การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำปลาร้าพาสเจอร์ไรซ์ในระหว่างการเก็บรักษา

Study of changes in pasteurized fermented fish sauce during storage

ณัฐชา กิตติอานันท์

ฤทัยรัตน์ โหระโช

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม

คณะอุตสาหกรรมอาหาร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำปลาร้าพาสเจอร์ไรซ์ในระหว่างการเก็บรักษา

Study of changes in pasteurized fermented fish sauce during storage

จัดทำโดย

ณัฐชา กิตติอานันท์ รหัสนักศึกษา 59080074

ฤทัยรัตน์ โหระโช รหัสนักศึกษา 59080113

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

ธงชัย ..... 14 / ส.ค. / 63

(ผศ.ดร.ธงชัย พุฒิทองสิริ)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ	การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำปลาร้าพาสเจอร์ไรซ์ในระหว่างการเก็บรักษา
ชื่อนักศึกษา	ณัฐชา กิตติอานันท์ รหัสนักศึกษา 59080074
	ฤทัยรัตน์ โหระโช รหัสนักศึกษา 59080113
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์ สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
พ.ศ.	2562
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ธงชัย พุฒิทองสิริ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้จัดทำขึ้นเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำปลาร้า ในระยะเวลาการเก็บที่แตกต่างกัน โดยใช้หลักเกณฑ์ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.๑๓๔๖/๒๕๕๗) โดยทำการศึกษาและทำการวิเคราะห์ทางเคมีและทางจุลินทรีย์ ในทางเคมีจะวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ ปริมาณโปรตีน ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่า Water activity และค่าของแข็งที่ละลายน้ำ โดยมีค่ามาตรฐานที่กำหนดคือ ≥ 12 กรัม/ลิตร , ≥ 4 กรัม/ลิตร , 4.5 - 5.5 และ ≤ 0.85 ตามลำดับ ในทางจุลินทรีย์ได้ทำการเลือกตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ Staphylococcus aureus , Bacillus cereus และยีสต์รา เนื่องจาก Staphylococcus aureus สามารถเจริญเติบโตในอุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส pH 7-7.5 Bacillus cereus สามารถเจริญเติบโตในอุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส pH 6-7 และยีสต์ราสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน เกิดฟิล์มที่ผิวหน้าของอาหารเหลว โดยจะต้องพบจุลินทรีย์ ‹100โคโลนี/กรัม , ‹1000 โคโลนี/กรัม และ ‹1000 โคโลนี/กรัม ตามลำดับ ซึ่งจากการทำการตรวจวิเคราะห์มีค่าเฉลี่ย 14.03 กรัม/ลิตร , 8.6 กรัม/ลิตร , 4.86 , 0.817 และ 38.93 ตามลำดับ การตรวจเชื้อจุลินทรีย์ที่พบนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ของมาตราฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.๑๓๔๖/๒๕๕๗)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special problem title	Study of changes in pasteurized fermented fish sauce during storage			
Student name	Natcha	Kittiarnunt	Student ID	59080074
	Ruetairat	Horacho	Student ID	59080113
Program	Bachelor of Science in Industrial Fermentation Technology			
Year	2019			
Advisor	Asst. Prof. Dr. Thongchai	Putthongsiri		

ABSTRACT

This research was conducted to study the change of fermented fish sauce during storage Using the Thai Community Product Standard (TCPS) By conducting studies and conducting chemical and microbial analyzes Chemically, sodium chloride content, protein content, pH, water activity and dissolved solids were analyzed. The standard values were ≥ 12 g / l, ≥ 4 g / l, 4.5 - 5.5 and ≤ 0.85, respectively. Staphylococcus aureus, Bacillus cereus and Fungal Yeast Because Staphylococcus aureus can grow in temperatures 30-37 ° C, pH 7-7.5, Bacillus cereus can grow in temperatures 30-37 ° C, pH 6-7, and yeast can grow in conditions that are Oxygenated And without oxygen A film is formed on the surface of the liquid food. Which must find microorganisms ‹100 colony / gram,‹ 1000 colony / gram and ‹1000 colony / gram respectively, which were analyzed for the average 14.03 g / l, 8.6 g / l, 4.86, 0.817 and 38.93 according to The order of testing for the found microorganisms is in accordance with the criteria of community product standard.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาค้นคว้าปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จและครบถ้วนสมบูรณ์ได้ ด้วยความกรุณาและความเอาใจใส่เป็นอย่างดีจาก ผศ.ดร.ธงชัย พุฒิทองศิริ อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่ได้ให้คำปรึกษาและแนะนำแนวทาง แนวคิดในการดำเนินงานในการศึกษาค้นคว้าปัญหาพิเศษครั้งนี้ให้ผ่านไปด้วยดี ตลอดไปจนถึงการแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ มาโดยตลอด จึงขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาเป็นอย่างสูง ที่ทำให้ปัญหาพิเศษเล่มนี้นั้นสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ บุคลากร และนักวิทยาศาสตร์ของคณะอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความรู้ ความเข้าใจในการใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ คอยอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือ ตลอดจนการให้กำลังใจในการทำปัญหาพิเศษนี้

ณัฐชา กิตติอานันท์

ฤทัยรัตน์ โหระโช

15 มิถุนายน 2563

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	V
สารบัญภาพ	VI
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	1
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
2.1 ความหมาย	2
2.2 ประเภท และชนิด	2
2.3 ปลาร้าตามกรรมวิธีการผลิตและส่วนผสม	3
2.4 ปลาร้าตามรสชาติ	3
2.5 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำปลาร้า	3
2.6 เชื้อ Staphylococcus aureus	6
2.7 เชื้อ Bacillus cereus	7
2.8 ยีสต์และรา	9
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	11
3.1 วัตถุดิบและจุลินทรีย์	11
3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ	11
3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ	12
3.4 ขั้นตอนและวิธีการ	13
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	18
4.1 คุณลักษณะทางเคมี	18
4.2 คุณลักษณะทางจุลินทรีย์	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	26
5.1 สรุปผลการทดลอง	26
5.2 ข้อเสนอแนะ	26
บรรณานุกรม	27
ภาคผนวก	28
ภาคผนวก ก.	29
ประวัติผู้เขียน	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

ตารางที่ 1 หลักเกณฑ์การให้คะแนนในการทดสอบสี กลิ่น ละกลิ่นสี 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
ภาพที่ 2.1	เชื้อ Staphylococcus aureus	6
ภาพที่ 2.2	เชื้อ Bacillus cereus	8
ภาพที่ 2.3	เชื้อยีสต์และรา	9
ภาพที่ 4.1	ผลการวัดปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์	18
ภาพที่ 4.2	ผลการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์	19
ภาพที่ 4.3	ผลการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์	19
ภาพที่ 4.4	ผลการวัดค่า Water Activity ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์	20
ภาพที่ 4.5	ผลการวัด % Brix ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์	21
ภาพที่ 4.6	ความสัมพันธ์ของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ต่อค่า pH และค่า Water Activity (ก) ค่า pH (ข) ค่า Water activity	21
ภาพที่ 4.7	ผลการตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์	22
ภาพที่ 4.8	โคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ *Staphylococcus aureus*	22
ภาพที่ 4.9	ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ coagulase ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์	23
ภาพที่ 4.10	ผลการตรวจหาเชื้อ *Bacillus cereus* ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์	23
ภาพที่ 4.11	โคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ *Bacillus cereus*	23
ภาพที่ 4.12	ผลการทดสอบปฏิกิริยา hemolytic ของเชื้อ *Bacillus cereus* ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์	24
ภาพที่ 4.13	ผลการตรวจนับปริมาณยีสต์และราในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปลาร้า หรือปลาแดก เป็นผลิตภัณฑ์หมักดองพื้นเมือง เป็นที่นิยมโดยเฉพาะในภาคอีสานของไทย ได้จากการหมักปลา กับเกลือ ข้าวคั่ว หรือรำข้าว ในอัตราส่วนที่เหมาะสม หมักเป็นเวลา 2 เดือนจนถึง 1 ปี ปัจจุบันเป็นอาหารที่นิยมรับประทานกันอย่างแพร่หลายทั่วทุกภาคของประเทศไทย ในแต่ละพื้นที่มีกระบวนการผลิตที่แตกต่างกันออกไป การผลิตปลาร้าผลิตจากปลาน้ำจืดส่วนใหญ่ เช่น ปลากระดี่ ปลาสร้อย ปลาหมอ ซึ่งการผลิตจะมีตั้งแต่ระดับครัวเรือนจนกระทั่งถึงอุตสาหกรรม โดยปลาร้าสามารถนำไปปรุงอาหารได้หลายชนิด เช่น น้ำพริก หลน หรือนำไปใส่ในส้มตำ โดยคุณภาพของน้ำปลาร้าที่ทำการจัดจำหน่ายตามท้องตลาดนั้นจะต้องผ่านมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช. 1346/2557

ดังนั้นจึงสนใจศึกษาความแตกต่างของน้ำปลาร้าที่มีอายุการเก็บที่แตกต่างกัน โดยทำการทดลองตามกฎหมายมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช.

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางด้านชีววิทยา และเคมีของน้ำปลาร้า ในระยะเวลาการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าน่าจะได้รับ

1.3.1 สามารถนำเทคนิคต่างๆ ไปใช้ให้เกิดประโยชน์ในงานในอนาคต

1.3.2 ทราบถึงวิธีการ และหลักเกณฑ์ในการตรวจวิเคราะห์น้ำปลาร้าตามมาตรฐาน มผช.

1.3.3 สามารถนำผลกาวิจัยไปศึกษาและพัฒนาต่อได้ในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความหมาย

ผลิตภัณฑ์ปลาหมัก (Fermented fish) ในแถบเอเชียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีผลิตภัณฑ์ปลาหมักหลายชนิด ส่วนใหญ่จัดเป็นผลิตภัณฑ์อาหารพื้นเมืองมีชื่อเรียกที่แตกต่างกันไปตามกรรมวิธีการผลิต และวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการหมักจะมีวัตถุดิบที่แตกต่างกัน แต่สิ่งที่มีความเหมือนกัน คือ การใช้ปลา และเกลือเป็นวัตถุดิบหลักในการหมัก ได้จำแนกผลิตภัณฑ์ปลาหมักออกได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

1. กลุ่มผลิตภัณฑ์ชนิดที่เป็น (fermented fish salt)ได้แก่ ปลาร้า (pla-ra) ปลาเจ่า (pla-chao) ปลาส้ม (pla-som) และส้มฟัก (som-fak)

2. กลุ่มผลิตภัณฑ์ที่เป็นชนิด (fish sauce) เช่น น้ำปลา (nam-pla) บูดู (budu) ไตปลา (tipla) และปลาจิ้งจั้งหมัก (pla Jing Jung)

นอกจากนี้ ผลิตภัณฑ์ปลาหมักสามารถจำแนกตามกรรมวิธีผลิต และกระบวนการหมัก ออกเป็น 3 ประเภท คือ

1. กลุ่มผลิตภัณฑ์พื้นเมือง ที่กระบวนการผลิตอาศัยปฏิกิริยาจากเอนไซม์ของเนื้อปลา และอวัยวะภายในของปลา โดยใช้ เกลือปริมาณสูงในกระบวนการหมัก เพื่อป้องกันการเน่าเสียจากแบคทีเรีย ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ น้ำปลา น้ำบูดู กะปิ ไตปลา ปลาทูเค็ม และปูเค็ม เป็นต้น

2. ผลิตภัณฑ์พื้นเมือง ที่มีปฏิกิริยาในกระบวนการหมักมี 2 ระยะ คือ ระยะที่เกิดจากเอนไซม์ในเนื้อปลากับระยะที่เกิดจากการเติมเชื้อจุลินทรีย์ หรือการใช้คาร์โบไฮเดรต เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ ปลาร้า ปลาจ่อม กุ้งจ่อม ปลาเจ่า ปลาส้ม ไข่ปลาดอง ปลาแป้งแดง และสัมฟัก เป็นต้น

3. ผลิตภัณฑ์ที่เกิดโดยอาศัยการย่อยสลายทางเคมี เช่น การเติมกรดบางชนิดเพื่อเร่งปฏิกิริยา มีผักหรือผลไม้ เป็นส่วนประกอบ เป็นอาหารที่นิยมกันในท้องถิ่น เช่น เค็มหมักนัด (เค็มสัปปะรด) เป็นปลาหมักเกลือผสมสัปปะรด ปลาหมักเกลือผสมข้าวคั่ว มะละกอ และข่า

ปลาร้า ปลาส้ม ปลาจ่อมถือเป็นภูมิปัญญาอาหารที่สืบทอดกันมาหลายชั่วอายุของไทยและเป็นอาหารที่แพร่หลายในเอเชียอาคเนย์ในดินแดนที่เคยมีวัฒนธรรมมอญ-เขมร ได้แก่ เวียดนามกัมพูชาและลาวเมื่อประมาณสองสามพันปีที่แล้วทำให้การคงอยู่ของปลาร้าปลาส้มปลาจ่อมมีอยู่ให้เห็นในทุกวันนี้ปลาร้าเกิดจากธรรมชาติหลายประเทศในเอเชียอาคเนย์อยู่ในเขตมรสุมซึ่งในฤดูน้ำหลากจะมีปลามากจนกินไม่หมดจึงใส่เกลือเก็บไว้เลยเกิดเป็นปลาร้าซึ่งทางโบราณคดีปลาร้าเป็นสิ่งกำหนดขอบเขตวัฒนธรรมมอญ-เขมรและเป็นส่วนหนึ่งของกรรมวิธีถนอมอาหารปลาร้าเป็นปลาที่หมักด้วยเกลือใส่ข้าวคั่วหรือรำซึ่งในภาษาอีสานและในภาษาลาวจะเรียกว่า“ ปลาแดก”

2.2 ประเภท และชนิด

ปลาร้าตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักปลากับเกลือเติมข้าวคั่วที่บดละเอียดราข้าวหรือข้าวคั่วในอัตราส่วนที่เหมาะสมก่อนหรือหลังการหมักปลากับเกลือเพื่อให้ได้กลิ่นรสตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธรรมชาติของปลาร้ามีทั้งที่เป็นปลาร้าทั้งตัวปลาร้าขึ้นและปลาร้าบดควรทำให้สุกก่อนบริโภคปลาร้าแบ่งตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาร้า (มผช. ๓๗/๒๕๕๗) เป็น ๓ ประเภทคือ

2.2.1 ปลาร้าตัวเป็นปลาร้าที่ทำจากปลาทั้งตัวที่ผ่าท้องควักไส้ออกแล้วอาจตัดหัวปลาหรือแล่แผ่ออก

2.2.2 ปลาร้าชิ้นเป็นปลาร้าที่ทำจากปลาที่หั่นเป็นชิ้น

2.2.3 ปลาร้าบดเป็นปลาร้าที่นำมาบด

2.3 ปลาร้าตามกรรมวิธีการผลิตและส่วนผสม

ปลาร้าแบ่งตามกรรมวิธีการผลิตและส่วนผสมเป็น 2 ประเภท

2.3.1 ปลาร้าข้าวคั่วจะมีทั้งข้าวคั่วแดงหรือข้าวคั่วขาวซึ่งรสชาติของปลาร้าข้าวคั่วนั้นจะมีรสจืดกว่าปลาร้าทางภาคอีสานและมีรสเปรี้ยวนิด ๆ การทำปลาร้าที่ทำกันอยู่เป็นอุตสาหกรรมนั้นจะอยู่ทางภาคกลางและภาคเหนือเป็นส่วนใหญ่ส่วนมากใช้ปลาน้ำจืดทั่วไปเช่นปลาสร้อยปลากระดีการทำปลาร้าจะใช้เกลือผสมโดยใช้ความหอมของกลิ่นข้าวคั่วเป็นส่วนประกอบซึ่งปลาร้าชนิดนี้จะไม่เค็ม

2.3.2 ปลาร้ารำ จะใช้ไรอ่อนในการผสมให้เกิดความหอม วิธีการคือ นำปลามาหมักเกลือให้ปลาแข็งตัวโดยนำรำอ่อนที่คั่วให้หอมมาใส่กับปลาที่หมักทิ้งไว้แล้วบรรจุให้แน่นใส่ไว้ในโอ่ง หรือไหเก็บไว้อีกประมาณ 5-7 เดือน จะได้ปลาร้าที่หอมกลิ่นรำ การทำปลาร้าชนิดนี้นิยมทำกันในภาคอีสานนอกจากการทำปลาร้าแล้วทางอีสานยังใช้วิธีการนี้ทำหนังเค็มแห้ง รวมทั้งปลาร้าอึ่ง หรือปลาแดกอึ่งอีกด้วย การทำปลาร้าชนิดนี้เป็นภูมิปัญญาของชาวอีสานปลาร้าที่ใช้ในการทำนั้นเมื่อหมักนานขึ้นจะได้ความหวานจากรำข้าวกันกับปลาร้าได้พอดี แต่ปลาร้าชนิดนี้จะมีกลิ่นแรงกว่าปลาร้าข้าวคั่ว

2.4 ปลาร้าตามรสชาติ

ปลาร้าแบ่งตามรสชาติของชาวอีสานเป็น ๓ ประเภท

2.4.1 ปลาร้าหอมหรือปลาแดกหอมลักษณะเป็นปลาร้าที่มีกลิ่นหอม น้ำปลาร้ามีสีน้ำตาลเนื้อปลาอาจเป็นสีเหลืองหรือสีแดงตามชนิดปลาขนาดปลาที่นิยมใช้เป็นปลาขนาดกลางส่วนผสม ได้แก่ ปลา: เกลือ: ข้าวคั่วหรือรำในอัตราส่วน 4: 2: 9 หมักนานประมาณ 5-90 เดือน

2.4.2 ปลาร้านัวปลาแดกนัว หรือปลาแดกต่วง ลักษณะเป็นน้ำปลาร้ามีสีน้ำตาลเนื้อปลามีสีแดงเนื้อให้รสมันนัว นิยมใช้ปลาขนาดเล็กถึงกลาง ได้แก่ ปลา: เกลือ: ข้าวคั่วหรือรำในอัตราส่วน 4: ½ : 9 หมักนานประมาณ 4-6 เดือน

2.4.3 ปลาร้าโหน่งหรือปลาแดกโหน่งลักษณะเป็นปลาร้าที่มีกลิ่นฉุนมากอันเกิดจากระยะเวลาหมักที่นาน นิยมใช้ปลาขนาดเล็กหมัก เช่น ปลาซิว ปลาหมอเนื้อ ปลามักเปื่อยยุ่ยเนื้อมีสีแดงคล้ำ หมักนานมากกว่า 6 เดือนถึง 2 ปี

2.5 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำปลาร้า

2.5.1 คุณลักษณะที่ต้องการ

2.5.1.1 ลักษณะทั่วไปต้องเป็นของเหลวขุ่นอาจตกตะกอนเมื่อตั้งทิ้งไว้ การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพินิจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1.2 สีต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของน้ำปลาร้า

2.5.1.3 กลิ่น ต้องมีกลิ่นที่ดีตามธรรมชาติของน้ำปลาร้า ไม่มีกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับกลิ่นหืน

2.5.1.4 กลิ่นรสต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของน้ำปลาร้า ไม่มีกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นรสเปรี้ยวบูด เมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามข้อ 2.5.5 แล้วต้องไม่มีลักษณะใดได้ 9 คะแนนจากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

2.5.1.5 สิ่งแปลกปลอม ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์ การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพินิจ

2.5.1.6 โปรตีนต้องไม่น้อยกว่า ๔๐ กรัมต่อลูกบาศก์เดเมตรการทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

2.5.1.7 เกลือ (โซเดียมคลอไรด์) ต้องไม่น้อยกว่า ๑๒๐ กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

2.5.1.8 สารปนเปื้อน

2.5.1.8.1 ตะกั่วต้องน้อยกว่า 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

2.5.1.8.2 สารหนูในรูปอนินทรีย์ ต้องน้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

2.5.1.8.3 ปรอทต้องน้อยกว่า 0.5 มิลลิรัมต่อกิโลกรัม

2.5.1.8.4 แคดเมียมต้องน้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่ากรณีสารหนูในรูปอนินทรีย์ให้วิเคราะห์ปริมาณสารหนูทั้งหมดก่อน หากเกิน 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ให้วิเคราะห์ปริมาณสารหนูในรูปอนินทรีย์

2.5.1.9 วัตถุเจือปนอาหาร ห้ามใช้สีสังเคราะห์และวัตถุกันเสียทุกชนิดการทดสอบให้ปฏิบัติ AOAC หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

2.5.1.10 จุลินทรีย์

2.5.1.10.1 *Salmonella* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม

2.5.1.10.2 *S. aureus* ต้องน้อยกว่า 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

2.5.1.10.3 *B. cereus* ต้องน้อยกว่า $1x10^3$ โคโลนีต่อตัวอย่าง 9 กรัม

2.5.1.10.4 *Clostridium perfringens* ต้องน้อยกว่า $1x10^3$ โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

2.5.1.10.5 *Escherichia coli* วิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม

2.5.1.10.6 ยีสต์และรา ต้องน้อยกว่า $1x10^3$ โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC หรือ BAM (U.S.FDA) หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

2.5.2 สุขลักษณะ สุขลักษณะในการทำน้ำปลาร้าให้เป็นไปตามภาคผนวก ก. และสถานประกอบการต้องได้รับอนุญาตจากกระทรวงสาธารณสุข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.3 การบรรจุ

2.5.3.1 ให้บรรจุน้ำปลาร้าในภาชนะบรรจุที่สะอาดปิดได้สนิท และสามารถป้องกันสิ่งปนเปื้อนจากภายนอกได้การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพินิจ

2.5.3.2 ปริมาตรสุทธิของน้ำปลาร้าในแต่ละภาชนะบรรจุ ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลากการทดสอบให้ใช้เครื่องวัดปริมาตรที่เหมาะสม

2.5.4 เครื่องหมายและฉลากที่ภาชนะบรรจุน้ำปลาร้าทุกหน่วยอย่างน้อยต้องมีเลขอักษรหรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดต่อไปนี้ให้เห็นได้ง่ายชัดเจน

2.5.4.1 ชื่อผลิตภัณฑ์ (ตาม มผช.)

2.5.4.2 ส่วนประกอบที่สำคัญ เป็นร้อยละของน้ำหนักโดยประมาณและเรียงจากมากไปน้อย

2.5.4.3 ชนิดและปริมาณวัตถุเจือปนอาหาร (ถ้ามี)

2.5.4.4 ปริมาตรสุทธิ เป็นมิลลิลิตรหรือลิตร

2.5.4.5 วัน เดือน ปีที่ทำ และวัน เดือน ปีที่หมดอายุ หรือข้อความว่า “ ควรบริโภคก่อน (วันเดือนปี) ”

2.5.4.6 ข้อแนะนำในการเก็บรักษาและการบริโภค

2.5.4.7 เลขสารบบอาหาร

2.5.4.8 ชื่อผู้ทำหรือสถานที่ทำ พร้อมสถานที่ตั้งหรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียนในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศต้อง มีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

2.5.5 การทดสอบ

2.5.5.1 การทดสอบสีกลิ่นและกลิ่นรส

2.5.5.1.1 ให้แต่งตั้งคณะผู้ตรวจสอบประกอบด้วยผู้ที่มีความชำนาญในการตรวจสอบน้ำปลาร้าอย่างน้อย 5 คน แต่ละคนจะแยกกันตรวจและให้คะแนนโดยอิสระ

2.5.5.1.2 เทตัวอย่างน้ำปลาร้า ลงในชามกระเบื้องสีขาวตรวจสอบโดยการตรวจพินิจ ดม และชิม

2.5.5.1.3 หลักเกณฑ์การให้คะแนนให้เป็นไปตามตารางที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 หลักเกณฑ์การให้คะแนนในการทดสอบสี กลิ่น ละกลิ่นสี

ลักษณะที่ตรวจสอบ	ระดับการตัดสิน	คะแนนที่ได้รับ
สี	สีดีตามธรรมชาติน้ำปลา	3
	สีพอใช้ใกล้เคียงกับสีตามธรรมชาติของน้ำปลาร้า	2
	สีผิดปกติหรือมีการเปลี่ยนสี	1
กลิ่น	กลิ่นที่ดีตามธรรมชาติของน้ำปลาร้า	3
	กลิ่นพอใช้ใกล้เคียงกับกลิ่นตามธรรมชาติของน้ำปลาร้า	2
	กลิ่นผิดปกติหรือมีกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นหืน กลิ่นเน่า	1
กลิ่นรส	กลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของน้ำปลาร้า	3
	กลิ่นรสพอใช้ใกล้เคียงกับกลิ่นรสตามธรรมชาติของน้ำปลาร้า	2
	กลิ่นรสผิดปกติหรือมีกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นรสเปรี้ยวบูด	1

2.6 เชื้อ *Staphylococcus aureus*

ภาพที่ 2.1 เชื้อ Staphylococcus aureus

ที่มา : https://gamingroom.co/dirty-gaming-gear/img_9408/

2.6.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *S. aureus* เป็นแบคทีเรียรูปกลม (cocci) ที่มีขนาดเล็กประมาณ 0.5-1 ไมโครเมตร มีการจัดเรียงตัวแบบเดี่ยวๆ เป็นคู่หรือกลมไม่แน่นอน ทำให้ดูคล้ายพวงองุ่น ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ โคโลนีมีสีเหลือง เหลืองทอง และขาว อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของ *S. aureus* คือ 35 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิที่เชื้อสามารถเติบโตได้อยู่ระหว่าง 10-45 องศาเซลเซียส พีเอช (pH) ที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ระหว่าง 7.0-7.5 พีเอชที่เชื้อเติบโตได้อยู่ระหว่าง 4.2-9.3 เชื้อสามารถเติบโตในอาหารที่มีกลูโคส เป็นเชื้อแฟคคัลเททีฟแอนแอโรบ ที่สามารถเติบโตในสภาวะที่มีออกซิเจนได้ดีกว่าสภาวะไร้ออกซิเจน *S. aureus* ที่ผลิตสารพิษส่วนใหญ่มักเป็นพวกที่สามารถสังเคราะห์เอมไซม์โคแอกูเลส (coagulase) ได้ (บุษกร, 2545)

S. aureus สามารถสร้าง enterotoxin ที่มีคุณสมบัติทนความร้อนได้สูงถึง 60 องศาเซลเซียส เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลาครึ่งถึงหนึ่งชั่วโมง บางสายพันธุ์สามารถทนเกลือได้สูง (ร้อยละ 10-20) และยัง สามารถทนต่อไนไตรทได้ค่อนข้างดี ดังนั้น จึงเจริญได้ในเนื้อเค็ม ถ้าสิ่งแวดล้อมเหมาะสม ซึ่งยังทนต่อความเข้มข้นของน้ำตาลได้สูงถึงร้อยละ 50-60 โดยปริมาณที่ที่สารพิษนี้จะทำให้เกิดโทษแก่ผู้บริโภคได้นั้นต้องไม่ต่ำกว่า 0.1-1 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัมของอาหาร ซึ่งจะต้องพบจำนวนเชื้อเป็นปริมาณมากถึง 10^5 –10^6 เซลล์ต่อกรัมของอาหาร จำนวนของเชื้อ *S. aureus* ที่ได้รับอนุญาตให้มีในอาหารจะต้องไม่เกิน 10–100 เซลล์ต่อกรัมของอาหาร

2.6.2 อาหารประเภทต่างๆ ที่มักตรวจพบเชื้อ *S. aureus*

2.6.2.1 อาหารดิบที่มาจากสัตว์ เช่น เนื้อวัว เนื้อไก่ และนม

2.6.2.2 อาหารที่ผ่านการพลาสเจอร์ไรส์ เช่น ผลิตภัณฑ์จากเนื้อ นมและผลิตภัณฑ์จาก นม ปลาและผลิตภัณฑ์ประมงอื่นๆ ไข่และผลิตภัณฑจากไข่ และผัก เป็นต้น

2.6.2.3 อาหารหมัก เช่น ผลิตภัณฑ์จากเนื้อจำพวกไส้กรอกที่ผ่านการหมัก (salami) ผลิตภัณฑ์จากนม เช่น เนยแข็ง (cheese) ผักดองเปรียวประเภทแตกกวา หัวหอม และ กะหล่ำปลี (sauerkraut)

2.6.2.4 ผลิตภัณฑ์ที่ทำให้เข้มข้นและแห้ง เช่น นมผง นมข้นหวานของชาวอินเดีย

2.6.2.5 ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ เช่น เค้กจากมันฝรั่ง ขนมผิง สก็อตแพนเค้ก

2.6.2.6 อาหารกระป๋อง เช่น ผลิตภัณฑ์ประมง ถั่ว และลิ้นวัว

2.6.2.7 ผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น เนยเทย (magarine) กระเทียมครีม (garlic butter) และ วิปครีม (whipped butter)

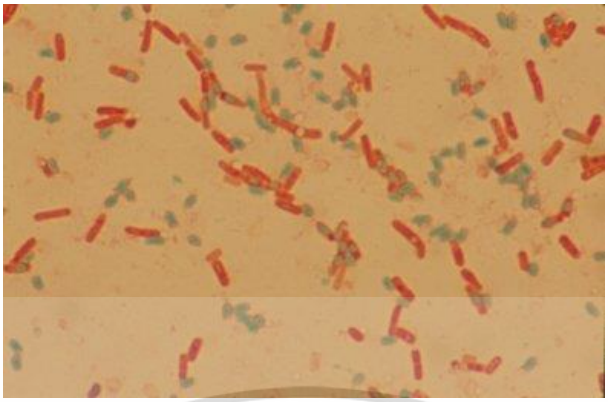
สำหรับในประเทศไทย มีการตรวจพบเชื้อนี้ในอาหารประเภท แหนม หมู กุนเชียง ไอศกรีม นมและผลิตภัณฑ์ขนมปังไส้ครีม อาหารปรุงสำเร็จ เส้นก๋วยเตี๋ยว และ ขนมจีน (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2535 และ 2536)

2.6.3 อาหารเป็นพิษเนื่องจากเชื้อ S. aureus หลังจากรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อ *S. aureus* ที่มีปริมาณ 10^6 ขึ้นไป ซึ่งมากพอที่จะสร้าง enterotoxin ได้ ซึ่ง enterotoxin เป็นโปรตีนที่ทนต่อความร้อนได้ดี และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยในมนุษย์ สารพิษชนิดนี้ทนความร้อนถึงระดับ 143.3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วินาทีได้ ดังนั้น อุณหภูมิในการหุงต้ม ธรรมดาหรืออุณหภูมิน้ำเดือดจึงไม่สามารถทำลายสารพิษชนิดนี้ได้ โรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* นั้นมีชื่อเรียกว่า Stapyhloenterotoxicosis และ Staphylorenterotoxemia

ลักษณะอาการที่บ่งบอกว่าติดเชื้อ *S. aureus* นั้นจะแสดงให้เห้นอย่างรวดเร็วและรุนแรงในหลายๆ กรณี ซึ่งอาการทั่วไปของผู้ได้รับเชื้อที่พบ คือ ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้อง และอ่อนเพลีย ในผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการอื่นแทรกซ้อน หลายรายจะมี อาการปวดหัว ซึ่งโดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นภายใน 2-3 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพความ ต้านทานสารพิษของร่างกาย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในอาหารและปริมาณสารพิษที่สร้างขึ้นในอาหาร รวมทั้งสภาพร่างกาย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อและปริมาณสารพิษที่สร้างขึ้นในอาหาร รวมทั้งสภาพร่างกายโดยทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อด้วย (ประมวล, 2545)

2.7 เชื้อ *Bacillus cereus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.2 เชื้อ *Bacillus cereus*

ที่มา : http://textbookofbacteriology.net/B.cereus.html

2.7.1 ลักษณะของเชื้อ B. cereus

B. cereus เป็นแบคทีเรียรูปท่อน (rods) ติดสีแกรมบวก สร้างเอนโดสปอร์บริเวณกลางเซลล์ เซลล์ถูกทำลายได้ด้วยความร้อนระดับพลาสเจอร์ไรซ์ แต่สปอร์สามารถทนความร้อนสูง ระดับที่ใช้ปรุงอาหาร โดยยังคงรอดชีวิตอยู่เป็นเชื้อที่ชอบออกซิเจนในการเติบโต แต่ก็สามารถเติบโตได้ในที่ไม่มีออกซิเจน เป็นเชื้อที่เติบโตได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 4-50 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 35-40 องศาเซลเซียส พีเอชที่เจริญได้อยู่ในช่วง 4.5-9.3 มีช่วงเวลาในการแบ่งตัวสั้น ประมาณ 20-30 นาที สามารถทำให้เกิดการหมัก (ferment) น้ำตาลได้ยกเว้นน้ำตาล mannital สร้างเอนไซม์ protease (ทำให้เกิด sweet curd ในน้ำนม) สร้างเอนไซม์ lecithinase ทำให้เกิดการดื้อยา penicillin และสร้างสารพิษ lethal toxin (ออกฤทธิ์ฆ่าหนูได้) (ดุษฎี,2549)

เชื้อ B. cereus สามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมต่างๆ ได้ดี จึงพบได้ทั่วไปในธรรมชาติตาม ดิน แหล่งน้ำ หรือฝุ่นละออง ดังนั้นการปนเปื้อร *B. cereus* ในอาหารจึงเกิดขึ้นได้ง่าย

2.7.2 สารพิษและการผลิตสารพิษ สารพิษที่ผลิตมีอย่างน้อย 2 ชนิด(type) และแต่ละชนิดจะทำให้เกิดอาการของโรคต่างกัน สารพิษจะถูกสร้างออกมาในระหว่างการเติบโต และยังคงอยู่ในเซลล์ เมื่อเซลล์แตกสารพิษจึง จะถูกปล่อยออกมา

2.7.3 โรคและอาการของโรค ผู้ป่วยต้องได้รับเชื้อที่ยังมีชีวิตเข้าไปในปริมาณ 10^6 – 10^7เซลล์ต่อกรัม จึงทำให้เกิดโรค ทางเดินอาหาร มีการสร้างสารพิษ 2 ชนิด ทำให้เกิดอาการของโรคต่างกัน ได้แก่

2.7.3.1 สารพิษทำให้มีอาการท้องเสีย (diarrheal form) เกิดจากพิษที่เป็นโปรตีนที่ไม่ทนความร้อน ผู้ป่วยจะมีอาการท้องเสียเกิดขึ้นภายหลังการรับประทานอาหารที่มีเชื้อที่ยังมีชีวิตเข้าไป 6-12 ชั่วโมง อาการอื่น ๆ คือ ปวดท้อง ท้องเสีย คลื่นไส้ แต่ไม่อาเจียนหรือมีไข้ ผู้ป่วยจะหายได้เองภายใน 24 ชั่วโมง

2.7.3.2 สารพิษที่ทำให้มีอาการอาเจียน (emetic form) เกิดจากพิษที่เป็นโปรตีนซึ่งทนความร้อนได้ ผู้ป่วยจะอาเจียนภายหลังการรับประทานเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่เข้าไป 1-5 ชั่วโมง โดยพิษนี้จะทนความร้อนได้ เป็นพิษที่ถูกสร้างภายในเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.4 อาหารที่พบเชื้อ อาหารหลายชนิดมีเชื้อและสปอร์ของ *B. cereus* แต่จะเกิดโรคได้เมื่อเชื้อจำนวนมากในอาหาร อาหารที่พบเชื้อ เช่น ข้าวและอาหารประเภทแป้ง ผัก สลัด เนื้อสด ซอส และซุป ส่วนใหญ่มักเกิดจากการทำให้อาหารเย็นลงอย่างช้าๆ สปอร์ของเชื้อที่ยังคงรอดชีวิตอยู่ภายหลังจากการ ใช้ความร้อนปรุงอาหาร จะสามารถงอกออกมาเมื่ออาหารมีอุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส เมื่อสปอร์งอกเป็นเซลล์ปกติแล้ว เชื้อจะเติบโตในอาหารและเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว จนมีปริมาณเชื้อที่มากพอในการสร้างสารพิษออกมา เมื่อมีผู้บริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไป จะมีอาการป่วยเกิดขึ้น

2.8 ยีสต์และรา

ภาพที่ 2.3 เชื้อยีสต์และรา

ที่มา : https://www.facebook.com/Microbiormutsb/posts/396641670482047

2.8.1 ลักษณะของเชื้อยีสต์และรา

เชื้อราเป็นสิ่งมีชีวิตชั้นสูงซึ่งเซลล์ของเชื้อราจัดอยู่ในพวกยูคาลิโอต เชื้อราสามารถย่อย สลายสายอินทรีย์ให้กลายเป็นอาหาร (Eucaryotic heterotrophic organisms) นอกจากนั้นยังมี รูปร่างคล้ายกับกิ่งไม้ที่ไม่มีราก (Thallus) ซึ่งมีลักษณะต่างๆกันอีกด้วย เชื้อรามีทั้งชนิดที่สร้าง สปอร์และไม่สร้างสปอร์ ซึ่งสปอร์ของเชื้อรานี้สามารถใช้จำแนกชนิดของเชื้อราได้ เมื่อ เปรียบเทียบเชื้อรากับแบคทีเรีย เชื้อรามีเซลล์ขนาดใหญ่และมีโครงสร้างที่สมบูรณ์มากกว่า แต่ ราโดยส่วนใหญ่มักต้องการอากาศในการเจริญเติบโตและเจริญในอัตราที่ช้ากว่าแบคทีเรีย การ เจริญเติบโตของเชื้อรานั้นเกิดจากการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา (Mycelium) ส่วนเชื้อยีสต์มักมีขนาดใหญ่กว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญได้ตั้งแต่อุณหภูมิต่ำจนถึงปานกลางและสามารถทนต่อแรงดันรวมทั้งกรดต่างๆได้ และเจริญเติบโตบนผิวหน้าของอาหารเหลว

เชื้อยีสต์และรามักปนเปื้อนโดยตรงในอาหาร อุปกรณ์ทำอาหาร หรือในกระบวนการ แปรรูปอาหาร รวมถึงสภาวะการเก็บรักษาอาหาร เนื่องจากมีเชื้อยีสต์และราที่หลากหลายที่สามารถทำให้อาหารนั้นๆ เกิดการเน่าเสียได้ นอกจากนั้นเชื้อยีสต์และราบางชนิดสามารถสร้าง สารพิษ และหากมีการปะปนของสารพิษลงในอาหารแล้ว อาจทำให้ผู้บริโภคได้รับอันตรายถึงแก่ ชีวิตได้ แต่ถึงอย่างไรก็ตามยีสต์และราหลายๆ ชนิดอาจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก่อให้เกิดประโยชน์ให้แก่อุตสาหกรรมอาหาร โดยสามารถนำมาทำการหมักอาหารจนทำให้เกิดกลิ่นรสของอาหารที่น่ารับประทาน และใช้ในการผลิตสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกาย เช่น การนำไปใช้หมักไวน์ การผลิตเบียร์ ซีอิ้ว เต้าเจี้ยว นมเปรี้ยว เนยแข็ง เป็นต้น หากตรวจพบเชื้อยีสต์และราในอาหารในปริมาณที่มากนั่นอาจหมายถึงว่าสถานที่ผลิต อาหารชนิดนั้นๆ มีสุขาภิบาลอาหารที่ไม่ดี หรือการแปรรูปนั้นใช้อุณหภูมิในการทำลายเชื้อยีสต์ และราในอาหารไม่เพียงพอ รวมทั้งบอกถึงการปนเปื้อนในระหว่างกระบวนการผลิต การจัดเก็บ วัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ปรุงสำเร็จ เนื่องจากวัตถุดิบบางอย่างเช่น แป้ง ข้าวโพด อาจมีการ ปนเปื้อนจากเชื้อยีสต์และรารวมทั้งสารพิษ ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค อาจต้องมี การตรวจหาปริมาณของสารพิษของยีสต์และราในอาหาร นอกจากนั้นแล้วเชื้อยีสต์และรายัง สามารถเจริญได้ดีในอาหารกึ่งแห้งที่มีค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ (Water activity, aw) ระหว่าง 0.65- 0.90 และค่าพีเอช (pH) ต่ำการทำให้ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ในอาหารต่ำลงอาจทำได้โดยการเติมเกลือหรือน้ำตาลลงในอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและจุลินทรีย์

3.1.1 วัตถุดิบ

น้ำปลาร้า (ตรารสมือแม่)

3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1 สารเคมี

Peptone

Glycerol

$CuSO_4$

K_2SO_4

กรดซัลฟิวริก

กรดบอริกเข้มข้น 4%

กรดไฮโดรคลอริก

โซเดียมคลอไรด์ (NaOH)

Methyl red

Bromocresol green

3.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

Potato dextrose agar

Bird parker agar

DG18 agar

Sheep blood agar

Rabbit plasma

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.31 อุปกรณ์

จานเพาะเชื้อ

หลอดทดลอง

เข็มเขี่ยเชื้อ

ลูปเขี่ยเชื้อ

ตะเกียงแอลกอฮอลล์

ช้อนตักสาร

แท่งแก้วคนสาร

กระบอกตวง

ขวดแก้วใส่แอลกอฮอลล์

ขวดรูปชมพู่

ขวดดูแรน

บีกเกอร์

ที่วางหลอดทดลอง

ปิเปต

กระบอกใส่ปิเปต

ปิเปตทิป

ไมโครปิเปต

ลูกยาง

ถุงมือกันร้อน

ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ

เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องตีปั่นตัวอย่าง

ตู้ปลอดเชื้อ

ตู้บ่มเชื้อ

แก้วพลาสติกใส่ตัวอย่าง

แท่งแม่เหล็กกวนสาร

3.4 ขั้นตอนและวิธีการ

3.4.1 ขั้นตอนการหาค่า Water activity

1. เปิดเครื่องสำรองไฟและเสียบปลั๊กเครื่อง Water activity เครื่องจะเปิดอัตโนมัติ

2. เปิดฝาครอบเครื่องวัด Water activity โดยเลื่อนล็อคไปทางซ้ายมือ

3. เทตัวอย่าง (น้ำปลาร้า) ให้ตัวอย่างปิดที่ก้นภาชนะ และนำตัวอย่างวางในเครื่องวัด

4. ปิดฝาครอบเครื่องวัด Water activity โดยเลื่อนล็อคไปทางขวามือ

5. จากนั้นเครื่องจะทำการวิเคราะห์ค่าอัตโนมัติ

6. จดบันทึกข้อมูลผลการทดลอง

3.4.2 ขั้นตอนการวัดปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ โดย เครื่องวัดความหวานแบบดิจิตอล (Pocket Refectometer)

1.เปิดเครื่องและนำน้ำกลั่นล้างที่หัววัด

2.นำกระดาษชิดชู่ซับที่หัววัดเบาๆ

3.นำตัวอย่าง (น้ำปลาร้า) หยดลงไปในหัววัด และกดสตาร์ท

4.จดบันทึกการทดลอง

5.ซับตัวอย่างออก และใส่น้ำกลั่นเพื่อล้างหัววัด

3.4.3 ขั้นตอนการวัดหาค่า pH โดยเครื่อง Easyplus Tritation

1.เปลี่ยน probe ให้เป็น probe ที่ใช้ไว้สำหรับตรวจวัด pH และล้าง probe ก่อนการตรวจวัดด้วยน้ำกลั่น ซับด้วยกระดาษชิดชู่ให้แห้งก่อนและหลังการตรวจวัด

2.นำตัวอย่างใส่ลงในแก้วพลาสติกให้ได้ประมาณ 10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.นำ probe สำหรับวัด pH จุ่มลงในตัวอย่าง

4.กดปุ่มเริ่มต้นเพื่อทำการหาค่า โดยเครื่องจะทำการหาค่า pH อัตโนมัติ

5.จดบันทึกผลการทดลอง

3.4.4 ขั้นตอนการวัดหาค่าเกลือ โดยเครื่อง Easyplus Tritation

1.ชั่งตัวอย่าง (น้ำปลาร้า) ประมาณ 0.3-0.4 กรัม ใส่ในแก้วพลาสติกที่นำไว้ใส่ตัวอย่าง อย่างละ 3 ซ้ำ

2.เปลี่ยน probe ให้เป็น probe ที่ใช้ไว้สำหรับตรวจวัดเกลือ และล้าง probe ก่อนการตรวจวัดด้วยน้ำกลั่น ซับด้วยกระดาษชิดชูให้แห้งก่อนและหลังการไทเทรต

3.นำตัวอย่างที่ชั่งเรียบร้อยแล้วใส่แท่งแม่เหล็กกวนสารและน้ำกลั่นให้ได้ประมาณ 40 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวางบนเครื่องไทเทรต และเลื่อน probe ลงมาจุ่มในตัวอย่าง

4.กดปุ่ม titration จากนั้นกดปุ่มสามเหลี่ยม และใส่น้ำหนักตัวอย่างของน้ำปลาร้าแต่ละตัวอย่างที่ต้องการวัด และกดปุ่มที่มีเครื่องหมายถูกเพื่อเริ่มการไทเทรต

5.จากนั้นเครื่องจะทำการวิเคราะห์ค่าอัตโนมัติ

6.จดบันทึกผลการทดลอง

3.4.5 ขั้นตอนการหาปริมาณไนโตรเจน โดยวิธีการ Kjeldahl method

1.ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดย่อย เติมตัวเร่ง ($CuSO_4$: K_2SO_4 ในอัตราส่วน 1 : 8) 10 กรัม และเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร ใส่ Boiling chip 2-3 ลูก

2.วางหลอดย่อยลงบนเครื่อง และตั้งอุณหภูมิที่ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นค่อยๆ ปรับอุณหภูมิในการย่อยให้อยู่ที่ประมาณ 380-400 องศาเซลเซียส ย่อยจนได้สารละลายสีเขียวหรือสีฟ้าใส

3.ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น

4.เติมกรดบอริกเข้มข้น 4% ปริมาณ 60 มิลลิลิตร และ Methyl red/Bromocresol green ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร และนำไปต่อกับคอนเดนเซอร์ของชุดกลั่น

5.ไทเทรตสารละลายที่ผ่านการกลั่นด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 N จนเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีชมพูม่วง

3.4.6 ขั้นตอนการตรวจปริมาณยีสต์และราในอาหาร

1.ชั่งตัวอย่างอาหารใส่ถุงพลาสติกปลอดเชื้อให้ได้น้ำหนักประมาณ 25 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.เติมน้ำยาสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร เจือจางตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ และนำเข้าไปตีปั่นใน stomacher นาน 1 นาที

3. ทำการเจือจางอาหารให้ได้ 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} ด้วยน้ำยาเจือจาง 9 มิลลิลิตร

4.ดูดตัวอย่างในแต่ละระดับความเจือจางที่ต้องการวิเคราะห์ลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ จานละ 1 มิลลิตร โดยระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ

5. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Dichloran Glycerol (DG18) agar ลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่างอาหาร โดยวิธี pour plate technique

6.เขย่าจานเพาะเชื้อให้ตัวอย่างกระจายในอาหารเพาะเชื้ออย่างทั่วถึง และปล่อยให้อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อแข็งตัว

7.นำจานเพาะเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียส 2-5 วัน

8. ตรวจนับโคโลนี นับตามลักษณะโคโลนีของเชื้อที่ปรากฏว่าเป็นยีสต์หรือราที่เจริญ

3.4.7 ขั้นตอนการตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus aureus*

1.เตรียมตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ถุงพลาสติกปลอดเชื้อ

2.เทน้ำยาเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วย stomacher

3.ทำการเจือจางตัวอย่าง 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ในหลอดทดลองด้วยน้ำยาเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร

4.ดูดตัวอย่างที่เจือจางแล้วลงบน BP medieum ที่มีการเติมไข่แดงที่ปราศจากเชื้อ ระดับความเจือจางอย่างละ 2 จานเพาะเชื้อ จานละ 0.1 มิลลิลิตร

5.ใช้แท่งแก้วรูปตัว L ทำการเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ทั่วด้วยวิธี Spread plate ให้ครบทุกระดับความเจือจาง

6.บ่มเพาะเชื้อทั้งหมดในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

7.ตรวจนับจำนวนโคโลนีที่มีสีเทาถึงดำ กลม นูน ขอบเรียบ เป็นมันวาว ขนาด 2-3 มิลลิเมตร และมีตะกอนขุ่นรอบๆ โคโลนี

8.นำไปตรวจยืนยันเชื้อเบื้องต้นโดยดูการสร้างเอนไซม์ Coaculase ที่จับตัวกับ rabbit plasma

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9.เลือกโคโลนีที่สงสัยจากเพลท selective plating medium เขี่ยลงใน TSA slant บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

10.ใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ปราศจากเชื้อเขี่ยเชื้อจาก TSA slant เพาะเลี้ยงเชื้อในหลอดที่มี BHI broth 0.5 มิลลิลิตร บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

11.ดูด rabbit plasma ลงในหลอด ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร

12.ใช้ไมโครปิเปตดูดเชื้อปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ลงในหลอด rabbit plasma ทำหลอดควบคุมโดยใช้ BHI broth 0.2 มิลลิลิตร แทนเชื้อ นำหลอดวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

13.อ่านผลโดยดูจากการแข็งตัวของ plasma อันเนื่องมาจากเอนไซม์ coagulase ที่เชื้อ *S. aureus* สร้างขึ้นทุกชั่วโมง เป็นเวลาอย่างน้อย 4-6 ชั่วโมง หากไม่เกิดการแข็งตัวของ plasma ให้ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วดูผลอีกครั้ง โดยให้ระดับการจับตัวของเชื้อกับ Coagulase plasma ตามตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 การให้ระดับการจับตัวของเชื้อกับ Coagulase plasma

ระดับการจับตัว	ลักษณะปรากฏ
0	ไม่เกิดการจับตัว
+1ve	จับตัวเป็นก้อนน้อย ไม่รวมกลุ่ม
+2ve	จับตัวเป็นก้อนน้อย รวมกลุ่ม
+3ve	จับตัวเป็นก้อนใหญ่
+4ve	จับตัวเป็นก้อนหมดทั้งหลอดและไม่ขยับเมื่อคว่ำหลอด

3.4.8 ขั้นตอนการตรวจหาเชื้อ *Bacillus cereus*

1.เตรียมตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ถุงพลาสติกปลอดเชื้อ

2.เทน้ำยาเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วย stomacher

3.ทำการเจือจางตัวอย่าง 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ในหลอดทดลองด้วยน้ำยาเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร

4.ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ MYP agar จำนวน 3 เพลท เพลทละ 0.01 มิลลิลิตร โดยวิธีการ drop plate

5.ใช้แท่งแก้วรูปตัว L เกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วผิวหน้าเพลท ทิ้งตัวอย่างให้ซึมผ่านอาหารเลี้ยงเชื้อจนผิวหน้าแห้ง ประมาณ 10 นาที หากตัวอย่างไม่แห้งซึมเข้าไปในอาหารเลี้ยงเชื้อให้นำเพลทเข้าตู้บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ให้ผิวหน้าเพลทแห้งก่อนแล้วจึงค่อยคว่ำเพลท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.นำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

7.ตรวจนับโคโลนีของจานเพาะเชื้อที่ให้ลักษณะเป็นโคโลนีสีชมพู มี opaque zone

8.เลือกโคโลนีที่ให้ผลบวกใน MYP agar อย่างน้อย 3 โคโลนี ลงใน NA slant บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และเก็บไว้ทดสอบยืนยัน

9.ทำการตรวจยืนยันเบื้องต้นโดยดูปฏิกิริยา hemolytic activity test

10. แบ่งจานเพาะเชื้อ Sheep blood agar ออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆ กัน

11.ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ เขี่ยโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *B. cereus* บน MYP agar

12.นำเชื้อที่ติดบนปลายเข็มไปเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy sheep blood agar

13.ดูผลของปฏิกิริยา hemolytic positive ซึ่ง *B. cereus* จะให้ผลรอบๆ โคโลนีจะมีลักษณะรอบๆ clear zone

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

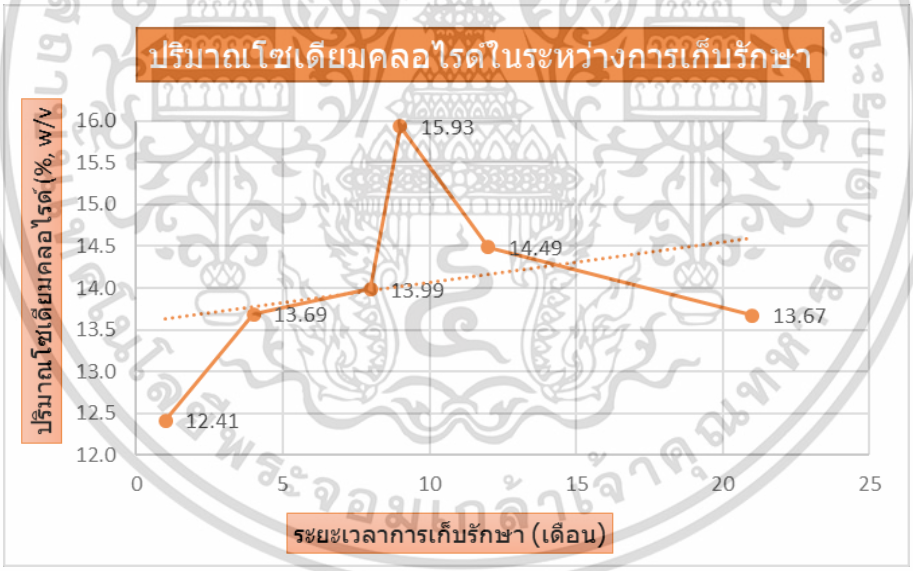
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 คุณลักษณะทางเคมี

การตรวจวัดคุณลักษณะทางเคมีของตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์ที่มีระยะเวลาเก็บรักษาต่างกันตั้งแต่ช่วง 1 เดือน , 3 เดือน , 8 เดือน , 9 เดือน , 12 เดือน และ 21 เดือนตามลำดับ จะทำการตรวจวัดคุณสมบัติทางเคมี 5 อย่าง ได้แก่ ปริมาณเกลือ , ปริมาณโปรตีน , ค่าความเป็นกรด-ด่าง , Water Activity และปริมาณของแข็งละลายน้ำ เพื่อศึกษาคุณลักษณะทางเคมีต่าง ๆ ในระหว่างการเก็บรักษาตามเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์

4.1.1 ปริมาณเกลือ (โซเดียมคลอไรด์)

การตรวจวัดปริมาณเกลือของตัวอย่างน้ำปลาร้า จากภาพที่ 4.1 แสดงถึงร้อยละโดยมวลต่อปริมาตรของโซเดียมคลอไรด์ในตัวอย่างน้ำปลาร้าที่อยู่ในช่วงร้อยละ 11-17 ซึ่งใกล้เคียงกับเกณฑ์มาตรฐาน (มผช.๑๓๔๖/๒๕๕๗) ที่ระบุว่าต้องมีปริมาณเกลือไม่ต่ำกว่า 120 กรัม/ลิตร (ร้อยละ 12 โดยมวลต่อปริมาตร) โดยช่วงระยะการเก็บ 24 เดือนมีปริมาณโซเดียมคลอไรด์มากที่สุดคือร้อยละ 16.46



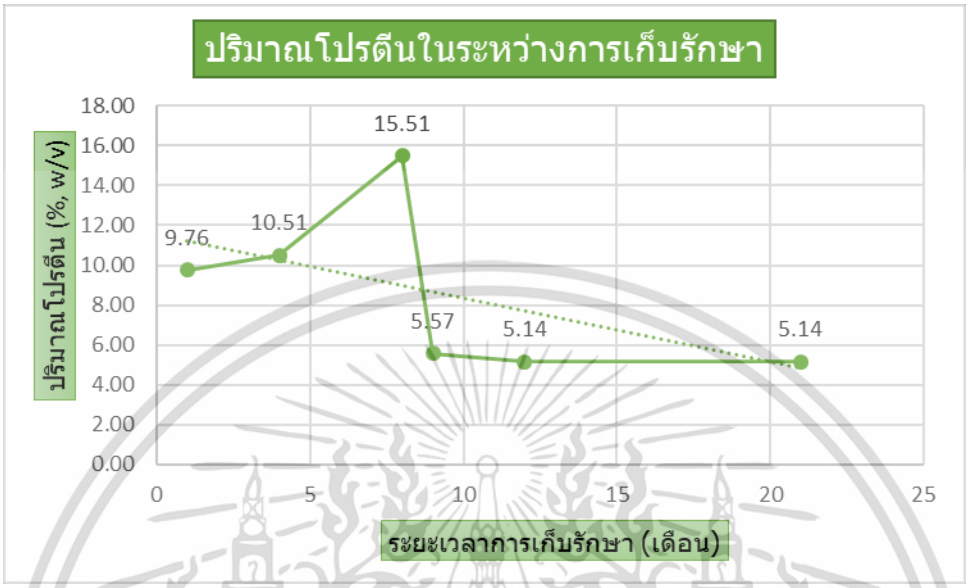
ภาพที่ 4.1 ผลการวัดปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์

4.1.2 ปริมาณโปรตีน (ไนโตรเจน)

การตรวจวัดปริมาณเกลือของตัวอย่างน้ำปลาร้า ดังแสดงในภาพที่ 4.2 แสดงถึงร้อยละโดยมวลต่อปริมาตรของปริมาณโปรตีนในตัวอย่างน้ำปลาร้าที่อยู่ในช่วงร้อยละ 5-30 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐาน (มผช.๑๓๔๖/๒๕๕๗)

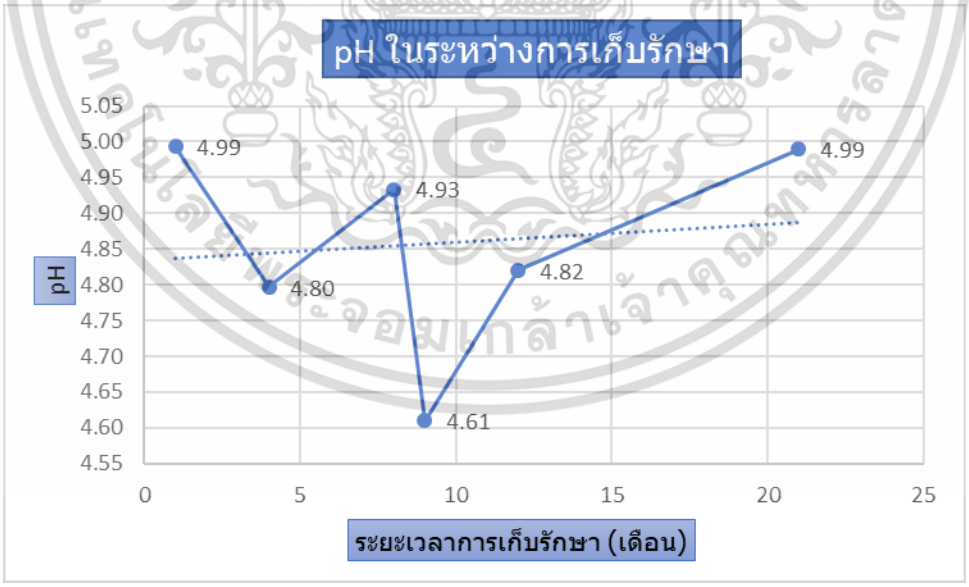
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ระบุว่าต้องมีปริมาณเกลือไม่ต่ำกว่า 40 กรัม/ลิตร (ร้อยละ 4 โดยมวลต่อปริมาตร) โดยช่วงระยะการเก็บ 24 เดือนมีปริมาณโซเดียมคลอไรด์มากที่สุดคือร้อยละ 27.97



ภาพที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์

4.1.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง



ภาพที่ 4.3 ผลการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์

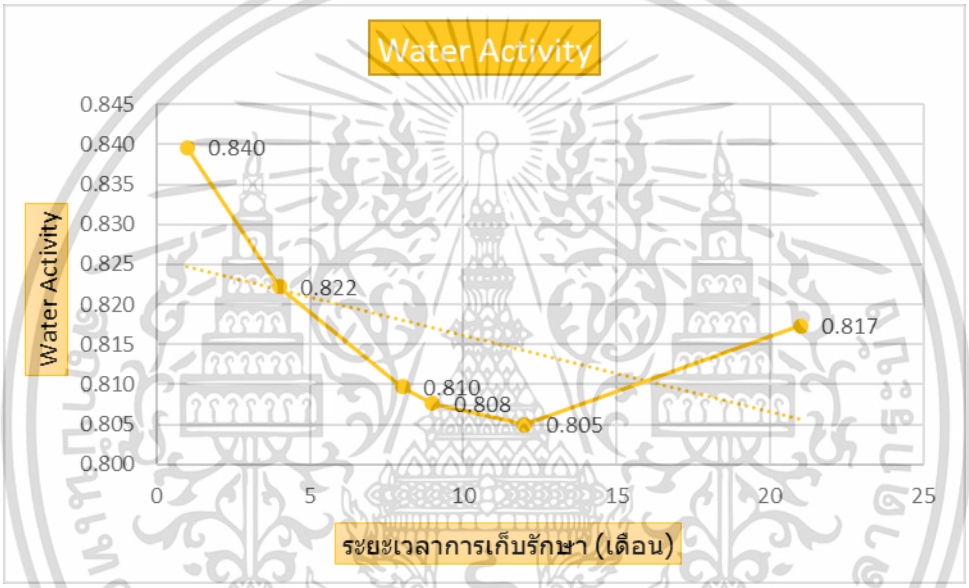
จากภาพที่ 4.3 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่าง (พีเอช) ของตัวอย่างน้ำปลาร้าโดยการวัดด้วยเครื่องEasyplus Titration พบว่ามีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 4.75 – 5 ซึ่งสอดคล้องกับเกณฑ์มาตรฐานน้ำปลาคือต้องอยู่ในช่วง 4.5 - 5.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ผะอบ,2547) และมีค่าสูงสุดคือ 4.99 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 1 เดือน และ 21 เดือน โดยการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในแต่ละตัวอย่างอาจแปรผันตามปัจจัยอื่นๆเช่น อุณหภูมิ (J Ashton, 2011)

4.1.4 Water activity (Aw)

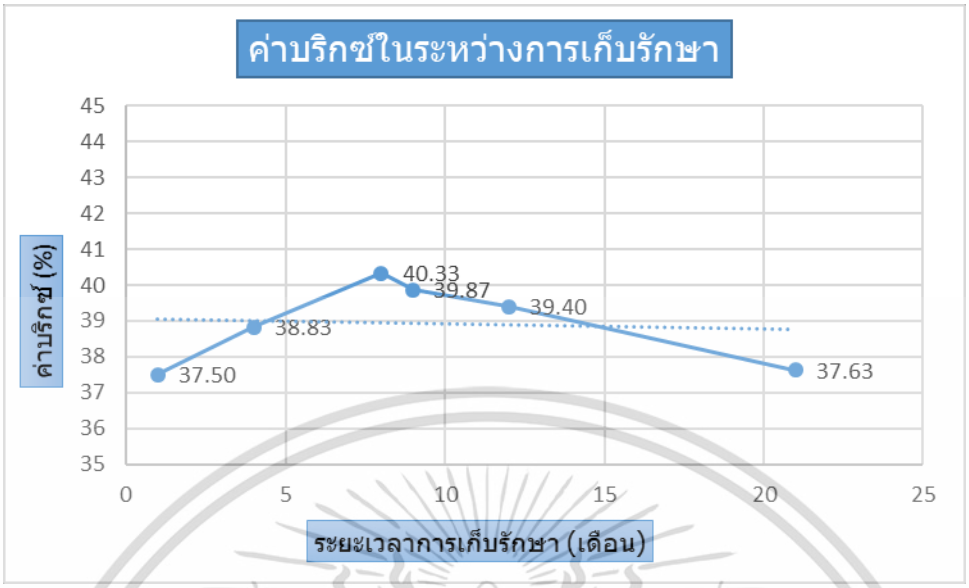
ค่า Water Activity เป็นปัจจัยที่สำคัญในการควบคุมและป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร จึงมีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหาร โดยในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์มีค่า Water activity อยู่ในช่วง 0.80 – 0.85 ดังแสดงในภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 ผลการวัดค่า Water Activity ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์

4.1.5 ปริมาณของแข็งละลายน้ำ (Brix)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

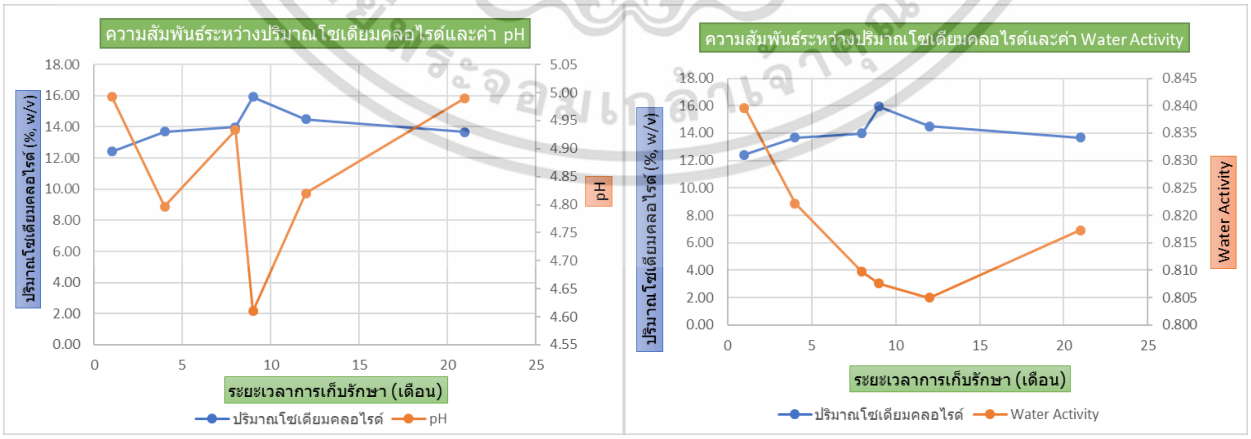


ภาพที่ 4.5 ผลการวัด % Brix ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์

จากภาพที่ 4.5 แสดงถึง % Brix ซึ่งอยู่ในช่วง 35 – 40 % Brix พบมากที่สุดในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 8 เดือนคือ 40.33 %Brix ซึ่งปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในตัวอย่างคือน้ำตาลที่อยู่ในตัวอย่างเพื่อปรุงรสและนอกจากนี้น้ำตาลยังช่วยลดค่า Water Activity ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่อาจเกิดการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์

4.1.6 ความสัมพันธ์ของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ต่อค่า pH และค่า Water Activity

จากภาพที่ 4.6 (ก) แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโซเดียมคลอไรด์และค่า pH พบว่า ตัวอย่างที่มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์สูงจะส่งผลให้มีค่า pH ต่ำ เช่นเดียวกับค่า Water activity ภาพที่ 4.6 (ข) เนื่องจากความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในตัวอย่างที่มากขึ้นจะส่งผลให้ปริมาณน้ำอิสระในตัวอย่างต่ำลง



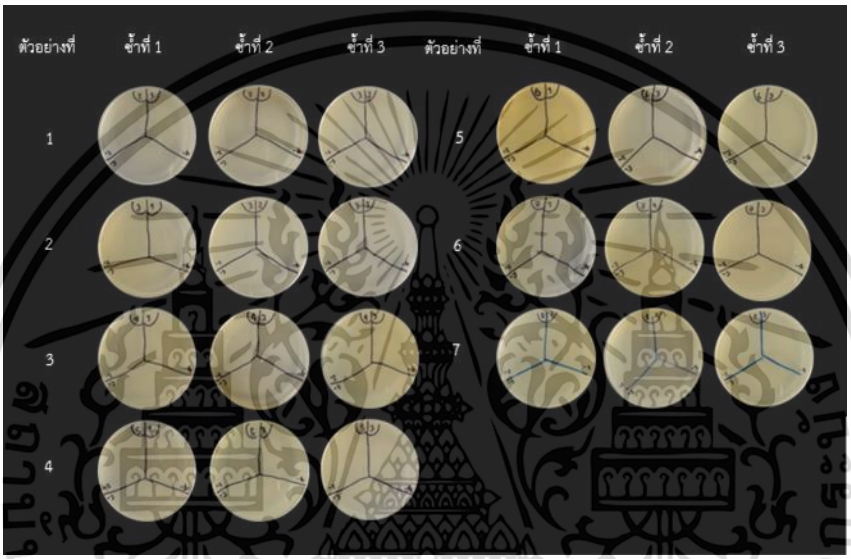
ภาพที่ 4.6 ความสัมพันธ์ของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ต่อค่า pH และค่า Water Activity (ก) ค่า pH (ข) ค่า Water activity

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

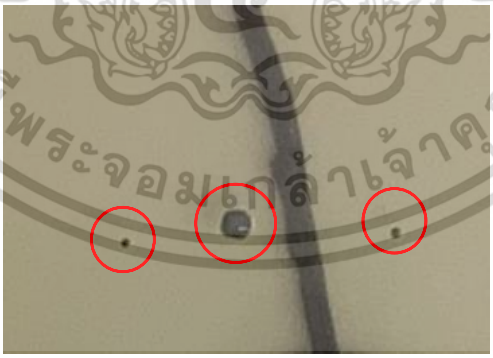
4.2 คุณลักษณะทางจุลินทรีย์

4.2.1 การตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์

จากการตรวจหาเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นการตรวจในเชิงคุณภาพ คือการตรวจพบหรือไม่พบในตัวอย่างอาหาร โดยใช้วิธี Drop plate technique ในระดับความเจือจาง 1:100 , 1:1000 และ 1:10000 ลงบนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเฉพาะ Baird-Parker medium (BP) ดังแสดงในภาพ 4.7 พบว่าในตัวอย่างที่ 1,3,5,6 และ 9 มีโคโลนีที่มีลักษณะกลม โค้งมน สีเทาถึงดำเกิดขึ้น ดังแสดงในภาพ 4.8



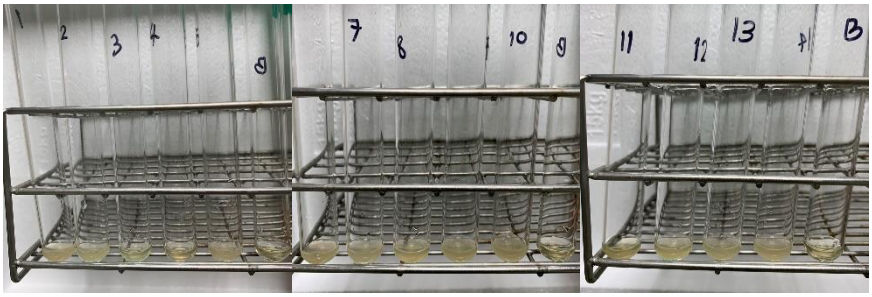
ภาพที่ 4.7 ผลการตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์



ภาพที่ 4.8 โคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ *Staphylococcus aureus*

จากลักษณะโคโลนีที่พบ นำไปยืนยันว่าเป็นเชื้อ *S. aureus* โดยการทดสอบการสร้างเอนไซม์ coagulase ดังแสดงในภาพ 4.9 พบว่าไม่เกิดการแข็งตัวขึ้น แสดงว่าโคโลนีที่พบอาจเป็นเชื้ออื่นในสายพันธุ์ Staphylococci ซึ่งต้องนำไปทดสอบ Ancillary test ต่อไป

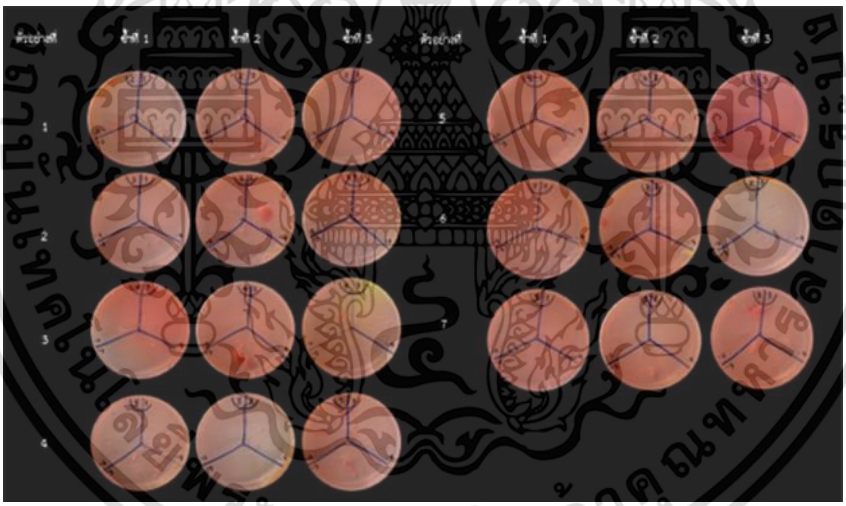
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



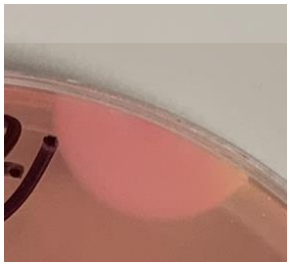
ภาพที่ 4.9 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ coagulase ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์

4.2.2 การตรวจหาเชื้อ *Bacillus cereus* ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์

จากการตรวจหาเชื้อ *B. cereus* ซึ่งเป็นการตรวจในเชิงคุณภาพ คือการตรวจพบหรือไม่พบในตัวอย่างอาหาร โดยใช้วิธี Drop plate technique ในระดับความเจือจาง 1:100 , 1:1000 และ 1:10000 ลงบนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเฉพาะ mannitol egg yolk polymyxin agar (MYP) พบว่าในตัวอย่างที่ 1,4,5 และ 9 มีโคโลนีสีชมพูเกิดขึ้น และมีตะกอนขุ่น (opaque zone) รอบๆโคโลนี ดังแสดงในภาพ 4.10 และ 4.11



ภาพที่ 4.10 ผลการตรวจหาเชื้อ *Bacillus cereus* ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์



ภาพที่ 4.11 โคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ *Bacillus cereus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

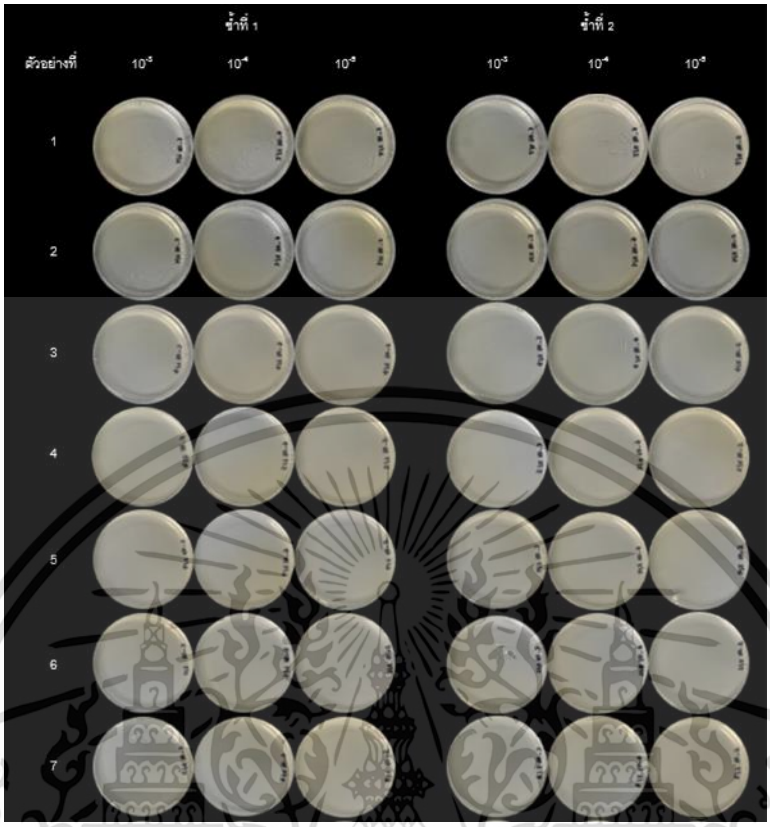
จากลักษณะโคโลนีที่พบ นำไปตรวจยืนยันเบื้องต้นโดยดูการทำปฏิกิริยา hemolytic activity test เพื่อดูการสลายเม็ดเลือดแดงของแกะ (sheep blood agar) ดังแสดงในภาพที่ 4.12 พบว่าไม่เกิดเชื้อ B. cereus ในตัวอย่างน้ำปลาร้า เนื่องจากบริเวณรอบโคโลนีที่เกิดขึ้นไม่สีใส (clear zone) ที่เกิดจากการสลายเม็ดเลือดแดงของแกะโดยเอนไซม์ hemolysin ที่ B. cereus ผลิตขึ้น

ภาพที่ 4.12 ผลการทดสอบปฏิกิริยา hemolytic ของเชื้อ *Bacillus cereus* ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์

4.2.3 ปริมาณยีสต์และรา

ราและยีสต์นับเป็นอีกสาเหตุที่สำคัญของการเน่าของอาหารอีกทั้งราบางชนิดยังสามารถสร้างสารพิษได้ ในการตรวจนับปริมาณยีสต์และราโดยใช้วิธี Spread plate technique ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Dichloran 18% Glycerol agar (DG-18) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 เป็นเวลา 5 วัน พบว่าไม่เกิดเชื้อยีสต์หรือราในทุกตัวอย่าง ดังแสดงในภาพ 4.13 ซึ่งสอดคล้องกับคุณลักษณะที่กำหนดในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.๑๓๔๖/๒๕๕๕๗)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.13 ผลการตรวจนับปริมาณยีสต์และราในตัวอย่างน้ำปลาร้าพาสเจอไรซ์

4.2.4 ปัจจัยในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

แบคทีเรียบางชนิดเจริญได้ดีใน pH ประมาณ 4-7.2 ในขณะที่ยีสต์และราเจริญได้ดีในช่วง 3-4.5 และอีกปัจจัยสำคัญในการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์คือปริมาณน้ำอิสระในอาหาร (Aw) คือเจริญในช่วง 0.85 ขึ้นไป (นฤมล , 2019) จึงทำการตรวจหาเชื้อจุลินทีย์ก่อโรคที่มีโอกาสเจริญในตัวอย่างได้ พบว่าไม่พบจุลินทรีย์ใดๆ เนื่องจากตัวอย่างน้ำปลาร้ามีปริมาณน้ำอิสระในอาหาร (Aw) น้อยกว่า 0.85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

5.1.1 จากการทดลองทางเคมี โดยทำการตรวจวัดด้วยวิธีการหาค่า pH , Water activity (A_w) , ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ , ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ , แลปริมาณไนโตรเจน โดยวิธีการ Kjeldahl method ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพลาสเจอไรซ์ที่ระยะเวลาการเก็บ 1 , 4 , 8 , 9 , 12 และ 21 เดือน พบว่าปริมาณเกลือ และปริมาณไนโตรเจนมีค่าเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.๑๓๔๖/๒๕๕๗) นอกจากนี้ยังพบว่าในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษาที่มากขึ้นจะส่งผลให้มีปริมาณเกลือมากขึ้นในขณะที่ค่า pH , ค่า Water activity และปริมาณโปรตีนมีค่าลดลง เป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของโซเดียมคลอไรด์ในตัวอย่าง

5.1.2 จากการทำการทดลองทางจุลินทรีย์ โดยทำการตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus aureus* , *Bacillus cereus* , ยีสต์และรา ในตัวอย่างน้ำปลาร้าพลาสเจอไรซ์ที่ระยะเวลาการเก็บ 1 , 4 , 8 , 9 , 12 และ 21 เดือน ไม่พบจุลินทรีย์ปรากฏในน้ำปลาร้าพลาสเจอร์ไรซ์ในทุกตัวอย่างที่ทำการทดลอง ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.๑๓๔๖/๒๕๕๗) เนื่องจากปัจจัยต่างๆของตัวอย่างน้ำปลาร้าไม่อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ทุกขั้นตอนที่ทำการทดลองเกี่ยวกับเชื้อควร Aseptic ทุกขั้นตอน ป้องกันและทำความสะอาดทุกครั้งเมื่อทำการทดลองเสร็จ

5.2.2 ทำการ Calibrate เครื่องมือต่างๆ ทุกครั้งก่อนทำการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

นภา โล่ทอง. 2525. คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาจุลชีวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

บุษกร ขลังธรรมเนียม. (2545) ความเข้มของการใช้ที่ดินเพื่อเกษตรกรรม ชานเมืองกรุงเทพมหานคร . มหาวิทยาลัยรามคำแหง/กรุงเทพฯ.

ไพโรจน์ วิริยจารีย์ และ อรัญ หันพงศ์กิตติกูล. 2534. ปฏิบัติการอุตสาหกรรมการหมัก. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่.

Andrew, W.H., and J. Messer. 1990. Microbiology Methods. In : Helrich, K. (ed.) Official Method Analysis of Official Analytical Chemists (AOAC) Inc. Arlington, USA

BAM online. 2016. Bacteriological Analytical Manual Chapter 10 Detection and Enumeration of Listeria monocytogenes in Foods.

Clesceri, L.S., Greenberg, A.E., Eaton, A.D. 1998. Standard methods for the exanination of water and wastewater. American Public Health Association. American Water Works Association, Water Environment Federation. 20" ed. Washington D.C.

Elliot, R.P., D.S. Clark, K.H. Lewis, H. Lundbeck, J.C. Olson Jr., and B. Simonsen. 1988. Microorganisms in Foods. 2 ed, International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) of the International Association of Microbiological Societies, Toronto, Canada.

Food and Drug Administration. 1992. Bacteriological Analytical Manual (BAM). 7th ed., AOAC. International 2200 Wilson Boulevard, Suite 400 Arlington, VA 22201-3301 USA.

Frazier, W.C., and D.C. Westhoff. 1988. Food Microbiology, 4" ed., McGraw Hill Book Company, Singapore.

ISO 11290-1:1997 (Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of Listeria monocytogenes - part 1, Incorporating Amendment 1.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ก.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก.1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

BP medium agar	63	g.
น้ำกลั่น	950	ml.
Egg yolk	50	ml.
Potassium tellurite 3.5%	3	ml.

ก.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

MYP agar	46.03	g.
น้ำกลั่น	900	ml.
Egg yolk	100	ml.
Polymixim B	10	ml.

ก.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

DG18 agar	31.6	g.
น้ำกลั่น	1	L.
Glycerol	175	ml.

ก.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

BHI broth	37	g.
น้ำกลั่น	1	L.

ก.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ

Beef extract	3	g.
Peptone	5	g.
Agar	15	g.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำกลั่น	1	L.

ก.1.6 สารเคมี

Peptone	1	g.
น้ำกลั่น	1	L.

ก.1.7 สารเคมี

ซิลเวอร์ไนเตรท (AgNO3)	16.987	g.
น้ำกลั่น	1	L.

ก.1.8 สารเคมี

KH2PO4	34	g.
น้ำกลั่น	500	ml.
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	1	N

ก.1.9 อุปกรณ์

1. บีกเกอร์
2. ช้อนตักสาร
3. กระบอกตวง
4. ฟลาส์ก
5. ขวดแก้ว
6. ปิเปต
8. เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหย่ง
9. autoclave

ก.1.10 วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ BP medium agar

ชั่งสารจำนวน 63 กรัม ในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร มิลลิลิตร ผสมสารและน้ำกลั่นให้เข้ากัน นำไปให้ความร้อน นำสำลีและฟรอยด์ปิดปากขวดของฟลาส์ก นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จานนั้นนำไปทำให้เย็นลงให้อุณหภูมิอยู่ที่ประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส ด้วยวิธีการปลอดเชื้อ ใส่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

egg yolk 50 มิลลิลิตร สารละลายโพแทสเซียมเทลลูไลท์ (Potassium tellurite) 3.5% 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

ก.1.11 วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar

ชั่งสารจำนวน 46.03 กรัม ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้มีปริมาตร 900 มิลลิลิตร ผสมสารและน้ำกลั่นให้เข้ากัน นำไปให้ความร้อน นำสำลีและฟรอยด์ปิดปากขวดของฟลาส์ก นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จานนั้นนำไปทำให้เย็นลงให้อุณหภูมิอยู่ที่ประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส ด้วยวิธีการปลอดเชื้อ แล้วใส่ Polymixim B 10 มิลลิลิตร และใส่ egg yolk 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

ก.1.12 วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ DG18 agar

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ 31.6 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร และนำไปให้ความร้อน ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำกลั่นให้เข้ากัน จากนั้นเทใส่ฟลาส์กที่จัดเตรียมไว้ และใส่ Glycerol 175 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำสำลีและฟรอยด์ปิดปากขวดของฟลาส์ก นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก.1.13 วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI broth

ชั่งสารจำนวน 37 กรัม ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้มีปริมาตร 1 ลิตร ผสมสารและน้ำกลั่นให้เข้ากัน นำไปให้ความร้อน นำสำลีและฟรอยด์ปิดปากขวดของฟลาส์ก นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก.1.14 วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ NA slant

ชั่ง Beef extract 3 กรัม Peptone 5 กรัม Agar 15 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตรต้มละลายส่วนผสมทั้งหมด และถ่ายใส่ขวดที่มีจุกสำลีหรือฝาปิด นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก.1.15 วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Peptone water 0.1%

ชั่ง Peptone 1 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ละลายให้เข้ากัน นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก.1.16 วิธีการเตรียมซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$)

ชั่งสาร 16.9870 กรัม ใส่บีกเกอร์ และใส่น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นคนให้เข้ากัน และนำมาใส่ขวดพลาสติกที่จัดเตรียมไว้

ก.1.17 วิธีการน้ำยาเจือจาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารละลายสต็อก ละลายสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 34 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ปรับพีเอชให้ได้ 7.2 ด้วย สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 N และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร แล้วนำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และเก็บในตู้เย็น

การเตรียม Dilution blank ตวงสารละลายสต็อก 1.25 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น ตวงใส่ขวดปริมาตร 450 มิลลิลิตร (สำหรับเจือจางตัวอย่าง 50 กรัม) หรือตวงใส่ขวดปริมาตร 225 มิลลิลตร (สำหรับเจือจางตัวอย่าง 25 กรัม) และดูด 9 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 16x150 mm. นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวณัฐชา กิตติอานันท์
วัน เดือน ปี	26 ตุลาคม 2540
ประวัติการศึกษา	ระดับประถมศึกษา - โรงเรียนมาเรียลัย
	ระดับมัธยมศึกษา - โรงเรียนเทพศิรินทร์ร่มเกล้า
	ระดับปริญญาตรี - สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์ทำงาน	ฝึกงานที่ บริษัท พัฒน์กล จำกัด มหาชน
ผลงานวิจัย	การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำปลาร้าพาสเจอร์ไรซ์ในระหว่างการเก็บรักษา Study of changes in pasteurized fermented fish sauce during storage

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวฤทัยรัตน์ โหระโชติ
วัน เดือน ปี	11 กุมภาพันธ์ 2540
ประวัติการศึกษา	ระดับประถมศึกษา - โรงเรียนพระวิสุทธิวงศ์
	- โรงเรียนอนุบาลสุรินทร์
	ระดับมัธยมศึกษา - โรงเรียนวิทยานุกูลนารี
	- โรงเรียนปราจิณราษฎรอำรุง
	- โรงเรียนตราษตระการคุณ
	ระดับปริญญาตรี - สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์ทำงาน	ฝึกงานที่ ที่ฝึกงาน บริษัท แอลเอสจี สกายเชฟส์ (ประเทศไทย) จำกัด
ผลงานวิจัย	การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำปลาร้าพาสเจอร์ไรซ์ในระหว่างการเก็บรักษา Study of changes in pasteurized fermented fish sauce during storage

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้