล้วยังมี *B.cereus* , *Clostridium perfringens* และ *Salmonellae* ที่เป็นเชื้อก่อให้เกิดโรคที่ผู้บริโภคไม่สามารถสังเกตุการเปลี่ยนแปลงได้จากภายนอก จะมีการปรากฏอาการก็ต่อเมื่อ มีการรับประทานเชื้อเข้าไป ซึ่งเชื้อก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษแต่ละชนิดจะมีระยะการปรากฏ อาการและความรุนแรงของอาการที่ไม่เท่ากัน เช่น *S.aureus* ที่จะปรากฏอาการ ภายใน 6-24 ชั่วโมง ส่วน *Salmonellae* ใช้ระยะเวลาที่ปรากฏอาการ 1-7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองที่ได้ในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการตกแต่งหลังการอบหรือผ่านกระบวนการให้ความร้อนนั้น เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีโอกาสเสี่ยงในการที่จะบริโภคจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคน้อยกว่า ผลิตภัณฑ์ที่มีการตกแต่งหลังการอบหรือผ่านกระบวนการให้ความร้อน

สาเหตุการปนเปื้อน อาจมาจากการสัมผัสผู้ผลิตในขั้นตอนของการตกแต่ง ที่อาจมีการใช้ครีม , แยม , เกล็ดน้ำตาล หรือ เกล็ดช็อคโกแล็ต ในการตกแต่ง ที่ของตกแต่งเหล่านี้ไม่มีการผ่านความร้อนก่อนนำมาใช้ และมีส่วนประกอบที่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อชนิดต่างๆ จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่มีการพบเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆในจำนวนมากในผลิตภัณฑ์ที่มีการตกแต่งหลังการอบหรือผ่านกระบวนการให้ความร้อน

จากผลการตรวจสอบปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์ทั้งหมด 13 ชนิด 25 ตัวอย่าง ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่กำหนดเกณฑ์สำหรับอาหารที่ปรุงสุกทั่วไปมี ผลิตภัณฑ์เพียง 3 ชนิดที่ผ่านเกณฑ์เชื้อจุลินทรีย์ทุกกลุ่มเค้กช็อคโกแล็ต , ขนมปังเนยสด และขนมปังไส้กรอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บรรณานุกรม


กัญจนา ธีรกุลและคณะ. 2544. จุลชีววิทยาปฏิบัติการ. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพ ฯ : คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2538. เอกสารประกอบการเรียนวิชาจุลชีววิทยาปฏิบัติการ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อรอนงค์ นัยวิกุล. 2532. ข้าวสาลี : วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี . ภาควิชาอุตสาหกรรมอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แผงลักษณ์ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2544.จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 3.กรุงเทพฯ

ศิวาพร ศิวเวชช. 2542. การสุขาภิบาลโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จักรพันธ์ ปัญจะสุวรรณ. 2542. พิษภัยในอาหาร. ไอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์, กรุงเทพฯ.

ฟุจิโอะ และอิโนะอุเอะ . 2546. จุลินทรีย์กับการควบคุมลักษณะการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร . กรุงเทพฯ : สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย – ญี่ปุ่น)

นิตยสารหมอชาว ฉบับเดือนมกราคม 2534

Michael P. Doyle and Dean O. Cliver. 1990. Foodborne Diseases. Academic Press, Inc.

Eric A. Johnson. 1990. Foodborne Diseases. Academic Press, Inc.

Merlin S. Bergdoll. 1990. Foodborne Diseases. Academic Press, Inc

"*Bacillus cereus.*" Online : http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap12.html

"*Clostridium perfringens.*"online : http://techno.msu.ac.th/fn/ecenter/pathogens/clostridium__perfringens.htm

" *Clostridium perfringens.*" online : http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap11.html

" *Salmonella spp.*" online: http://techno.msu.ac.th/fn/ecenter/pathogens/salmonella__spp.htm

" *Salmonella spp.*" online: http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap1.html

" *S.aureus.*" online: http://techno.msu.ac.th/fn/ecenter/pathogens/staphylococcus_aureus.htm

" *S.aureus.*" online : http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap3.html

" *Escherichai coli.*" Online : http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap15.html

*"Escherichai coli."* Online : http://techno.msu.ac.th/fn/ecenter/pathogens/escherichai__coli.htm )



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ก
# การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

Brain Heart Infusion ( BHI ) Broth

| | | |
|---|---|---|
| • Calf brain infusion | 200 | กรัม |
| • Proteose peptone | 10 | กรัม |
| • $Na_2HPO_4.12H_2O$ | 2.5 | กรัม |
| • Beef heart infusion | 250 | กรัม |
| • NaCl | 5 | กรัม |
| • Dextrose | 2 | กรัม |
| • Final pH | 7.4 $\pm$ 0.2 | |
| • D.W. | 1 | ลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ่ายอาหารเลี้ยงเชื้อใส่ในหลอดหรือขวด ปิดจุกให้สนิท จากนั้นเข้า autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

Brilliant Green lactose Bile Broth

| | | |
|---|---|---|
| • Peptone | 10 | กรัม |
| • Lactose | 10 | กรัม |
| • Oxgall | 20 | กรัม |
| • Brilliant green | 0.0133 | กรัม |
| • D.W. | 1 | ลิตร |

ก่อนการนึ่งฆ่าเชื้อบรรจุหลอดดักแก๊ส ( Durham tube ) ในหลอดอาหารในลักษณะคว่ำ แล้วจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ หลังการนึ่งฆ่าเชื้อ อาหารควรมี pH ประมาณ 7.2

Baird-Parker medium

ส่วนของ base medium ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| • Tryptone | 10.0 | กรัม |
| • Beef extract | 5.0 | กรัม |
| • Yeast extract | 1.0 | กรัม |
| • Glycine | 12.0 | กรัม |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- $LiCl_2.6H_2O$ 5.0 กรัม
- Agar 20.0 กรัม
- D.W. 950 มิลลิลิตร

ตรียม base medium โดยการละลายส่วนประกอบอาหารในน้ำกลั่น 950 มล. ต้มให้ส่วนประกอบและวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 6.8-7.2 แล้วบรรจุขวดละ 400 มล. นึ่งฆ่าเชื้อ

ตรียม egg yolk tellurine enrichment เพื่อผสมลงใน base medium มีวิธีการดังต่อไปนี้

เช่ไข่ทั้งเปลือกในแอลกอฮอล์ 95 % เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้เปลือกไข่แตกด้วยเทคนิคปลอดเชื้อแยกไข่แดงออกจากไข่ขาว ผสมไข่แดงลงใน base medium เขย่าให้กระจายทั่วก่อนเทลงจานเลี้ยงเชื้อ

Cooked Meat Medium

- Beef heart 454 กรัม
- Dextrose 2 กรัม
- Proteose peptone 20 กรัม
- NaCl 5 กรัม
- D.W. 1 ลิตร
- Final pH 7.2

ชั่ง CM 1 กรัมใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไป 9 มล. ปิดฝานำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 o ซ เป็นเวลา 15 นาที

EC broth

- Peptone 20.0 กรัม
- Bile salt 1.5 กรัม
- Lactose 5.0 กรัม
- Potassium phosphate 5.5 กรัม
- Sodium chloride 5.0 กรัม
- pH 6.9

ใส่หลอดดักแก๊สในลักษณะคว่ำในหลอดอาหารก่อนนำเข้านึ่งฆ่าเชื้อ pH ควรเป็น 6.9 หลังการนึ่งฆ่าเชื้อ

Lauryl Typtose Broth

- Tryptose or trypticase 20 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- $K_2HPO_4$ 2.75 กรัม
- Sodium lauryl sulfate 0.1 กรัม
- Lactose 5 กรัม
- $KH_2PO_4$ 2.75 กรัม
- NaCl 5 กรัม
- Final pH $6.8 \pm 0.2$

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ดูดสารละลายใส่หลอดทดลองขนาด 20 x 150 mm ปริมาตร 10 ml. พร้อมทั้งใส่หลอดดักแก๊สขนาด 10 x 75 mm ปิดจุกแล้งเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ° ซ เป็นเวลา 15 นาที

LIM Medium

- Polypeptone 10 กรัม
- Dextrose 1 กรัม
- L-Tryptophan 0.5 กรัม
- Yeast extract 3 กรัม
- L-Lysine 10 กรัม
- Bromcresol purple 0.02 กรัม
- Agar 3 กรัม
- D.W. 1 ลิตร
- Final pH 6.7

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมดจนเดือด ดูดส่วนผสมที่ได้ใส่หลอดทดลองขนาด 13 x 100 mm. ให้ได้ปริมาตรประมาณ 1 ใน 3 ของหลอด ปิดจุกนำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ° ซ เป็นเวลา 15 นาที

Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin ( MYP ) Agar

- Beef exract 1 กรัม
- Mannitol 10 กรัม
- Peptone 10 กรัม
- NaCl 10 กรัม
- Phenol red 0.025 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Agar 15 กรัม
- D.W. 900 ลิตร
- Final pH 7.2 ± 0.2

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดแล้วต้มจนวุ้นละลาย ปรับพีเอช เทสารละลายที่ได้ลงในฟลาสก์ 400 ml. ปิดจุกแล้วเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

ตรียม egg yolk เพื่อผสมลงใน MYP medium มีวิธีการดังต่อไปนี้

เช่ไข่ทั้งเปลือกในแอลกอฮอล์ 95 % เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้เปลือกไข่แตกด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ แยกไข่แดงออกจากไข่ขาว ผสมไข่แดงลงใน MYP medium เขย่าให้กระจายทั่วก่อนเทลงจานเลี้ยงเชื้อ

MR-VP Broth

- Buffered peptone 7 กรัม
- Glucose 5 กรัม
- $K_2HPO_4$ 5 กรัม
- D.W. 1 ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ 800 มล. โดยการให้ความร้อนอ่อน ๆ ปล่อยให้เย็น เติมน้ำให้ครบ 1 ลิตร ปรับพีเอชให้ได้ประมาณ 6.9 ± 0.2 เข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

Plate Count Agar ( Standard Method )

- Trytone 5 กรัม
- Yeast extract 2.5 กรัม
- Dextrose 1 กรัม
- Agar 15 กรัม
- Final pH 7.0 ± 0.2

ต้มสารละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ่ายใส่ขวดที่มีฝาปิด นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °ซ เป็น เวลา 15 นาที

Potato Dextrose Agar

- Potato infusion 200 กรัม
- Dextrose 20 กรัม
- Agar 20 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- D.W. 1 ลิตร
- Final pH $5.6 \pm 0.2$

ชั่ง PDA มา 39 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร เทใส่ขวดที่มีฝาปิด เข้าฆ่าเชื้อ ใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121° ซ เป็น เวลา 15 นาที

Selenite Cystine Broth ( SCB )

- Polypeptone 5 กรัม
- Sodium acid selenite 4 กรัม
- Lactose 4 กรัม
- $Na_2HPO_4$ 5.5 กรัม
- $KH_2PO_4$ 4.5 กรัม
- L-Cystine 0.01 กรัม
- D.W. 1 ลิตร
- Final pH $7.0 \pm 0.2$

ต้มส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นจนเดือด ถ่ายอาหารดังกล่าวลงในหลอดอาหารที่ปราศจากเชื้อปิดสนิท ปริมาตรหลอดละ 10 มล. ไม่ต้องฆ่าเชื้อใน autoclave และควรเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ไว้ใช้วันต่อวัน

Simmom Citrate agar

- Sodium citrate.$2H_2O$ 2 กรัม
- NaCl 5 กรัม
- $K_2HPO_4$ 1 กรัม
- $NH_4H_2PO_4$ 1 กรัม
- $MgSO_4$ 0.2 กรัม
- Bromthymol blue 0.08 กรัม
- Agar 15 กรัม
- D.W. 1 ลิตร
- Final pH $6.9 \pm 0.2$

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นโดยกวนตลอดเวลา ถ่ายใส่หลอดทดลองขนาด 13 x 100 mm ปริมาตรประมาณ 1 ใน 3 ของความยาวหลอด ปิดจุกเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 o ซ เป็น เวลา 15 นาที หลังจากนั้นให้ทำการเอียงหลอดให้เกิดผิว slant ก่อนที่อาหารเลี้ยงเชื้อจะแข็ง โดยที่ให้ผิวหน้า slant ยาวประมาณ 4-5 ซม. และมี butt ยาวประมาณ 2-3 ซม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

'etrathionate Broth

- Polypeptone 5 กรัม
- Calcium carbonate ( $CaCO_3$ ) 10 กรัม
- Sodium thiosulfate.$5H_2O$ 30 กรัม
- Bile salts 1 กรัม
- D.W. 1 ลิตร
- Final pH $8.4 \pm 0.2$

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมและต้มจนเดือด ทำให้เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 45 ° ซ เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 5-8 ° ซ ( อาหารเลี้ยงเชื้อนี้จะมีตะกอนของ CaCO3 สีขาวที่ไม่ละลายน้ำอยู่ )

Iodine-Potassium Iodide ( I-KI ) solution

- Potassium iodide ( KI ) 5 กรัม
- Iodine resublimed 6 กรัม
- D.W.sterile 20 มิลลิลิตร

ละลาย KI ในน้ำกลั่น 5 มล. เติม I เพื่อให้ละลายในสารละลาย KI จนหมด จากนั้นเติมน้ำให้ปริมาตรครบ 20 มล. เก็บใส่ขวดปิดสนิทสีน้ำตาลหรือขวดที่กันแสงได้

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ในวันที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ TTB ให้ใส่ KI 1 มล. ลงใน อาหารเลี้ยงเชื้อ TTB 9 มล.

Triple Sugar Iron ( TSI ) agar

- Beef extract 3 กรัม
- Peptone 15 กรัม
- Yeast extract 3 กรัม
- Proteose peptone 5 กรัม
- Glucose 1 กรัม
- Lactose 10 กรัม
- Sucrose 10 กรัม
- $FeSO_4$ 0.2 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- NaCl 5 กรัม
- $Na_2S_2O_3$ 0.3 กรัม
- Phenol red 0.024 กรัม
- Agar 12 กรัม
- D.W. 1 ลิตร
- Final pH $7.4 \pm 0.2$

ต้มสารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นโดนกวนตลอดเวลา ถ่ายใส่หลอดทดลองขนาด 13 x 100 mm ปริมาตรประมาณ 1 ใน 3 ของความยาวหลอด ปิดจุกเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 118o ซ เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นให้ทำการเอียงหลอดให้เกิดผิว slant ก่อนที่อาหารเลี้ยงเชื้อจะแข็งโดยที่ให้มีหน้า slant ยาวประมาณ 4-5 ซม. และมี butt ยาวประมาณ 2-3 ซม.

Tryticase ( Tryptic ) Soy Broth

- Tryticase peptone 17 กรัม
- NaCl 5 กรัม
- Phytone peptone 3 กรัม
- $K_2HPO_4$ 2.5 กรัม
- Glocose 2.5 กรัม
- D.W. 1 ลิตร
- Final pH $7.3 \pm 0.2$

อุ่นสารละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ่ายอาหารปริมาตร 225 มล.ลงในฟลาสก์หรือขวดที่มีจุกสำลีหรือฝาปิด เข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ° ซ เป็นเวลา 15 นาที

Modify ( BHI ) Egg Yolk Agar

- BHI 14.8 กรัม
- Lactose 4 กรัม
- Agar 6 กรัม
- Nemyocin 400 มก./มล.
- Phenol red in alcohol 0.5% 4 มิลลิลิตร
- D.W. 400 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 400 มล. เก็บใส่ขวดปิดฝา นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 15 นาที

เตรียม Phenol red ใน alcohol

| | | |
|---|---|---|
| Phenol red | 0.5 | กรัม |
| Alcohol | 100 | มิลลิลิตร |

รียม egg yolk เพื่อผสมลงใน medium มีวิธีการดังต่อไปนี้

ไข่ทั้งเปลือกในแอลกอฮอล์ 95 % เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้เปลือกไข่แตกด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ แกไข่แดงออกจากไข่ขาว ผสมไข่แดงลงใน medium เขย่าให้กระจายทั่วก่อนเทลงจานเลี้ยงเชื้อ

ylose-Lysine-Desoxycholate( X.L.D ) agar

| | | |
|---|---|---|
| Xylose | 3.50 | กรัม |
| L-Lisine | 5.00 | กรัม |
| Lactose | 7.50 | กรัม |
| Saccharose | 7.50 | กรัม |
| Sodium choride | 5.00 | กรัม |
| Yeast extract | 3.00 | กรัม |
| Phenol red | 0.08 | กรัม |
| Sodium desoxycolate | 2.50 | กรัม |
| Sodium thiosulfate | 6.80 | กรัม |
| Ammonium-iron citrate | 0.80 | กรัม |
| Agar | 15.00 | กรัม |
| pH | 7.4 | |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดต้มพอเดือด ปล่อยให้เย็นลงประมาณ 50° ซ แล้วเทลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ ( ไม่ควรเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อนี้เกิน 1 วัน หลังจากเทลงในจานเพาะเชื้อแล้ว )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ข.

## การวิเคราะห์ผลทางจุลชีววิทยา

### การนับจำนวนจุลินทรีย์

( Enumeration of Microorganism )

Dilution plate count

เป็นการนับจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตวิธีหนึ่ง ที่ใช้เทคนิคการทำให้เชื้อหรือตัวอย่างเจือจางลง ( dilution ) ด้วยน้ำหรือน้ำเกลือ 0.85% ( normal saline ) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วและทราบปริมาตรที่แน่นอน ( dilution blank ) แต่ที่ดีที่สุดคือ Ringer solution ( 0.1% peptone water ) การทำให้เชื้อเจือจาง ก็เพื่อให้มีการเจริญของโคโลนีเดี่ยว ๆ ของจุลินทรีย์จำนวนที่เหมาะสม ซึ่งความเจือจางที่เหมาะสม ควรเป็นความเจือจางที่มีโคโลนีของเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่าง 30-300 โคโลนี หรือ colony forming unit ( CFU ) โดยปกติจะทำให้เจือจางเพิ่มขึ้นครั้งละ 10 เท่าเป็นลำดับ ( ten fold serial dilution ) เพื่อให้ง่ายต่อการปฏิบัติ และการคำนวณจำนวนโคโลนีต่อหน่วยนับ ( กรัมหรือ มล. )

การรายงานผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมหรือมิลลิลิตร ของตัวอย่างอาหารต้องคูณจำนวนที่นับได้ด้วยระดับความเจือจางที่ตรวจนับ ในกรณีที่จำนวนที่นับได้ในระดับความเจือจางนั้นเป็นเลขสามหลัก ให้ปัดหรือตัดเลขหลักหน่วยขึ้นเป็นหลักสิบโดยอาศัยวิธีทางเลขคณิต ดังแสดงไว้ในตาราง ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 5 ตัวอย่างแสดงผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ในอาหาร**

| ตัวอย่างอาหารที่ | จำนวนโคโลนี ระดับความเจือจาง | | | อัตราส่วน (จำนวนสูง/ต่ำ) | จำนวนกรัมต่ออาหาร |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1:10 | 1:100 | 1:1,000 | | |
| 1 | >300 | 175 | 16 | - | 19,000 ($1.9 \times 10^4$) |
| | 208 | 17 | | | |
| 2 | >300 | 322 | 23 | - | 30,000 ($3.0 \times 10^4$) |
| | 278 | 29 | | | |
| 3 | >300 | 291 | 32 | 1.3 | 32,000 ($3.2 \times 10^4$) |
| | 250 | 40 | | | |
| 4 | >300 | 281 | 40 | 1.1 | 33,000 ($3.3 \times 10^4$) |
| | 378 | 24 | | | |
| 5 | >300 | 138 | 42 | 2.4 | 15,000 ($1.5 \times 10^4$) |
| | 162 | 30 | | | |
| 6 | 0 | 0 | 0 | - | <10 |
| 7 | 18 | 2 | 0 | - | <30 x 10 |

ที่มา : นภา โล่ห์ทอง (2525)

<u>หลักในการรายงานผล</u>

เมื่อตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์แล้วให้เทียบผลและรายงานผลตามตารางข้างต้น ดังนี้

1. ถ้าตรวจนับโคโลนีที่เกิดขึ้นระหว่าง 30-300 โคโลนี ทุกซ้ำหรือไม่น้อยกว่าครึ่งหนึ่งของจำนวนซ้ำที่ระดับความเจือจางเดียวกันเท่านั้น ให้หาค่าเฉลี่ยของจำนวนที่ตรวจนับได้ของทุกซ้ำที่ระดับความเจือจางนั้น (ตัวอย่าง1,2)

2. เมื่อตรวจนับโคโลนีที่เกิดขึ้นระหว่าง 30-300 โคโลนี ที่ระดับความเจือจางสองระดับติดกัน โดยที่ในแต่ละระดับความเจือจางมีเพียงบางซ้ำหรือทุกซ้ำที่นับจำนวนได้ในช่วงดังกล่าวและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนเฉลี่ยของทุกซ้ำในระดับความเจือจางที่ให้การตรวจนับได้สูงมีค่าไม่ถึงสองเท่าของจำนวนเฉลี่ยของทุกซ้ำในระดับความเจือจางที่ให้การตรวจนับได้ต่ำ ให้หาค่าเฉลี่ยของจำนวนที่นับได้ของทุกซ้ำทั้งสองระดับความเจือจาง ( ตัวอย่างอาหารที่3,4 )

3. สำหรับการตรวจนับที่สามารถนับจำนวนได้ระหว่าง 30-300 โคโลนี ที่ระดับความเจือจาง 2 ระดับติดกัน และในแต่ละระดับความเจือจางนับจำนวนได้ในช่วงดังกล่าวทุกซ้ำ แต่ค่าเฉลี่ยของจำนวนที่นับได้จากระดับความเจือจางที่ให้การตรวจนับได้สูง มีค่าถึง 2 เท่า หรือมากกว่าค่าค่าเฉลี่ยจากทุกซ้ำที่ระดับความเจือจางที่ให้การตรวจนับได้ต่ำ ให้ใช้แต่เฉพาะค่าเฉลี่ยจากทุกซ้ำที่ระดับความเจือจางที่ให้การตรวจนับได้ต่ำ ( ตัวอย่างอาหารที่ 5 )

4. ในการตรวจนับครั้งใดก็ตามที่ไม่มีโคโลนีเกิดขึ้นในจานใด ๆ เลย โดยที่ได้ใช้ตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่ำสุดแล้ว ( อาหารแข็ง ) หรือใช้ตัวอย่างอาหารที่ไม่ได้เจือจาง ( อาหารเหลว ) ให้รายงานว่าอาหารนั้นมีจุลินทรีย์อยู่น้อยกว่าตัวเลขของระดับความเจือจางต่ำสุดที่ตรวจนับ หรือต่ำกว่า 1 โคโลนีต่อมิลลิลิตรของอาหารเหลว ( ตัวอย่างที่ 6 )

5. สำหรับการตรวจนับที่มีโคโลนีเกิดขึ้นต่ำกว่า 1-30 โคโลนีในตัวอย่างอาหารที่ระดับความเจือจางต่ำสุด ให้รายงานว่ามีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่า 30 x ระดับความเจือจางต่ำสุด ( ตัวอย่างอาหารที่ 7 )

6. ในกรณีที่มีโคโลนีแผ่ลามเกิดขึ้น ถ้าการแผ่ลามนั้นไม่ถึงครึ่งหนึ่งของจานเพาะเชื้อ ให้นับจำนวนโคโลนีที่แผ่ลามเป็น 1 และนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นทั้งในและนอกบริเวณการแผ่ลาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค.

### ตาราง MPN

**ตารางที่ 6 ค่า MPN ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ระดับความเจือจางละ 3 หลอด**

| หลอดที่ให้ผลบวก | | | หลอดที่ให้ผลบวก | | | | หลอดที่ให้ผลบวก | | | | หลอดที่ให้ผลบวก | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.01 | 0.001 | MPN | 0.1 | 0.01 | 0.001 | MPN | 0.1 | 0.01 | 0.001 | MPN | 0.1 | 0.01 | 0.001 | MPN |
| 0 | 0 | <3 | 1 | 0 | 0 | 3.6 | 2 | 0 | 0 | 9.1 | 3 | 0 | 0 | 23 |
| 0 | 1 | 3 | 1 | 0 | 1 | 7.2 | 2 | 0 | 1 | 14 | 3 | 0 | 1 | 39 |
| 0 | 2 | 6 | 1 | 0 | 2 | 11 | 2 | 0 | 2 | 20 | 3 | 0 | 2 | 64 |
| 0 | 3 | 9 | 1 | 0 | 3 | 16 | 2 | 0 | 3 | 26 | 3 | 0 | 3 | 95 |
| 1 | 0 | 3 | 1 | 1 | 0 | 7.3 | 2 | 1 | 0 | 15 | 3 | 1 | 0 | 43 |
| 1 | 1 | 6.1 | 1 | 1 | 1 | 11 | 2 | 1 | 1 | 20 | 3 | 1 | 1 | 75 |
| 1 | 2 | 9.2 | 1 | 1 | 2 | 15 | 2 | 1 | 2 | 27 | 3 | 1 | 2 | 12 |
| 1 | 3 | 12 | 1 | 1 | 3 | 19 | 2 | 1 | 3 | 34 | 3 | 1 | 3 | 160 |
| 2 | 0 | 6.2 | 1 | 2 | 0 | 11 | 2 | 2 | 0 | 21 | 3 | 2 | 0 | 93 |
| 2 | 1 | 9.3 | 1 | 2 | 1 | 15 | 2 | 2 | 1 | 28 | 3 | 2 | 1 | 150 |
| 2 | 2 | 12 | 1 | 2 | 2 | 20 | 2 | 2 | 2 | 35 | 3 | 2 | 2 | 210 |
| 2 | 3 | 16 | 1 | 2 | 3 | 24 | 2 | 2 | 3 | 42 | 3 | 2 | 3 | 290 |
| 3 | 0 | 9.4 | 1 | 3 | 0 | 16 | 2 | 3 | 0 | 29 | 3 | 3 | 0 | 240 |
| 3 | 1 | 13 | 1 | 3 | 1 | 20 | 2 | 3 | 1 | 36 | 3 | 3 | 1 | 460 |
| 3 | 2 | 16 | 1 | 3 | 2 | 24 | 2 | 3 | 2 | 44 | 3 | 3 | 2 | 1100 |
| 3 | 3 | 19 | 1 | 3 | 3 | 29 | 2 | 3 | 3 | 53 | 3 | 3 | 3 | >1100 |

ที่มา : AOAC ( 1992 )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**การอ่านค่า MPN ของจุลินทรีย์ในตัวอย่างอาหาร**

ตัวอย่างเช่นในการวิเคราะห์อาหารโดยใช้ระดับความเจือจาง 1:10 , 1:100 และ1:1,000 ระดับความเจือจางละ 3 หลอด พบว่า ได้จำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในแต่ละระดับเท่ากับ 2 ,2 ,1 ตามลำดับ นำผลที่ได้ไปอ่านค่า MPN จากตารางที่ 7 ซึ่งได้ค่า MPN/กรัม = 28

ถ้าในแต่ละระดับความเจือจางไม่มีหลอดใดให้ผลบวกเลย ( 0 , 0 , 0 ) ให้รายงานค่า MPN ต่อกรัมของตัวอย่างอาหารเป็นน้อยกว่า 3 แต่ถ้าทั้ง 3 ระดับความเจือจางที่ทำการทดลองให้ผลบวกทุกหลอด ( 3 , 3 , 3 ) ให้รายงานค่า MPN ต่อกรัมอาหารว่ามากกว่า 1,100

ในกรณีตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบหาปริมาณจุลินทรีย์โดยวิธี MPN มีปริมาณจุลินทรีย์สูงมากจนไม่สามารถอ่านค่าได้ในระดับความเจือจาง 3 ระดับแรก ( 1:10 , 1:100 , 1:1,000 ) ผู้วิเคราะห์ต้องเจือจางตัวอย่างอาหารมากขึ้นจนตัวอย่างอยู่ในระดับที่สามารถอ่านค่า MPN ได้ เช่น เมื่อทำการหาปริมาณจุลินทรีย์ของตัวอย่างอาหารชนิดหนึ่งด้วยวิธี MPN โดยใช้ระดับความเจือจาง 5 ระดับ คือ 1:10 , 1:100 , 1:1,000 , 1:10,000 , 1:100,000 ระดับความเจือจางละ 3 หลอด อ่านผลหลอดที่ให้ผลบวกได้ดังนี้ คือ 3 , 3 , 3 , 2 และ 1 ตามลำดับ นำค่าที่อ่านได้ 3 ระดับความเจือจางสุดท้าย คือ 3 , 2 , 1 ไปอ่านค่า MPN จากตารางที่ ได้ค่าเท่าใดนำไปคูณด้วย dilution factor ของความเจือจางเริ่มต้นที่อ่าน หารด้วย 10

$$\text{MPN/กรัมของตัวอย่างอาหาร} = \frac{\text{ค่า MPN ที่อ่านจากตาราง x dilution factor แรก}}{10}$$

ซึ่งจากตัวอย่าง หลอดที่ให้ผลบวก 3 ระดับความเจือจางสุดท้าย ( 3 , 2 , 1 ) มีค่า MPN = 150

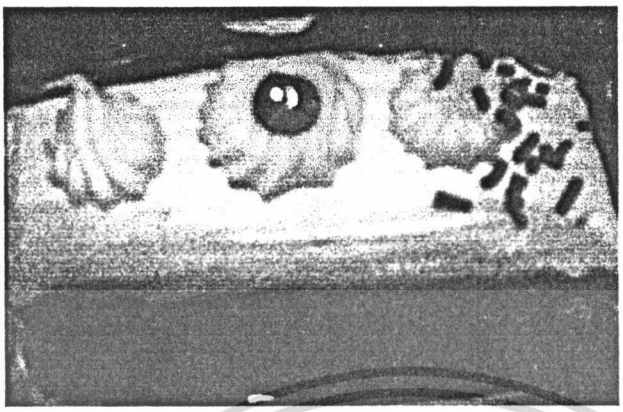
dilution factor ของระดับความเจือจางแรกที่อ่าน คือ 1:1,000

$$\text{ดังนั้น MPN/กรัมของตัวอย่างอาหาร} = \frac{150 \times 1,000}{10}$$

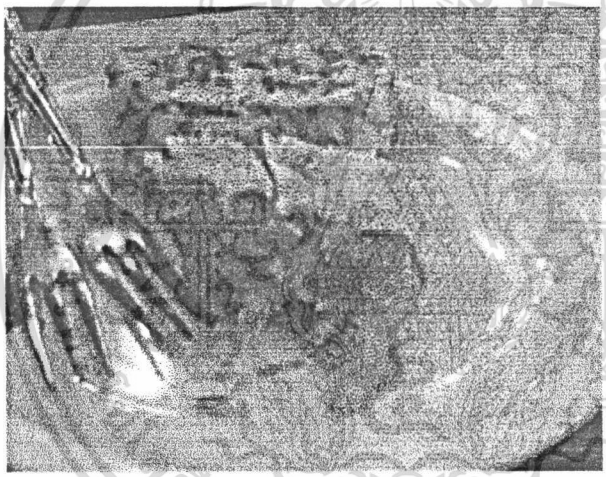
$$= 15,000$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ง
# ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เบเกอรี่และร้านค้าเบเกอรี่



**ภาพที่ 26 :** เค้กช็อคโกแลต

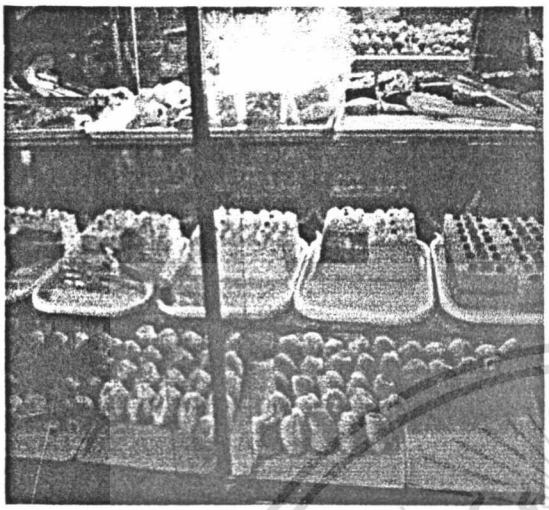


**ภาพที่ 27 :** พายสัปปะรด

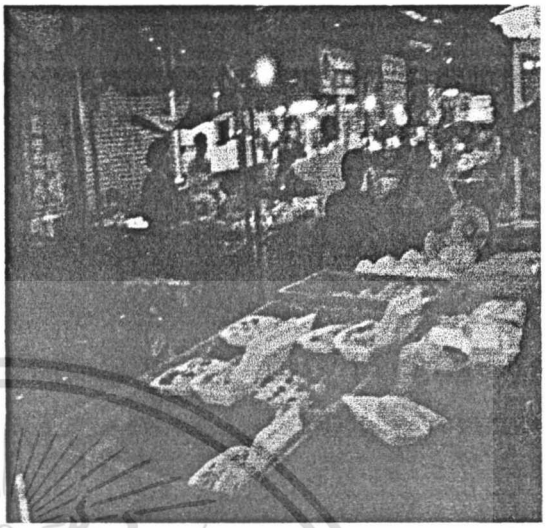
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง ( ต่อ )

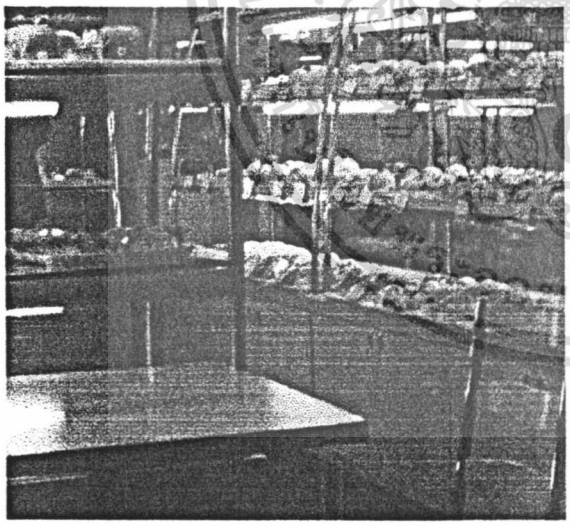
## ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เบเกอรี่และร้านค้าเบเกอรี่



ภาพที่ 28 : ร้านค้าตามตลาดสด



ภาพที่ 29 : ร้านค้าตามตลาดสด



ภาพที่ 30 : ร้านค้าบนห้างสรรพสินค้า

ภาพที่ 31 : ร้านค้าตามตลาดนัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ประวัติผู้เขียน

นาวสาวรุจชานี บัณฑิธาดาวิทย์ เกิดวันที่ 21 มีนาคม พ.ศ.2525 ที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลายจากโรงเรียน ราชวินิตบางแก้วในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัด สมุทรปราการ ในปี พ.ศ.2541 และสำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต ( เทคโนโลยีการหมัก) จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปีการศึกษา 2546

นางสาวฐปนัท มานิตย์กุล เกิดวันที่ 10 พฤษภาคม พ.ศ. 2525 ที่โรงพยาบาลรามาธิบดี จังหวัด กรุงเทพมหานคร การศึกษาระดับมัธยมตอนต้นและตอนปลายที่ โรงเรียนหอวัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2541 และสำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต ( เทคโลโนยีการหมัก ) จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปี การศึกษา 2546

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้